

JOURNAL of AGRICULTURE

ISSN: 2636-8757

[HTTPS://DERGIPARK.ORG.TR/TR/PUB/JA](https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja)

INTERNATIONAL PEER REVIEWED JOURNAL

VOLUME
4

ISSUE
2

YEAR
DECEMBER, 2021





JOURNAL of AGRICULTURE

ISSN: 2636-8757

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja>

(Uluslararası Hakemli Dergi / International Peer Reviewed Journal)

International Indexing



ASOS
indeks

Yayınlanma Tarihi/Published

31.12.2021

CİLT/VOLUME

4

SAYI/ISSUE

2

YIL/YEAR

ARALIK/DECEMBER, 2021

bariseren86@gmail.com

DergiPark
AKADEMİK

Dergimiz Hakkında/ About Our Journal

Journal of Agriculture, hakemli uluslararası bir dergidir ve 2018 yılında yayın hayatına başlamıştır. DergiPark bünyesinde açık erişimli olarak, tarım ve yaşam bilimleri alanında hazırlanmış araştırma ve derleme makalelerini yayınlamak üzere Mayıs-2018 yılında faaliyete başlamıştır. Derginin desteklediği diller Türkçe ve İngilizce'dir. Yılda 2 (iki) sayı yayınlanır. Dergiye gönderilen makaleler önce editör tarafından şekil ve içerik yönünden incelenir. Uygun olmayanlar sorumlu yazara geri gönderilir. Gönderilen makaleler yazarlar tarafından kaynaklar hariç olmak üzere intihale karşı kontrol edilmektedir. Yapılan kontrollerde benzerlik oranının %20'nin altında olması zorunludur. İntihal raporları incelenerek %20 üzerinde olan yayınlar reddedilir. Yayınlanması istenilen eserlerin herhangi bir yerde yayınlanmamış veya yayınlanmak üzere herhangi bir dergiye gönderilmemiş olması zorunludur. Editörün onayladığı makaleler konu ile ilgili 2 (iki) hakeme gönderilir. Hakem incelemesi ve düzeltme süreci tamamlanan makaleler yayınlanır.

Journal of Agriculture is a refereed international journal and started its publication in 2018. DergiPark started its activities in May-2018 in order to publish research and compilation articles prepared in the field of agriculture and life sciences with open access. The languages supported by the journal are Turkish and English. 2 (two) issues are published annually. Articles submitted to the journal are first reviewed by the editor in terms of shape and content. Unsuitable ones are sent back to the responsible author. Submitted articles are checked against plagiarism by the authors, excluding the sources. It is mandatory that the similarity rate is below 20% in the controls. Publications over 20% are rejected by analyzing plagiarism reports. It is mandatory that the works to be published have not been published anywhere or sent to any journal to be published. Articles approved by the editor are sent to 2 (two) reviewers. Articles whose referee review and correction process are completed are published.

Amaç/Aim

Dergimiz bahçe bitkileri, bitki koruma, bitkisel ve hayvansal üretim, biyosistem mühendisliği, gıda mühendisliği, moleküler biyoloji ve genetik, peyzaj mimarlığı, su ürünleri, tarım ekonomisi, tarımsal mekanizasyon, tarımsal yapılar ve sulama, tarla bitkileri, toprak bilimi ve bitki besleme ve zootekni alanında hazırlanan araştırma ve derleme çalışmalarını Türkçe ve İngilizce dillerinde yayınlamayı amaç edinmiştir.

The articles that can be sent to the journal are horticulture, plant protection, plant and animal production, biosystem engineering, food engineering, molecular biology and genetic, landscape architecture, fisheries, agricultural economy, agricultural mechanization, agricultural structures and irrigation, field crops, soil science and plant nutrition and animal science. The journal aims to publish research and compilation studies in Turkish and English.

Kapsam/Scope

Journal of agriculture, Haziran ve Aralık aylarında yılda iki kez yayınlanan hakemli, akademik, bilimsel, uluslararası bir dergidir. Türkçe ve İngilizce makaleler kabul edilir ve çevrimiçi olarak yayımlanır.

Journal of agriculture is a refereed, academic, scientific, international journal published twice a year, in June and December. Turkish and English articles are accepted and are published online.



JOURNAL of AGRICULTURE

agrijournal@hotmail.com

ISSN: 2636-8757

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja>

Cilt/Volume: 4 Sayı/Issue: 2 Yıl/Year: Aralık/December, 2021

Sahibi / Owner

Dr. Öğr. Üyesi Barış EREN / Assist. Prof. Dr. Barış EREN
Iğdır University, TURKEY, bariseren86@gmail.com

Editörler / Editors

Dr. Öğr. Üyesi Barış EREN / Assist. Prof. Dr. Barış EREN
Iğdır University, TURKEY, bariseren86@gmail.com

Dr. Öğr. Üyesi Fatih DEMİREL / Assist. Prof. Dr. Fatih DEMİREL
Iğdır University, TURKEY, fatih.demirel@igdir.edu.tr

Yardımcı Editörler / Co-Editors

Doç. Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR/ Assoc. Prof. Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR
Bingöl University, TURKEY, ozdemirfethiahmet23@yahoo.com

Arş. Gör. Serap DEMİREL / Research Assistant Serap DEMİREL
Van Yüzüncü Yıl University, serap_comart@hotmail.com

Dil Editörleri / Language Editors

Doç. Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR/ Assoc. Prof. Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR
Bingöl University, TURKEY, ozdemirfethiahmet23@yahoo.com

Dr. Öğr. Üyesi Muhittin KULAK / Assist. Prof. Dr. Muhittin KULAK
Iğdır University, TURKEY, muhyttnx@gmail.com

İstatistik Editörleri / Statistical Editors

Doç. Dr. Samet Hasan ABACI / Assoc. Prof. Dr. Samet Hasan ABACI
Ondokuz Mayıs University, TURKEY, shabaci37@gmail.com

Dr. Cem TİRİNK
Iğdır University, TURKEY, cem.tirink@gmail.com



JOURNAL of AGRICULTURE

agrijournal@hotmail.com

ISSN: 2636-8757

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja>

Cilt/Volume: 4 Sayı/Issue: 2 Yıl/Year: Aralık/December, 2021

Ulusal Editörler Kurulu / National Editorial Board

Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU Atatürk Üniversitesi, Türkiye	Doç. Dr. Celalettin GÖZÜAÇIK Iğdır Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Taki DEMİR Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Türkiye	Doç. Dr. Arzu ÜNAL Iğdır Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Lütfi BEHÇET Bingöl Üniversitesi, Türkiye	Doç. Dr. Mustafa Kenan GEÇER Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Ali KAYGISIZ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Türkiye	Doç. Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR Bingöl Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Ahmet Zafer TEL Iğdır Üniversitesi, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Fatih DEMİREL Iğdır Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Bahri KARLI Süleyman Demirel Üniversitesi, Türkiye	Dr. Öğr. Üyesi Barış EREN Iğdır Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. İsmet YILDIRIM Düzce Üniversitesi, Türkiye	Arş. Gör. Serap DEMİREL Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Mustafa Rıza ÇANGA Ankara Üniversitesi, Türkiye	Dr. Arş. Gör. Fatih GÖKMEN Iğdır Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Veli UYGUR Süleyman Demirel Üniversitesi, Türkiye	Dr. Asude ÇAVUŞ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. Ali Rıza DEMİRKIRAN Bingöl Üniversitesi, Türkiye	

Uluslararası Editörler Kurulu / International Editorial Board

PhD Mabrouk Elsabagh
Department of Nutrition and Clinical Nutrition /Veterinary Medicine, Egypt

PhD Ayman Elsabagh, Egypt

PhD. Jiban Shrestha,
Nepal Agricultural Research Council, Nepal

PhD. Marija Saric-Krsmanovic, Serbia

PhD, Arash Hossein Pour, (İran)

PhD, Ali Omrani, (PhD) (İran)



JOURNAL of AGRICULTURE

agrijournal@hotmail.com

ISSN: 2636-8757

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja>

Cilt/Volume: 4 Sayı/Issue: 2 Yıl/Year: Aralık/December, 2021

BU SAYININ HAKEM LİSTESİ / REFEREE LIST IN THIS NUMBER

Prof. Dr. Ali Rıza DEMİRKIRAN	Bingöl Üniversitesi, Türkiye
Prof. Dr. İsmail USTA	Marmara Üniversitesi, Türkiye
Doç. Dr. MUSTAFA KÜSEK	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Türkiye
Doç. Dr. Fatih DADAŞOĞLU	Atatürk Üniversitesi, Türkiye
Doç. Dr. Emre DEMİRER DURAK	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Muhittin KULAK	Iğdır Üniversitesi, Türkiye
Dr. Öğr. Üyesi Ramazan GÜRBÜZ	Iğdır Üniversitesi, Türkiye
Dr. Fatih GÖKMEN	Iğdır Üniversitesi, Türkiye



JOURNAL of AGRICULTURE

agrijournal@hotmail.com

ISSN: 2636-8757

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ja>

Cilt/Volume: 4 Sayı/Issue: 2 Yıl/Year: Aralık/December, 2021

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

DERLEME MAKALELERİ (Review Articles)

- İmidazolinone-Tolerant Kültür Bitkileri ve Yabancı Ot Mücadelesinde Kullanımı** 67-79
Fulya BAŞARAN

ARAŞTIRMA MAKALELERİ (Research Articles)

- The Determination of Lead and Cadmium Concentration in the Agricultural Soils Alongside Highway 080 of Iğdır Province** 80-91
Mücahit KARAOĞLU, Cemal KUCUK
- Biological Control of *Rhizoctonia solani* Kühn. with Rhizobacteria Isolated from Different Soiland *Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'hér.)** 92-107
Halit ANAK, Mesude Figen DONMEZ, İrfan CORUH
- Iğdır'da Domates (*Solanum lycopersicon* L.)'te Hastalığa Neden Olan Bakterilerin İzolasyonu ve Tanısı** 108-129
Büşran SUNYAR, Mesude Figen DÖNMEZ, İrfan ÇORUH
- Atık Esaslı Fibriller Biyoçözünür Toprak Örtüsü** 130-142
Naz KADINKIZ, Muhammet UZUN, Zeynep ÇİL



Review /Derleme

İmidazolinone-Tolerant Kültür Bitkileri ve Yabancı Ot Mücadelesinde Kullanımı

Fulya BAŞARAN*

ÖZET

Yabancı otlar, kültür bitkileriyle su, besin maddesi, ışık ve yer gibi kaynaklar için rekabete girerek zarar oluştururlar. Mücadelesinde, kısa sürede sonuç vermesi ve kullanım kolaylığı gibi avantajları sebebiyle daha çok kimyasal mücadele yöntemi tercih edilmektedir. Ancak yoğun herbisit kullanımı sonucu ortaya çıkan direnç sorunu, selektif herbisitlerin geliştirilmesiyle daha da artmıştır. Özellikle ALS (Asetolaktat sentaz) inhibitörü herbisitlere olan dayanıklılık sorunu ilk sıradadır. Dar ve geniş yapraklı yabancı otlara karşı yaygın olarak ALS inhibitörü herbisit grubundan Sulfonylurea sınıfı içerisinde yer alan aktif maddelerden imidazolinonlar kullanılmaktadır. İmidazolinonlar, düşük dozlarda bile etkili olan çok geniş yabancı ot etki spektrumuna sahip olup hayvanlar, kuşlar, balıklar ve omurgasızlar üzerinde düşük toksisite olması ile nispeten çevresel profile uygun herbisitlerdir. Bu özellikleri, geleneksel üretim teknikleri (transgenik olmayan) ile imidazolinon-tolerant (imi-tolerant) kültür bitkilerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır. İmi-tolerant kültür bitkilerinden kasıt, imidazolinon grubu herbisitlere karşı toleranslı bitkilerdir. Bu bitkilerin kullanıldığı üretim alanlarında yabancı otların kontrolü sağlanırken, ürünün zarar görmesini engellemek amaçlanmaktadır. Yabancı otlarla mücadelede düşük maliyet, daha iyi ve etkin kontrol sayesinde tarımsal üretimde verim artış sağlanması gibi avantajları vardır. Ancak imi-tolerant bitkilerin ekimi yapılan alanlarda yoğun herbisit kullanımına bağlı olumsuz çevresel etkiler, kültür bitkisine akraba yabancı ot türlerine gen kaçıışı ve buna bağlı olarak dirençli yabancı otların ortaya çıkışı gibi bir takım dezavantajları olabilir. Bu derlemede, imi-tolerant bitkilerin yabancı ot mücadelesinde kullanım avantajları ve dezavantajları tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Herbisit, Herbisit Toleransı, İmidazolinon, ALS inhibitörü, İmi-tolerant

Imidazolinone-Tolerant Crop Plants and Their Use in Weed Control

ABSTRACT

Weeds cause damage by competing with crops for resources such as water, nutrients, light and space. In its control, chemical control methods are preferred due to its advantages such as short-term results and ease of use. However, the problem of resistance, which arises as a result of intensive use of herbicides, has increased with the development of selective herbicides. In particular, the problem of resistance to ALS (Acetolactate synthase) inhibitor herbicides is in the first place. Imidazolinones, one of the active substances in the sulfonylurea class from the ALS inhibitor herbicide group, are widely used against narrow and broad-leaved weeds. Imidazolinones have a very broad weed spectrum that is effective even at low doses, and are herbicides with a relatively environmental profile, with low toxicity to animals, birds, fish and invertebrates. These features have enabled the development of imidazolinone-tolerant (IMI-tolerant) crops with traditional production (non-transgenic) techniques. IMI-tolerant crops mean that are tolerant to imidazolinone group herbicides. While controlling weeds in the production areas where these crops are used, it is aimed to prevent the product from being damaged. It has advantages such as low cost, better and more effective control of weeds, increasing the yield in agricultural production. However, there may be some disadvantages such as negative environmental effects due to intensive use of herbicides in the areas where IMI-tolerant plants are cultivated, gene escape to weed species related to the cultivated plant and the emergence of resistant weeds accordingly. In this review, the advantages and disadvantages of using IMI-tolerant plants in weed control are discussed.

Keywords: Herbicide, Herbicide Tolerance, Imidazolinone, ALS inhibitor, IMI-tolerant

¹Fulya BAŞARAN (Orcid ID:0000-0002-7381-9215), Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Bitki Sağlığı Bölümü, Yalova, Türkiye, *Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Fulya BAŞARAN, e-mail: fulya.basaran@tarimorman.gov.tr

GİRİŞ

Yabancı otlar, kısaca istenmeyen yerde yetişen ve zararı yararından fazla olan bitkilerdir. Buldukları alanda kültür bitkisi ile kaynak (su, besin maddesi, ışık, yer vb.) rekabetine girerek verimi düşürürler. Belli başlı ürünlerde yabancı otlardan kaynaklanan potansiyel verim kayıpları yaklaşık olarak %34 oranındadır (Oerke, 2006). Yabancı otlarla mücadelede çoğunlukla mekanik (elle yolma, çapalama gibi) mücadele ve kimyasal mücadele uygulanmaktadır. Mekanik mücadele için gereken işgücünün fazla ve maliyetli olması gibi sebeplerden tercihen kimyasal mücadele amacıyla herbisitler kullanılmaktadır (Uygur ve Uygur, 2010). Herbisitler, yabancı otların çimlenmesini ve gelişmesini engelleyen kimyasallardır. İlk sentetik herbisit 1940'ların başında keşfedilmiş olup tarımsal yabancı ot kontrolünde önemli bir adım sayılmıştır (Sterling ve Hal, 1997).

Herbisit kullanım artışıyla herbisit direnci ve bitkilerin kendi doğasında var olan herbisit toleransı terimleri ortaya çıkmıştır. Herbisit direnci, bir bitkinin normalde yabancı ot türüne karşı öldürücü olan bir doz herbisite maruz kaldıktan bir süre sonra hayatta kalma ve çoğalma yeteneği göstermesidir. Bir bitkide direnç, doğal olarak meydana gelebilir. Bununla birlikte direnç sağlamak için doku kültürü veya mutajenez yoluyla yeni varyantların geliştirilmesi ile mümkündür. Herbisit direnci oluştuğunda kısaca "Eskiden bu yabancı otu bu herbisit uygulamasıyla kontrol edebiliyorduk ama artık işe yaramıyor gibi görünüyor..." düşüncesini akla getirir. Buna karşılık, herbisit toleransı, bir yabancı ot türünün herbisit uygulanmasına rağmen hayatta kalma ve çoğalma yeteneğidir (Gray ve ark. 2010). Bu, bitkinin toleranslı olması için hiçbir seçim veya genetik manipülasyon yoktur çünkü doğal olarak toleranslıdır. Kısaca bir herbisit ile bir yabancı otu hiçbir zaman güvenilir bir şekilde kontrol edemedik..." diye düşünüyorsanız – bu durum herbisit toleransı olarak tanımlanır (Anonim, 2021a).

Bir herbisitinin başarılı olması, kültür bitkisi ve yabancı ot arasında seçicilik gösterebilmesiyle ilgilidir. Her ne kadar herbisitler, bitkilerin fotosentez ve aminoasit sentezi gibi işlevlerini etkilemek için tasarlanmış olsa da bu işlev süreçleri hem kültür bitkisi hem de yabancı otlar için benzerdir. Sonuç olarak bu seçicilik, yabancı ot ve kültür bitkisi tarafından farklı herbisit alımına, uygulama alanına ve zamanına veya kültür bitkisi tarafından herbisit detoksifikasyonuna dayanmaktadır. Çevre sağlığı konularına artan hassasiyet, hızlı çözünebilir, yüksek etki gösteren ve hayvanlara toksik olmayan herbisitlerin geliştirilmesini teşvik etmiştir. Son yıllarda bu herbisitlerin ticarileştirilme stratejileri ve yapılan araştırmalar, yüksek dozda herbisit kullanımının azaltılmasını, çevresel açıdan kabul edilebilir ve herbisitlerin daha ekonomik üretimini amaçlamaktadır. Herbisitlere tolerant kültür bitkilerinin geliştirilmesi de bu amaçlarla örtüşmektedir (Tsaftaris, 1996).

Tüm bitkiler doğal olarak bazı herbisitlere karşı toleranslıdır. Bu, onlarca yıldır selektif yabancı ot kontrolünün temelini sağlamıştır. Bu sebeple, araştırmacılar bu doğal direnci tarımsal ürün çeşitlerine tolerans sağlamak için kullanmaktadırlar (Gray ve ark., 2010). Bu amaçla bazı biyoteknolojik genetik değiştirme teknikleri (transgenik) ve geleneksel üretim teknikleri (transgenik olmayan) kullanılarak herbisite toleranslı bitkiler elde edilmektedir. Bitkilerin çoğunda herbisitlere toleranslı hale getirmek için genler mevcuttur (Duke, 2005). Herbisite toleranslı bitkilerin geliştirilmesi; başka bir organizmadan bir "yabancı" genin bir kültür bitkisine eklenmesiyle GDO (genetiği değiştirilmiş organizma)'lu olarak veya mevcut bitki germplazmından herbisite toleranslı mutantların yeniden üretilmesiyle GDO olmayan bir hibrit üretilmesi şeklindedir (Knezevic ve Cassman, 2003). Transgenik yolla elde edilen

herbisite tolerant bitkiler, bakteriler veya diğer bitkiler gibi çeşitli kaynaklardan dirençli genler alınarak ve bunları, herbisite dirençli hale getirmek için bitkiye dahil ederek geliştirilmektedir. Herbisite toleranslı transgenik bitkiler, dünyada toplam transgenik üretim alanının %47'sini kaplamaktadır (Prakash ve ark., 2020). Tarımsal Biyoteknoloji Uygulama ve Bilgilendirme Kuruluşu (ISAAA)'nın verilerine göre pamuk (*Gossypium hirsutum* L.), soya fasulyesi (*Glycine max* L. Merr.), kanola (*Brassica napus* L.) ve mısır (*Zea mays* L.) dahil olmak üzere 4 bitkide herbisit tolerans transgen işlemi gerçekleştirilmiştir. 16 çeşit organizmadan türetilen 19 herbisit tolerans geni, bu dört bitkinin herbisit tolerans geni olarak rol oynamıştır. 19 herbisit tolerans geninden 7'si, mısır, arabidopsis (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.), soya fasulyesi, tütün (*Nicotiana tabacum* L. cv. Xanthi) ve yulaf (*Avena sativa* L.) dahil olmak üzere beş bitki genomundan ve geri kalanı da mikrobiyal genomlardan elde edilmiştir. Bu 19 gen, glifosat, glufosinat, imidazolinonlar, 2,4-diklorofenoksi (2,4-D), izoksazolon, dikamba, sülfonilüreler, mezotrion ve bromoksinil olan dokuz çeşit herbisite tolerans geliştirmektedir (Wang ve ark., 2018). Transgenik yolla üretilmeyen herbisite toleranslı kültür bitkisi örnekleri arasında Sülfonilüre'ye toleranslı soya fasulyesi (STS) ve Clearfield® teknolojisi ile üretilmiş mısır ve buğday bulunur (Knezevic ve Cassman, 2003; Knezevic, 2010).

Herbisitlere karşı bitki toleransı elde etmek için çok sayıda olası strateji vardır. Bunlar; hedef geni değiştirmek, arttırmak veya aşırı olarak üretmek; hedef enzimi alternatif bir yoldan bertaraf etmek, herbisiti detoksifiye etmek (Tsaftaris, 1996), herbisitini alımını ve translokasyonunu kısıtlayarak hedef bölgeye ulaşmasını engellemek (Knezevic ve Cassman, 2003), herbisitini ayrı tutulmasını (tecrit etmek) sağlamak ve substrat akışını hızlandırmaktır (Tan ve ark.,2006). Bununla birlikte, ticarileştirilmiş herbisit toleranslı kültür bitkisi elde etmede yalnızca iki strateji başarıyla kullanılmıştır. Bunlar; hedef genin değiştirilmesi ve herbisitini metabolizma yoluyla detoksifikasyonudur (Kirkwood, 2002; Naidu ve Ranganath, 2011). Memeliler için düşük toksisiteleri ve yabancı otları kontrol etmedeki yüksek başarısına sahip aminoasit biyosentezini inhibe eden herbisitler, herbisite toleranslı kültür bitkisi geliştirmek için ideal seçimlerdir (Vaughn and Duke, 1991; Reade ve Cobb, 2002).

Herbisit toleransı için geniş genetik varyasyona sahip kültür bitkilerinden bazıları; mısır, buğday, çeltik, soya, nohut ve yoncadır (Prakash ve ark., 2020). Hâlihazırda ticari olarak kullanılan herbisite toleranslı kültür bitkileri arasında, üç ana bitki, aminoasit biyosentezi inhibitörü herbisitlere toleranslı olarak geliştirilmiştir (Duke, 2005). Bunlar; sırasıyla sırasıyla Clearfield®, Roundup Ready® ve LibertyLink® ticari isimli, imidazolinonlara, glyphosatlara ve glufosinatlara tolerant olarak geliştirilmiş bitkilerdir (Tan ve ark., 2006).

Herbisit tolerant bitkilerin yetiştirildiği alanlarda amaç, herbisitlerin üründe zararlanma oluşturmasını engellerken yabancı otların kontrolünü sağlamaktır. Aynı zamanda herbisitlerin üreticiler tarafından daha efektif kullanmasını amaçlamaktadır. 1996-2010 yılları arasında herbisit tolerant bitkilerin kullanımı, sürdürülebilir tarıma katkı sağlayan, daha uygun ve esnek ürün yönetimi, daha yüksek üretkenlik veya net getiri/hektar ve çevresel anlamda daha güvenli, herbisitlerin kullanımının azaltılması gibi önemli faydalar sunan bir yöntem olarak küresel anlamda benimsenmiştir (Naidu ve Ranganath, 2011). Ancak, son yıllarda yapılan bir çok araştırma raporuna göre herbisit tolerantlı kültür bitkilerinin kullanımıyla herbisit kullanımında artış (Peerzada ve ark.,2019) ve buna bağlı olarak çevreye olumsuz etkiler,

biyoçeşitlilik üzerinde değişim, akraba türler arasında gen kaçışı nedeniyle dirençli yabancı otların ve kendiliğinden gelen bitkilerin gelişimi gibi sorunlar bildirilmiştir (Chen ve ark., 2004; Sudianto ve ark., 2013; Bourdineaud, 2020; Prakash ve ark., 2020).

İmi-Tolerant Kültür Bitkileri

İmidazolinonlar; imazamethabenz-methyl, imazamox, imazapic, imazapyr, imazaquin, imazethapyr aktiflerini içeren asetohidroksiasit sentaz (AHAS) veya diğer adıyla asetolaktatın sentezini inhibe eden ALS (Asetolaktat sentaz) inhibitörü herbisit grubu içinde yer alır (Vencill, 2002). Geniş spektrumda dar ve geniş yapraklı yabancı otların kontrolünde kullanılırlar. İmidazolinonlar, baklagillerde, hububatlarda, ormancılıkta, tarım dışı alanlarda ve imidazolinona dayanıklı mısır, çeltik, kanola, ayçiçeği ve buğdayda kullanılır (Shaner, 2003).

İmidazolinonlar, bitkilerin tüm kök ve sürgün büyüme noktalarında protein sentezinde dallanmış zincir aminoasitlerin (valin, lösin, ve izölösin) biyosentezi için gerekli bir enzim olan asetolaktatın, sentezini inhibe ederek bitkileri öldürürler (Tan ve ark., 2005). İmidazolinon grubundaki herbisitler, çok geniş spektrumda yabancı otlarda etkili olması, hayvanlar, kuşlar, balıklar ve omurgasızlar üzerinde düşük toksisite göstermesiyle çevresel profile uygundur (Shaner, 2003). Hayvanlar, ihtiyaç duydukları tüm aminoasitleri sentezlemeyip, bazı aminoasitleri bitkilerden veya bakterilerden elde ettikleri için, imidazolinonlar, diğer etki şekline sahip herbisitlere göre hayvanlar üzerinde daha az toksik etkiye sahip olma eğilimindedir (Reade ve Cobb, 2002). Tüm bu özelliklerinden dolayı ALS inhibitörü herbisit grubundan olan imidazolinonlar herbisit tolerant bitkilerin geliştirilmesi için öncelikli seçilmiştir. İmidazolinon toleranslı bitkiler, kimyasal mutajenez (bir organizmanın genetik bilgisinin bir mutasyon üreterek değiştirildiği bir süreç)'den doğal olarak oluşan ALS gen varyantları veya mutasyonları seçilerek ve bitkiye hiçbir yabancı gen eklenmeden geliştirilmiştir (Tan ve ark., 2005). Değiştirilmiş ALS enzimi, imidazolinon herbisitlere karşı daha az duyarlı hale gelmekte ve sonuç olarak, asetolaktat ve 2-asetohidroksibutirat sentezleri, toleranslı bitkilerde imidazolinonlardan daha az etkilenmektedir (Newhouse ve ark. 1990; Shaner ve ark., 1996).

İlk olarak 1992'de imidazolinon mısır bitkisi ticari olarak geliştirilmiş daha sonra dört imi-tolerant kültür bitkisi geleneksel üretim teknikleri ile elde edilmiştir. ALS mutantları ve seleksiyon kullanılarak imidazolinon bileşiklerine tolerans gösteren imi-tolerant; mısır (*Z. mays* L.), buğday (*Triticum aestivum* L.), çeltik (*Oryza sativa* L.), kanola (*B. napus* L.) ve ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) elde edilmiştir. Bu bitkiler, Clearfield® bitkiler olarak 1992 yılından beri kullanılmaktadır (Tan ve ark., 2005; Anonim, 2012). Mutasyona uğramış imidazolinon toleranslı ALS genlerinin tümü yarı baskındır ve gen dozajı ile ürün toleransı artabilmektedir. Bu beş ticari imidazolinon toleranslı kültür bitkisinin yanı sıra, diğer birkaç kültür bitkisinde de imidazolinon toleransı gösteren ALS gen varyantları keşfedilmiştir (Tan ve ark., 2005).

Mısır, imidazolinon toleransı kazandırmak için seçilen ilk bitki türüdür. İmi-tolerant mısır, imidazolinona toleranslı olarak geliştirilmiş bitkilerin en iyi özelliklerine sahip olanıdır (Newhouse ve ark., 1990). İmi-tolerant mısır melezleri, standart mısır melezlerine göre imazetaphayr ve imazapiclere karşı 1000 kat daha fazla toleranslıdır (Newhouse ve ark., 1990).

Ayçiçeği (*H. annuus* L.), bilhassa erken gelişim döneminden kanopi oluşturuncaya kadarki geçen dönemde yabancı otlarla zayıf rekabet gösterir. Bu nedenle ayçiçeği yetiştiriciliğinde üretimi sınırlandıran faktörlerden biri yabancı otlardır. Genellikle geniş yapraklı yabancı otlarla mücadelede ekim öncesi ve çıkış öncesi herbisitler kullanılmaktadır. Bununla birlikte geniş yapraklı yabancı otların kontrolünde kullanılan ticari herbisitlerden kaynaklı ürün verim kayıpları ise önemli bir sorundur. Clearfield® üretim teknolojisiyle geliştirilen imi-tolerant hibritlerde bazı yaygın yabancı otlara ve orobanşa karşı çıkış sonrası imidazolinon herbisitleri kullanılmaktadır. The Clearfield® teknolojisi, ayçiçeğinde yabancı ot mücadelesinde çıkış sonrası kullanılan imidazolinon herbisitlerin kullanımına kolaylık sağlamak amacıyla geliştirilmiştir. Clearfield® ayçiçeğindeki imidazolinon herbisitlere tolerans özelliği, vahşi bir ayçiçeği popülasyonunda saptanan ALS geninde doğal olarak oluşan bir mutasyondan geliştirilmiştir (Al-Khatib ve ark., 1998). Geleneksel ayçiçeği üretiminde, ürün imidazolinon herbisitlerine karşı duyarlıyken, Clearfield® ayçiçeği hibritleri, bu herbisitlerin lethal dozlarında bile hayatta kalabilmektedir. Bu teknoloji, yabancı genetik bir materyalin girişini içermez ve bu nedenle GDO'suz (genetiği değiştirilmiş organizma) bir süreç olarak ifade edilir (Pfenning ve ark., 2008).

İmi-tolerant çeltik, 1993'de kimyasal mutajenez yoluyla elde edilen ve hayatta kalan tek bir çeltik bitkisinden geliştirilmiştir. İmazetapir, imi-tolerant çeltikte özellikle kırmızı çeltik (*Oryza sativa var sylvatica* L.) olarak bilinen yabancı otta etkili olarak kullanılmaktadır. Çıkış sonrası imazetapirin 70-140 gr.ha⁻¹ uygulamasıyla kırmızı çeltik yabancı otlarında %93 kadar kontrol sağladığı bildirilmiştir (Steele ve ark., 2002). Bununla birlikte Indica pirincinden imazetapir herbisitini tolere edebilen imidazolinona toleranslı yeni bir mutant geliştirilmiştir (Shoba ve ark., 2017).

Yer fıstığı tarlalarında bulunan yabancı otların çoğu mısırdaki da yaygın olduğu için, imazapic kullanılarak denemeler yapılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Yer fıstığı (*Arachis hypogaea* L.) ve soya fasulyesi (*G. max* L.) gibi bazı kültür bitkilerinde imidazolinonlar seçici olsalar da, diğer başka bitkilere uygulandığında ciddi hasar gözlemlenebilmektedir. (Monks ve ark., 1996).

Dünyada İmi-Tolerant Kültür Bitkilerinin Kullanımı

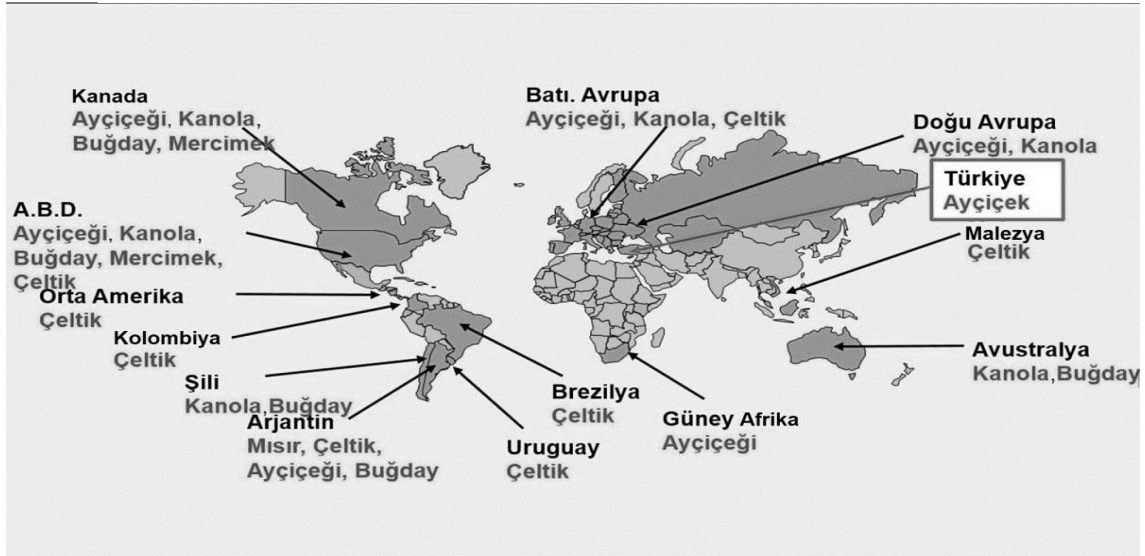
ALS inhibitörü herbisitlere karşı tolerans, mısır, çeltik, buğday, kanola ve ayçiçeği dahil olmak üzere çeşitli kültür bitkilerinde geliştirilmiştir. İmi-tolerant kültür bitkileri geleneksel yetiştirme yöntemleriyle elde edildiğinden ve transgenik olmadığından tüm dünya pazarında kabul edilebilir. (Tan ve ark., 2005).

İmi-tolerant mısır üretimi ilk kez 1982'de başlamıştır. Ancak ilk kez 1992'de ticarileştirilmiştir. İlk olarak 1992'te kullanılan herbisit dayanıklı bitki olarak İMI mısır hibriti ve STS (sulfonilurea tolerant) soya çeşitleri olmuştur (Naidu ve Ranganath, 2011).

Clearfield® üretimde imi-tolerant mısır tohumlarının kullanım miktarı 2002'de Amerika'da yaklaşık olarak 4.9 milyon hektarlık alan olmasına rağmen, toplam mısır ekim alanının sadece %15'ini oluşturmuştur (Tan ve ark., 2005). Clearfield® yetiştiricilik sistemine adapte olan bir örnek olarak kanola bitkisi, Kanada'da 2000-2001 yılları arasında 4-4.9 milyon hektarlık ekim alanıyla toplam üretim alanının %20'sinde kullanılmıştır (Simard ve ark., 2002). Mısır ve kanola, pazarın önemli bir kısmını paylaşmakla birlikte çeltik, buğday ve ayçiçeği de ticari olarak herbisit tolerant teknolojisinde kullanılmaktadır. 2005-2006 yılları

arasında Kanada’da üreticilerin sahip olduğu üretim alanlarının %48’ini herbisit tolerant bitki çeşitlerinin yetiştirilmesinde kullandığı, bunun %10’unu ise Clearfield® teknolojisiyle geliştirilmiş imi-tolerant kanola çeşitlerinden seçildiği bildirilmiştir (Smyth ve ark., 2011). 2004 itibariyle dört imidazolinon herbisitiyle kombinasyon olan beş imi-tolerant bitki Clearfield® üretim sisteminde dünyanın farklı coğrafik bölgelerinde kullanılmaktadır (Şekil 1.). ABD’de onaylanmış imi-tolerant transgenik çeşitler/hibritlerden mısırdaki *IMI* ve *Optimum™ GAT* ve soyada *Cultivance* ‘dır. (Prakash ve ark., 2020; Anonim, 2021c).

Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA)’nın introgresyon (aralarındaki hibridizasyon ve tekrarlanan geri çaprazlama sonucunda bir türden diğerine genetik bilginin aktarılması) çalışmasından doğan ticari imidazolinon toleranslı çeşit IMISUN, 2004 yılında ABD, Arjantin ve Türkiye’de ticari olarak piyasaya sürülmüştür. İlk lansmandan bugüne kadar, IMISUN kullanımında hem bu teknolojiyi benimseyen ülke sayısında hem de pazar payında artış meydana gelmiştir. Ayçiçeği hibrit çeşitleri şu anda Avrupa Birliği (AB), Doğu AB, Kuzey Amerika ve Güney Amerika’daki ayçiçeği yetiştirilicisi yapan 15 ülkede Clearfield® markası altında ticarileştirilmiştir (Sala ve ark., 2008). Ayçiçeği üretiminde özellikle son yıllarda gittikçe artış gösteren canavar otu (*Orabanche* spp.) ve domuz pıtrağı (*Xanthium strumarium* L.) başta olmak üzere, kontrolü zor olan yabancı otlara karşı mücadele sağlamak amacıyla Clearfield® teknolojisi kullanılmıştır. Dünyada Clearfield® adı altında farklı kültür bitkilerinin ülkeler bazında kullanım durumu Şekil 1.’de gösterilmiştir (Anonim, 2021c).



Şekil 1. Dünyada Clearfield® Kullanımı

Avrupa’da imidazolinona toleranslı kışlık kanola (*B. napus* L.)’nın piyasaya sürülmesi, yabancı ot mücadelesinde iyi bir gelişme olarak kaydedilmiştir. Kanola, turpgiller (Cruciferae) ailesindedir ve bu yüzden çok sayıda crusifer yabancı ot türleri ile akrabadır. Genelde kanola birçok herbisite karşı düşük toleranslıdır ve özellikle imidazolinonlara karşı duyarlıdır. Kanolanın doğal hassasiyeti, önceki sezonda uygulanan imidazolinon herbisitler tarafından dahi zarar görmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle, imi-tolerant kanola, daha iyi yabancı ot kontrolü için potansiyel sunabilmektedir. Bu anlamda imidazolinona toleranslı bir kanolanın geliştirilmesi, potansiyel ürün hasarı endişelerini azaltacağı düşünülmektedir.

Clearfield® üretim sisteminin geliştirilmesiyle elde edilen deneyimle, mücadelede standart herbisitlerin kullanımına kıyasla bu bitkilerin daha güvenilir ve sürdürülebilir olduğu bildirilmiştir (Pfenning ve ark., 2012a).

Amerika'da kışlık buğdaylarda sorun olan sakal otu (*Aegilops cylindrica* Host), püsküllü çayır (*Bromus tectorum* L.), çavdar (*Secale cereale* L.), yabancı yulaf (*Avena fatua* L.) ve İtalyan çimi (*Lolium multiflorum* Lam.), konvansiyonel üretimde ciddi verim ve kalite kayıplarına yol açan önemli yabancı otlardır. İmi-tolerant kışlık buğday çeşitleri 2003 yılında Pasifik Kuzeybatısı'nda ilk kez geliştirilmiştir. İmazamox tek gen toleransı olan Clearfield® varyetelerinde, herbisit uygulamaları sonrası üründe verim düşüşü ve zararlanma gözlemlenmiştir. Bu durum, imi-tolerans herbisitinin uygulama zamanı, buğdayın fenolojik dönemi ve çevresel koşullara bağlı olarak, Clearfield® varyetesi imi-tolerant buğday çeşidinin herbisiti (imizamox) metabolize kabiliyetini azaltabilmesinden kaynaklı olabileceği rapor edilmiştir. Sonuç olarak, bölgede gözlemlenen imizamox toleransındaki küçük farklılıkların herbisitinin uygulama zamanı ve dozundan kaynaklandığı kanaatine varılmıştır (Ball ve Peterson, 2017).

Clearfield® ayçiçeği üretimi, İmiSun sistemi olarak da adlandırılmaktadır. Clearfield® İmiSun özellik, ilk kez Amerika'da 1996 yılında imi-tolerant olan yabancı ayçiçeği varyetelerinden elde edilmiştir (Al-Khatib et al, 1998). İlk Clearfield® üretim imi-tolerant bitki melezleri ilk olarak 2003 yılında Türkiye'de son olarak Arjantin, ABD ve diğer ülkelerde çiftçilere tanıtılmıştır. Bununla birlikte dünyanın farklı yerlerinde imi-tolerant kültür bitkilerinin uygulandığı tarım arazilerinde yabancı otlarla mücadelede kullanılan farklı aktif içerik miktarlarıyla çıkış öncesi ve çıkış sonrası kullanılabilen ticarileştirilmiş herbisitler mevcuttur (Tan ve ark., 2006; Anonim, 2017). Clearfield® İmiSun üretim sisteminde kullanılmak üzere ticarileştirilmiş imidazolinonun çıkış sonrası 6-8 yapraklı dönemde (İmazamox (40 g/l)) uygulanmasıyla ayçiçeğinde önemli bazı geniş yapraklı yabancı otlar mücadelede başarı sağlanmıştır (Pfenning ve ark., 2012b). Clearfield Plus® (CL Plus), ayçiçeğinde imizapyre seçici mutant olan tohumlar olarak geliştirilmiştir. Bu uygulama, klasik Clearfield® teknolojisine göre farklı çevresel koşullarda daha esnek yabancı ot kontrolü, yüksek ürün yağ içeriği sağlamak gibi avantajları mevcuttur (Kaya ve ark., 2018). Clearfield Plus®'ın geliştirilmesiyle, nispeten daha yüksek bir imidazolinon toleransı sağlanmıştır (Sala ve ark., 2012).

Ülkemizde ilk defa olarak ayçiçeğinde Clearfield® marka adıyla yapılan uygulamalar 2003 yılında olarak çok sayıda yapılan demonstrasyonlar ile çiftçilere tanıtılmıştır. Bu yöntem ile hem canavar otu, hem de birçok yabancı otla mücadele edilebilmektedir. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü (TTAE)'nde yapılan çalışmalarda, seçilen bitkilerde ilaçlama sonucu oluşan hafif sararma, ilaçlamadan itibaren, ikinci haftada büyük ölçüde kayb olduğu belirlenmiştir. Gözlemlenen yabancı otlardan domuz pıtrağı (*Xhantium strumarium* Wallr.), köy göçüren (*Cirsium arvense* L.), yabancı yulaf (*Avena sterilis* L.), tarla sarmaşığı (*Colvolvulus arvensis* L.), sirken (*Chenopodium album* L.), darıcan (*Echinochloa crus-galli* (L.) P.Beauv.) yabancı hardal (*Sinapsis arvensis* L.) horoz ibiği (*Amaranthus albus* L.)'nin büyüme noktalarının tamamen öldüğü belirlenmiştir (Aksoy ve Pekcan, 2014). Ülkemizde TTAE'nde tescil edilen ve yağlık ayçiçeğinde imidazolinon grubu herbisitlere yüksek toleranlı ıslah yöntemiyle elde edilmiş 10 İMI TR 029 çeşidi mevcuttur (Anonim, 2021b).

Kanada Sağlık Dairesi, imidazolinon herbisitlerine tolerans sağlamak amacıyla bitki genetik materyalinde nokta mutasyonuna neden olduğu bilinen kimyasal mutajen Etil metan sülfonat (EMS)'a maruz bıraktığı mercimek kültürvarları olarak RH44 mercimek hattı geliştirmiştir (Anonim, 2012).

Çeltik tarlalarında dayanıklılık geliştirmiş olan kırmızı çeltik kontrolü için, imidazolinon grubu herbisitlere toleranslı çeltik çeşitleri geliştirmek amacıyla 2007-2014 yılları arasında 8 yıllık bir çalışma yürütülmüştür. Çalışma Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde, ticari çeltik çeşitleriyle imidazolinon grubu herbisitlere dayanıklı bir çeşit arasında gerçekleştirilen 13 kombinasyon melez geliştirilmesiyle başlamıştır. Bu melez kombinasyonları kullanılarak, bir ıslah çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar sonucunda; 2011 yılından itibaren saf hatlar elde edilmeye başlanmıştır. Elde edilen hatlar, 2012 yılından itibaren, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarlalarında denemeye alınarak agronomik ve teknolojik özellikler bakımından gözlem ve değerlendirmeler yapılmış, 2014 yılı sonunda, elde edilen sonuçların değerlendirilmesi sonucu, imi-tolerant 5 ümitvar hat, tescile aday gösterilmiştir. Bunlardan ikisine, 2014 yılının aralık ayında üretim izni alınmıştır (Sürek ve ark., 2016).

Etil metan sülfonat (EMS) ile mutajene edilmiş Fırat-87 çeşidinden seçilen 139 M5 mercimek genotipi ile 6 mercimek çeşidi (Fırat-87, Çağıl ve 4 Kanada menşeli) dahil toplam 145 genotipin, imazamox herbisitine toleransları belirlenmiştir. Yapılan denemelerde herbisit uygulaması, önerilen dozun %50 fazlası (1500 ml.ha⁻¹ veya 60 g a.i. ha⁻¹) olacak şekilde bitkiler 5-6 boğumlu olduğu dönemde uygulanmıştır. Genotiplerin herbisite karşı tepkisi, bitki boyu ölçümleri ve 1-5 skalası (1=dirençli, 5= ölü) ile tarla şartlarında herbisit uygulamasından 45 ve 60 gün sonra, sera şartlarında ise 30 ve 60 sonra değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre dört genotip (IMI-128, IMI-130, IMI-138 ve IMI-139), hem tarla hem de sera şartlarında yüksek herbisit toleransı sergilemiştir. Bu genotiplerin, herbisite toleranslı mercimek çeşitlerinin geliştirilmesi için ıslah programlarında kullanılabileceği rapor edilmiştir (Ahmed, 2019).

Kanada'nın batısında nohut (*Cicer arietinum* L.) yetiştirilen alanlarda imidazolinon herbisitlerine toleranslı genlerin tanımlanması ve gelecek kültür bitkisi varyetelerinde kullanılmasına yönelik yapılan araştırmalarda, nohutta imazethapyr/imazamox toleransı için geleneksel ıslahın mümkün olduğu bildirilmiştir (Taran ve ark., 2010).

İmi-Tolerant Kültür Bitkilerinin Avantajları

Herbisit tolerant bitkiler, üreticilere yabancı otlarla mücadelede daha iyi ve etkin kontrol, ürün zararlanmasında azalma, düşük maliyet, daha az herbisit kullanımı, dayanıklı yabancı ot gelişiminin önlenmesi, toprak işlemenin azalması ve çevresel risklerin azaltılması gibi fırsatlar sunmaktadır (Felton ve ark., 1996; Vrbničanin ve ark., 2017). İmidazolinon herbisitler, çevresel profile uygun, düşük dozlarda bile etkili olan çok geniş yabancı ot etki spektrumuna sahip olup hayvanlar, kuşlar, balıklar ve omurgasızlar üzerinde düşük toksisite olması ile nispeten çevresel profile uygun herbisitlerdir. Bu özellikleri, geleneksel üretim teknikleri (transgenik olmayan) ile imidazolinona tolerant (imi-tolerant) bitkilerin geliştirilmesine olanak sağlamış ve imi-tolerant bitkiler kullanılarak yapılan yabancı ot mücadelesinde ülkemizde başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Aksoy ve Pekcan, 2014). İmidazolinona toleranslı kültür bitkilerinin geliştirilmesinde GDO'suz yani yabancı genetik

bir materyalin girişini içermeyen yöntemin kullanılmaması da GDO'lu bitkilerden elde edilen ürünlerin sağlık riski taşıdığı görüşü (EFSA, 2004) oluşmayacaktır.

Son dönemde birçok önemli yabancı ot türünde ALS inhibitörü herbisitlerine karşı yaygın bir direnç görülmektedir. Dünya genelinde hali hazırda ALS grubu herbisitlere karşı 2021 yılı sonuna kadar 191 yabancı ot türü dayanıklılık vakası bildirilmiş olup, gün geçtikçe de bu rakam artmaktadır (Heap, 2021). Elbette yoğun herbisit kullanımı yerine ruhsatlı ve uygun dozların uygulanması her teknikte esastır. Böylece hem direnç hem de üründe meydana gelebilecek fitotoksite engellenmiş olacaktır. Tek bir uygulamayla dar ve geniş yabancı otlara karşı mücadele sağlanmış olacak ve bu sayede makine kullanımını azaltılmasıyla enerji tasarrufu sağlanarak çevresel olarak da CO₂ salınımının azalması (Ali ve ark., 2014) ürün yönetimi esnekliği ve kolaylığı sağlayabilecektir. Direnç sorununa karşı yeni seçici herbisitlerin geliştirilmesi ve özellikle pazarda yer edinmesi gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır. Bu anlamda yeni ticari herbisitlerin tescilinde meydana gelen zorlukların üstesinden gelmede imi-tolerant bitkilerin kullanımı başarılı bir yöntem olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca yabancı ot mücadele problemlerine alternatif bir çözüm sunmasıyla yeni bir tekniktir (Prakash ve ark., 2020).

İmi-tolerant kültür bitkilerin kullanımı son yıllarda yabancı ot mücadelesinde alternatif bir mücadele yöntemi olarak karşımıza çıkmakta ve adaptasyonunun sağlanarak tarımsal uygulamalardaki kullanımıyla herbisit dayanıklılığı sorununa çözüm sunabileceği düşünülmektedir. Bu tür sürdürülebilir uygulamalar, yetiştiriciler için kısa vadede maliyetli olsa da, özellikle uygun politikalar ve teşvikler uygulandığında, uzun vadede faydalı sağlayacaktır (Lamichhane ve ark., 2017). Bununla birlikte spesifik imi-tolerant ürünlerin ticarileştirilmesinde nihai karara varmadan önce, üründe potansiyel verim kaybı, herbisit performansı, ürün tescil ve kimyasal maliyetleri, yabancı ot türlerine gen kaçış potansiyeli gibi konular dikkate alınmalıdır (Tsafaris, 1996). Tarım işçiliğinin azalması, mekanik mücadele ve herbisit uygulama maliyetinin artması gibi konular herbisit toleransı için ıslahı zorunlu kılmaktadır.

İmi-Tolerant Kültür Bitkilerinin Dezavantajları

Herbisit tolerant bitkiler; herbisitlere dirençli yabancı ot ve kültür bitkilerinin gelişmesi, duyarlı akraba yabancı otlara gen akışı ve kendiliğinden gelen bitkilerde artış gibi riskleri de beraberinde getirmektedir (Powles ve Shaner, 2001; Devine, 2005; Prakash ve ark., 2020). Öte yandan, yoğun herbisit kullanımı sonucu oluşabilecek herbisit sürüklenmesiyle çevresel olumsuzlukların ortaya çıkması endişesi oluşabilmektedir (Felton ve ark., 1996). Zira son yıllarda özellikle herbisit toleranslı kültür bitkilerinin kullanımının pestisit kullanımı üzerindeki etkileri önemli bir tartışma konusu olmuştur. Bazıları bu çeşitlerin herbisit kullanımında azalma sağladığını iddia ederken, bazıları ise tam tersini iddia etmektedir (Bonny, 2016).

Herbisit tolerant bitkiler, yabancı ot mücadelesinde küresel üretime katkı sağlayacak yeni bir çözüm sunmuş olsa da, herbisite toleranslı kültür bitkilerinin yetiştirildiği tarımsal üretim sistemlerinde aynı etki mekanizmasına sahip tek bir herbisite veya herbisit grubuna aşırı bağımlılık nedeniyle herbisite dayanıklı yabancı otların evrimleşmesini hızlandırma ve aynı zamanda tarım arazilerinin biyolojik çeşitliliğini azaltma gibi bir endişe ortaya çıkmaktadır (Malidza ve ark., 2016; Prakash ve ark., 2020). Ayrıca Avrupa ülkelerinde son

dönemde görülen önemli sorunlardan biri de sürekli monokültür yapılan alanlarda uzun süre herbisit tolerant bitkilerin kullanımıyla kendiliğinden gelen bitkilerdir. Kendiliğinden gelen bitki kültürvarları çeltik, soya, ve hardal gibi bitkilerin hasat döneminde tohumların yayılmasıyla ortaya çıkarlar ve mücadelesi oldukça zordur (Prakash ve ark.,2020).

Herbisit tolerant bitkilerin kullanımında dezavantajlardan biri, süper yabancı otların ortaya çıkışıdır. Süper yabancı otlar, genetiği değiştirilmiş bir bitki tarafından kazara tozlaşan ve bitkinin herbisitlere ve böceklerle direnme yeteneği geliştirmiş vahşi bitkilerdir. Süper yabancı otlar, herbisite toleranslı kültür bitkisindeki direnç geninin doğal yollarla akrabalığı olan yabancı ota transferi ile ortaya çıkar (Prakash ve ark., 2020).

Herbisit tolerant bitkilerin kullanımıyla meydana gelen dez avantajlardan biri de “gen kaçıışı”dır. Transgenik özelliğin tozlaşma yoluyla akraba yabancı ota aktarılması şeklinde gerçekleşebilir. Kültür bitkileri ve buna akraba yabancı otlar fırsat bulduklarında polen transferi ile gen değiştirme gerçekleşebilmektedir. Dane sorgum (*Sorghum bicolor* L.) kültür bitkisi ile akraba yabancı ot olan kanyaş (*S. halepense* L. (Pers.)) arasında kendiliğinden oluşan gen kaçıışının gerçekleştiği (Vrbničanin ve ark., 2017) ve hibrit formların oluştuğu bilinmektedir (Naidu ve Ranganath, 2011).

Seefeldt ve ark. (1998) bildirdiğine göre, sakal otu (*A. cylindrica*) buğdayda önemli bir yabancı ottur ve imi-tolerant buğday bitkilerinin polenlerinden sakal otuna gen transferi olabildiğini rapor etmiştir. Bu durumda, imi-tolerant buğday üretimi yapan üreticilerin imidazolinon herbisitleri kullanmaya devam etmek istemesiyle sorun giderek artmaktadır. Aynı gen transferinin imi-tolerant çeltikte, dünyada çeltik alanlarında yaygın bir yabancı ot olan kırmızı çeltik yabancı otunda da meydana geldiği bildirilmiştir (Langevin ve ark., 1990; Tan ve ark., 2005).

İmi-tolerant kültür bitkilerinin kullanımı ile ortaya çıkabilecek olası negatif etkiler aşağıda listelenmiştir (Prakash ve ark., 2020)

- Artan herbisit kullanıma bağlı çevre ve insan sağlığına olumsuz etkileri (Goldburg, 1992; Bourdineaud, 2020).
- Ekotoksosite (toprak mikroorganizmaları, tarımsal fauna ve flora üzerinde yan etkiler)
- Herbisite dayanıklı yabancı ot ve kendiliğinden gelen kültür bitkilerinin gelişmesi (Senior ve Dale, 2002; Sudianto ve ark., 2013).
- Tarımsal verim performansının etkilenmesi (Ball ve Peterson, 2007).
- Yabancı ot türlerinde değişimler (büyüklük veya gellişim farkları)(Casquero ve ark., 2012).
- Gen kaçıışı (Chen ve ark., 2004).
- Herbisit tolerant yabancı otların gelişmesi ve yabancı ot popülasyonları içinde gen akışı (Knezevic ve Cassman, 2003).
- Herbisit sürüklenmesinin artması (Sharkey ve ark., 2021).

SONUÇ

İmidazolinonlar, düşük dozlarda bile etkili olan geniş spektrumda yabancı ot kontrolü sağlayan, çevresel anlamda düşük toksisiteye sahip ALS grubu herbisitlerdir. İmi-tolerant bitkilerle yapılan üretimle, üründe fitotoksosite gelişiminin azalması, yabancı ot mücadelesine karar vermede EZE (ekonomik zarar eşiği) belirlenmesinin daha kolay olabilmesi ve bu

sayede daha iyi ve etkin kontrol sağlanması, kalıntı gibi sorunların azalması, toprak işlemenin azalması hedeflenmektedir. İmi-tolerant bitkilerin geliştirilmesinde geleneksel üretim teknikleri kullanıldığından GDO'lu bitkilere olan bakış açısı gelişmeyecek, çok geniş spektumda yabancı ot kontrolü sağlanacak ve böylece ürün veriminin artması sağlanabilecektir. Ancak bu avantajların yanında yoğun herbisit kullanımı endişesi ortaya çıkmaktadır. Bu da doğrudan ve dolaylı olarak çevresel olumsuzlukların ortaya çıkmasını ve dirençli yabancı otların artışı teşvik edebilir. Tek bir herbisite toleranlı bitkilerin kullanımı sonucu yabancı otlarda evrimleşmeyi arttırarak süper yabancı otların ortaya çıkışına ve biyoçeşitliliğin bozulmasına neden olabilir. Herbisit tolerant ürünler entegre yabancı ot mücalesinde en etkili ve sürdürülebilir araçlardan biri gibi görülse de pratikte herbisit tolerant bitkilerin entegre yabancı ot yönetimine dahil edilmesini çoğu kez teknik ve sosya-ekonomik faktörler sınırlandırmaktadır. Bunlar; yabancı otlar ve bunların mücadelesi hakkındaki bilgileri öğrenmek ve geliştirmek için eğitim programlarının gerekliliği, mevcut mücadele programlarının revizyonu ve ürün rotasyonunun dahil edilmesinin sağlanması, bahsi geçen konularda yetiştiriciler için eğitim kurslarının zorunlu hale getirilmesi, üreticilerin biyolojik çeşitliliği korumaya yönelik farkındalığının artırılması, kamu politikasının geliştirilmesi ve çevresel risk değerlendirmesinin kapsamının genişletmesi olarak sayılabilir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, Z. H., 2019. Screening of advanced generation lentil mutant genotypes for tolerance to imazamox herbicide /Mercimekte ileri generasyon mutant hatlarda imazamox herbisite dayanıklılığın belirlenmesi. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi (Basılmış).
- Aksoy, E., Pekcan, V., 2014. Canavar otları (Orobanche spp., Phelipanche spp.) ve Mücadelesi. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı Yayınları, Ankara, 80s.
- Ali, M. A., Rehman, I., Iqbal, A., Din, S., Rao, A. Q., Latif, A., Husnain, T., 2014. Nanotechnology, a new frontier in Agriculture. *Adv life sci*, 1(3), 129-138.
- Al-Khatib, K., Baumgartner, J. R., Peterson, D. E., Currie, R. S., 1998. Imazethapyr resistance in common sunflower (*Helianthus annuus*). *Weed Science*, 403-407.
- Anonim, 2012. Implementing Integrated Weed Management for Herbicide Tolerant Crops, CropLife International, <https://croplife.org/wp-content/uploads/2014/04/Implementing-Integrated-Weed-Management-for-Herbicide-Tolerant-Crops.pdf> (Erişim tarihi: 01.11.2021)
- Anonim, 2017. The guide to nufarm imicrops® herbicides and best management practices. https://cdn.nufarm.com/wp-content/uploads/sites/22/2018/05/06182501/BRimiCrops-2017imiCropsTheGuideToNufarmImiCropsHerbicidesAndBestManagementPractice_WEB_V1.pdf (Erişim tarihi: 09.04.2021)
- Anonim, 2021a. Weed Technology Volume 12, Issue 4 (October-December) 1998. p. 789. <https://wssa.net/wssa/weed/resistance/herbicide-resistance-and-herbicide-tolerance-definitions/> (Erişim tarihi: 25.05.2021)
- Anonim, 2021b. 10 İmı Tr 029 Hibrit Ayçiçeği Çeşit Üretim Ve Satış Hakkı Teknik Şartnamesi. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/ttae/> (Erişim tarihi: 17.04.2021)
- Anonim, 2021c. Clearfield® Üretim Sistemi, <https://www.agro.basf.com.tr/tr/%C3%9Cr%C3%BCnler/Clearfield/Clearfield/> (Erişim tarihi: 01.11.2021).
- Ball, D. A., Peterson, C. J., 2007. Herbicide tolerance in imidazolinone-resistant wheat for weed management in the Pacific Northwest USA. In *Whea tproduction in stressed environments*. pp. 243-250.
- Bonny, S., 2016. Genetically modified herbicide-tolerant crops, weeds, and herbicides: overview and impact. *Environmental management*, 57(1), 31-48.
- Bourdineaud, J. P., 2020. Toxicity of the herbicides used on herbicide-tolerant crops, and societal consequences of their use in France. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-24.
- Casquero, M., Luisoni, A. J., Kiehr, K., Cantamutto, M., 2012. Invasive helianthus interference in an imi sunflower crop. In *Proc of 18 th International Sunflower Conference, Mar del Plata, Argentina*. pp. 513-518.

- Chen, L. J., Lee, D. S., Song, Z. P., Suh, H. S., Lu, B. R., 2004. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. *Annals of botany*, 93(1), 67-73.
- Devine, M. D., 2005. Why are there not more herbicide- tolerant crops?. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 61(3), 312-317.
- Duke, S. O., 2005. Taking stock of herbicide-resistant crops ten years after introduction. *Pest Manage Sci* 61: 211–218.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2004. Opinion of the Scientific Panel on genetically modified organisms [GMO] on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from herbicide- tolerant genetically modified maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto. *EFSA Journal*, 2(3), 9.
- Felton, W. L., Medd, R. W., Martin, R. J., 1996. An ecological perspective on the use of herbicide tolerant crops in integrated weed management. In *Eleventh Australian Weeds Conference Proceedings* (Vol. 11, pp. 586-592).
- Goldburg, R. J., 1992. Environmental concerns with the development of herbicide-tolerant plants. *Weed Technology*, 6(3), 647-652.
- Gray, J., Shattuck, J., Bradford, K., 2010. Herbicide Tolerance in Agricultural Crops, Biotechnology for Sustainability, <https://ucanr.edu/sites/sbc/files/191417.pdf> (Erişim tarihi:06.06.2021)
- Heap, I., 2021. The International Herbicide-Resistant Weed Database. <http://www.weedscience.org/Pages/SOASummary.aspx> (Erişim tarihi: 15.12.2021).
- Kaya, Y., Sahin, S., Beşer, N., 2018. Determining of yield performances of some imi resistant sunflower hybrids in Trakya region, Turkey. *The Eurasia Proceedings of Science Technology Engineering and Mathematics*, (3), 126-132.
- Kirkwood R.C., 2002. Herbicide-tolerant crops. In: Naylor REL (ed) *Weed management handbook*. Blackwell, Oxford, pp 253–279.
- Knezevic, S. Z., Cassman, K. G., 2003. Use of herbicide- tolerant crops as a component of an integrated weed management program. *Crop Management*, 2(1), 1-7.
- Knezevic, S. Z., 2010. Use of Herbicide-Tolerant Crops as Part of an Integrated Weed Management Program, <https://extensionpublications.unl.edu/assets/html/g1484/build/g1484.htm> (Erişim tarihi: 10.06.2021)
- Lamichhane, J. R., Devos, Y., Beckie, H. J., Owen, M. D., Tillie, P., Messéan, A., Kudsk, P., 2017. Integrated weed management systems with herbicide-tolerant crops in the European Union: lessons learnt from home and abroad. *Critical reviews in biotechnology*, 37(4), 459-475.
- Langevin S. A., K. Clay, Grace, H. B., 1990. The incidence and effects of hybridization between cultivated rice and its related weed, redrice (*Oryza sativa* L.). *Evolution* 44: 1000-1008.
- Malidza, G., Vrbnicanin, S., Bozic, D., Jovic, S., 2016. Integrated weed management in sunflower: challenges and opportunities. *ISC 2016*, 90.
- Monks, C. D., Wilcut, J. W., Richburg, J. S., Hatton, J. H., Patterson, M. G., 1996. Effect of AC 263,222, imazethapyr, and nicosulfuron on weed control and imidazolinone-tolerant corn (*Zea mays*) yield. *Weed technology*, 822-827.
- Naidu, V. S. G. R., Ranganath, A. R. G., 2011. Herbicide Tolerant Crops Emerging Tool in Weed Management. *pp. 173, 173*.
- Newhouse, K. E., Shaner, D. L., Wang, T., Fincher, R., 1990. Genetic modification of crop responses to imidazolinone herbicides.
- Oerke, E., 2006. Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43.
- Peerzada, A. M., O'Donnell, C., Adkins, S., 2019. Optimizing Herbicide Use in Herbicide-Tolerant Crops: Challenges, Opportunities, and Recommendations. In *Agronomic Crops*. pp. 283-316.
- Pfenning, M., Palfay, G., Guillet, T., 2008. The CLEARFIELD® technology—A new broad-spectrum post-emergence weed control system for European sunflower growers. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 21, 649-654.
- Pfenning, M., Kehler, R., Bremer, H., 2012a. New perspectives for weed control in winter oil seed rape due to the introduction of the Clearfield® system. *Julius-Kühn-Archiv*, 2(434), 435-442.
- Pfenning, M., Tan, S., Perez-Brea, J., 2012b. Weed control in Clearfield-Plus sunflowers with superior herbicide solutions. In *Proc XVIII Sunflower Conf., Mar del Plata-Balcarce, Argentina*. pp. 535-538.
- Powles, S. B., Shaner, D. L., 2001. *Herbicide resistance and world grains*. Crc Press.
- Prakash, N. R., Chaudhary, J. R., Tripathi, A., Joshi, N., Padhan, B. K., Yadav, S., Kumar, R., 2020. Breeding for herbicide tolerance in crops: a review.
- Reade, J. P. H., Cobb, A. H., 2002. *Herbicides: Modes of Action and Metabolism*. I: Naylor, REL (red), *Weed Management Handbook*.
- Sala, C. A., Bulos, M., Echarte, A. M., Whitt, S., Budziszewski, G., Howie, W., Weston, B., 2008. Development of CLHA-Plus: a novel herbicide tolerance trait in sunflower conferring superior imidazolinone tolerance

- and ease of breeding. In *Proceedings of XVII International Sunflower Conference, Cordoba, Espana*. pp. 489-494.
- Sala, C. A., Bulos, M., Altieri, E., Weston, B., 2012. Response to imazapyr and dominance relationships of two imidazolinone-tolerant alleles at the Ahasl 1 locus of sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, 124(2), 385-396.
- Seefeldt S. S., R. Zemetra, F., Youngand, S. Jones.,1998. Production of herbicide-resistance jointed goat grass (*Aegilops cylindrica*) x wheat (*Triticum aestivum*) hybrids in the field by natural hybridization. *Weed Sci.* 46, 632- 634
- Senior, I. J., Dale, P. J., 2002. Herbicide- tolerant crops in agriculture: oilseed rape as a case study. *Plant Breeding*, 121(2), 97-107.
- Shaner, D. L.,2003. Imidazolinone herbicides. In: Plummer, D., Ragsdalr, N. (ed.): *Encyclopedia of Agrochemicals*. Pp. 769-784. John Wiley and Sons, Hoboke 2003.
- Sharkey, S. M., Williams, B. J., Parker, K. M., 2021. Herbicide Drift from Genetically Engineered Herbicide-Tolerant Crops. *Environmental Science & Technology*.
- Shoba, D., Raveendran, M., Manonmani, S., Utharasu, S., Dhivyapriya, D., Subhasini, G., Sharma, R. P., 2017. Development and genetic characterization of a novel herbicide (Imazethapyr) tolerant mutant in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice*, 10(1), 1-12.
- Simard, M. J., Légère, A., Pageau, D., Lajeunesse, J., Warwick, S., 2002. The frequency and persistence of volunteer canola (*Brassica napus*) in Quebec cropping systems. *Weed Technology*, 16(2), 433-439.
- Smyth, S. J., Gusta, M., Belcher, K., Phillips, P. W., & Castle, D. (2011). Environmental impacts from herbicide tolerant canola production in Western Canada. *Agricultural Systems*, 104(5), 403-410.
- Steele, G. L., Chandler, J. M., McCauley, G. N., 2002. Control of Red Rice (*Oryza sativa*) in Imidazolinone-Tolerant Rice (*O. sativa*) 1. *Weed Technology*, 16(3), 627-630.
- Sterling, T. M., Hal, J. C., 1997. Mechanism of action of natural auxins and the auxinic herbicides. *Reviews in Toxicology*, 1, 111-142.
- Sudianto, E., Beng-Kah, S., Ting-Xiang, N., Saldain, N. E., Scott, R. C., Burgos, N. R., 2013. Clearfield® rice: Its development, success, and key challenges on a global perspective. *Crop Protection*, 49, 40-51.
- Sürek, H., Ünan, R., Beşer, N., Kaya, R., Kara, A., 2016. Yabancı ot ilaçlarına dayanıklı bazı çeltik (*Oryza sativa* L.) genotiplerinin geliştirilmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25(1), 94-99.
- Tan, S., Evans, R. R., Dahmer, M. L., Singh, B. K., Shaner, D. L., 2005. Imidazolinone- tolerantcrops: history, currentstatusandfuture. *Pest Management Science: FormerlyPesticideScience*, 61(3), 246-257.
- Tan, S., Evans, R., & Singh, B., 2006. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. *Amino acids*, 30(2), 195-204.
- Taran, B., Warkentin, T. D., Vandenberg, A., Holm, F. A., 2010. Variation in chickpea germplasm for tolerance to imazethapyr and imazamox herbicides. *Canadian Journal of Plant Science*, 90(1), 139-142.
- Tsaftaris, A., 1996. The development of herbicide-tolerant transgenic crops. *Field Crops Research*, 45(1-3), 115-123.
- Uygur, S., Uygur, F. N., 2010. Yabancı Otların Biyolojik Mücadelesi. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1), 79-95.
- Vaughn, K. C., Duke, S. O., 1991. Biochemical basis of herbicide resistance. In *Herbicide Resistance—Brassinosteroids, Gibberellins, Plant Growth Regulators* (pp. 141-169). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Vencill, W. K. 2002. *Herbicide hand book* (No. Ed. 8). Weed Science Society of America. 2002 No.Ed. pp. 493.
- Vrbničanin, S., Božić, D., & Pavlović, D., 2017. Gene flow from herbicide-resistant crops to wild relatives. *Herbicide Resistance in Crops and Weeds* (Ed. Pacanoski, Z.), InTech, 37-63.
- Wang, Y., Wang, M., Xiang, S., Liu, Q., Qiang, S., Song, X., 2018. Analysis on the event of global herbicide tolerant transgenic crops. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 26(1), 167-175.



Research / Araştırma

**The Determination of Lead and Cadmium Concentration in the Agricultural Soils
Alongside Highway 080 of Iğdir Province**

Mucahit KARAOĞLU^{1*}, Cemal KUÇUK²

ABSTRACT

Gases emitted from both industrial estates and automobile exhausts in agricultural areas cause heavy metal pollution and these metals accumulate in the soil and plants. In this study, 72 soil samples were taken at 5 km intervals from 24 points along the Tuzluca-Iğdir-Nakhchivan route, through which the 080 State Road passes, at 0-10-30 meters perpendicularly inwards from the road and at a depth of 0-20 cm. Total lead (Pb) and cadmium (Cd) accumulations were determined in the samples. The significant decrease in lead and Cd concentrations away from the road indicates that heavy metal deposits have been caused by traffic. The effect of prevailing winds on total Pb and Cd deposition in north and south of the State Highway 080 was statistically insignificant. As the relationships between heavy metal concentrations and soil physical properties were considered, significant negative correlations were found between total Cd concentrations and sand and organic matter contents. Heavy metal pollution index (PI) values were found to be slightly and moderately polluted for Pb and close to highly polluted for Cd according to threshold values. The pollution load index (PLI) values were calculated as a function of the pollution index and according to the PLI results, it was evaluated that Pb and Cd triggered each other in terms of increasing toxic effects. It has been concluded that, with the re-establishment of the Silk Road, the traffic-related pollution will increase in the region.

Keywords: Lead (Pb), Cadmium (Cd), Pollution index (PI), Pollution load index (PLI), Iğdir Highway 080.

¹Mücahit KARAOĞLU (0000-0002-7388-9192), Iğdir University, Iğdir Agricultural Faculty, Department of Soil Science and Plant Nutrition

²Cemal KÜÇÜK (0000-0002-4609-4634), Agricultural engineer, Ministry of Agriculture and Forestry

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mücahit KARAOĞLU, e-mail: mucahit.karaoglu@igdir.edu.tr

* Bu çalışma Cemal KÜÇÜK'ün Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

ETİK KURUL ONAYI/ETHICS COMMITTEE APPROVAL: Çalışma etik kurul onayı gerektirmemektedir.

Makale Geliş Tarihi (Received): 21-09-2021

Makale Kabul Tarihi (Accepted): 18-10-2021

INTRODUCTION

Environmental pollution especially in soils has serious impacts human and other living organisms' health through the plants, ground water and the atmosphere (Al-Massaedh and Al-Momani, 2020). Human can be exposed heavy metals especially from highway traffic emissions are of very serious damages, and therefore it has been a popular subject for the researchers. Heavy metals can be indigenously or anthropogenically accumulated in soils situating in the vicinity of roadsides (Surucu et al., 2018). Despite soil and water reservoirs are the ultimate accumulation environment; human body, drinking water, plant and foods are the unwanted accumulation media of heavy metals (Wuana and Okieimen, 2011).

Toxic heavy metals mainly lead (Pb), cadmium (Cd) and others such as mercury (Hg), chromium (Cr), tin (Sn), nickel (Ni) and arsenic (As) are perilous pollutants. They are well known to have a negative effect on human health (Al-Massaedh et al., 2018), and are characterized by persistency in the environment and very long biological half-life (Massadeh and Al-Massaedh, 2018). Accumulation of Pb in farmland soils is based on industrial and/or agricultural pollution origin (Keçeci et al., 2020). The principal source of cadmium (Cd) are brake linings and tires (Zechmeister et al., 2005), and redistributed from road asphalt materials (Kluge and Wessolek, 2012) and lubricants (Zechmeister et al., 2005).

As a result of anthropogenic effects, Pb which is emitted to the atmosphere as metal or variety of compounds is one of the most environmentally risky heavy metals (Altınbaş et al., 2008). Despite the background concentration is very low for Cd, the weak adsorption nature of it can ease plant uptake at harmful levels in polluted soils. The Cd in the fungicides is transmitted to the soil by spraying. The Cd concentration of crops growing in the vicinity of high ways with heavy traffic could have health risks due to enrichment of Cd associated with vehicle tires and exhaust gas (Kacar, 2009).

State highway baseline data is necessary to define suburbanization and urban spread effects in a developing country. One of them is the amount of heavy metal levels and its migration on the road (Ojuri et al., 2016). Motor vehicle traffic is an anthropogenic action and a primary origin of pollutants emitted to surroundings (Duong and Lee, 2011). The global high vehicular traffic density has led to accelerated emission rates, causing contamination of roadside soils (Modrzewska and Wyszowski, 2014). Heavy metals emitted from motor vehicles remain suspended in air and deposited along the roadside soil (Yu et al., 2014) with changing distance due to prevailing wind characteristics.

Roadside agricultural soils are substantial storage for the direct pollution from vehicle sources, which could easily come in contact with pedestrians and people residing within the surrounding of the roads either as suspended dust or direct inhalation. The concentration of heavy metals in soils can be a secondary origin of water pollution in a cycled ecological situation (Cheung et al. 2003). In this study, it was investigated that total lead (Pb) and cadmium (Cd) deposition on soil samples taken diagonally from both of the West (080-05) and East (080-06) sections in Tuzluca-Iğdir-Aralık-Dilucu region of State Highway 080 as well as changes in heavy metal accumulation inward from the highway based on the distance, the effect of prevailing winds on heavy metal deposition in the north and south of the highway, and the

relationships between heavy metal concentrations and some physical and chemical properties of the soils.

MATERIALS AND METHODS

The study field was located between the West section of the highway 080-05 from (40°04' -43°64') the district of Tuzluca till Iğdir city center (39°92' -44°07') and the East section of the highway 080-06 ends up at the Dilucu custom (39°65' -44°79') in Aralık district. Total distance is about 130 km long. The number of motor vehicles traveling in the field for 2019 is 24259, most of which are trucks with diesel engine (Anonymous, 2021a).

Iğdir province and its surrounding, which have a microclimate and a vegetation period between 137-191 days according to the Frost Calendar of Turkey (Şimşek et al., 2017), therefore this ecosystem has distinctly different properties than the the Eastern Anatolia Region in terms of climatic conditions and plant variety. Iğdir plain with an average height of 850 m above the sea level is surrounded by altitudes of 1200-2000 meters. The two-thirds of Ararat, the highest mountain of Turkey (5137 m) is located within borders of Iğdir province. This topographic nature of Iğdir province can sometimes be advantageous (agricultural diversity) and sometimes causes difficulties (drainage problem, salinity, cold air mass subsidence).

As a result of the assessments on the monthly prevailing wind directions of automatic meteorological stations (2014-2017), the annual prevailing wind direction was determined as ESE for Tuzluca district; E-ENE for Iğdir airport; N-WNW for Iğdir province; W-WSW for Karakoyunlu district; and NW-WNW for Aralık district (Karaoğlu et al., 2018).

The soil samples were taken diagonally from 24 points, on State Highway 080, at 5-km intervals, at a perpendicular distance of 0-10-30 meters from the highway, and at 0-20 cm soil depth. Figure 1 shows the map of the sampling nodes.

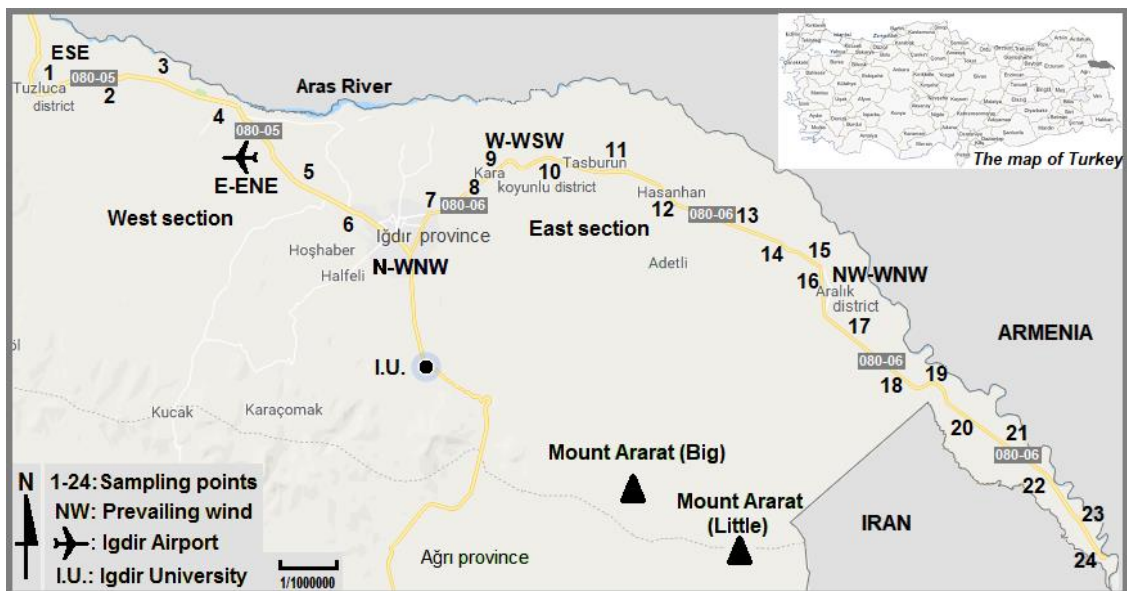


Figure 1. The map of study field

The soil samples were air-dried and passed through 2-mm plastic sieve. Then the following parameters were determined: texture (%) by Bouyoucos hydrometer method (1951); soil reactions (pH) in 1:2.5 soil water suspension with a glass electrode (Richards, 1954);

carbonate equivalent by a manometric method using Scheibler Calcimeter (Allison and Moodie, 1965); organic matter by Walkley-Black method (Walkley, 1947); the electrical conductivity (EC.10³) in 1:2.5 soil/water extract using the EC-meter (Dellavalle, 1992).

In order to determine the total amounts of Pb and Cd in the samples, they were digested with 3 M HCl + 1 M HNO₃ acids (Orbey et al., 2012). The concentrations of Pb and Cd in the extract were determined by means of an ICP-OES (Thermo Scientific iCAP6000).

Table 1 shows the concentrations of Pb and Cd for the earth's crust, soil, average and upper limit values according to different references and researchers which were used in the evaluation of the pollution indices.

Table 1. Values for Pb and Cd in different environments (mg kg⁻¹)

Heavy metal	Crust	Soil	Mean	Upper limit
Lead	14.8 ¹	1-200 ²	15 ² -16 ¹	300 ⁶
		150 ³		50 ⁷
		250 ⁴		
Cadmium	0.1 ¹	0.06 ³	0.2 ¹	3 ^{4,6}
		0.2 ¹	<0.5 ⁵	0.4 ⁷
		0.1-1.0 ⁵		

¹Sposito, 2008; ²Kacar, 2009; ³He et al., 2005; ⁴Rowell, 1994; ⁵Lodenius, 1989; ⁶Anonymous, 2005 (pH>6), (The Ministry of Environment and Urbanization); ⁷Anonymous, 2021b (European Commission Directorate General for Environment).

The pollution index (PI) was determined with Pb and Cd concentrations of 72 sampling nodes by using the following equation (Wei et al., 2009) in order to assess the level of heavy metal pollution (Siti Norbaya et al., 2014).

$$PI = C_n / B_n \quad (I)$$

Where, C_n is the measured concentration of each heavy metal and B_n is the average concentrations accepted for each heavy metal. There are different values for B_n. In this study, average values in soil (Sposito, 2008) in Table 1 were taken as basis in the pollution indices (PI) for Pb and Cd. The pollution index (PI) for each heavy metal is classified as low (PI≤1), medium (1<PI≤3) and high pollution (PI> 3) (Wei et al., 2009).

The method proposed by Tomlinson et al. (1980) was used to calculate pollution load index (PLI) for a specific region. In this method, the heavy metals studied can be considered as force multipliers for each other. This index can be explained as a practical way to relate contamination level of varied regions. The equation of pollution load index (PLI) is:

$$PLI = \sqrt[n]{(PI_1 \times PI_2 \times PI_3 \times \dots \times PI_n)} \quad (II)$$

However, it was used for this study as mentioned below:

$$PLI = \sqrt[2]{(PI_1 \times PI_2)}$$

Where n is the number of heavy metals (two in this study) and PI is the pollution index. This equation has been used as easy and relative method to analyse extent of heavy metal contamination.

It was considered to be more useful to draw graphics belonged to pollution and pollution load indices instead of graphics related to concentrations of heavy metals (Pb and Cd). The graphics of pollution and pollution load indices for 0, 10 and 30 meter inward from the highway were drawn and interpreted.

In order to determine the statistical significance of total Pb and Cd concentrations changing with perpendicular distance in the sampled soils, as well as the effect and importance of the prevailing winds on the heavy metal concentrations, the analysis of variance was applied. Pearson parametric regression analysis was performed to delineate the coherence between the physical and chemical properties of the soils and heavy metal concentrations.

RESULTS AND DISCUSSION

The soil samples were classified as sandy loam (SL), clayey loam (CL), silty clay loam (SCL) and clay (C). The samples 1, 2, 3, 4, 13, 16, 17, 19, 20, 21, 22, 23, and 24 had high sand percentages (73-78%) and light textures; the samples 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, and 18 had high silt (42-48%) and clay (31-39%) percentages and medium textured and the sample 12 had very high clay (48-51%) percentages and heavy textured (Demiralay, 1993). The pH were ranged between 7.4-10.5 and the pH classes were neutral to alkaline (slightly alkaline, moderately alkaline, strong alkaline). Lime (CaCO_3 equivalent) contents varied between 1.4-15.2% and they showed a distribution among low calcareous, calcareous, medium calcareous and highly calcareous classes. Organic matter (OM%) contents were in OM poor class with 0.1-1.7% range (Ayдын and Sezen, 1995). Electrical conductivity (EC) values ($2.3\text{-}18.4 \text{ dS cm}^{-1}$) ranged between mildly saline and extremely saline (Aydemir, 1992).

Heavy Metal Concentrations

Total Pb and Cd concentrations in 72 soil samples generally had an average concentration around the reference level of 16 mg kg^{-1} for Pb and 0.2 mg kg^{-1} for Cd (Sposito, 2008). The calculated pollution indices and pollution load indices (PLI) (Tomlinson et al., 1980) were given in Table 2.

The highest heavy metal concentrations were measured in the soil samples just on the vicinity of the highway. Lead and cadmium concentrations decreased inwards from the highway and this result strengthened the idea that pollution was caused by traffic. In general, the pollution indices (PI) of both heavy metals calculated by the reference mean concentrations in the soil (Sposito, 2008) were classified as low ($\text{PI} < 1$) to medium pollution ($1 < \text{PI} \leq 3$). Majority of soil samples showed a PI below 1 indication little environmental risks but the sampling sites 3 and 12 had a PI 1.30 and 1.24 with moderate environmental risks. However, Cd posed higher environmental treat with larger number of sampling nodes having a PI over 1 in moderate pollution class. The sampling node 3 was the hot point for Cd with a PI 2.7.

The pollution load indices (PLI) were also in a very similar manner to PI that the higher PLI were recorded wit the closer distance to the road. The samples 1, 2, 3, 12, 14, 17, 23 and 24 showed relatively higher PLI at just road side. At some hot points the deposition were higher due possibly to plate like topograpy. In some of these sampling points, Pb concentrations were high and some of their Cd concentrations were high, and consequently pollution indices and pollution load indices were higher. According to these results, it can be said that weaker

coherence of Pb and Cd occurrence at any sampling node can induce smaller PI or PLI values which can be indication of the different pollution source.

Table 2. Pb and Cd concentrations, pollution and pollution load indices

SN	Pb (mg kg ⁻¹)			Pb			Cd (mg kg ⁻¹)			Cd			PLI ₀	PLI ₁₀	PLI ₃₀
	0	10	30	PI ₀	PI ₁₀	PI ₃₀	0	10	30	PI ₀	PI ₁₀	PI ₃₀			
1	13.27	7.86	3.62	0.83	0.49	0.23	0.26	0.23	0.19	1.3	1.15	0.95	1.04	0.75	0.46
2	11.06	8.55	5.60	0.69	0.53	0.35	0.42	0.13	0.15	2.1	0.65	0.75	1.20	0.59	0.51
3	20.82	14.12	9.88	1.30	0.88	0.62	0.54	0.25	0.19	2.7	1.25	0.95	1.87	1.05	0.77
4	10.58	10.03	13.63	0.66	0.63	0.85	0.24	0.24	0.19	1.2	1.2	0.95	0.89	0.87	0.90
5	8.91	6.40	8.89	0.56	0.40	0.56	0.20	0.08	0.15	1	0.4	0.75	0.75	0.40	0.65
6	10.99	7.95	7.93	0.69	0.50	0.50	0.22	0.19	0.18	1.1	0.95	0.9	0.87	0.69	0.67
7	5.51	7.22	6.56	0.34	0.45	0.41	0.20	0.16	0.12	1	0.8	0.6	0.59	0.60	0.50
8	5.97	4.71	2.00	0.37	0.29	0.13	0.11	0.10	0.03	0.55	0.5	0.15	0.45	0.38	0.14
9	8.55	8.05	8.25	0.53	0.50	0.52	0.21	0.20	0.20	1.05	1	1	0.75	0.71	0.72
10	8.44	5.70	7.57	0.53	0.36	0.47	0.21	0.13	0.18	1.05	0.65	0.9	0.74	0.48	0.65
11	8.74	6.96	5.92	0.55	0.44	0.37	0.18	0.13	0.10	0.9	0.65	0.5	0.70	0.53	0.43
12	19.76	11.79	13.5	1.24	0.74	0.84	0.16	0.14	0.11	0.8	0.7	0.55	0.99	0.72	0.68
13	8.73	4.30	4.63	0.55	0.27	0.29	0.16	0.14	0.09	0.8	0.7	0.45	0.66	0.43	0.36
14	12.48	7.62	5.58	0.78	0.48	0.35	0.26	0.17	0.18	1.3	0.85	0.9	1.01	0.64	0.56
15	8.53	7.60	4.95	0.53	0.48	0.31	0.24	0.17	0.18	1.2	0.85	0.9	0.80	0.64	0.53
16	5.80	4.94	4.59	0.36	0.31	0.29	0.05	0.05	0.04	0.25	0.25	0.2	0.30	0.28	0.24
17	12.44	7.06	4.20	0.78	0.44	0.26	0.32	0.22	0.09	1.6	1.1	0.45	1.12	0.70	0.34
18	8.40	6.18	6.86	0.53	0.39	0.43	0.26	0.23	0.13	1.3	1.15	0.65	0.83	0.67	0.53
19	7.87	7.96	6.18	0.49	0.50	0.39	0.17	0.18	0.13	0.85	0.9	0.65	0.65	0.67	0.50
20	10.85	6.82	6.05	0.68	0.43	0.38	0.25	0.17	0.12	1.25	0.85	0.6	0.92	0.60	0.48
21	7.46	7.36	8.74	0.47	0.46	0.55	0.26	0.23	0.20	1.3	1.15	1	0.78	0.73	0.74
22	6.65	6.57	6.74	0.42	0.41	0.42	0.25	0.14	0.14	1.25	0.7	0.7	0.72	0.54	0.54
23	15.11	9.27	9.30	0.94	0.58	0.58	0.26	0.19	0.13	1.3	0.95	0.65	1.11	0.74	0.61
24	12.16	10.57	9.04	0.76	0.66	0.57	0.26	0.18	0.15	1.3	0.9	0.75	0.99	0.77	0.65

SN: Sample number; 0-10-30: Distances from highway (m); PI: Pollution indices; PLI: Pollution load indices.

The graphics of indices of pollution (PI) and pollution load (PLI) are shown in Figure 2, 3 and 4 for 0, 10 and 30 meter distance from the highway, respectively. Generally, the pollution index (PI) value of Cd were higher than the Pb ones therefore Cd showed larger environmental risk than Pb. The relative mobility of Cd is higher than the one for Pb, therefore soils around the highway is to receive some Cd from other pollution sources most probably wheathered Cd can be transferred towards road side due to topography, as well as traffic induced pollution. PLI values were mostly found lower than PI of Cd and higher than PI of Pb except several sampling points. In other words, PLI values exemplified both PI values of Pb and Cd. It was commented that as a result of multiplier effect of PLI, PLI values can be used for each sampling point in lieu of PI value of Pb and Cd.

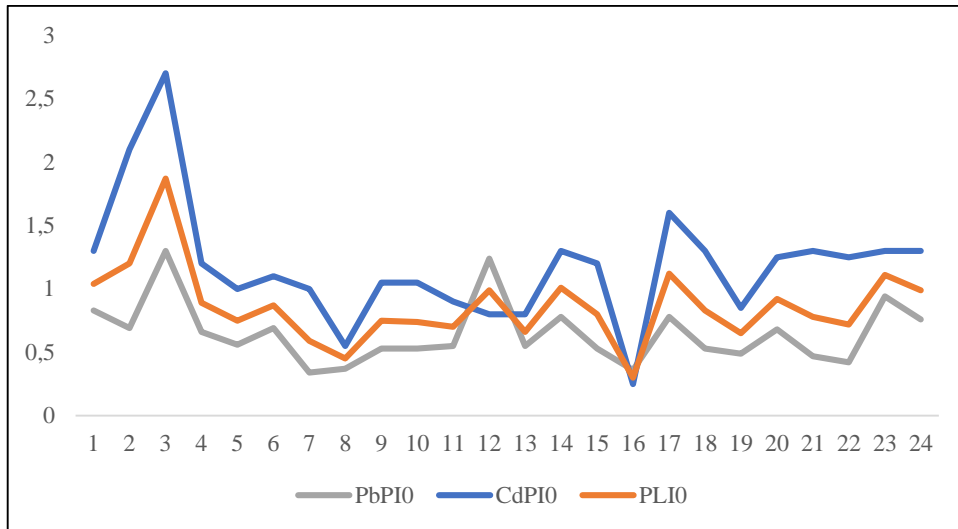


Figure 2. Pollution indices alongside the road at 0 meter distance

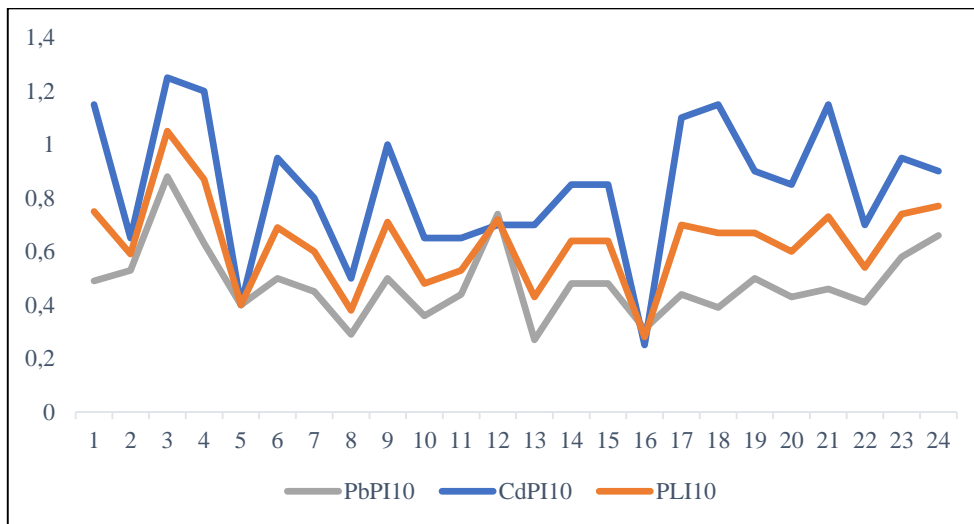


Figure 3. Pollution indices graphic for 10 meter distance from highway

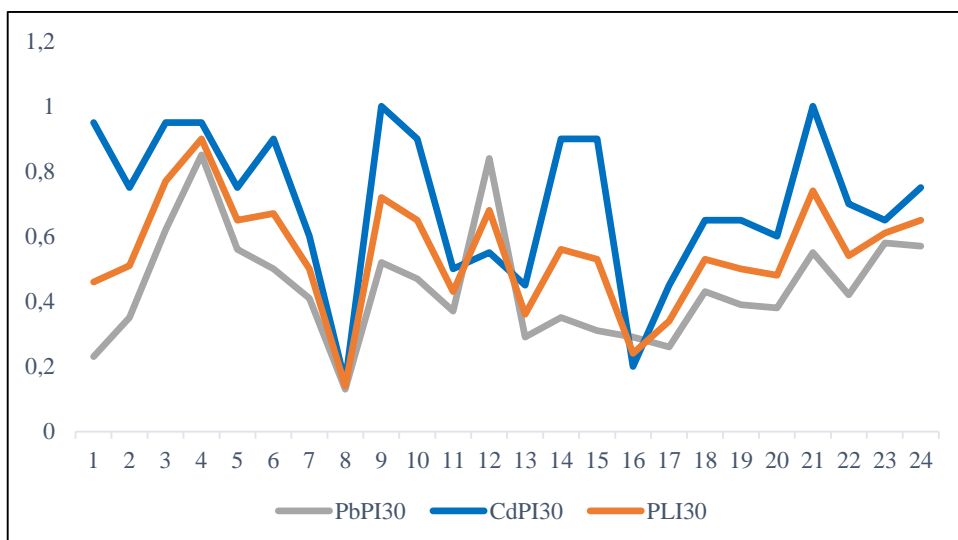


Figure 4. Pollution indices graphic for 30 meter distance from highway

The indices of sampled points for Pb and Cd were well monitored than their concentrations in graphics. Because the pollution indices show relative degree of pollution at any point by considering either single element or both elements.

When the graphics are considered, it is easily become aware of that both 8th and 16th sampling points are of very low index values. The reason for this fact could be intensive vegetation cover at 8th sampling point and high frequency of strong wind and light soil texture at 16th sampling point. Light soil texture such as S, SL and LS with 54-97% sand content (Karaoğlu et al., 2017) reduces the heavy metal adsorption and/or strong wind blow away the exhaust gases and limit deposition of the metals on the soils nearby the road.

Conversely, 3, 12, 14 and 17th sampling points are of high index values than the others. Although 3 and 17th sampling points had sandy texture, they had high heavy metal deposits owing to very heavy traffic according to General Directorate of Highways' Traffic Volume Maps (Anonymous, 2021a). 12 and 14th sampling points had clayey and silty texture, respectively. That's way retention of material especially heavy metal was high level in them due to their textural features.

Table 3 shows the results of the analysis of variance made to explain statistically the change of the total Pb and Cd deposits from highway to inward and their significance in the soils taken from the sampling points, and the F test applied since the variances were homogeneous. Total Pb and Cd concentrations continued to decrease inwardly and showed that heavy metal deposition from the traffic would be a significant issue. The decrease in heavy metal concentrations from the highway to inward are very significant for the Pb and very much significant for Cd. Although both of them are related to traffic, the significance level are different between Pb and Cd owing to having high concentration and tolerance values of Pb than those of Cd. According to DUNCAN test results, the concentrations of Pb and Cd at 0 meters to the highway are significantly higher than at 10 and 30 meters.

Table 3. Results of analysis of variance on heavy metal deposits-distance

DV	D	ANOVA					DUNCAN	
		Mean	SD	SN	F	SL	0.05	
							1	2
Pb (T)	0	10.3783	3.93164	24				10.3783b
	10	7.7329	2.23158	24	7.731	0.001	7.7329a	
	30	7.0921	2.79745	24			7.0921a	
	SL						0.472	1.000
Cd (T)	0	0.23500	0.095781	24				0.2371b
	10	0.17125	0.056975	24	9.039	0.000	0.1688a	
	30	0.14792	0.061360	24			0.1404	
	SL						0.157	1.000

DV: Dependent variables; D: Depth; SD: Standard deviation; SN: Sample number; SL: Significant level; T: Total.

In this study, the samplings were conducted diagonally and 12 of the 24 sampling points took place on the north of the highway and the other 12 took place on its south. Figure 1 shows the prevailing wind directions recorded in the study field. The effect of prevailing wind did not significantly change the heavy metal concentrations in the soils (Table 4).

Table 4. The effect of prevailing wind on the heavy metal concentration in soil

Dependent variables	Sum of square	Degree of freedom	Average of square	Standard deviation	F	Significance level
Pb (T)	0.083	1	0.083	3.34775	0.009	0.926
Cd (T)	0.005	1	0.005	0.08134	0.926	0.339

T: Total.

Pearson correlation analysis was performed to delineate the relationships between heavy metal concentrations and soil physico-chemical properties (Table 5). It was determined that there were significant correlations between Cd and sand content and negative very significant correlations between Cd and organic matter. This means that as the amount of sand in the soil increases, the Cd concentration will increase, on the contrary, as the amount of organic matter increases, the Cd concentration will decrease. The reason for this is that Cd is the element with the highest water solubility among heavy metals that is way, it spreads rapidly in nature (Seven et al., 2018). Since the sand material does not have an electrically specific surface, Cd is thought to be more active in sandy soils. The correlations between Pb and soil properties were insignificant. Because, highly soluble lead compounds turn into insoluble lead compounds in the soil and the soluble lead concentration in the soil is around 0.05-5 ppm (Özkan, 2009).

Table 5. Correlation coefficient between soil properties and heavy metal concentrations

Heavy metals	Soil properties				
	Sand (%)	pH (1:2,5)	Lime (%)	OM (%)	EC (dS m ⁻¹)
Pb (T)	0.110	-0.061	-0.060	-0.143	-0.026
Cd (T)	0.216*	-0.112	0.116	-0.301**	0.106

T: Total; *p<0.05; **p<0.01.

CONCLUSION

Environmental pollution and environmental protection awareness were discussed frequently in the global and scientific sense in the 1960s and emphasized the need to resolve environmental problems as soon as possible in order to sustain ecosystem and economic life (Hacıoğlu Deniz, 2009). The environment that is most affected by environmental pollution and cannot be cleaned is the soil. The negative effects of the industrialization period on soils have been in the form of excessive heavy metal accumulations.

Since Pb and Cd, which are selected as research subjects, are very common in the daily life of people, they have negative effects on all living things and especially on humans as heavy metals. As a result of anthropogenic effects, the lead being the first heavy metal to damage the ecosphere and being released into the atmosphere as a metal or compound is the most important heavy metal that causes environmental pollution as it has the toxic effect (Çepel, 1997; Kahvecioğlu et al., 2003) and Pb compounds have the ability to deposit in soils and to stay in soil for a long time (Alloway, 2013). Since Cd in contaminated soils can be absorbed in large quantities by food plants depending on its concentration in the soil, it is the greatest concern in terms of its entry into the food chain (Jarup, 2003).

The soils of the study field were classified as sandy loam (SL), clayey loam (CL), silty clay loam (SCL) and clay (C) texture; the pH values were ranged between neutral and alkaline; lime (CaCO₃ equivalent) contents showed a distribution among low calcareous, calcareous, medium calcareous and highly calcareous classes; organic matter (OM%) contents were in poor class; electrical conductivity (EC) values ranged between mildly saline and extremely saline.

In a great majority of the sampled soils, clay% and organic matter% were very low and poor in soil colloids and therefore by elements. This is desirable for heavy metals and undesirable for nutrients. High lime% and consequently high pH values of the study soils will be able to cause uselessness of nutrients (zinc, iron, manganese etc.) and chlorosis disease, and high electrical conductivity values will be able to lead to physiological drought.

It was determined that total Pb deposits were lower than limit values and pollution indices (PI) were low and moderate contaminated, which is a positive situation for soils of study field. The most important reason for this is that most of the vehicles in traffic are diesel engine vehicles. Total Cd deposits were mostly above the limit values and the pollution indices were moderate and close to high contaminated, indicating that Cd pollution is higher. However, each measurement value for Pb and Cd is a potential toxic effect. Statistically, the fact that the decrease of Pb and Cd values inward from the highway was very significant and the higher Pb and Cd values were measured in the samples taken from the side of the highway shows that current heavy metal deposits are caused by traffic. The high pollution load index (PLI) values at some sampling points suggested that Pb and Cd accumulations triggered each other.

Highway 080 will be able to a part of Silk Road (historical) near future. This concern about heavy metal pollution will be then dramatic hazard if some precautions are taken by our government such as increasing electrical vehicles, railway transportation, tax increase for diesel engines etc.

ACKNOWLEDGEMENT

This research paper is a part of the 2017-FBE-L16 project. We, authors, are grateful for the financial support from the Unit of Scientific Research Projects of Iğdir University.

REFERENCES

Allison, L. E., Moodie, C. D., 1965. Carbonate. In C.A. Black et al. (ed.) Methods of soil analysis. Part 2. 2nd Edition.

- The Determination of Lead and Cadmium Concentration in the Agricultural Soils Alongside Highway 080 of Iğdir Province, 4(2): 80-91, 2021.
- Alloway, B. J., 2013. Heavy metals in soils trace metals and metalloids in soils and their bioavailability. Springer, 3rd Edition, pp 396.
- Al-Massaedh, A. A., Al-Momani, I. F., 2020. Assessment of heavy metal contamination in roadside soils along Irbid-Amman Highway, Jordan by ICP-OES. *Jordan Journal of Chemistry*, 15, 1-12.
- Al-Massaedh, A. A., Gharaibeh, A., Radaydeh, S., & Al-Momani, I., 2018. Assessment of toxic and essential heavy metals in imported dried fruits sold in the local markets of Jordan. *European Journal of Chemistry*, 9(4), 394-399.
- Altınbaş, Ü., Çengel, M., Uysal, H., Okur, B., Okur, N., Kurucu, Y., Delibacak, S., 2008. Soil science (In Turkish). Ege University, Agricultural Faculty Publications No: 557, 3rd Edition İzmir, Turkey.
- Anonymous., 2005. Soil Pollution Regulation (In Turkish). Appendix 1-A Soil Pollution Parameters Limit Values, Heavy Metal Limit Values in Soil, The Ministry of Environment and Urbanization. (Dated 31.05.2005 and Numbered 25831 Official Gazette).
- Anonymous., 2021a. 18. Region State Highways Volume Maps (In Turkish). <http://www.kgm.gov.tr/Sayfalar/KGM/SiteTr/Trafik/TrafikHacimHaritasi>. Date of access: 28.02.2021.
- Anonymous., 2021b. European Commission Directorate General Environment. Heavy Metals and Organic Compounds from Wastes Used as Organic Fertilizers. Final Rep., July. WPA Consulting Engineers Inc. Ref. Nr. TEND/AML/2001/07/20, pp. 73-74. http://ec.europa.eu/environment/waste/compost/pdf/hm_finalreport.pdf. Date of access: 28.02.2021.
- Aydemir, O., 1992. Plant nutrition and soil fertility (In Turkish). Erzurum Atatürk University Publications. No: 734, pp. 247, Erzurum, Turkey.
- Aydın, A., Sezen, Y., 1995. Soil chemistry laboratory book (In Turkish). E.A.U. Agricultural Faculty Course Publications No: 174, pp. 146, Offset plant, Erzurum, Turkey.
- Bouyoucos, G. D., 1951. A Recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of the soil. *Agronomy Journal*, 43, 434-438.
- Cheung, K. C., Poon, B. H. T., Lan, C. Y., Wong, M. H., 2003. Assessment of Metal and Nutrient Concentrations in River Water and Sediment Collected from the Cities in the Pearl River Delta, South China. *Chemosphere*, 52(9), 1431-1440.
- Çepel, N., 1997. Soil pollution, erosion and environmental damage (In Turkish). TEMA Foundation Publications, No: 14, İstanbul, Turkey.
- Dellavalle, N. B., 1992. Determination of specific conductance in supertanat 1:2 Soil: Water solution in handbook on reference methods for soil analysis. Soil and Plant Analysis Council, Inc. Athens, GA.
- Demiralay, İ., 1993. Soil physical analysis (In Turkish). Erzurum Atatürk University Publications No: 143, pp. 132, Erzurum, Turkey.
- Duong T. T., Lee, B. K., 2011. Determining contamination level of heavy metals in road dust from busy traffic areas with different characteristics, *Journal of Environmental Management*, 92, 554–562.
- Hacıoğlu Deniz, M., 2009. The relationship between urbanization and environment in the perspective of industrialization (In Turkish). İstanbul University, Faculty of Literature, Geography Department, *Journal of Geography*, 19, 95-105. İstanbul, Turkey.
- He, Z. L., Yang, X. E., Stoffella, P. J., 2005. Trace elements in agroecosystems and impact on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19, 125-140.
- Jarup, L., 2003. Hazards of heavy metal contamination; *Br. Med. Bull.*, 68, 167-182.
- Kacar, B., 2009. Soil analysis (In Turkish). 3rd Edition, Nobel Academic Publisher, pp. 351-375.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S., 2003. Environmental Effects of Metals-I (In Turkish). Turkey Union of Chambers of Architects Engineers, *Journal of Chamber of Metallurgical Engineers*, 136, 47-53.
- Karaoğlu, M., Şimşek, U., Tohumcu, F., Erdel, E., 2017. Determining surface soil properties of wind erosion area of Iğdir-Aralık and estimating the soil loss. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(5), 3170-3175.
- Karaoğlu, M., Şimşek, U., Erdel, E., Tohumcu, F., 2018. A case study: Wind characteristics of Iğdir province in terms of wind erosion and introduction of second wind erosion area. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(11), 7460-7469.
- Keçeci, M., Usta, S., Uygur, V., 2020. Lead adsorption in the soils and the effect of soil properties: case study from Turkey. *Environmental Earth Sciences*, 79, 1-13.
- Kluge, B., Wessolek, G., 2012. Heavy metal pattern and solute concentrations in soils along the oldest highway of the world – the AVUS Autobahn. *Environ. Monit. Assess.*, 184, 6469-6481.

- The Determination of Lead and Cadmium Concentration in the Agricultural Soils Alongside Highway 080 of Iğdir Province, 4(2): 80-91, 2021.
- Lodenijs, M., 1989. Heavy metals in the soil, interaction and long term changes. In: Szabolcs, (I. Edit), 1987, Ecological impact of Acidification, 131-136, Budapest.
- Massadeh, A., Al-Massaedh, A. A., 2018. Determination of heavy metals in canned fruits and vegetables sold in Jordan market. *Environmental Science and Pollution Research* 25(2), 1-7.
- Modrzewska, B., Wyszowski, M., 2014. Trace metals content in soils along the state road 51 (Northeastern Poland), *Environmental Monitoring and Assessment*, 186, 2589-2597.
- Ojuri, O. O., Taiwo, O. A., Oluwatuyi, O. E., 2016. Heavy metal migration along a rural highway route: Ilesha-Akure roadside soil, southwestern, Nigeria. *Global NEST Journal*, 18(4), 742-760.
- Orbey, M. T., Göğür, N. G., Ertaş, N., Yılmaz, Ş., Berkkan, A., Basan, H., Şatana, E., Alp, O., 2012. Analytical chemistry practices, (In Turkish). G.Ü. Pharmaceutics Faculty Publications, No: 3, Ankara.
- Özkan, G., 2009. Endüstriyel Bölge Komşuluğunda Kırsal Kırsal Alandaki Hava Kalitesi; Muallimköy'de Partikül Maddede ve Topraktaki Ağır Metal Kirliliği. (Yayımlanmamış yüksek lisans tezi). GYTE Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze, 9,12-22.
- Richards, L.A., 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils. Handbook 60, pp 160, Department of Agriculture, United States.
- Rowell, D.L., 1994. Soil science methods and applications. Longman Scientific & Technical, New York, Wiley, pp. 350.
- Seven, T., Can, B., Darende, B. N., Ocak, S., 2018. Hava ve Toprakta Ağır Metal Kirliliği. *Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1(2), 91-103.
- Siti Norbaya, M. R., Sharizal, H., Mohd Lias, K., NorShahrizan, M. H., 2014. Analysis and pollution assessment of heavy metal in soil, Perlis. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 18(1), 155-161.
- Sposito, G., 2008. The chemistry of soils. Oxford University Press, 2nd Edition. pp. 329.
- Surucu, A., Mohammad, D. M., Gunal, E., Budak, M., 2018. Concentration of heavy metals in soils along three major roads of Sulaimani, Northeast Iraq. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, 13, 523-538.
- Şimşek, O., Nadaroğlu, Y., Yücel, G., Yıldırım, M., Erciyas, H., 2017. Frost event and frost calendar of Turkey (In Turkish). State Meteorology Service Publication, pp. 177, Ankara, Turkey.
- Tomlinson, D. L., Wilson, J. G., Harris, C. R., Jeffrey, D. W., 1980. Problems in the assessment of Heavy Metal Levels in Estuaries and the formation of Pollution Index. *Helgolander Wissenschaftliche Meeresunters*, 33, 566-572.
- Walkley, A., 1947. A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and inorganic soil constituents. *Soil Science*, 63, 251-263.
- Wei, B., Jiang, F., Li, X., Mu, S., 2009. Spatial distribution and contamination assessment of heavy metals in urban road dusts from Urumqi, NW China. *Microchemical Journal*, 93, 147-152.
- Wuana, R. A., Okieimen, F. E., 2011. Heavy metals in contaminated soils: A review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *International Scholarly Research Network (ISRN Ecology)*, 11, 1-19.
- Yu, H., Ni, S. J., He, Z. W., Zhang, C. J., Nan, X., Kong, B., Weng, Z. Y., 2014. Analysis of the spatial relationship between heavy metals in soil and human activities based on landscape geochemical interpretation, *Journal of Geochemical Exploration*, 146, 136-148.
- Zechmeister, H., Hohenwallner, D., Riss, A., Hanus-Ilmar, A., 2005. Estimation of element deposition derived from road traffic sources by using mosses. *Environmental Pollution*, 138, 238-249.



Research / Araştırma

Biological Control of *Rhizoctonia Solani* Kühn. with Rhizobacteria Isolated from Different Soil and *Calligonum Polygonoides* L. Subsp. *Comosum* (L'her.)

Halit ANAK¹, Mesude Figen DONMEZ^{1*}, İrfan CORUH²

ABSTRACT

In this study, the biological control activities of the bacteria strains, which have been isolated from the volcanic, sandy, salty soils and Ebu Cehil plant *Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'Hér.) were investigated against isolates of *Rhizoctonia solani* causing root rot in beans. As the result of the isolation, 83 strains were obtained and the bacteria were identified by biochemical tests and fatty acid methyl esterase analyses. In the *in vitro* conditions, 20 strains from among 83 bacteria strains were found to be effective and it was determined that these strains inhibited the mycelial growth by forming a prevention zone ranging between 0.1 cm and 2.4 cm. The prevention rate of bacteria strains against pathogen isolates was found to range between 50%-66% maximum. In the *in vivo* conditions, the bacteria strains were found to successfully inhibit the disease development compared to the control group. *Bacillus thuringiensis israelensis* HV43, *Bacillus subtilis* HV34, *Bacillus cereus* GC subgroup A HT21 and *Bacillus subtilis* HT30 strains were determined to prevent the disease incidence with an effectiveness of 100%.

Keywords: Bean, *Rhizoctonia solani*, Biological control, *Calligonum polygonoides* (L.'Hér)

¹Halit ANAK (Orcid ID: 0000-0001-6606-4646), Mesude Figen DONMEZ (Orcid ID: 0000-0002-7992-8252), Iğdir University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, , Turkey

²İrfan CORUH (Orcid ID: 0000-0002-6569-6163) Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mesude Figen DÖNMEZ, e-mail: mesude.figen.donmez@igdir.edu.tr

Makale Geliş Tarihi (Received): 24-08-2021

Makale Kabul Tarihi (Accepted): 23-11-2021

INTRODUCTION

Dry beans rank first among edible legumes in the world with 29 million ha cultivation area and 27 million tons of production (FAO, 2018). In Turkey, it ranks third after chickpea and lentil with 848,045 da cultivation area and 220,000 tons of production (TUIK, 2019). However, it is reported that many soil-borne fungal disease agents cause significant losses in bean, both in the seedling stage and in other growth stage of plants. Among these pathogens, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich, *Pythium ultimum* Trow, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary and *Sclerotium rolfsii* Sacc. are reported to cause serious problems in the product (Willettts and Wong, 1980; Sippell and Hall, 1982; Dixon, 1984; Bruehl, 1987; Hall, 1991; Vural, 2008).

Among the above-mentioned disease agents, *R. solani* is an important fungal pathogen causing serious losses in yield and quality in many plant groups (Bakalı and Martin, 2006; Aydın, 2008; Lehtonen, 2008; Jehtonen, 2009; Kılıçoğlu and Özkoç, 2010). The agent is a fungus of both soil and seed origin and has a strong pathogenic feature, with its rapid growth on nutrients, colonization on the surface of the roots, and its ability to rapidly invade epidermal cells in the infected area (Carling et al., 2002; Aydın et al., 2011; Çapar, 2012).

Difficulties are experienced in the control of *R. solani*, due to the propagating material and soil origin and easy transmission with seeds (Çapar, 2012). In addition, the very large host environment of the pathogen and its ability to survive in the form of mycelium for a long time makes controlling the disease even more difficult (Aydın et al., 2011). In order to slow down the development of *R. solani* and prevent emergence of the disease the following year, it is recommended to destroy the plant and plant residues with the disease, to use certified production material, solarization, to select resistant varieties, and to employ crop rotation applications with plants such as wheat and corn (Yanar et al., 2005; Larkin and Honeycutt, 2006; Aydın, 2008). However, the rapid development of the pathogen in the soil, its ability to survive on organic residues for a very long time, and the ability to infect by developing as a vegetative mycelium in the presence of suitable hosts limit the effectiveness of these control methods (Turhan, 2010). For this reason, studies have been carried out in recent years on some control programs to be applied against this disease both in the propagative material and in the soil. It has been reported that the disease can be suppressed by applying some chemicals to tubers / seeds and soil (Errampalli and Johnston, 2001). However, in case of intense inoculum in the soil, it was determined that the applied chemicals could not control the disease sufficiently (Aydın, 2008). Moreover, widespread and improper use of fungicides in the control of the disease causes the pesticide residues in agricultural products to pass to living creatures through nutrition, as well as to pass some of the pesticides to the ground water and the sea through soil, air pollution, to increase disease agents and pests in nature, to destruct predator and antagonist microflora, and to form new resistant pathogen strains by changing the pathogen genes (Delen, 1991; Bora and Özaktan, 1998; Compant et al., 2005; Berg, 2007). Due to such reasons, the insufficiency of methods for controlling soil-borne pathogens and the increased sensitivity on environmental health throughout the world led researchers to work in the field of biological control and to discover new biological control agents within the framework of ecological agriculture. In recent studies, rhizobacteria that promote plant growth are used both as a growth stimulant and as a biological control agent in plants, and very successful results are obtained

(Nandakumar et al., 2001; Walsh et al., 2001; Kageyama and Nelson, 2003; Ongena et al., 2004; Ryu et al., 2004; Jehtonen, 2009). Rhizobacteria come into prominence due to such properties as their ability to change the microflora composition in plant roots, making the plant resistant to various stress factors, being effective on growth hormones (indole acetic acid, ethylene), increasing nutrient intake (siderophore production, binding of free nitrogen in the air or in the soil, ensuring the intake of phosphorus and other nutrients), promoting root development, and accordingly, increasing plant growth and development (Van Loon, 1997; Weller, 1998; Van Loon et al., 1998; Mettraux, 2001; Asghar et al., 2002; Vessey, 2003). On the other hand, these microorganisms draw attention with their successful results in disease control by using one or more of the biological control mechanisms such as antibiosis (chitinase, β -1,3-glucanase, antibiotic and cyanide production), competition, hyperparasitism, induced resistance and cross protection (Bora et al., 1994; Smith and Read, 1997; Bora and Özaktan, 1998; Cattelan et al., 1999; Çakmakçı, 2005; Çetinkaya Yıldız, 2007; Genç, 2012).

In this study, possibilities of biological control of *R. solani*, which causes a great economic loss by causing root diseases in many plants including beans, are investigated. For this purpose, the bacteria obtained from the rhizosphere of *Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'Hér.), which is endemic to Aralık district of Iğdir province and which helps to prevent soil erosion of volcanic, sandy and saline soils, were identified with biochemical tests and according to fatty acid profiles. Then, the properties of bacterial strains to fix nitrogen and dissolve phosphorus and potassium were determined and their effectiveness as a candidate for biological control against *R. solani* was evaluated.

MATERIAL AND METHODS

Material

Plant, soil and pathogen material used in the study

Sugar bean variety was used to evaluate the antagonistic effect of bacteria strains isolated against *R. solani* isolates (Rs-pat, B-227 and B-1). Volcanic soil obtained from Taşburun village of Karakoyunlu district, saline soil obtained from Yukarı Çamurlu village of Aralık district, and roots of *Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'Hér.) endemic to Aralık district and the loamy soil covering these roots were used as isolation material in obtaining the bacteria strains.

Method

Isolation of bacteria strains

For the isolation of bacterial strains from the samples taken, 10 g of soil was weighed and placed in a sterile flask with a volume of 250-300 ml. After that, 90 ml of water was added on the soil and then stirred for 30 minutes. Suspensions were diluted 6 times at 1:10 ratio. 100 μ l were taken from the last 3 dilutions and planted in nutrient agar (NA). The plates were incubated at 27 °C for 3-4 days. At the end of the incubation period, colonies of different colors and shapes were selected (Saygılı et al., 2006).

Identification of bacterial strains

Characteristics of the bacterial strains were determined by gram reaction test, colony colour on nutrient agar medium, catalase test, oxidase reaction, amylase test, levan colony formation on sucrose nutrient agar and hypersensitive reaction on tobacco leaves. The strains were identified by fatty acid methyl ester (FAME) analysis. FAME profiles were obtained by running samples on a Hewlett Packard Agilent GC 6890 GC fitted with amicroprocessor containing the Sherlock Microbial Identification System (MIDI) Software (V.A. 06. 03). The FAME profiles were compared with the TSBA40 aerobic library (Caesar-TonThat et al., 2007).

Selection of nitrogen fixing bacteria strains

Bacterial strains were tested for nitrogen fixing ability using N-Free Solid Malate-Sucrose (Sucrose 10g l⁻¹, L-Malic Acid 5g, MgSO₄, H₂O, 0,2g; FeCl₃, 0,01 g; NaCl, 0,1 g; CaCl₂ 2H₂O, K₂HPO₄, 0,1g, KH₂PO₄ 0,4 g; Na₂MoO₄. H₂O, Agar 18g, pH: 7,2). Strains were streaked on N-free solid malate-sucrose agar. All cultures were incubated for 7 days at 27°C. After incubation, bacterial growth was evaluated as N₂-fixing positive bacteria (Döbereiner, 1989).

Selection of phosphate-solubilizing bacterial strains

The P-solubilizing bacterial strains were screened using National Botanical Research Institutes' Phosphate Growth Medium (NBRIP-BPB; glucose 20g, Ca₃(PO₄)₂ 10g, MgCl₂.6H₂O 5g, MgSO₄.7H₂O 0,25g, KCl 0,2g, (NH₄)₂SO₄ 0,1g, Bromphenol blue 0,025g, pH:7). 5 ml of NBRIP-BPB medium was transferred to a sterile test tube and autoclaved. The liquid medium was inoculated with 500µl suspension of the bacterial strains. The test tubes were incubated for 14 days at 27 °C. At the end of the incubation period, P-solubilizing bacterial strains were detected by the change in colour of liquid medium in test tube (Mehta and Nautiyal, 2001).

Selection of potassium solubilizing bacteria strains

Bacterial strains tested for K-solubilizing activity using Aleksandrow solid medium (5 g l⁻¹ glucose, 0,005 g MgSO₄.7H₂O, 0,1 g FeCl₃, 2 g CaCO₃, 3 g waste mica, 2 g Ca₃(PO₄)₂, 20 g agar). The strains were cultured on medium. The plates were incubated at 27 °C for 7 days. After incubation, the clear zone formed around colonies were evaluated as phosphate solubilizing positive bacteria (Meena et al., 2015).

Determination of biocontrol effect of bacterial strains against *R. Solani* in vitro

The interaction between *R. solani* isolates and bacterial strains was studied by the dual culture assay. For this purpose, pathogen was grown for 4-5 days in PDA medium, and candidate antagonist bacteria were grown for 24-48 hours in NA medium. Two discs with a diameter of 4 mm were taken from the cultures of fungal isolates and placed at opposite edges of 9 cm diameter petri dishes containing PDA. Bacteria were incubated at 27 °C for a period of one week by line planting in the middle of the petri dish. Petri dish without bacteria cultivation was used as a control. 2 petri dishes were used for each bacterial strain and the experiment was repeated 3 times (Dönmez, 2015). In the in vitro test, the inhibition zone measurement was carried out when the fungus mycelium filled the petri dish completely. The inhibition zone was

determined by measuring from the edge of the mycelium to the bacterial colony. Percent inhibition rate was determined using the following formula (Çubukçu, 2007).

$$\% \text{Inhibition} = (A-B)/A \times 100 \quad (1)$$

A: Diameter of the fungus colony in the control petri

B: Diameter of the fungus colony in the petri with bacteria

Bacterial strains stored at -80 °C that were grown on Nutrient Agar (NA; Lab-lemco powder 1 g, yeast extract 2 g, peptone 5 g, sodium chloride 5 g, agar 15 g, distilled water 1 L. pH 7.4 ± 0.2) were incubated at 27 °C for 48 h. Colonies taken from bacterial cultures developed after incubation were transferred into flasks containing nutrient broth (NB; Lab-lemco powder 1 g, yeast extract 2 g, peptone 5 g, sodium chloride 5 g, distilled water 1 L. pH 7.4 ± 0.2). Sucrose was added to the suspensions to enhance the adhesion of the antagonists. Contaminated liquid media were incubated at 140 rpm/min for 24 h in a shaker set to 27 °C. The bacterial inoculum concentration was prepared to be 1 x 10⁷ CFU/ml by diluting with dH₂O.

Antagonist strains found to be effective against *R. solani* isolates *in vitro* were tested *in vivo*. The pot medium is made up of soil and perlite at a ratio of 1: 1. The soil mix was sterilized at 121°C in autoclaves for 1 hour and 2 consecutive days and then filled into pots. After the bean seeds were washed in tap water, they were kept in 70% ethyl alcohol for 2 minutes. Then the seeds were kept in pure water for ten minutes and rinsed twice. Washed seeds were kept in bacterial suspensions for 2 hours and then three seeds were planted in pots. Untreated seeds were transferred to pots only after being kept in sterile water. The trial was established according to the randomized blocks trial design with four replications: positive control (clean soil + seed contaminated with pathogen), negative control (clean soil + clean seed) and bacterial application (clean soil + bacteria coded seed + pathogen). In applications involving pathogens, the root part of the plants was opened 3 weeks after planting the plants and 2 fungal discs were placed (Dönmez, 2015).

During the evaluation of the *in vivo* test, the plants in the pot were removed, the disease symptom occurring in the roots of the bean plant was evaluated according to the 0-4 scale (0: No symptom, normal root development, 1: Localized tissue coloration without necrosis, root growth close to normal, 2: Intense color change in tissues, Root growth close to normal, 3: Necrosis in almost all of the roots, partial limitation of the root length, 4: Root rot, serious limitation in root length) (Aydın, 2008; Eken and Demirci, 2004). Disease severity was calculated according to Townsend-Heuberger (1943) formula with values determined according to the scale.

$$\% \text{ Disease Severity} = [\sum(SV \times NP)] \times 100 / HSV \times TP \quad (2)$$

SV: Scale value

NP: Number of Plants with the same scale value

HSV: The Highest scale value

TP: Total number of plants

The obtained disease severity (%) results were calculated as % effect values relative to the control with the help of Abbott (1925) formula:

$$\% \text{ Effect} = (X-Y)X*100 \quad (3)$$

X; Disease Severity in the Control

Y; Disease Severity in the Treatments

The obtained data were subjected to variance analysis in the SPSS (SPSS Inc. PASW Statistics version 17) statistical software package and the differences between the applications were determined by DUNCAN test with $P \leq 0.01$ error probability.

RESULTS AND DISCUSSION

Identification of bacterial strains by fatty acid methyl ester analysis

According to the diagnosis results of bacterial strains based on fatty acid methyl ester profiles, 14 different bacteria species (2 *Bacillus megaterium*, 3 *Bacillus atrophaeus*, 1 *Brevibacillus choshinensis*, 2 *Bacillus pumilus*, 1 *Gardonia rubriperticta*, 1 *Microbacterium lacticum*, 1 *Bacillus licheniformis*, 1 *Brevibacillus reuszeri*, 1 *Bacillus thuringiensis israelensis*, 1 *Virgibacillus pantotheticus*, 1 *Bacillus cereus*, 1 *Bacillus filicolonicus*, 1 *Bacillus subtilis* and 1 *Paenibacillus alvei*) were identified as a result of the isolations from salty soils. 18 different bacterial species, which were identified as 3 *Bacillus subtilis*, 6 *Bacillus megaterium*, 2 *Bacillus cereus*, 2 *Pseudomonas stutzeri*, 2 *Sporosarcina psychrophila*, 1 *Bacillus licheniformis*, 1 *Arthrobacter aureus*, 1 *Raoultella terrigena*, 1 *Panibacillus validus*, 1 *Chryseobacterium indologenes*, 1 *Chryseobacterium indoltheticum*, 1 *Kurthia gibsonii*, 1 *Flavimonas oryzihabitans*, 1 *Cellulomonas fimi*, 1 *Bacillus niacini*, 1 *Kocuria varians*, 1 *Brevibacillus reuszeri* and 3 *Bacillus viscosus*, were determined from the isolations from sandy soils. The results of tests on isolates from volcanic soils revealed 24 different bacterial strains as 1 *Micrococcus luteus*, 3 *Bacillus megaterium*, 1 *Bacillus pumilus*, 2 *Pseudomonas fluorescens*, 3 *Bacillus cereus*, 2 *Bacillus sp.*, 1 *Pseudomonas syringae syringae*, 1 *Kluyvera intermedia*, 3 *Bacillus atrophaeus*, 1 *Pseudomonas stutzeri*, 1 *Chryseobacterium indoltheticum*, 2 *Kocuria rosea*, 1 *Brevibacillus choshinensis*, 1 *Pseudomonas putida*, 1 *Paenibacillus polymyxa*, 2 *Brevibacillus centrosporus*, 2 *Sphingobacterium faecium*, 1 *Bacillus subtilis*, 1 *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, 1 *Arthrobacter globiformis*, 1 *Empedobacter brevis*, 1 *Micrococcus lylac*, 1 *Pseudomonas balearica* and 1 *Bacillus thuringiensis israelensis*.

Colony morphologies and diagnostic results of biochemical tests of the isolated bacterial strains whose effectiveness against the pathogen was determined by the *in vitro* experiment are given in Table 1.

Determination of biocontrol effects of bacterial strains against *R. solani* isolates *in vitro*

According to *in vitro* test results, when the effects of bacteria applications on pathogen isolates are examined; it was determined that among 83 bacterial strains obtained, 11 bacterial strains were effective against B-1, while 13 were effective against B-227 and 17 against Rs-pat. It was determined that the remaining bacterial strains were ineffective on mycelium development of *R. solani* isolates. It was observed that HV20, HV43, HT19, HT21, HT26, HT30, HK3 and HK13 bacterial strains were showing antagonistic effect against three isolates of *R. solani*, while HV25 were having antagonistic effects against B-1 and B-227, HV2 was found to have an antagonistic effect against B-227 and Rs-pat, and HV46 and HK8 against B-1 and Rs-pat isolates. Among the strains, HV21, HV34, HK2, HK7, HK17 and HK32 were

found to be effective only in inhibiting the development of Rs-pat, while HV12, HV13 and HV14 were only effective in inhibiting the development of B-227 isolate (Table 2).

Table 1. Test results of bacterial strains with antagonistic effect on *R. solani* growth *in vitro*

SN	MIS Diagnostic Result	G	K	O	L	A1	T	A	F	P	KR
HV2	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	+	-	-	-	-	-	K+	Z+	-	Cream
HV12	<i>Pseudomonas syringae</i> <i>syringae</i>	-	K ⁺	+	-	-	-	K+	K+	-	Cream
HV13	<i>Kluyvera intermedia</i>	-	K ⁺	+	Z ⁺	-	-	K+	-	-	White, mucoid
HV14	<i>Bacillus atrophaeus</i>	+	+	+	Z ⁺	-	-	K+	-	-	Light brown
HV20	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	+	+	+	-	-	-	K+	-	-	White
HV25	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	+	Z ⁺	+	-	-	-	K+	Z+	-	White
HV34	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	K ⁺	-	-	K+	+	-	White
HV43	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	+	+	+	-	-	-	K+	+	-	White
HV46	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	+	Z ⁺	+	-	Z ⁺	-	K+	+	-	White
HK2	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	-	Z ⁺	-	+	-	-	White
HK3	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	+	-	-	-	-	-	+	-	-	Cream
HK7	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	+	+	+	-	+	-	K+	Z+	-	White
HK8	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	+	K ⁺	-	-	-	-	+	+	-	Cream
HK13	<i>Bacillus licheniformis</i>	+	+	+	+	-	-	K+	-	-	Cream
HK17	<i>Panibacillus validus</i>	+	+	+	-	+	-	Z+	Z+	-	White
HK32	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	-	+	-	K+	-	-	Cream
HT19	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	+	+	+	-	-	-	Z+	-	-	white
HT21	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	+	+	+	+	+	-	Z+	+	-	White
HT26	<i>Bacillus atrophaeus</i>	+	+	+	+	+	-	K+	Z+	-	Light brown
HT30	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	-	+	-	K+	Z+	-	White

SN: Strain no, G: Gram reaction test, K: Catalase test, O: Oxidase test, L: Levan test, A1: Amylase test, T: Hypersensitivity test in tobacco, A: Nitrogen fixing property, F: Phosphorus dissolving property, P: Potassium dissolving property, KR: YDC colony color in the medium, K⁺: Strong positive result, Z⁺: Weak positive result, +: Positive result, -: Negative result

When the inhibition zones created by the bacteria whose antifungal properties were tested in the petri experiment, it was determined that the inhibition zone values against Rs-pat isolate varied between 0.2 –1.7 cm. It was observed that the highest inhibition zone against the pathogen was formed by the HV43 bacteria with 1.7 cm. When the results were evaluated in terms of B-1 isolate, it was determined that the inhibition zone values were between 0.2 and 1.4 cm, and for B-227 isolate these values were between 0.1 and 0.93 cm.

When the effect of bacterial applications on Rs-pat isolate was examined, it was determined that HV43 was 65% effective in preventing the disease, while HT30 was 64% effective and HT26 was 54%. When the effects of the applications on B-227 were evaluated, the highest effect was obtained from HV43 strain with a rate of 53%. When the success of bacterial strains was evaluated in terms of B-1 isolate, it was found that HV43 was the most

effective with 55% inhibition rate. When the results are evaluated in general, the highest effect on all three fungus isolates was obtained from HV43 strain with 53-65% inhibition rate (Table 2).

Table 2. *In vitro* activities of candidate antagonist bacteria strains against *R. solani* isolates

Strain No	MIS Diagnostic Result	Rs- pat		B-227		B-1	
		Inhibition Zone (cm)	Inhibition Rate (%)	Inhibition Zone (cm)	Inhibition Rate (%)	Inhibition Zone (cm)	Inhibition Rate (%)
HV-46	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.16 h	18.00 h	--	--	0.20 fg	23.10 e
HK-17	<i>Panibacillus validus</i>	0.26 g	20.50 gh	--	--	--	--
HK-32	<i>Bacillus subtilis</i>	0.16 gh	24.00 fgh	--	--	--	--
HK-7	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.20 g	24.76fg	--	--	--	--
HK-2	<i>Bacillus subtilis</i>	0.30 g	26.40 efg	--	--	--	--
HV-21	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.33 fg	28.63 ef	--	--	--	--
HV-2	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.93 b	29.46 ef	0.46 cd	45.46 b	--	--
HV-20	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.50 ef	31.86 de	0.36 de	26.43 fg	0.36 def	27.23 e
HK-13	<i>Bacillus licheniformis</i>	0.63 de	31.96 de	0.36 de	34.70 d	0.66 bcd	35.50 cd
HK-8	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.86 bc	36.83 cd	--	--	0.76 bc	34.73cd
HV-34	<i>Bacillus subtilis</i>	0.33 fg	37.66 cd	--	--	--	--
HK-3	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.70 cd	37.70 cd	0.43 cd	35.56 d	0.83 b	41.33 b
HT-19	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	0.70 cd	40.16 c	0.43 cd	31.66de	0.40 def	35.50 cd
HT-21	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.76 bcd	41.00 c	0.90 a	40.46 c	0.56 bcde	39.66 bc
HT-26	<i>Bacillus atrophaeus</i>	1.50a	54.10 b	0.76 ab	48.83 ab	0.50 cdef	38.83 bc
HT-30	<i>Bacillus subtilis</i>	1.63a	63.96 a	0.93 a	50.40 a	1.26 a	51.20 a
HV-43	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	1.63a	64.70 a	0.63 bc	52.90 a	1.40 a	55.36 a
HV-25	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	--	--	0.23 def	23.93 g	0.26 efg	33.03 d
HV-14	<i>Bacillus atrophaeus</i>	--	--	0.13 ef	24.76 fg	--	--
HV-13	<i>Kluyvera intermedia</i>	--	--	0.23 def	29.16 ef	--	--
HV-12	<i>Pseudomonas syringae syringae</i>	--	--	0.30 de	28.90 ef	--	--
Control (+)		.0000 h	.0000 i	.0000 f	.0000 h	.0000 g	.0000 f

*Means with the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test at $p \leq 0.001$.

Determination of biocontrol effects of bacteria strains against *R. solani* isolates *in vivo*

In vivo test results were obtained by evaluating the disease symptom occurring in the roots of the bean plant according to the 0-4 scale. Disease symptom was observed in plants included in the positive control application inoculated with the pathogen and the average disease severity index was determined as 93.7%. There was no disease symptom in the plants in the negative control group. When the effect of bacterial applications on B-227 isolate was examined, it was seen that HT21, HT30 and HV43 strains prevent the disease by 100% and have the highest

antagonistic effect. HV2, HT26, HV25 and HV20 strains were also found to inhibit the development of disease successfully, with 91.1%, 84.4%, 66.7% and 40% inhibition rates, respectively. Among the strains, HV13 was found to be in the same group with the positive control with 93.7% disease severity and it was observed to be unsuccessful in preventing the development of the disease (Table 3).

Table 3. The effect of candidate on the antagonist bacteria severity of root rot disease in the pot trial

Strain No	MIS Diagnostic Result	Rs-pat		B-227		B-1	
		Disease Severity (%)	Effect (%)	Disease Severity (%)	Effect (%)	Disease Severity (%)	Effect (%)
HV-46	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	66.65 c	28.90 b	--	--	62.48 d	33.35 d
HK-17	<i>Panibacillus validus</i>	100.00 a	-6.70 d	--	--	--	--
HK-32	<i>Bacillus subtilis</i>	100.00 a	-6.70 d	--	--	--	--
HK-7	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	100.00 a	-6.70 d	--	--	--	--
HK-2	<i>Bacillus subtilis</i>	100.00 a	-6.70 d	--	--	--	--
HV-21	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	95.83 a	-2.28 d	--	--	--	--
HV-2	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	97.90 a	-4.47 d	8.30 hg	91.10 ab	--	--
HV-20	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	60.40 c	35.50 b	56.23 e	40.00 d	60.38d	35.60 d
HK-13	<i>Bacillus licheniformis</i>	100.00 a	-6.70 d	83.30 ab	11.06 gh	91.63 a	2.20 g
HK-8	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	91.65 ab	2.21 cd	--	--	75.00 bc	20.00 ef
HV-34	<i>Bacillus subtilis</i>	.0000 d	100.00 a	--	--	--	--
HK-3	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	56.23 c	39.98 b	62.48 de	33.35 de	64.55 cd	31.15 de
HT-19	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	83.30 b	11.12 c	79.15 bc	15.50 fg	79.15 b	15.50 f
HT-21	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	.0000 d	100.00 a	.0000 h	100.00 a	0.00 g	100.00 a
HT-26	<i>Bacillus atrophaeus</i>	8.30 d	91.10 a	14.55 g	84.43 b	25.00 e	73.30 b
HT-30	<i>Bacillus subtilis</i>	.0000 d	100.00 a	.0000 h	100.00 a	0.00 g	100.00 a
HV-43	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	.0000 d	100.00 a	.0000 h	100.00 a	0.00 g	100.00 a
HV-25	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	--	--	31.23 e	66.65 c	44.55 e	52.43 c
HV-14	<i>Bacillus atrophaeus</i>	--	--	68.73 cde	26.70 ef	--	--
HV-13	<i>Kluyvera intermedia</i>	--	--	93.73 a	-.0400 h	--	--
HV-12	<i>Pseudomonas syringae syringae</i>	--	--	70.80 bcd	24.50 ef	--	--
Control (+)		93.73 ab	.0000 cd	93.73 a	.0000 h	93.73 a	.0000 g
Control (-)		.0000 cd	.0000 cd	.0000 h	.0000 h	.0000 g	.0000 g

*Means with the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test at $p \leq 0.001$.

When the mean disease severity indexes determined for the Rs-pat isolate were evaluated, it was found that seven of the bacterial strains (HK2, HK7, HK13, HK17, HK32, HV2, HV21) were not effective against the pathogen. HV34, HV43, HT21 and HT30 strains had 100% effect on the disease and it was determined that they were the most effective antagonist microorganisms against the disease. The mean disease severity index of plants where HT26 bacteria was applied was determined as 8.3 and the effect on disease development was determined as 91.1%, and in this respect, it was recorded as a very effective application in preventing the disease. It was determined that HK3 strain had a 40% potential to prevent disease, while HK8, HT19, HV46 and HV20 bacteria prevent development of disease at lower rates (2.1% - 35.5%) compared to other applications (Table 3).

When the biocontrol trial results of the B-1 isolate were evaluated, no disease symptom was observed in plants to which HV43, HT21 and HT30 bacteria were applied, and all strains were found to be quite successful with 100% effective rate against the pathogen. HV25 and HT26 bacteria applications are accepted to be successful by preventing disease over 50% rate (57.7% - 73.3%) (Table 3).



Fig 1. The effect of strain HV43 on B-227 isolate

Fig 2. The effect of strain HT21 on B-227 isolate



Fig 3. The effect of strain HV34 on Rs-pat isolate



Fig 4. The effect of strain HT30 on B-1 isolate

In vivo trial results were grouped according to the potential of bacteria strains in inhibiting the pathogen, and those with an effect between 70% and 100% were considered “very successful” while those with an effect between 50% and 70% were considered “successful”.

In this study, it was observed that all 7 strains of bacteria, which were determined to have antagonistic effects on three isolates of *R. solani*, belong to the genus *Bacillus*. It was determined that 4 different bacterial strains, namely *Paenibacillus polymyxa* (B-1 and B-227), *Panibacillus validus* (Rs-pat), *Pseudomonas syringae syringae* and *Kluyvera intermedia* (B-227), are all among the bacterial strains with antagonistic effects. In studies similar to this study, it has been reported that different *Bacillus* species suppress the development of soil borne fungal pathogens *in vitro*. *Bacillus sp.* isolated from soil by Ulukuş (1988) was reported to be inhibiting the development of *V. dahliae*. It was reported by Amer et al. (1997) that *Bacillus thuringiensis* causes morphological distortion and lysis in the hyphae of *Pythium ultimum* and *F. oxysporum*, which causes disease in tomatoes. It was found by Tekin (2004) that antagonists belonging to *Bacillus* species significantly inhibit pathogens that cause disease in the roots of pepper plant. Soyulu et al. (2005) reported that fluorescent *Pseudomonas spp.* and *Bacillus spp.* show antagonistic effect against disease agents and prevent the disease to a high extent when used in the control against soil-borne *S. sclerotiorum* and *R. solani*, which cause infection in peppers and tomatoes. It was reported by Abd-Allah et al. (2006) that *B. subtilis* applications prevent disease incidence by causing the change of lipid fractions in the plant. Fluorescent strains of *Pseudomonas* and *Bacillus* species were reported by Çubukçu (2007) to significantly reduce the growth of *V. dahliae*, *Verticillium* wilt factor in cotton plants.

It was found that seven of the bacteria strains (HK2, HK7, HK13, HK17, HK32, HV2, HV21) that were effective against the pathogen *in vitro*, were not effective *in vivo*, and contrary to expectations, they caused a higher rate of disease than positive control. Likewise, it was reported by Berg et al. (2001) that *Serratia plymuthica* R12 application increased the symptoms of *Verticillium* wilt statistically in the strawberry plant under greenhouse conditions, compared

to positive control. Similarly, in another study (Vestberg et al., 2004) investigating the effectiveness of applications of *Glomus mosseae* BEG29, *Bacillus subtilis* M, *Trichoderma harzianum* DB11, *Pseudomonas fluorescens* C7r12 and *Gliocladium catenulatum* (Gliomix) against diseases caused by *P. cactorum* and *P. fragaria* pathogens in strawberry, it was reported that the applications could not control the disease, and even the disease severity increases as a result of some applications. Another striking result of this study in line with these findings is the inconsistency between *in vitro* and *in vivo* test results of some bacterial strains, which is frequently encountered in biological control studies. It has been reported by Papavizas and Lewis (1983) and Fravel (1998) that there are many findings of incompatibility between *in vitro* antibiosis studies and *in vivo* biocontrol. In a study conducted by Duczek (1994) on the control of *Bipolaris sorokiniana* pathogenic fungus, no relationship was reported between greenhouse and field trials in terms of the efficiency of bacteria strains. Shtienberg and Elad (2002) reported that *in vitro* and *in vivo* results may differ in biological control studies. It was reported by Mercado-Blanco et al. (2004) that there is no relationship between *in vivo* and *in vitro* effectiveness of bacteria strains tested in the inhibition *Verticillium* wilt. In addition, it is known that the content of the medium used in dual culture assays performed to determine the antagonistic effects of bacteria *in vitro* is important. It has been determined that the antibiotic production of microorganisms varies according to the carbon sources contained in the medium (Shanahan et al., 1992; Nielsen et al., 1998; Yoshida et al., 2001). In addition, it was stated that antibiotic production is greatly affected by environmental factors and in case antibiotic production is related to the enzyme, results cannot be obtained by *in vitro* tests in the absence of the enzyme substrate (Fravel, 1998).

As a result of the study, it was observed that the activities of bacterial strains were generally higher *in vivo*. To obtain an effective result in biological control with plant diseases *in vivo* depends on the interactions of host (morphological and genotypic changes depending on the plant variety, plant growth period), pathogen (virulence and pathogenicity difference), antagonist bacteria (population density, production of enzymes, hormones and antimicrobial substances) and environmental factors (pH, temperature, humidity, soil texture, abiotic factors such as inorganic and organic matter content) (Landa et al., 2004). Among the microbial communities, the most competitive species that are best adapted to the living environment, create population differences by forming more colonies, thus rapidly colonizing plant roots and exhibiting an effective biocontrol feature against disease agents (Boudyach et al., 2001; Rezzonico et al., 2007). It was reported that changes in environmental factors such as temperature, humidity and light do not affect the underground part of the plant faster and at a higher level than the part above ground, therefore the bacteria strains applied to the rhizosphere region are more effective than those applied to the part of the plant above ground (Hsieh et al., 2005). It was also reported that a successful rhizosphere colonization for microorganisms is associated with root exudation of the plant. It was determined that the structure of the exudates changes depending on the plant variety, the growth period of the plant and its exposure to stress, and this situation causes differences in the colonization of various bacterial communities. Exudates secreted into rhizosphere by plants are formed up of various carbohydrates, amino acids and organic acids, and these secretions are used as food source by some bacteria in the

region and affect their colonization (Lugtenberg and Dekkers, 1999; Bais et al., 2006; Haichar et al., 2008).

According to the results obtained from the pot experiment, it was observed that some bacteria applications resulted in no disease and the root part of the plant developed very well compared to the control. Therefore, bacteria strains which were determined as successful have attracted attention with their biocontrol effects as well as their plant growth enhancing properties. These results were thought to be due to the fact that the bacteria strains applied to the seed stimulate the systemic resistance of the plant, and its abilities to fix nitrogen and solubilizing phosphorus. Studies on this subject show that PGPRs prevent the formation of diseases in plants by pathogenic microorganisms with some mechanisms they possess, and at the same time, they are widely and successfully used to promote plant growth (Hoitink, 1986; Slezacek et al., 1999; Heungens and Parke, 2000; Estevez de Jensen et al., 2002; Anandhakumar and Zeller, 2004). As a result of the stimulation of systemic resistance by antagonist bacteria, it was determined that enzymatic changes that provide resistance against diseases occur in plants, and that the activities of enzymes such as *phenylalanine ammonia-lyase*, *lipooxygenase*, *hydroperoxidase*, *peroxidase*, *polyphenol oxidase* increase (Chen et al., 2000; Ongena et al., 2004; Silva et al., 2004). In addition, it was reported that microbial antagonists produce antimicrobial compounds such as pyrrolnitrin, 2,4-diacetylphloroglucinol, hydrogen cyanide, phenazine-1-carboxylic acid, pyoluteorin, mycobactin, oomycin A, subtilin, bacillysin and iturin A, and inhibit pathogen development by producing enzymes such as chitinase, cellulase and gluconase that decompose cell wall (Chen et al., 2000; Tambong and Höfte, 2001; Krechel et al., 2002; Ramamoorthy et al., 2002). It was demonstrated in various studies that bacterial strains increase plant growth and play a role in preventing pathogen development by producing plant hormones, such as indole acetic acid, gibberellic acid, cytokinin and ethylene, by fixing nitrogen symbiotically, and by mineralizing phosphorus and other nutrients that cannot be taken from the soil (Gutierrez-Manero et al., 2001; Dobbelaere et al., 2002; Şahin et al., 2004). It was determined that indole acetic acid production by antagonist bacteria is effective in root elongation and development of the plant, and there is a positive relationship between indole acetic acid and root development (Asghar et al., 2002; Khalid et al., 2004). Bacterial strains, which were found to be effective in this study, are thought to suppress the pathogen by using one or more of these mechanisms.

REFERENCES

- Anonim, 2018. Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri. www.tuik.gov.tr Erişim Tarihi (09.12.2019)
- Anonymous., 2018. FAO Statical Database. www.faostat.fao.org Erişim tarihi (13.04.2018)
- Abd-Allah, F., Hashem, A., Ezzat, S.M., 2006. Lipid metabolism in tomato and bean as sensitive monitor for biocontrol of wilt diseases, *Phytoparasitica*, 34(5),516-522.
- Amer G.A., Aggarwal, R., Singh, D.V., Srivastava, K.D., 1997. Interaction of *Bacillus thuringiensis* with *Pythium ultimum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: Possible Role in Biological Control. *Current Science*, 3, 284–286.
- Anandhakumar, J., Zeller, W., 2004. Investigation on the biocontrol of *Phytophthora* diseases on strawberry based on antagonism. 11th international conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing. Proceedings of the Conference, Weinsberg, Germany 240-243.
- Asghar, H.N., Zahir, Z.A., Arshad, M., Khaliq, A., 2002. Relationship between *in vitro* production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L., *Biology and Fertility of Soils*, 35(4), 231–237.
- Aydın, M.H., 2008. Patates yetiştiriciliğinde sorun olan *Rhizoctonia solani*'nin biyolojik savaşımı ve bunun kimyasal savaşla entegrasyonu. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, 183.

- Biological Control of *Rhizoctonia solani* Kühn. with Rhizobacteria Isolated from Different Soil and *Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'her.), 4(2): 92-107, 2021.
- Aydın, M.H., Turhan, G., Göre, M.E., 2011. Patates yumrularında *Rhizoctonia solani* Kühn. sklerotlarının canlılığı ve oluşumu üzerine bazı antagonistlerin etkinliğinin belirlenmesi. *Anadolu Journal of AARI*, 21(2), 29–38.
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M., 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 233-266.
- Bakalı, A.M., Martin, M.P., 2006. Black scurf of potato. *Mycologist*, 20,130-132.
- Berg, G., 2007. Biological control of fungal soilborne pathogens in strawberries. *Biological Control Of Plant Diseases*, Chincholkar SB and Mukerji KG, The Haworth Press, United States of America, 1-16.
- Berg, G., Fritze, A., Roskot, N., Smalla, K., 2001. Evaluation of potential biocontrol rhizobacteria from different host plants of *Verticillium dahliae* Kleb. *Journal of Applied Microbiology*, 91(6), 963-971.
- Bora, T., Yıldız, M., Özaktan, H., 1994. Ege bölgesinde kavun ve karpuzlarda görülen *Fusarium* solgunluklarının antagonistik *Fluorescent pseudomonas*'larla önlenmesi olanakları üzerinde araştırmalar. Ege Üniversitesi Araştırma Fonu 92-ZFR-035 Sayılı Proje Kesin Raporu 26.
- Bora, T., Özaktan, H., 1998. Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, İzmir 205.
- Boudyach, E.H., Fatmi, M., Akhayat, O., Benizri, E., Ait Ben Oumar, A., 2001. Selection of antagonistic bacteria of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and evaluation of their efficiency against bacterial cancer of tomato, *Biocontrol Science and Technology*, 11, 141-149.
- Bruehl, G.W., 1987. *Soilborne Plant Pathogens*. Macmillan, New York.
- Caesar-TonThat, T.C., Caesar, A.J., Gaskin, J.F., Sainju, U.M., Busscher, W.J., 2007. Taxonomic diversity of predominant culturable bacteria associated with microaggregates from two different agroecosystems and their ability to aggregate soil *in vitro*. *Applied Soil Ecology*, 36(1), 10–21.
- Carling, D.E., Kuninaga, S., Brainard, K.A., 2002. Hyphal anastomosis reactions, rDNA internal transcribed spacer sequences and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 2 (AG2) and AG-BI. *Phytopathology*, 92(1), 43-50.
- Cattelan, A.J., Hartel, P.G., Fuhrmann, J.J., 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Science Society of America Journal*, 63(6), 1670–1680.
- Chen, C., Belanger, R.R., Benhamou, N., Paulitz, T.C., 2000. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 56(1), 13–23.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C., Ait Barka, E., 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 4951-4959.
- Çakmakçı, R., 2005. Bitki gelişiminde fosfat çözücü bakterilerin önemi. Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 19,93-108.
- Çapar, E., 2012. Patateste farklı sklerot düzeylerinin *Rhizoctonia solani* infeksiyonlarındaki rolünün ve hastalıkla mücadelede yumru ilaçlamalarının etkinliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, 71.
- Çetinkaya Yıldız, R., 2007. Domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni [*Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis* (Smith) davis et. al.]'nin tanılanması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, 191.
- Çubukcu, N., 2007. Pamuklarda *Verticillium* solgunluğu (*Verticillium dahliae* Kleb.)'na karşı endofitik bakterilerle biyolojik mücadele. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, 73.
- Delen, N., 1991. Patojenlerin Fungisitlere Dayanıklılık Sorunu. TYUAP Ege-Marmara Dilimi, ABAV Toplantısı, 12-14 Mart, Menemen/İzmir.
- Dixon, G.R., 1984. *Vegetable Crop diseases*. Macmillan, London.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y., Vanderleyden, J., 2002. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and A. irakense strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biology and Fertility of Soils*, 36(4), 284-297.
- Dönmez, M.F., Uysal, B., Demirci, E., Ercişli, S., Çakmakçı, R., 2015. Biological control of root rot disease caused by *Rhizoctonia solani* Kühn. on potato and bean using antagonist bacteria. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 14 (5), 29-40.
- Duczek, L.J., 1994. Relationship between a greenhouse and field assay for biological control of common root rot of spring wheat and barley. *Canadian Plant Disease Survey*, 74 (2),135-140.
- Eken, C., Demirci E., 2004. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* isolates from bean in Erzurum, Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 86(1), 49-52.
- Estevez de Jensen, C., Percich, J.A., Graham, P.H., 2002. Integrated management strategies of bean root rot with *Bacillus subtilis* and *Rhizobium* in Minnesota. *Field Crops Research*, 74(2-3), 107-115.
- Fravel, D.R., Connick, W.J., Lewis, J.A., 1998. Formulation of microorganisms to control plant diseases. in: *Formulation of Microbial Biopesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments*. Edited by H.D. Burges. Kluwer Academic Pub, 187-202.
- Genç, T., 2012. Erzurum ve Erzincan İllerinde çilek bitkilerinden izole edilen *Verticillium dahliae* Kleb.'nin vejetatif uyum grupları, patojenitesi ve biyolojik mücadelesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, 142.
- Gutierrez-Manero, F.J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouchi, J., Tadeo, F.R., Talon, M., 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 111, 206- 211.

Biological Control of *Rhizoctonia solani* Kühn. with Rhizobacteria Isolated from Different Soil and *Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'her.), 4(2): 92-107, 2021.

- Haichar, F.Z., Marol, C., Berge, O., Rangel-Castro, J.I., Prosser, J.I., Balesdent, J., Heulin, T., Achouak W., 2008. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. *The ISME Journal*, 2(12), 1221-1230.
- Hall, R., 1991. *Compendium of bean diseases*. APS Press, St. Paul, USA. 102.
- Heungens, K., Parke J.L., 2000. Zoospore homing and infection events: effects of the biocontrol bacterium *Burkholderia cepacia* AMMDR1 on two oomycete pathogens of pea (*Pisum sativum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 66(12), 5192-5200.
- Hoitink, H.A., 1986. Basis for the control of soil borne plant pathogens with Composts. *Annual Review of Phytopathology*, 24, 93-114.
- Hsieh, T.F., Huang, H.C., Erickson, R.S., 2005. Biological control of bacterial wilt of bean using a bacterial endophyte, *Pantoea agglomerans*, *Journal of Phytopathology*, 1538(10), 608-614.
- Jehtonen, M.J., 2009. *Rhizoctonia solani* as a potato pathogen variation of isolates in Finland and host response. University of Helsinki Finland, Academic Dissertation in Plant Pathology, 81.
- Kageyama, K., Nelson E.B., 2003. Differential inactivation of seed exudates stimulation of *Pythium ultimum* sporangium germination by *Enterobacter cloacae* influences biological control efficacy on different plant species. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(2), 1114-1120.
- Khalid, A., Arshad, M., Zahir, Z.A., 2004. Screening plant-growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat, *Journal of Applied Microbiology*, 96(3), 473-480.
- Kılıçoğlu, M.Ç., Özkoç, İ., 2010. Molecular characterization of *Rhizoctonia solani* AG4 Using PCR-RFLP of the rDNA-ITS region. *Turk Journal of Biology*, 34(3), 261-269.
- Krechel, A., Faupel, A., Hallmann, J., Ulrich, A., Berg, G., 2002. Potato associated bacteria and their antagonistic potential towards plant-pathogenic fungi and the plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) chitwood. *Canadian Journal of Microbiology*, 48(9), 772-786.
- Landa, B.B., Navas-Cortés, J.A., Jiménez-Díaz, R.M., 2004. Influence of temperature on plant rhizobacteria interactions related to biocontrol potential for suppression of *Fusarium* wilt of chickpea. *Plant Pathology*, 53(3), 341-352.
- Larkin, R.P., Honeycutt, C.W., 2006. Effect of inoculum density and soil tillage on the development and severity of *Rhizoctonia* diseases of potato, *Phytopathology*, 96, 68-79.
- Lehtonen, M.J., Somervuo, P., Valkonen, P.T., 2008. Infection with *Rhizoctonia solani* induces defense genes and systemic resistance in potato sprouts grown without light. *Phytopathology*, 98(11), 1190-1198.
- Lugtenberg, B.J.J., Dekkers, L.C., 1999. What make *Pseudomonas* bacteria rhizosphere competent? *Environmental Microbiology*, 1(1), 9-13.
- Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., Aeron, A., Kumar, A., Kim, K., Bajpai, V.K., 2015. Potassium solubilizing rhizobacteria (KSR); isolation, identification, and K-release dynamics from Waste Mica. *Ecological Engineering*, 81: 340-347.
- Mehta, S., Nautiyal, C.S., 2001. An efficient method for qualitative screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Current Microbiology*, 43(1), 51-56.
- Mercado-Blanco, J., Rodríguez-jurado, D., Hervas, A., Jimenez-Diaz, R.M., 2004. Suppression of *Verticillium* wilt in olive planting stocks by root-associated fluorescent *Pseudomonas* spp. *Biological Control*, 30(2), 474-486.
- Metraux, J.P., 2001. Systemic acquired resistance and salicylic acid current state of knowledge. *European Journal of Plant Pathology*, 107(1), 13-18.
- Nandakumar, R., Babu, S., Viswanathan, R., Raguchander, T., Samiyappan, R., 2001. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(4-5), 603-612.
- Nielsen, M.T., Sorensen, J., Fels, J., Pedersen, H.C., 1998. Secondary metabolite and endochitinase dependent antagonism toward plant-pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 3563-3569.
- Ongena, M., Duby, F., Rossignol, F., Fouconnier, M.L., Dommes, J., Thonart, P., 2004. Stimulation of the lipoxygenase pathway is associated with systemic resistance induced in bean by a nonpathogenic *Pseudomonas* strain. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 17(9), 1009-1018.
- Papavizas, G.C., Lewis, J.A., 1983. Physiological and biocontrol characteristic of stable mutants of *Trichoderma viride* resistant to MBC fungicides. *Phytopathology*, 73, 407-411.
- Ramamoorthy, V., Raguchander, T., Samiyappan, R., 2002. Enhancing resistance of tomato and hot pepper to *Pythium* diseases by seed treatment with fluorescent *Pseudomonads*. *European Journal of Plant Pathology*, 108(5), 429-441.
- Rezzonico, F., Zala, M., Keel, C., Duffy, B., Moëgne-Loccoz, Y., Défago G., 2007. Is the ability of biocontrol fluorescent *Pseudomonads* to produce the antifungal metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol really synonymous with higher plant protection? *New Phytologist*, 173(4), 861-872.
- Ryu, C.M., Farag, M.A., Hu, C.H., Reddy, M.S., Kloepper, J.W., Pare, P.W., 2004. Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 134(3), 1017-1026.
- Schaad, N.W., 1994. *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. APS Press, pp. 164.
- Shanahan, P., O'sullivan, D.J., Simpson, P., Glennon, J.D., O'Gara, F., 1992. Isolation of 2,4-Diacetylphloroglucinol from a fluorescent *Pseudomonas* and investigation of physiological parameters influencing its production. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(1), 353-358.

Biological Control of *Rhizoctonia solani* Kühn. with Rhizobacteria Isolated from Different Soil and *Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'her.), 4(2): 92-107, 2021.

- Shtienberg, T., Elad, Y., 2002. Is it possible to cope with variability of biological control, IOBC/WPRS bulletin, seventh meeting of the WG: influence of A-biotic and biotic factors on the biocontrol agents, Kusadası, Turkey. 19.
- Silva, H.S.A., Romerio, R.S., Macagnan, D., Halfeld, B.A., Pereira, M.C.B., Mounter, A., 2004. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities, *Biological Control*, 29(2), 288-295.
- Sippell, D.W., Hall, R., 1982. Effects of pathogen species, inoculum concentration, temperature, and soil moisture on bean root rot and plant growth. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 4(1), 1-7.
- Slezack, S., Dumas Gaudot, E., Rosendahl, S., Kjoller, R., Paynot, M., Negrel, J., Gianinazzi, S., 1999. Endoproteolytic activities in pea roots inoculated with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and *Aphanomyces euteiches* in relation to bioprotection. *New Phytologist*, 142(3), 517-529.
- Smith, S.E., Read, D.J., 1997. Vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Mycorrhizal Symbiosis*. (Editörs: Smith ES, Read DJ) Academic Press, London. 9-161.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Kurt, Ş., Ekici, Ö.K., 2005. Antagonistic potentials of rhizosphere-associated bacterial isolates against soil-borne diseases of tomato and pepper caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(1), 43-48.
- Şahin, F., Çakmakçı, R., Kantar, F., 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-Fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil*, 265(1), 123-129.
- Tambong, J.T., Höfte M., 2001. Phenazines are involved in biocontrol of *Pythium myriotylum* on cocoyam by *Pseudomonas aeruginosa* PNA 1. *European Journal of Plant Pathology*, 107(5), 511-521.
- Tekin, Ş., 2004. Farklı biber ekim alanlarında yetiştirilen bitkilerin rizosferlerinden izole edilen antagonist bakterilerin bazı fungal patojenlerin gelişimi üzerine etkinlikleri. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, 52.
- Turhan, O., 2010. Çilekte siyah kök çürüklüğü (*Rhizoctonia solani* Kühn.) hastalığına karşı bazı biyolojik kontrol ajanlarının etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 59.
- Ulukoş, İ., 1988. The antagonistic effect of a *Bacillus* sp. against some bacterial and fungal plant pathogens and some antagonistic fungi. *The Journal of Turkish Phytopath*, 17(3), 140-141.
- Van Loon, L.C., 1997. Induced resistance in plants and role of pathogenesis related proteins. *European Journal of Plant Pathology*, 103, 753-765.
- Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., Pieterse C.M.J., 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 36, 453-483.
- Vessey Kewin, J., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers, *Plant and Soil*, 255(2), 571-586.
- Vestberg, M., Kukkonen, S., Saari, K., Parikka, P., Huttunen, J., Tainio, L., Devos, N., Weekers, F., Kevers, C., Thonart, P., Lemoine, M.C., Cordiwe, C., Alabouvette, C., Gianinazzi, S., 2004. Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry. *Applied Soil Ecology*, 27, 243-258.
- Vural, Ç., 2008. Hatay ili fasulye ekim alanlarında karşılaşılan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, 49.
- Walsh, U.F., Morrissey, J.P., O'Gara, F., 2001. *Pseudomonas* for biocontrol phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation. *Current Opinion in Biotechnology*, 12(3), 289-295.
- Weller, D.M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26, 379-407.
- Willets, H.J., Wong, J.A.L., 1980. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, and *S. minor* with emphasis on specific nomenclature. *Botanical Review*, 46, 101-165.
- Yanar, Y., Yılmaz, G., Coşkun, Ş., Çeşmeli İ., (2005). Patates çeşitlerinin *Rhizoctonia solani* Kühn'nin neden olduğu siyah kabukluluk hastalığına karşı reaksiyonlarının belirlenmesi. *Gazi Osmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2), 19-22.
- Yoshida, S., Hiradate, S., Tsukamoto, T., Hatakeda, K., Shirata A., 2001. Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2 isolated from mulberry leaves. *Phytopathology*, 91(2), 181-187.



Research /Araştırma

İğdir’da Domates (*Solanum Lycopersicon* L.)’te Hastalığa Neden Olan Bakterilerin İzolasyonu ve Tanısı

Buşran SUNYAR¹, Mesude Figen DÖNMEZ^{1*}, İrfan ÇORUH²

ÖZET

Bu çalışmada, 2017 yılında İğdir ilinde domateste verim ve kalite kaybına neden olan bakteriyel hastalık etmenleri araştırılmıştır. Bu amaçla üretiminin yoğun olarak yapıldığı Aralık, Karakoyun, Tuzluca, Kasımcın, Oba ve Melekli ilçelerinde sürvey yapılarak hastalıklı bitki örnekleri toplanmıştır. İzolasyon çalışması sonucunda 98 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlerin King B besiyerinde floresant pigment üretimi, levan koloni oluşumu, gram reaksiyon, pektolitik aktivite, oksidaz, amilaz, arginine dehidrolaz, katalaz ve tütün bitkisinde hipersensitif reaksiyon özellikleri test edilmiştir. Süper 5656 domates çeşitinde 11 strainin patojenisite testi pozitif bulunmuştur. Yağ asit metil ester analizi (FAME) ve BIOLOG Gen III ile 8 strain *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, 2 strain *Pseudomonas viridiflava* ve 1 strain *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* olarak tanılanmıştır. İğdir ilinde belirtilen patojenlerin varlığı ilk defa bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: İğdir, Biyolog, FAME, Domates, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*

Isolation and Identification of Bacteria Causes Diseases on the Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) in İğdir

ABSTRACT

In this study, bacterial disease agents that cause yield and quality loss in tomatoes in İğdir province in 2017 were investigated. For this purpose, diseased plant samples were collected by conducting surveys in the Aralık, Karakoyun, Tuzluca, Kasımcın, Oba and Melekli, where production is intense. 98 bacterial strains were obtained in the isolation study. Fluorescent pigment production in King B medium, levan colony formation, gram reaction, pectolytic activity, oxidase, amylase, arginine dehydrolase, catalase and hypersensitivity reaction properties in tobacco plant were tested in King B medium of strains. Pathogenicity test was found positive for 11 strains on super 5656 tomato cultivar. Strain were identified by using fatty acid methyl ester analysis (FAME) and Biolog Gen III system. According to identification results 11 strain were determined, of which 8 were *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, 2 were *Pseudomonas viridiflava* and 1 was *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. The presence of pathogens in İğdir province was proved for the first time by this study.

Keywords: İğdir, Biolog, FAME, Tomato, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*

¹Buşran SUNYAR (Orcid ID: 0000-0001-8524-3308), Mesude Figen DÖNMEZ (Orcid ID: 0000-0002-7992-8252) İğdir University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, , Turkey

²İrfan CORUH (Orcid ID: 0000-0002-6569-6163) Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mesude Figen DÖNMEZ, e-mail: mesude.figen.donmez@igdir.edu.tr

GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicon* L.); Solanaceae familyası içerisinde yer alan ılıman iklimlerde yıllık, tropikal bölgelerde ise çok yıllık olarak yetiştirilen önemli bir bitkidir (Wang *et al.*, 2010). İnsan beslenmesinde vazgeçilmez ürünlerden olması ve gıda sanayinde turşu, salça, dondurulmuş ürün, ketçap, püre, konserve gibi çok çeşitli kullanım alanlarına sahip olması nedeniyle dünyada en çok üretilen, tüketilen ve ticarete konu olan tarım ürünlerinin başında gelmektedir. 2018 yılında 61 631 581 ton üretim değeriyle dünyada en fazla domates üreten ülke Çin’dir ve dünya domates üretiminin % 33.82’sini karşılamaktadır. Türkiye ise 12 150 000 ton üretim değeriyle dünya domates üretiminde % 6.67’lik paya sahiptir (FAO 2020). Doğu Anadolu Bölgesi’nin en verimli ovalarından birisine sahip olan ve tarım potansiyeli yüksek olan İğdır İli’nde ise 56.083 ton domates üretimi yapıldığı belirlenmiştir (TUİK 2016).

Ülkemiz için büyük önemi olan domates yetiştiriciliğinde karşılaşılan temel sorunların başında hastalık ve zararlılardan kaynaklanan verim ve kalite kayıpları gelmektedir. Domates bitkisinin ekimini ve verimini sınırlandıran en önemli patolojik sorunlardan birisi bakteriyel etmenlerin neden olduğu hastalıklardır. Bu bakteriyel hastalıklar arasında bakteriyel benek [*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Young *et al.*, 1978)], bakteriyel kanser ve solgunluk [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Davis *et al.*, 1984)], bakteriyel yaprak lekesi [*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Gardner and Kendrick, 1923)], bakteriyel solgunluk [*Ralstonia solanacearum* (Yabuuchi *et al.*, 1995)], bakteriyel gövde ve meyve çürüklüğü [*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Bergey *et al.*, 1923)] ve domates öz nekrozu [*Pseudomonas corrugata* (Scarlet *et al.*, 1978), *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas viridiflava* (Wielke and Dye, 1974)] hastalıkları oldukça büyük önem taşımaktadır (Wielke *et al.*, 1973). Türkiye’de Çetinkaya ve Aysan (2008) tarafından Adana, Mersin, Antalya, Artvin, Bursa ve İzmir illerinde domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda domates bakteriyel solgunluk hastalığına neden olan *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, Aksoy (2002) tarafından Samsun ilinde domates ekim alanlarında *P. corrugata*, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. syringae* pv. *tomato*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ve *Erwinia caratovora*, İmriz ve Çınar (2015) tarafından Mersin ve Adana illerinde sera üretim alanlarında domates öz nekrozu etmenlerinden *P. cichorii* ve *P. corrugata*, Ünlü ve ark. (2016) tarafından örtüaltı yetiştiriciliği yapılan domates alanlarında *P. syringae* pv. *tomato*, Şahin (2016) tarafından Kahramanmaraş ve çevresinde biber bitkisinde *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada; İğdır ilinde ekonomik öneme sahip olan domates bitkisinde hastalığa neden olan bu patojenlerin varlığı 2017 yılında yapılan survey çalışması ile araştırılmış ve elde edilen strainlerin morfolojik, biyokimyasal ve patolojik özellikleri belirlenmiş, yağ asit metil ester analizi ve Biolog Gen III sistem ile tanıları yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması ve İzolasyonu

2017 yılında İğdır’ın Aralık, Tuzluca ve Karakoyunlu ilçelerinde ve İğdır merkeze bağlı Kasımcan, Oba ve Melekli köylerinde domates yetiştiriciliği yapılan tarlalara gidilmiş, ilçe ve her köyden 3’ er tarla seçilerek, basit tesadüfi örnekleme metoduna göre hastalıklı bitki örnekleri alınmıştır. Süreyleyler bitkilerin fide ve meyve verim dönemleri olmak üzere 2 kez

yapılmıştır. Alınan örneklerden bakteri izolasyonu yapılmış ve gelişen bakterilerden sarı ve krem renkli koloniler saflaştırılarak stok kültürler 500 µl Lauryl Broth (10 g pepton, 10 g NaCl, 5 g yeast extract/1 L dH₂O) ve 500 µl % 30 gliserol içeren ortamda hazırlanmış ve -80 °C’ de muhafaza edilmiştir.

Mikroorganizmaların Yağ Asit Metil Ester Analizi İle Tanısı

Saf kültür olarak –80 °C’ de muhafaza edilen bakteri strainlerinden yağ asit metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırılması ve analizi yapılmıştır. Bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sistemi olan Mikrobiyal Identifikasyon Sistem (MIDI, Inc., Newark, DE) kullanılarak kültüre alınan strainlerin tür ve alt tür seviyesinde tanısı yapılmıştır (Sasser, 1990).

Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Reaction=HR) Testi

Elde edilen bütün bakteri strainleri Nutrient Agar (28 g NA/1 L dH₂O) besi yerine ekilerek, 24-48 sa 27 °C’ ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen kültürlerden sdH₂O ile konsantrasyonu 10⁸ hücre/ml olan solüsyonlar hazırlanmıştır. Solüsyonlar 3 ml’ lik plastik enjektörlerle tütün yapraklarının alt kısmında damar aralarına enjekte edilmiştir. İnokule edilen bitkiler en az 48 saat ışıklı bir ortamda muhafaza edilerek inokulasyonun yapıldığı kısımda nekroz oluşup oluşmadığı gözlemlenmiştir. Ölü doku oluşumu HR pozitif, oluşmaması ise HR negatif olarak değerlendirilmiştir (Klement *et. al.*, 1966). Karşılaştırma kültürü olarak GG-3 *E. amylovora* straini kullanılmıştır.

Patojenisite Testi

Bakteriler strainleri NA besi yerine ekilerek 27 °C’ de 24 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Türbidimetre ile gelişen bakteri kültürlerinden konsantrasyonu 10⁸ hücre/ml olarak hazırlanan inokulum bitkilere (süper 5656 domates çeşidi) inokule edilmiştir. İnokulasyon *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ve *P. syringae* pv. *tomato* için bitki yapraklarına sprej şeklinde, *P. viridiflava* için bitki gövdelerine kürdan yardımıyla açılan yaralara kolonilerin uygulanması yoluyla yapılmıştır. Negatif kontrol grubundaki bitkilere ise sdH₂O uygulanmıştır. İnokulasyon sonrası bitkiler üzerine polietilen torbalar geçirilerek oda sıcaklığında 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda torbalar çıkartılarak, 7-14 gün boyunca hastalık simptomlarının oluşumu gözlenmiştir (Lelliot and Stead, 1987; Saygılı, 1995).

Morfolojik ve Biyokimyasal Testler

Elde edilen fitopatojen bakterilerin morfolojik (koloni morfolojisi ve rengi hareketlilik testi) ve biyokimyasal (gram reaksiyon testi, pektinaz, flüresant pigment üretimi, katalaz, oksidaz, nişasta hidrolizi, arginine dihidrolaz ve levan koloni özellikleri belirlenmiştir. Her bir test aynı şartlarda 3 kez tekrarlanmıştır.

Morfolojik Testler

Koloni Morfolojisi

Bakteri strainleri NA üzerine çizgi ekim şeklinde kontamine edilmiştir. Bakteriler 48-72 sa 27 °C ‘ de inkübe edildikten sonra kolonilerin gelişimi ve rengi tespit edilmiştir (Saygılı, 1995).

Hareketlilik Testi

Bir litre dH₂O içerisine 10 g tryptone, 5 g NaCl ve 5 g agar ilave edilmiştir. Karışımın pH’sı 7.2’ ye ayarlanmış ve bu karışımdan tüplere 5’ er ml konularak otoklavda 121 °C ‘de 15 dakika steril edilmiştir. Hazırlanan besi yerine bakteri strainleri inokule edilmiş ve gelişmeleri için 25 °C’ de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 8., 24., ve 48. saatinde bakteri gelişimi kontrol edilmiştir. Besi yerinde inokulasyon noktasından çevreye doğru ilerleyen koloni gelişimi pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir (Schaad *et al.*, 2001). Karşılaştırma kültürü olarak GG-8 *E. amylovora* straini kullanılmıştır.

Biyokimyasal Testler

Gram Reaksiyon Testi

Bakteri strainlerinin hücre duvarlarındaki farklılığı belirleyebilmek için bir lam üzerine, %3’ lük KOH çözeltisinden bir iki damla damlatılmıştır. Ardından NA üzerinde gelişen 24-48 sa’lik bakteri kültüründen özeyle alınarak KOH çözeltisi ile 5-10 s karıştırıldıktan sonra öze yukarıya doğru kaldırılmıştır. Bunun sonucunda viskoz bir uzama gözlenmesi gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Saygılı, 1995). Karşılaştırma kültürü olarak GG-25 *E. amylovora* (gram negatif) ve MFD-460 *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* (gram pozitif) kullanılmıştır.

Katalaz Testi

Bakteri strainleri NA ortamında 24-48 saat geliştirilmiştir. Gelişen bakteri kültüründen bir öze alınmış ve üzerine 1 damla H₂O₂ ilave edilmiştir. Kabarcık oluşumu katalaz pozitif, oluşmaması ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.*, 1990). Pozitif kontrol olarak MFD-119 *X. campestris* pv. *phaseoli* kullanılmıştır.

Oksidaz Testi

Oksidaz test için % 1 tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride içeren diskler (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Bu diskler 1 damla sdH₂O ile doyurulmuş ve sonra üzerleri 24-48 sa’lik bakteri kolonileri ile kaplanmıştır. Diskte gözlemlenen mavimsi-mor renk pozitif olarak değerlendirilmiştir (Narayanasamy, 1997).

Nişasta Hidrolizi

Nutrien Starch Agar (NA+%1’lik nişasta/1 L dH₂O) besiyerine bakteriler nokta ekimle kontamine edilmiştir. 2-7 günlük bir inkübasyon sonrasında bakteri kolonisinin etrafında görülen renk açıklığı veya hale amilaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. Sonuç çıplak gözle fark edilemediğinde lugol solüsyonundan 5 ml petrilere dökülmüş, mavi renk verenler negatif, mavi renk vermeyip bakteri gelişimi etrafında açık renk hale verenler pozitif olarak tespit edilmiştir (Narayanasamy, 1997). Pozitif kontrol olarak MFD-490 *X. c. phaseoli fuscans*, negatif kontrol olarak MFD-227 *P. s. pv. phaseolicola* kullanılmıştır.

Arginine Dehidrolaz Testi

Mikroorganizmaların bu özelliğini belirlemek için tapılan testte Thornley 2A besi yeri (1 g pepton, 5 g NaCl, 3 g K₂HPO₄, 3 g agar, 0,01 g fenol kırmızısı, 10 g arginine-HCl/ 1 L dH₂O) kullanılmıştır. Bakteri strainleri öze ile ortama ekilmiş ve üzerlerine 50 °C’ye kadar

soğutulan % 3' lük su agarından (1 ml) aktarılarak tüpler parafilm ile kaplanmıştır. Kültürler 27 °C'de 7-15 gün süre ile inkübe edilmiştir. Bakterinin arginin kullanması sonucu meydana gelen pembemsi kırmızı renk pozitif, açık pembe renk ise negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Schaad, 1994; Saygılı, 1995).

Levan Testi

Test için Nutrient Sukroz Agar (NAS) besi yeri (23 g NA, 50 sukroz/1 L dH₂O) kullanılmıştır. Kültürler çizgi ekim şeklinde besi yerine ekilerek gelişmeleri için 27°C' de 5 gün inkübe edilmiştir. İnokulasyon sonucunda oluşan konveks, mukoid yapıda koloniler levan pozitif olarak belirlenmiştir (Klement *et al.* 1990, Lelliot and Stead, 1987). Pozitif kontrol olarak GG-3 *E. amylovora*, negatif kontrol olarak MFD-602 *C. m. subsp. insidiosum* kullanılmıştır.

Fluorescent Pigment Üretim Testi

Fluorescent pigment üreten strainlerin tespiti amacıyla King B besi yeri (20 g protease peptone (Difco No:3),1.5 g K₂HPO₄.3H₂O, 1.5 g MgSO₄.7H₂O,15 g agar/1 L dH₂O) hazırlanmıştır. Her bir strain besi yerine çizgi ekimle kontamine edildikten sonra, 25 °C sıcaklığa sahip inkübatörde 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen bakteriler UV lamba altında gözlemlenmiş, yeşil floresant renkte ışığa gösterenler pozitif, diğerleri negatif sonuç olarak tespit edilmiştir (Lelliot and Stead, 1987).

Pektinaz Testi

Bakteri strainlerinin pektolitik aktivitesini belirlemek için patates yumruları kullanılmıştır. Patates yumrularının yüzeysel dezenfeksiyonu için yumrular önce deterjanlı su ile fırçalanmış ve daha sonra % 1' lik NaOCl'de 3 dk bekletilmiştir. Patates yumruları NaOCl'ün uzaklaştırılması için 3 kez sdH₂O ile yıkanmıştır. Ardından steril bir bistüri ile patatesler soyulmuş ve yaklaşık bir cm kalınlığında dilimlenerek içerisinde steril ıslak filtre kağıdı bulunan petrilere yerleştirilmiştir. 48 sa'lik bakteri kolonileri öze ile patates dilimi üzerine çizgi şeklinde yayılmıştır. 25°C' de iki günlük inkübasyon sonrası bakteri bulaştırılan patates dilimleri değerlendirilmiş ve patates diliminde meydana gelen yumuşak çürüklük şeklindeki belirti pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir (Lelliot and Stead, 1987). Karşılaştırma kültürü olarak MFD-310 *Erwinia caratovora subsp. caratovora* kullanılmıştır.

Bakteri Strainlerini Biolog Gen III Sistem İle Tanısı

Elde edilen bakteri strainlerinin metabolik profillerinin belirlenmesi için BUG agar (Hayward, USA) besi yeri kullanılmıştır. Patojen olarak seçilen bakteri strainleri BUG agar besiyerine ekilmiş ve 27 °C' de 24 saat inkübe edilmiştir.

Çizelge 1 Biolog Gen III plate’ini oluşturan kuyucuklarda yer alan karbon kaynakları ve kimyasallar (Stancu and Rodi, 2020)

A1 Negative Control	A2 Dextrin	A3 D-Maltose	A4 D-Trehalose	A5 D-Cellobiose	A6 Gentiobiose	A7 Sucrose	A8 D-Turanose	A9 Stachyose	A10 Positive Control	A11 pH 6	A12 pH 5
B1 D-Raffinose	B2 α-D-Lactose	B3 D-Melibiose	B4 β-Methyl-D- Glucoside	B5 D-Salicin	B6 N-Acetyl-D- Glucosamine	B7 N-Acetyl-β-D- Mannosamine	B8 N-Acetyl-D- Galactosamine	B9 N-Acetyl Neuraminic Acid	B10 1% NaCl	B11 4% NaCl	B12 8% NaCl
C1 α-D-Glucose	C2 D-Mannose	C3 D-Fructose	C4 D-Galactose	C5 3-Methyl Glucose	C6 D-Fucose	C7 L-Fucose	C8 L-Rhamnose	C9 Inosine	C10 1% Sodium Lactate	C11 Fusidic Acid	C12 D-Serine
D1 D-Sorbitol	D2 D-Mannitol	D3 D-Arabitol	D4 myo-Inositol	D5 Glycerol	D6 D-Glucose- 6-PO4	D7 D-Fructose- 6-PO4	D8 D-Aspartic Acid	D9 D-Serine	D10 Troleandomycin	D11 Rifamycin SV	D12 Minocycline
E1 Gelatin	E2 Glycyl-L- Proline	E3 L-Alanine	E4 L-Arginine	E5 L-Aspartic Acid	E6 L-Glutamic Acid	E7 L-Histidine	E8 L- Pyroglutamic Acid	E9 L-Serine	E10 Lincomycin	E11 Guanidine HCl	E12 Niaproof4
F1 Pectin	F2 D- Galacturonic Acid	F3 L-Galactonic Acid Lactone	F4 D-Gluconic Acid	F5 D-Glucuronic Acid	F6 Glucuronamid e	F7 Mucic Acid	F8 Quinic Acid	F9 D-Saccharic Acid	F10 Vancomycin	F11 Tetrazolium Violet	F12 Tetrazolium Blue
G1 p-Hydroxy- Phenylacetic Acid	G2 Methyl Pyruvate	G3 D-Lactic Acid Methyl Ester	G4 L-Lactic Acid	G5 Citric Acid	G6 α-Keto- Glutaric Acid	G7 D-Malic Acid	G8 L-Malic Acid	G9 Bromo- Succinic Acid	G10 Nalidixic Acid	G11 Lithium Chloride	G12 Potassium Tellurite
H1 Tween 40	H2 γ-Amino- Butyric Acid	H3 α-Hydroxy- Butyric Acid	H4 β-Hydroxy- D,L- Butyric Acid	H5 α-Keto-Butyric Acid	H6 Acetoacetic Acid	H7 Propionic Acid	H8 Acetic Acid	H9 Formic Acid	H10 Aztreonam	H11 Sodium Butyrate	H12 Sodium Bromate

Gelişen bakteri kültürleri IF-A tampon çözeltisinde süspansiyon edilmiş ve tüplerdeki bakteri konsantrasyonu turbidimetre ile transmittans değeri %92-98 olacak şekilde ayarlanmıştır. Yoğunlukları ayarlanan bakteri süspansiyonlarından mikropelatelerdeki her bir çukurcuğa 100 µl ilave edilmiş ve 32 °C’ de 4-22 saat inkübe edilmiştir (Stancu and Rodi, 2020). Daha sonra mikropelate okuyucuda (Microlog™ 3, Micro station™ system, version 5.2.2) okutularak sistemin veri bankası (Biolog Gen III database, version 2.6.1, AN Database Version 6.01) ile karşılaştırılarak bakteri teşhisi yapılmıştır. Biolog Gen III Microplate sisteminde yer alan 71 farklı karbon kaynağı ve 23 kimyasal çizelge 1’de sunulmuştur.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Survey Sonuçları

Hastalıklı domates bitkilerinin yaprak ve meyvelerinden yapılan izolasyon sonucunda 98 adet bakteri straini elde edilmiştir. Elde edilen bakteri strainlerinin ilçe ve köylere göre dağılımı Çizelge 4.2’ de verilmiştir.

Çizelge 2. Çalışmada elde edilen bakteri strainlerine ilişkin bilgiler

	Yaprak	Meyve	Gövde	Toplam
Aralık	11	1	-	12
Karakoyunlu	6	-	-	6
Tuzluca	29	-	1	30
Kasımcan	11	-	-	11
Oba	19	2	-	21
Melekli	15	2	1	18
Toplam	91	5	2	98

Bakteri Strainlerinin Yağ Asit Profillerine Göre Tanısı

Bakteri strainlerinin yağ asit metil ester analizi ile tanısı MIS kullanılarak yapılmış ve elde edilen yağ asit profillerine göre çalışmada *Stenotrophomonas maltophilia* (18), *Enterobacter hormaechei* (10), *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (8), *Pseudomonas putida* (7), *Salmonella enterica* (5), *Sphingobacterium spiritivorum* (5), *Pantoea agglomerans* (4), *Kluyvera cryocrescens* (3), *Variovorax paradoxus* (3), *Ochrobactrum anthropi* (3), *Aeromonas ichthiosmia* (3), *P. viridiflava* (2), *Escherichia coli* (2), *Kocuria rosea* (2), *Bacillus cereus* (1), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (1), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (1), *Pectobacterium carotovorum* (1), *Enterobacter asburiae* (1), *Micrococcus luteus* (1), *Paenibacillus alginolyticus* (1), *Klebsiella pneumoniae* (1), *Photobacterium luminescens* (1), *Sphingobacterium faecium* (1), *Kingella kigae* (1), *Acinetobacter calcoaceticus* (1), *Klebsiella oxytoca* (1), *Myroides odoratus* (1), *Achromobacter xylosoxidans*

denitrificans (1), *Kocuria rhizophila* (1), *Paucimonas lcoignei* (1), *Kocuria rosea* (1), *Bacillus subtilis* (1), *Arthobacter globiformis* (1), *Kluyvera intermedia* (1), *Pasteurella pneumotropica* (1) ve *Bacillus thurigiensis israelensis* (1) olmak üzere 36 farklı tür tanılanmıştır. Patojen olarak belirlenen *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* strainlerinden BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232’nin sırasıyla 45, 46, 72, 70, 59, 70, 56 ve 52 benzerlik indekslerine (%) sahip olduğu görülmüştür. *Pseudomonas* cinsinde yer alan patojen strainlerinden BS-168 *P. viridiflava* % 54, BS-237 *P. viridiflava* % 59 ve BS-231 *P. syringae* pv. *tomato* % 45 benzerlik indeksi ile tanılanmıştır.

Patojenlere ait yağ asit profilleri incelendiğinde *Xav* strainlerinin hepsinde 21 farklı yağ asitinin (17:0 iso 3OH, 11:0 iso, 11:0 3OH, 13:0 iso, 17:1 w6c, 13:0 iso 3OH, 15:1 w6c, 10:0 3OH, 14:0, 11:0 anteiso, 14:0 iso, 15:1 iso F, 13:0 iso 2OH, 16:0, 17:0, 15:1, 17:0 iso, 16:0 iso, 17:0 anteiso, 10:0, 17:1 w8c) ortak olduğu tespit edilmiştir. Strainler arasında bazı yağ asitlerinin mevcudiyetlerinin ve yüzde oranlarının ise farklılık gösterdiği saptanmıştır. *Xav* strainleri arasında 20:4 w6,9,12,15c yağ asitinin varlığı sadece BS-156 straininde saptanmıştır. Bununla birlikte 12:0 3OH, 10:0 2OH, 13:0 anteiso ve 12:0 iso 3OH, 16:1 w5c ve 12:1 3OH yağ asitleri sırasıyla BS-38, BS-75, BS-120 ve BS-156 strainleri hariç diğer *Xanthomonas* strainlerinin hepsinde tespit edilmiştir. 15:0 iso 3OH ve 15:0 2OH yağ asitlerinin ise sadece BS-38, BS-75, BS-156 ve BS-232 strainlerinde bulunduğu belirlenmiştir. Yağ asit metil ester analizleri sonuçlarına göre *Pseudomonas* cinsi bakteriler değerlendirildiğinde ise hepsinde ortak olan 13 farklı yağ asiti (10:0, 12:0, 12:0 3OH, 17:0, 13:0, 14:0, 16:0, 17:0 iso, 17:1 w8c, 12:0 2OH, 10:0 3OH, 18:0, 18:1 w7c 11 methyl) saptanmıştır. Bazı yağ asitlerinin varlığı ise belirli strainlerde tespit edilmiştir. Örneğin 18:1 w9c yağ asitinin sadece BS-231’ de bulunduğu görülmüştür. Yedi farklı yağ asitinin ise (11:0 iso 3OH, 10:0 2OH, 13:0 anteiso, 15:1 w5c, 16:1 w5c, 16:0 Nalcohol, 19:0) sadece BS-237 straininde bulunduğu görülmüştür 17:0, 10:0, 14:0, 16:0, 17:0 iso, 10:0 3OH ve 17:1 w8c yağ asitlerinin ise hem *Xanthomonas* hemde *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerde ortak olduğu belirlenmiştir. Ancak bu yağ asitleri içerisinde 10:0 3OH ve 16:0’ın *Pseudomonas* cinsi bakterilerde daha yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Patojen bakterilerinin içerdiği yağ asitleri ve yüzde bulunma oranları

YAĞ ASİDİ	BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-168	BS-169	BS-178	BS-231	BS-232	BS-237
10:0	0.56	0.53	1.53	0.75	0.70	0.10	0.53	0.68	0.15	0.66	0.14
11:0 iso	4.17	4.21	5.31	4.32	4.56	-	4.09	5.14	-	4.50	-
11:0 anteiso	0.22	0.23	0.20	0.15	0.21	-	0.17	0.19	-	0.31	-
11:0	-	0.05	-	0.05	-	-	-	-	-	0.12	-
10:0 2OH	0.12	-	0.17	0.18	0.16	-	0.15	0.12	-	0.17	0.05
10:0 3OH	0.17	0.16	0.45	0.44	0.37	2.97	0.33	0.31	3.15	0.21	2.87
11:0 iso 3OH	2.24	2.31	2.22	1.82	1.78	-	1.71	1.19	-	2.42	0.04
11:0 2OH	0.06	-	-	0.05	-	-	0.06	0.05	-	0.07	-
12:0	-	-	-	-	-	4.77	-	-	5.46	-	4.91
13:0	-	0.35	-	-	-	0.10	-	-	0.12	0.06	0.10
11:0 3OH	0.42	0.40	0.30	0.40	0.28	-	0.24	0.27	-	0.50	-
13:0 iso	0.33	0.35	0.18	0.24	0.14	-	0.13	0.17	-	0.32	-
13:0 anteiso	0.09	0.09	-	0.06	0.08	-	0.07	0.07	-	0.11	0.03
12:1 3OH	-	0.08	0.16	0.14	0.13	-	0.10	0.11	-	0.07	-
12:0 iso 3OH	-	0.25	0.20	2.59	0.19	-	0.19	0.19	-	0.25	-

Çizelge 3. Devamı

YAĞ ASİDİ	BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-168	BS-169	BS-178	BS-231	BS-232	BS-237
12:0 2OH	-	-	-	-	-	2.92	-	-	3.32	-	2.96
12:0 3OH	0.24	1.44	2.98	-	2.30	3.96	2.12	2.31	4.29	1.84	3.35
14:0 anteiso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04
14:0 iso	0.81	0.76	0.39	0.67	0.28	-	0.30	0.33	-	0.78	-
14:1 w5c	0.25	0.24	0.19	0.06	-	-	-	-	-	0.12	-
14:0	1.05	1.06	1.31	1.02	1.01	0.20	0.86	0.98	0.31	1.20	0.84
13:0 iso 3OH	3.52	3.22	4.48	3.91	4.00	-	4.27	4.60	-	3.60	-
13:0 2OH	0.61	0.48	0.46	0.38	0.56	-	0.54	0.61	-	0.64	-
15:1 iso F	1.17	1.06	0.20	0.20	0.17	-	0.21	0.20	-	1.29	-
15:0 iso	29.24	30.33	27.67	27.89	25.36	-	27.25	27.75	0.50	27.22	0.14
15:0 anteiso	14.70	14.60	10.03	11.58	14.28	-	14.00	14.52	0.40	16.98	0.10
15:1 w8c	0.20	0.19	-	0.04	0.05	-	-	0.05	-	0.23	-
15:1 w6c	1.25	1.22	0.59	0.63	0.38	-	0.39	0.50	-	1.09	-
15:1 w5c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.18
16:0 iso	2.12	2.15	1.93	2.29	1.82	-	1.94	1.55	-	1.97	-

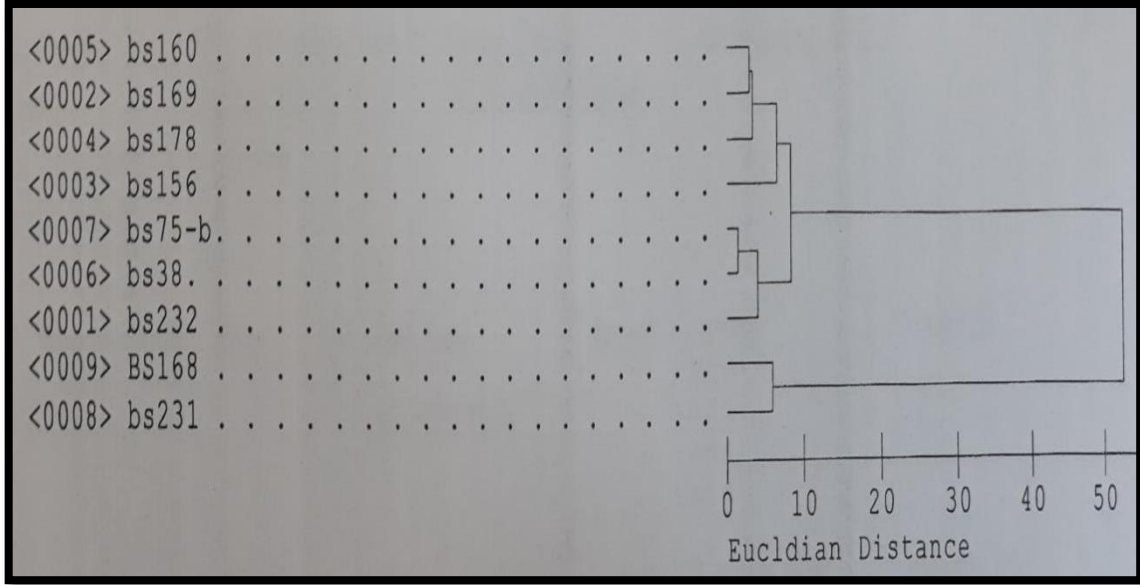
Çizelge 3. Devamı

YAĞ ASİDİ	BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-168	BS-169	BS-178	BS-231	BS-232	BS-237
16:0 N alcohol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04
16:1 iso H	-	0.04		0.05	-	-	-	-	-	-	-
16:1 w9c	1.41	1.30	1.30	1.42	-	-	-	-	-	1.60	-
16:1 w5c	0.08	0.12	-	0.07	0.09	-	0.09	0.10	-	0.09	0.07
16:0	2.46	2.59	4.51	3.94	2.75	23.40	2.42	1.92	20.01	2.84	21.6
15:0 iso 3OH	0.06	0.10	-	0.04	-	-	-	-	-	0.05	-
15:0 2OH	0.09	0.16	-	0.03	-	-	-	-	-	0.13	-
17:1 iso w5c	0.35	0.30	-	-	0.50	-	0.55	-	-	0.17	-
17:1 anteiso w9c	0.16	-	-	-	-	-	-	-	-	0.07	-
17:0 iso	4.06	4.11	5.48	5.47	5.23	0.09	5.49	3.63	0.10	3.22	0.10
17:0 anteiso	0.57	0.51	0.13	0.73	0.83	-	1.03	0.59	-	0.45	-
17:1 w8c	1.86-	1.70	1.07	1.44	1.14	0.14	0.91	0.93	0.19	1.75	0.17
17:1 w6c	0.53	0.37	0.34	0.46	0.37	-	0.40	0.34	-	0.36	-
17:0 cyclo	-	-	-	-	-	-	-	-	0.22	-	0.29
17:0	0.25	0.18	0.61	0.25	0.07	0.24	0.06	0.04	0.25	0.13	0.29

Çizelge 3. Devamı

YAĞ ASİDİ	BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-168	BS-169	BS-178	BS-231	BS-232	BS-237
16:0 3OH	0.09	0.10	-	0.08	-	0.06	-	0.03	-	0.12	0.06
18:1 w5c	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	0.06
18:1 w9c	0.53	0.48	0.61	0.60	0.63	-	0.68	0.39	0.34	0.53	-
18:0	-	0.10	-	0.05	-	0.89	-	-	0.66	-	1.00
18:1 w7c 11-methyl	-	-	-	-	-	0.73	-	-	0.27	-	0.51
17:0 iso 3OH	0.44	0.49	0.30	0.30	0.08	-	0.18	0.16	-	0.49	-
19:0 cyclo w8c	-	0.11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04
18:1 2OH	-	-	-	0.05	-	-	0.08	0.06	-	-	-
20:4 w6, 9, 12, 15c	-	-	-	0.04	-	0.08	-	-	0.09	-	-
20:1 w7c	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	0.06

Patojen strainlerin içerdiği yağ asidi çeşitleri ve hücrelerinde bulunma oranlarına bağlı olarak elde edilen dendogram Şekil 1'de verilmiştir. Dendogram Sherlock MIDI analiz programı (version 6.1) ile oluşturulmuştur



Şekil 1. Patojen bakterilerin yağ asit metil ester analizi sonucunda elde edilen dendogram

Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Reaction=HR) Testi

Referans kültür GG-3 *E. amylovora* gibi patojen olarak tanılanan bakteri strainlerinin hepsinin (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-178, BS-231, BS-232 ve BS-237) tütün yaprağının damar aralarına izolasyonundan 24-48 sa sonra inokule edilen alanda tipik aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olduğu görülmüştür (Çizelge 4).

Patojenisite Test Sonuçları

Domates süper 5656 fidelerine *Pst* (BS-231) ve *Xav* (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232) strainleri sprey şeklinde bulaştırılmıştır. *P. viridiflava* strainleri ise (BS-168 ve BS-237) kürdanla bitkinin gövdesine açılmış yaralardan inokule edilmiştir. İnokulasyondan 7-15 gün sonra BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178, BS-231 ve BS-232 strainlerinin domates yapraklarında dairesel etrafı sarı hale ile çevrili küçük lekeler oluşturduğu, BS-168 ve BS-237 strainlerinin ise gövdede kahverengileşme ve bitkide solgunluk şeklinde simptomlara neden olduğu görülmüştür (Çizelge 4).

Morfolojik Testler

Koloni morfolojisi

NA besiyerine bakteri strainlerinin ekiminden 48 sa sonra *Pseudomonas* cinsine ait strainlerin (BS-168, BS-231 ve BS-237) krem renkli, *Xanthomonas* cinsine ait strainlerin ise (BS-38, BS-75, BS-120, BS156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232) mukoid sarı renkli koloniler oluşturduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Hareketlilik testi

Yarı katı besiyerine inokule edilen referans kültür GG-8 *E. amylovora* ve izole edilen bakteri strainlerinin (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232) çevreye doğru koloni geliştirdikleri gözlenmiş ve sonuç pozitif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4).

Biyokimyasal Testler

Gram reaksiyon testi

Gram reaksiyon testinde referans kültür olarak kullanılan GG-25 *E. amylovora* gibi BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-178, BS-231, BS-232 ve BS-237 strainlerinin öze yapışarak vizkoz bir uzama oluşturduğu, bu nedenle gram negatif özelliğe sahip oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Katalaz testi

Katalaz enziminin varlığını belirlemek için yapılan test sonucunda BS-75, BS-231 ve BS-237 strainleri ve referans kültür MFD-119 *Xcp* kısa sürede kabarcık oluşturduğundan kuvvetli pozitif olarak değerlendirilmiştir. BS-38, BS120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-168, BS-178ve BS-232 strainlerinin ise pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Oksidaz testi

Oksidaz enzimini üreten bakterileri ayırt etmek için yapılan bu testte BS-120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-178 ve BS-231 strainleri % 1 tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride kodlu diskte mor renk oluşturmamış ve sonuç negatif olarak değerlendirilmiştir. Diğer bakteriler ise pozitif kontrolde olduğu gibi diskte yaklaşık 2 dk içerisinde mor renk oluşturmuş ve sonuç oksidaz pozitif olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4).

Nişasta hidrolizi

Nutrient agar ve nişasta içeren besiyerinde geliştirilen bakterilere lügol solüsyonu ilave edilmiş, BS-168, BS-231 ve BS-237 strainlerinin ve pozitif kontrolün (MFD-227 *Psp*) gelişen kolonileri etrafında şeffaf hale oluşumu gözlenmemiş ve sonuç amilaz negatif olarak değerlendirilmiştir. BS38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232 strainleri ve referans kültür MFD-490 *Xcpf* 'ın gelişen kolonilerinin etrafında oluşan şeffaf zon amilaz pozitif olarak belirlenmiştir (Çizelge 4).

Arginine dehidrolaz testi

Bakterilerin arginin dehidrolaz'ı kullanması sonucu besi yerinde meydana gelen pembemsi kırmızı renk *Xanthomonas* strainlerinin (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS169, BS-178, BS-232) pozitif özellikte olduğu göstermiştir. *Pseudomonas* strainleri (BS-168, BS-231, BS-237) ise arginin dihidrolaz negatif olarak belirlenmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Patojen bakteri strainlerinin morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları

MIS SONUÇLARI	TANI	L	O	P	AR	T	KA	GR	F	N	KR	H
BS-38	- <i>Xav</i>	+	Z ⁺	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-75	- <i>Xav</i>	+	Z ⁺	-	+	+	K ⁺	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-120	- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-156	- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-160	- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-168	- <i>Pv</i>	-	-	+	-	+	+	-	+	-	Krem	Hareketli
BS-169	- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-178	- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-231	- <i>Pst</i>	+	-	-	-	+	K ⁺	-	+	-	Krem	Hareketli
BS-232	- <i>Xav</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-237	- <i>Pv</i>	-	-	+	-	+	K ⁺	-	+	-	Krem	Hareketli

L: Levan testi, O: Oksidaz testi, P: Pektinaz testi, Ar: Arginine dehidrolaz testi, T: Tütünde, hipersentetif reaksiyon testi, N: Nişasta hidrolizi, Ka: Katalaz testi, GR: Gram reaksiyon testi, F: Fluorescent pigment üretim testi, Kr: Koloni rengi, +: Pozitif sonuç, -: Negatif sonuç, K⁺: kuvvetli pozitif, *Xav*: *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Pv*: *Pseudomonas viridiflava*, *Pst*: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, Z⁺: Zayıf pozitif sonucu, H: Hareket özelliği

Levan testi

Test edilen BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178, BS-231, BS-232 ve BS-237 strainlerinin referans kültür GG -3 *E. amylovora* gibi NAS besi yerinde mukoid koloni oluşturduğuna görülmüş, sonuç pozitif olarak kaydedilmiştir. BS-168 straininin ise levan tipte koloni oluşturmadığı ve negatif sonuç verdiği belirlenmiştir (Çizelge 4).

Fluorescent pigment üretim testi

KB besi yerinde geliştirilen bakteri strainleri UV ışık altında gözlenmiştir. BS-168, BS-231 ve BS-237 strainlerinin yeşil fluorescent pigment üreterek pozitif sonuç verdiği, BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232 strainlerinin ise fluorescens pigment üretmeyerek negatif özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Pektinaz testi

Pektolitik aktive testi için patates dilimlerine inokule edilen BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232 strainleri patatete yumuşamaya neden olmamış ve sonuç negatif olarak değerlendirilmiştir. Referans kültür olarak kullanılan MFD-310 *E. caratovora* subsp. *caratovora* straini ise patates diliminde yumuşamaya neden olmuş ve pis koku oluşturmuştur (Çizelge 4).

Bakteri strainlerinin Biolog Gen III Sistem ile tanısı

Patojen bakteri strainlerinin kullandıkları karbon kaynakları ve kimyasallar Biolog Gen III Mikroplate sisteminde değerlendirilmiştir. Elde edilen profillere göre bakteri strainlerinin 8 tanesi *Xav*, 2 tanesi *P. viridiflava* ve 1 tanesi *Pst* olarak tanılanmıştır.

Sonuçlar değerlendirildiğinde *Xav* strainlerinin Dextrin, D-Maltose, D-Trloseeh, D-Cellobiose, Gentibiose, Sucrose, Ph 6, Ph 5, D-Melibiose, N-Acetyl-D-Glucosamine, %1 NaCl, %4 NaCl, A-D-Glukose, D-Mannose, D-Fruktose, D-Galaktose, L-Fucose, %1 Sodium Lactate, Myo- İnositol, Glycerol, D-Glucose-6 Phosphate, Rifamycin Sv, Gelatin, Glycyl-L-Proline, L-Alanine, L-Aspartic Acid, L-Glutamic Acid, L-Serine, Lincomycin, Guanidine HCl, Niaproof 4, Pectin, Tetrazolium Violet, Tetrazolium Blue, Mehyl Pyruvate, L-Lactic Acid, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, D-Malic Acid, Bromosuccinic Acid, Potassium Tellurite, Tween 40, A-Keto Butyric Acid, Acetoacetic Acid, Propionic Acid, Formic Acid, Aztreonam, Sodium Butyrate ve Sodium Bromate olmak üzere 51, *Pseudomonas* strainlerinin ise Gentibiose, Sucrose, Ph 6, Ph 5, N-Acetyl-D-Glucosamine, %1 NaCl, %4 NaCl, A-D-Glukose, A-D-Glukose, D-Mannose, D-Fruktose, D-Galaktose, Inosine, %1 Sodium Lactate, Fusidic Acid, D-Sorbital, D-Mannital, L-Arabitol, Myo- İnositol, Glycerol, D-Serine, Rifamycin Sv, Gelatin, Glycyl-L-Proline, L-Alanine, L-Arginine, L-Aspartic Acid, L-Glutamic Acid, L-Histidine, L-Pyroglutamic Acid, L-Serine, Lincomycin, Guanidine HCl, Niaproof 4, Pectin, D-Gluconic Acid, D-Glucoronic Acid, Glucoron Amide, Mucid Acid, Quinic Acid, D-Saccharic Acid, Vancomycin, Tetrazolium Violet, Tetrazolium Blue, Mehyl Pyruvate, L-Lactic Acid, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, D-Malic Acid, Bromosuccinic Acid, Lithium Chloride, Potassium Tellurite, Tween 40, 9-Amino-N-Butyric Acid, B-Hydroxy Butyric Acid, A-Keto Butyric Acid, Acetoacetic Acid, Propionic Acid, Acetic Acid, Formic

Acid, Aztreonam, Sodium Butyrate ve Sodium Bromate olmak üzere toplam 63 kuyucukta reaksiyonlarının pozitif olduğu tespit edilmiştir. Bazı karbon kaynaklarının ve kimyasalların kullanımı *Xanthomonas* ve *Pseudomonas* strainlerinde değişkenlik göstermekle beraber geri kalan karbon kaynaklarını ve kimyasalları kullanmadıkları saptanmıştır. Hem *Xanthomonas* hem de *Pseudomonas* strainlerinin Ph 5 (A12), Ph 6 (A11)’da, %1 NaCl (B10), %4 NaCl (B11)’de geliştikleri belirlenmiştir. Yine her iki cinste yer alan strainlerin Rifamycin Sv (D11) ve Lincomycin (E10) antibiyotiklerine karşı dayanıklı olduğu bulunmuştur. Ayrıca *Xanthomonas* strainlerinin Vancomycin (F10) antibiyotiğine karşı da dayanıklı olduğu saptanmıştır.

Birçok ülkede ve Türkiye’ nin farklı bölgelerinde domates hastalıklarını belirlemek için çeşitli araştırmalar yürütülmüş, *Xav*, *Pst* ve *P. viridiflava* türlerine ait strainlerin domates bitkisinde ekonomik kayıplara neden olan önemli patojenler oldukları rapor edilmiştir (Sijam *et al.*, 1992; Bouzar *et al.*, 1994; Şahin ve Kotan, 1999; Black *et al.*, 2001; Şahin 2001; Üstün ve Saygılı, 2001; Şahin ve ark., 2003; Basım, 2004; Aysan ve ark., 2005; Shenge and Mabagala, 2007; Cruz *et al.*, 2010; Lamichhane *et al.*, 2010; Popović and Ivanović, 2015; Mensi *et al.*, 2018). Dadaşoğlu (2013), tarafından yapılan bir çalışmada *P. viridiflava*’nın varlığı İğdir iline ait tek bir strain ile biber bitkisinde tespit edilmiştir. Son yıllarda patojenlerin tanısında moleküler yöntemlerin kullanılması hızlı bir şekilde yaygınlaşsa da klasik tanı yöntemlerinin uygulanması patojen gruplarının belirlenmesi ve daha sonra yapılacak moleküler çalışmalara ön tanı şeklinde kolaylık sağlaması ile birçok araştırmacı için önemini korumaktadır. Bu nedenle bu çalışmada izole edilen bakteri strainlerin morfolojik ve biyokimyasal karakterleri belirlenmiştir. *Xav* strainlerinin YDC besiyerinde sarı mukoid, *Pst* ve *P. viridiflava* strainlerinin krem renkte koloni oluşturdukları gözlenmiştir. Elde edilen bakteri strainlerin tamamının hareketli olduğu tespit edilmiştir. Mikroorganizmalara ait biyokimyasal karakterlerden gram reaksiyon, amilaz, katalaz, oksidaz, pektinaz, levan üretimi, floresant pigment üretimi ve arginin dehidrolaz üretimi değerlendirilmiştir. Gram reaksiyon testi sonucunda bakteri strainlerinin hepsinin gram negatif özellikte olduğu belirlenmiştir. Patojen strainlerden sadece *P. viridiflava* türlerinin pektinaz aktivitesi pozitif bulunmuştur. *Pseudomonas* strainlerinin oksidaz, amilaz ve arginin dehidrolaz üretim testleri negatif, katalaz ve floresant pigment üretim testleri pozitif olarak tespit edilmiştir. Levan koloni oluşumu testi *Pst*’nun pozitif, *P. viridiflava* strainlerinin ise negatif bulunmuştur. *Xanthomonas* strainlerinin floresant pigment üretimi ve oksidaz testi negatif, diğer biyokimyasal test sonuçları ise pozitif olarak saptanmıştır. Amilaz testinin *Xanthomonas* ve *P. syringae* patovarlarının ayırımında, arginin dehidrolaz üretiminin *P. syringae* patovarları ile *P. fluorescens*’ın ayırımında, floresant pigment üretiminin ise *Pseudomonas* ve *Xanthomonas* cinslerinin ayırımında önemli olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (Narayanasamy, 1997; Gonzales *et al.*, 2003; Gasic *et al.*, 2012). Bu çalışmada elde edilen morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları daha önce saptanan bulguları destekler bulunmuştur (Goumans and Chatzaki, 1998; Aysan ve ark., 2004; Wreikat *et al.*, 2006; Milijasevic *et al.*, 2009; Ibrahim and Al-Saleh, 2012; Sarris *et al.*, 2012).

Günümüzde yağ asit metil ester analizi (FAME) ve metabolik profillerin eldesi (Biolog Microplate Assay) bakteriyel mikroorganizmaların tanısında en fazla tercih edilen yöntemler arasında yer almaktadır (Walcott *et al.*, 2000; Dönmez, 2004; Bathily *et al.*, 2010; Tripathi *et*

al., 2011; Gök, 2016). Bu çalışmada da hastalıklı domates bitkilerinden izole edilen bakteri strainlerin tamamı MIS ile yağ asit metil ester analizlerine göre tanılanmış ve fenotipik farklılıkları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar MIS kullanımı ile bakteri strainlerinin tür altı kategorilerinin belirlenebileceğini göstermiştir. Doymuş, doymamış, hydroxy, cyclopropane, iso ve ante-iso yağ asitlerini içeren 200 den fazla yağ asiti çeşitinin bakteriyel strainlerin tanısında ayırt edici özellik olduğu belirlenmiştir (Roy, 1988). MIS sonuçlarına göre *Xav* strainlerinin hepsinin hücre duvarında 17:0 iso 3OH, 11:0 3OH, 11:0 iso, 11:0 anteiso, 13:0 iso, 10:0 3OH, 13:0 iso 3OH, 16:0 iso, 13:0 iso 2OH, 14:0, 14:0 iso, 15:1 iso F, 17:0 anteiso, 15:1 w6c, 17:0, 10:0, 17:0 iso, 16:0, 17:1 w6c, 17:1 w8c, *Pseudomonas* strainlerinin hepsinde 17:1 w8c, 10:0, 14:0, 10:0 3OH, 12:0 2OH, 18:0, 12:0 3OH, 13:0, 16:0, 17:0, 12:0, 17:0 iso, 18:1 w7c 11 methyl yağ asitleri tespit edilmiştir. 10:0, 10:0 3OH, 14:0, 16:0, 17:0, 17:0 iso ve 17:1 w8c yağ asitlerinin ise hem *Xanthomonas* hem de *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerde ortak olduğu belirlenmiştir. Ancak bu yağ asitleri içerisinde 10:0 3OH ve 16:0’ın *Pseudomonas* cinsi bakterilerde daha yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar gerek içerdikleri yağ asiti çeşitleri gerekse yüzde olarak oranları bakımından *Xanthomonas* ve *Pseudomonas* pathovarlarının ayırt edilebileceğini göstermektedir.

Farklı kaynaklardan izole edilen bakteri strainlerinin tanısında en önemli kriterlerden birisi de strainlerin kullandıkları karbon kaynakları ve kimyasalların tespiti ve bu özellikleri bağlı olarak metabolik profillerinin elde edilmesidir. Bu çalışmada domates patojeni olan bakterilerin metabolik profillerinin belirlenmesinde Biolog Gen III MicroPlate kullanılmıştır. D-Maltose, D-Trloseeh, D-Cellobiose, Gentibiose, Sucrose, Ph 6, Ph 5, D-Melibiose, N-Acetyl-D-Glucosamine, %1 NaCl, %4 Nacl, L-Alanine, A-D-Glukose, D-Mannose, D-Galaktose, L-Fucose, Dextrin, %1 Sodium Lactate, Glycerol, Tetrazolium Blue, Rifamycin Sv, Gelatin, D-Fruktose, Glycyl-L-Proline, Aztreonam, L-Serine, Tween 40, Lincomycin, Niaproof 4, Pectin, Tetrazolium Violet, L-Glutamic Acid, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, Bromosuccinic Acid, A-Keto Butyric Acid, Methyl Pyruvate, L-Malic Acid, Acetoacetic Acid, Propionic Acid, Sodium Butyrate, Acetic Acid, Formic Acid olmak üzere 43 karbon kaynağını ve kimyasalları *Xav* strainlerinin hepsinin kullandığı tespit edilmiştir. *Pseudomonas* strainlerinin ise 46 karbon kaynağını ve kimyasalları (A-D-Glukose, Glycerol, D-Mannose, D-Fruktose, D-Galaktose, Fusidic Acid, D-Sorbital, Ph 6, %1 NaCl, L-Histidine, D-Mannital, Inosine, %1 Sodium Lactate, L-Arabitol, Rifamycin Sv, L-Alanine, Myo- İnositol, L-Pyroglutamic Acid, L-Arginine, L-Aspartic Acid, L-Glutamic Acid, L-Serine, Lincomycin, Niaproof 4, D-Gluconic Acid, D-Glucuronic Acid, Mucid Acid, Quinic Acid, D-Saccharic Acid, Vancomycin, Tetrazolium Violet, Glucoron Amide, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, D-Malic Acid, L-Malic Acid, Potassium Tellurite, Tween 40, 9-Amino-N-Butryc Acid, B-Hydroxy Butyric Acid, Bromosuccinic Acid, A-Keto Butyric Acid, Acetic Acid, Aztreonam, Propionic Acid, Formic Asit) kullandığı belirlenmiştir. Biolog sistemin bakteriyel organizmaların tanı ve karakterizasyonunda başarıyla kullanılabileceğine dair çeşitli çalışmalar mevcuttur (Tripathi *et al.*, 2011; Karagöz, 2013). *Lue at. al.*, (2010) tarafından yapılan çalışmada Taiwan’da domates ve biber bitkilerinden elde edilen 53 *Xanthomonas* straini biyokimyasal özelliklerin analizi ve multiplex PCR ile karakterize edilmiştir. Strainlerden 13 tanesinin amilaz ve pektinaz özelliği pozitif bulunmuştur. 40 strainin ise nişastayı hidroliz etmediği, pektolitik aktivite göstermediği

tespit edilmiştir. Biolog GN2 Mikroplate kullanılarak strainlerin karbon kaynaklarını kullanım özellikleri belirlenmiş ve bu değerlendirmeye bağlı olarak strainler 3 gruba ayrılmıştır. Strainlerden 40 tanesinin *X. euvesicatoria* (önceden *X. a. pv. vesicatoria*) tanısı ile birinci grubu, 5 tanesinin *X. vesicatoria* tanısı ile ikinci grubu ve 8 tanesinin *X. perforans* tanısı ile üçüncü grubu oluşturduğu tespit edilmiştir. Çalışmada *X. gardneri* saptanmamıştır. Amilaz ve pektinaz özelliği pozitif olan 13 strainin 13 farklı karbon kaynağını ve kimyasalı kullanarak bir grupta yer aldığı görülmüştür. Dextrin, glycogen, N-acetyl-D-glucosamine, D-galactose, gentibiose, α -D-lactose lactulose, acetic acid, cis-acetic acid, malonic acid, D-alanine ve L-threonine karbon kaynaklarını ve kimyasalları kullanan 8 strain *X. perforans* olarak tanılanmıştır. *X. vesicatoria* olarak tanılanan 5 strainin ise dextrin ve gentibiose’ u kullandığı, N-acetyl-D-glucosamine, acetic acid, cis-acetic acid, malonic acid ve D-alanine’i kullanmadığı belirlenmiştir. Yapılan bir başka araştırmada Biolog GN mikroplate sistem ile 39 *X. c. pv. vitians* straininin karbon kaynaklarını kullanımını test edilmiş, strainlerin hepsi tür (*X. campestris*) seviyesinde, % 41’i ise pathovar seviyesinde tanılanmıştır. Şahin (2016), tarafından yapılan bir araştırmada Kahramanmaraş bölgesinden biberden izole edilen patojen bakteri strainleri morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlerin yanında Biolog Gen III Sistem ile de tanılanmıştır. Sonuçlara göre 13 strainin 4 tanesinin *Xcv* (% 66-71), 7 tanesinin *Xcp* (% 68-74), 2 tanesinin *X. c. pv. dieffenbachiae* (% 64- 72) olduğu belirlenmiştir. Dönmez (2004), tarafından yapılan çalışmada Biolog GN plate sonuçlarına göre *Pseudomonas* cinsi strainlerin hepsinin Glycogen, L-Arabinose, D-Fructose, α -D- Glucose, D-Mannose, D-Psicose, Sucrose, Methyl Pyruvate, Mono-Methyl-Succinate, Acetic Acid, cis-Aconitic Acid, L-Proline, Citric Acid, Formic Acid, D-Galactonic Acid Lactone, L-Asparagine, D-Gluconic Acid, Malonic Acid, Propionic Acid, Quinic Acid, D-Saccharic Acid, Succinic Acid, L-Serine, Bromo Succinic Acid, Tween 40, Succinamic Acid, L-Alaninamide, D-Alanine, L-Alanyl-Glycine, L-Alanine, Glycyl-L-Glutamic Acid, L-Aspartic Acid, L-Glutamic Acid, γ -Amino Butyric Acid, Uridine ve Glycerol’den oluşan 36 karbon kaynağını kullandığı tespit edilmiştir. *Xanthomonas* cinsine ait bakterilerin kullandığı karbon kaynakları ise; Dextrin, Glycogen, Tween 40, D-Cellobiose, D-Fructose, L-Fucose, D-Galactose, Succinamic Acid, cis-Aconitic Acid, α -D-Glucose, D-Mannose, D-Melibiose, D-Psicose, Gentibiose, Sucrose, Turanose, Methyl Pyruvate, Mono-Methyl-Succinate, D-Trehalose, Formic Acid, L-Alanyl-Glycine, Glycyl-L-Glutamic Acid, Succinic Acid, Itaconic Acid, α -Keto Glutaric Acid, Bromo Succinic Acid, L-Alaninamide, D-Alanine, L-Alanine, L-Aspartic Acid, L-Serine ve D,L- α -Glycerol Phosphate olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada aynı cins içerisinde yer alan bakteri strainlerinin kullandıkları karbon kaynaklarının benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak tespit edilen metabolik enzim profillerinin pathovar seviyesinde farklılıklar taşıdığı da görülmüştür.

MIS ve BIOLOG sistemle elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde fenotipik farklılıkların göstergesi olan metabolik enzim profillerinin ve yağ asit kompozisyonuna ve miktarına bağlı olarak elde edilen yağ asit profillerinin tanı sonuçlarının benzer olduğu görülmüştür. Her iki sistemin de bakteri strainlerinin tanısında alt tür seviyesinde başarı ile kullanılabilmesi saptanmıştır. Birden fazla yöntemin bir arada kullanılmasının sonuçların güvenilirliğini arttırdığı açıktır. Ayrıca kullanılan her bir yöntem mikroorganizmalara ait farklı

özelliklerin ortaya konulmasını sağlayacaktır. Bununla birlikte sonuçlar her iki sisteminde tek başına *Xav*, *Pst* ve *P. viridiflava* türlerinin tanısında yeterli olduğunu göstermektedir.

SONUÇ

İğdır ilinde domates yetiştiriciliği yapılan alanlar bakteriyel hastalıklar açısından incelenmiş, Aralık, Tuzluca, Karakoyunlu ilçelerinden ve İğdır merkeze bağlı Kasımcan, Oba, Melekli köylerinden hastalıklı örnekler alınmıştır. Yapılan izolasyonlar sonrasında yağ asit metil ester analiz sonuçlarına göre 36 farklı türe ait toplam 98 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlere ait yağ asit profilleri incelendiğinde 98 strain içerisinde 11 tanesinin patojen türler (8 tanesi *Xav*, 2 tanesi *P. viridiflava* ve 1 tanesi *Pst*) olduğu görülmüştür. Bu türlerle domates fidelerinde yapılan patojenite testi ve tütünde yapılan HR testi sonucu da strainlerin patojenik karakterde olduğunu göstermiştir. Strainlerin morfolojik ve biyokimyasal test sonuçlarının patojenite testi sonuçları ile uyum içinde olduğu belirlenmiştir. Patojen bakteri strainlerinin kullandıkları karbon kaynakları ve kimyasallar Biolog Gen III Mikroplate sisteminde değerlendirilmiştir. Elde edilen metabolik profillerine bağlı olarak strainlerin 8 tanesi *Xav*, 2 tanesi *P. viridiflava* ve 1 tanesi *Pst* olarak tanımlanmış ve *Xav* strainlerinin 43, *Pseudomonas* strainlerinin 46 farklı karbon kaynaklarını ve kimyasalları kullandıkları tespit edilmiştir. Ayrıca İğdır ilinde *Xav* ve *Pst* patojenlerinin domateste hastalığa neden olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

TEŞEKKÜR

2017-FBE-A21 numaralı projenin desteklenmesinde verdikleri katkıdan dolayı İğdır Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Aksoy, H. M., 2002.Samsun ilinde Domates Bakteriyel Hastalıkları ve Yaygınlıkları. Ankara Üniversitesi/ Fen Bilimleri Enstitüsü/Bitki Koruma Ana Bilim Dalı.. Doktora Tezi, 118s.
- Aysan, Y., Yıldız, N., Yucel, F., 2004. Identification of *Pseudomonas viridiflava* on Tomato by Traditional Methods and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Phytopathology/Mycology*, 32 (2), 146-153.
- Aysan, Y., Mırık, M., Çetinkaya, Yıldız, R., Küsek, M., 2005. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*’nun Yayılmasında Tohum Kökenli İnokulumun Rolü. *Türkiye II. Tohumculuk Kongresi*. 353 (9-11) ,Adana.
- Basım, H., 2004. Bacterial Spot of Tomato and Pepper Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* in the Western Mediterranean Region of Turkey. *Plant Disease*, (1), 85.
- Bathily, H., Babana, A.H., Samake, F., 2010. *Bacillus Pumilus*, A New Pathogen on Potato Tubers in Storage in Mali. *African Journal of Microbiology Research*, 4(20), 2067-2071.
- Bergey, D.H., Harrison, F.C., Breed, R.S., Hammer, B.W., Huntoon, F. M., 1923. *Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology*, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 116 P.
- Black, R., Seal, S., Abubakar, Z., Nono-Womdim, R., Swai, I., 2001. Bacterial Spot (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) of Tomato and Sweet Pepper in Tanzania. *Plant Pathology*, 50,810.
- Bouzar, H., Jones, J.B., Stall, R.E., Hodge, N.C., Minsavage, G.V., Benedict, A.A. Alvarez, A.M., 1994. Physiological, Chemical, Serological and Pathogenic Analyses of A Worldwide Collection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology*, 84,663-671.
- Cruz, L., Cruz, J., Eloy, M., Oliveira, H., Vaz, H., Tenreiro, R., 2010. First Report of Bacterial Speck of Tomato Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Race 1 in Portugal. *Journal Article. Plant Disease*. 94(12), 1504-1504
- Çetinkaya Yıldız R. ve Aysan Y., 2008. Domates Bakteriyel solgunluk Hastalığı etmeni (*C. michiganensis* subsp. *Michiganensi*)’nin İzolasyonu, Genetiksel, Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Tanısı. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 173s.

- Dadaşoğlu, F., 2013. *Artvin Erzincan Erzurum İğdir İllerinde Bazı Meyve ve Sebzelerde Yumuşak Çürüklüğe Sebep Olan Bakterilerin İzolasyonu Klasik ve Moleküler Yöntemler ile Karakterizasyonu*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, s143.
- Davis, M.J., Gillaspie, A. G., Jr. Vidaver, A. K., Harris, R. W., 1984. *Clavibacter*: A New Genus Containing Some Phytopathogenic Coryneform Bacteria, Including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. Nov., subsp. Nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. Nov., Pathogens That Cause Ratoon Stunting Disease of Sugarcane and Bermudagrass Stunting Disease, *International Journal of Systemic Bacteriology*, 34, 107-17.
- Dönmez, M. F., 2004. Erzurum ve Erzincan İllerinde Fasulye (*Phaseolus Vulgaris L.*) Bitkisinde Görülen Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tanılanması ve *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas campestris* pv. *phaseolif*'ye Karşı Çeşitli Fasulye Genotip ve Çeşitlerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Bitki Koruma Anabilim Dalı. s305..
- FAO, 2020. Food and Agriculture Organization of The United Nations. Tomatoes Growing in The World. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim Tarihi: 24.02.2020).
- Gardner, M.W., Kendrick, J.B., 1923. Bacterial Spot of Tomato and Pepper, *Phytopathology* 13:307-315.
- Gasic, K., Prokic, A., Ivanovic, M., Kuzmanovic, N., Obradovic, A., 2012. Differentiation of *Pseudomonas syringae* Pathovars Originating From Stone Fruits. *Pesticides. Phytomedicine*, 27(3),201-229.
- Gonzalez, C.F., Ackerley, D.F., Park, C.H., Matin, A., 2003. A Soluble Flavoprotein Contributes To Chromate Reduction and Tolerance by *Pseudomonas putida*. *Acta Biotechnol.* 2(3), 233-239.
- Goumans, D.E., Chatzaki, A.K., 1998. Characterization and Host Range Evaluation of *Pseudomonas viridiflava* From Melon, Blite, Tomato, Chrysanthemum and Eggplant. *European Journal of Plant Pathology*, 104,181-188.
- Gök, G., 2016. İğdir İli Elma Ağaçlarında Ateş Yanıklığı Hastalığına Neden Olan *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et al. Etmeninin Biyokimyasal ve Moleküler (MIS) Yöntemle Tanısı. İğdir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, s72.
- Ibrahim, Y., Al-Saleh, M., 2012. First Report of Bacterial Spot Caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on Sweet Pepper (*Capsicum annuum L.*) in Saudi Arabia. *Plant Disease*, 96(11), 1690-1690.
- İmriz G.ve Çınar Ö., 2015. Domates Öz Nekrozu Etmenlerinden *Pseudomonas cichorii* ve *Pseudomonas corrugata*'nın ELİSA'ya Dayalı ve Geleneksel Tanıtemleri ile Teşhisi. Vol. 3, no 7-13
- Karagöz, K., 2013. *Erzurum İli Patates Tarlalarından İzole Edilen Bitki Patojeni Streptomyces Türlerinin Tanısı ve Karakterizasyonu*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, s129.
- Klement, Z., Farkas, G. L., Lourekovich, L., 1966. Hypersensitive Reaction Induced by Phytopathogenic Bacteria in Tobacco Leaf, *Phytopathology*, 54, 474-477.
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D.C., 1990. *Methods in Phyto bacteriology*, Akademia Kiado, Budapest, XIV+568s.
- Lamichhane J.R., Balestra G.M., Varvaro L., 2010. First report of bacterial spot caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* race 2 on tomato in Nepal. *New Diseases Reports*, 22, p25.
- Lelliott, R.A., Stead, D.E., 1987. Methods For The Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. *Blacwell Scientific Publications*. p216.
- Lue Y. S., Deng W. L., Wu Y. F., Cheng A. S., Hsu S. T.. and Tzeng K. C., 2010. Characterization of *Xanthomonas* Associated with Bacterial Spot of Tomato and Pepper in Taiwan. *Plant Pathology Bulletin* 19: 181-190.
- Mensi, I., Jabnoun-Khiareddine, H., Zarrougui, N.E., Zahra, H., Cesbron, S., Jacques, M. A., Daami-Remadi, M., 2018. First Report of Tomato Bacterial Speck Caused By *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Tunisia. *New Disease Reports*, 38, 21.
- Miljasevic, S., Todorovic, B., Rekanovic, E., Potocnik I., Gavrilovic, V., 2009. Races and Hosts of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Serbia. *Archives of Biological Sciences*, 61 (1), 93-102.
- Narayananamy, P., 1997. *Plant Pathogen Detection and Disease Diagnosis*, pp. 331.
- Roy, A., 1988. Use of Fatty Acid For The Identification of Phytopathogenic Bacteria. *Plant Disease*, 72, 460.
- Popović, T., Ivanović, Z., 2015. First Report of *Pseudomonas viridiflava* Causing Pith Necrosis of Tomato (*Solanum Lycopersicum*) in Serbia. *Diseases Notes*, 99 (7), 1033.
- Sarris, F.P., Trantas, E. A., Mpalantinaki, E., Ververidis, F., Goumas, D.E., 2012. *Pseudomonas viridiflava*, A Multi Host Plant Pathogen With Significant Genetic Variation At The Molecular Level. *Plasone*, 7, Issue 4,
- Sasser, M., 1990. İdentification of bacteria by gas chromatography of celluler fatty acids. MIDI, Technical Note. 101, 1-6
- Saygılı, H., 1995. *Fitobakteriyoloji*. Doğruluk Matbaası, İzmir, pp. 203.
- Scarlett, C.A., Fletcher, J.T., Roberts P., Lelliott, R.A., 1978, Tomato Pith Necrosis Caused by *Pseudomonas corrugata*, *Annals of Applied Biology*, 88,105-114.
- Schaad, N. W., 1994. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. *APS Press*, pp. 164.

- İğdir' Da Domates (*Solanum Lycopersicon L.*)' Te Hastalığı Neden Olan Bakterilerin İzolasyonu Ve Tanısı, 4(2): 1-5, 2021.
- Schaad, N.W., Jones, J.B., Chun, W., 2001. Laboratory Guide For Identification of Plant Pathogenic Bacteria. *The American Phytopathological Society, St. Paul, MN., USA.*
- Shenge, K.C., Mabagala, R.B., 2007. First Report of Bacterial Speck of Tomato Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Tanzania. *Plant Diseases.* (4), 462.
- Sijam, K., Chang, C.J., Gitaitis, R.D., 1992. A Medium for Differentiating Tomato and Pepper Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Can. *Journal Plant Pathol.* 14,162-164.
- Stancu, M. and Rodi, M., 2020. Identification and Biochemical Characterization of some Strains of *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. University of Craiova, Faculty of Horticulture, A.I. Cuza, Craiova. Romania. no. 13.
- Şahin, F., Kotan, R., 1999. First Observation of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Race T2P7 Isolated From Pepper in The Philippines. *Plant Disease*, 83(6), 590.
- Şahin, F., 2001. Severe Outbreak of Bacterial Speck, Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, on Field-Grown Tomatoes in Eastern Anatolia Region of Turkey, *Plant Pathology*, 50(6), 799.
- Şahin, F., Abbasi P.A., Lewis I.M.L., Zhang, J., Miller, S.A., 2003. Diversity Among Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* From Lettuce. *Phytopathology*, 93, 64-70.
- Şahin, A., 2016. Kahramanmaraş Biber Üretim Alanlarında Biber Bakteriyel Leke Hastalık Etmenlerinin Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Bitki Koruma Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. 71 s.
- Tripathi, B.M., Kaushik, R., Kumari, P., Saxena, A. K., Arora, D. K., 2011. Genetic and Metabolic Diversity of *Streptomyces* in Pulp and Paper Mill Effluent Treated Crop Fields. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 27, 1603-1613.
- Tuik, 2016. Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı, (Erişim tarihi: 20.11.2018).
- Ünlü A., Baysal Ö., Polat İ., Sülü S. M., İkten H., Deran Z., ve Gümrükçü E., 2016. Batı Akdeniz Bölgesinde Örtüaltı Yetiştiriciliğinde sorun Olan Domateste Bakteriyel Benek *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Hastalık Etmeni İzolatlarını genetik Farklılıklarının Moleküler Yöntemlerle Tespiti. Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsü, Antalya. 34(2):122-130.
- Üstün, N., Saygılı, H., 2001. Pith Necrosis on Greenhouse Tomatoes in Aegean Region of Turkey. *11th Congress of The Mediterranean Phytopathological Union and 3rd Congress of the Sociedade Portuguesa De Fitopatologia Evora-Portugal*, 70-73.
- Walcott, R.R., Langston, D.B., Sanders F.H., Gitaitis, R.D., 2000. Investigating Intraspecific Variation of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* Using DNA Fingerprinting and Whole Cell Fatty Acid Analysis. *Phytopathology*, 90(2),191-196.
- Wang, M., Cao, J., Lin, L., Sun, J., Jiang, W., 2010. Effect Of 1- Methylcyclopropene on Nutritional Quality and Antioxidant Activity of Tomato Kaynaklar Hussien Belal 125 Fruit (*Solanum Lycopersicon L.*) [Sic] During Storage. *Journal of Food Quality*, 33, 150-164.
- Wielke, J.P., Dye, D.W., Watson, D.R.W., 1973. Further Host of *Pseudomonas viridiflava*. *New Zealand Journal Agricultural Research*, 16, 315-323.
- Wielke, J.P., Dye, D.W., 1974. *Pseudomonas cichorii* Causing Tomato and Celery Diseases in New Zealand. *New Zealand Journal Agricultural Research*, 17, 123-130.
- Wrekiat, B.I., Al-Banna, L.S., Khlaif, M.H., 2006. Detection and Identification of Bacterial Speck of Tomato (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) by Polimerase Chain Reaction. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), 45-55.
- Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., Nishiuchi, Y., 1995, Transfer of Two Burkholderia and an Alcaligenes Species To Ralstonia Gen. Nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Douderoff 1973) Comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Comb. Nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) Comb. Nov., *Microbiology and Immunology*, 39, 897-904.
- Young, J.M., Dye, D.W., Bradbury, J.F., Panagopoulos, C.G., Robb, C.F., 1978. A Proposed Nomenclature and Classification for Plant Pathogenic Bacteria.. *Journal of Agricultural, Research*, 21, 153-77.



Research /Araştırma

Atık Esaslı Fibriller Biyoçözünür Toprak Örtüsü

Naz KADINKIZ¹, Muhammet UZUN^{1*}, Zeynep ÇİL¹

ÖZET

Tarımsal faaliyetler, ülke ekonomisi ve kalkınması için önemlidir ancak çevresel yan etkileri oldukça fazladır. Bu zararı en aza indirmek için sürdürülebilir, sorumlu üretim ve tüketim desteklenmelidir. Tarım sektöründe mevcut olarak kullanılan toprak örtüleri ve malçlar petrokimya esaslı sentetik malzemelerden yapılmaktadır. Uzun yıllar doğada çözünmeden var olmaları hem doğaya hem de canlılara zarar vermektedir. Bu çalışmada Narlı ve Vezir tohumlarıyla elde edilen kenevir, muz atıklarından gübre üretilirken açığa çıkan kısa elyaf ve taşıyıcı lif olarak Polilaktik Asit (PLA) biyobozunur lif harmanları ile toprak örtüsü elde edilmiştir. Geliştirilen toprak örtüsünün, toprak nemini optimum seviyelerde tutmaya yardımcı, kuru ağırlığının ortalama 5 katı kadar su veya nemi emme kapasitesinden dolayı geliştirilen kumaşların farklı iklim tiplerinde kullanımı amaçlanmaktadır. Teknik nonwoven yapının yabancı ot büyümesi gibi problemlere de çözüm sunması hedeflenmiştir. Belirtilen özellikler eko-ambiyansı bozmadan sağlanırken biyolojik olarak parçalanıp toprağa karışması sonucu sürdürülebilirlik sağlanır. Optimum yapının oluşturulması için farklı hammadde oranlarında çeşitli yapı tasarım denemeleri yapılarak ilgili temel testler uygulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kenevir, Muz lifi, Sürdürülebilirlik, Tarım, Toprak örtüsü

Waste Based Fibrillary Biodegradable Soil Mattress

ABSTRACT

Agricultural activities are essential for the country's economy and development, but their environmental side effects are pretty high. Sustainable, responsible production and consumption should be supported to minimize this damage. Soil covers and mulches currently used in the agricultural sector are made from petrochemical-based synthetic materials. Their existence for many years without dissolving in nature harms both nature and living things. This study obtained soil cover with a mixture of hemp, a by-product of banana production, and PLA biodegradable fiber as carrier fiber. A natural non-woven technical fabric has been developed that helps maintain soil moisture at optimum levels and is intended for use in scorching climates due to its capacity to absorb water or moisture up to 5 times its dry weight. The developed non-woven structures are aimed to provide solutions to problems such as weed growth. While the specified features are provided without disturbing the eco-ambiance, sustainability is ensured as a result of biodegradation and mixing with the soil. In order to create the optimum structure, various building design experiments were carried out with different raw material ratios and relevant basic tests were applied.

Keywords: Hemp, Banana fiber, Sustainability, Agriculture, Ground cover

¹Zeynep ÇİL (Orcid ID: 0000-0002-9429-9909), Naz KADINKIZ (Orcid ID: 0000-0003-4654-8111), Muhammet UZUN (Orcid ID: 0000-0001-8669-7686), Marmara Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Tekstil Mühendisliği Bölümü, İstanbul, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: * Muhammet UZUN, e-mail: m.uzun@marmara.edu.tr

GİRİŞ

Günümüzde ve nihayetinde gelecekte daha fazla olmak amacıyla üretilen tüm ürünlerde çevreye verilen etkinin en aza indirilmesi, insan sağlığı ve doğa üzerindeki etkisini azaltmayı amaçlayan faktörlere sahip süreç ve malzemelere önem verilmektedir. Ham madde seçiminden uygulamaya, kullanıma, geri dönüşümü ve atık yönetimine kadar tüm süreç boyunca tüm adımlar dikkate alınmaktadır. İnsanın temel ihtiyaçları arasında bulunan gıda ve üretim süreçlerinin kirlilik ve çevresel bozulmalarının azaltılması ile birlikte enerji, su ve diğer kaynakların kullanımında verimli olmak günümüzün temel amaçları arasındadır. Bu amaç doğrultusunda CO₂ emisyonlarını %55 azaltmak 2030 için küresel bir Avrupa hedefidir. Bu nedenle, tarımda çevresel etkileri azaltmak, Avrupa ülkelerinde enerji ve çevre politikalarında bir öncelik haline gelmiştir.

Küresel ısınmayla birlikte iklimlerde gözlemlenen farklılaşmalarla beraber ani sıcaklık değişimleri daha sık yaşanmaya başlamıştır. Bu durumda ekilen bitkiler için toprak ısını korumak gittikçe önemli hale gelmektedir (Olle ve Bender, 2010). Su kaynaklarımızın da gün geçtikçe azaldığı bu dönemde daha akıllı tarım yapmamız gerekmektedir. Bu amaçlar doğrultusunda mevcut tarım stratejilerinde toprak yüzeyinin malçlama sonucu ışık geçirmez materyallerle kaplanması her geçen gün artmaktadır (Kuzucu, 2021). Toprağın malçlanması; meyve üretiminde topraktaki yumuşaklığı ve verimliliği korumak, toprak besinleri ve su için yabancı ot rekabetini azaltmak, toprak sıcaklığı ve nem aşırılıklarını ılımlı hale getirmek, yararlı eklemecaklılar için bir yaşam alanı sağlamak ve toprak erozyonunu en aza indirmek için önemlidir (Ramakrishna, 2006; Jordan, 2010; Bakshi, 2015; García-Díaza, 2017; Manna, 2018).

Petrol bazlı malzemelerden üretilen sentetik malçlar, tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır ancak bu malzemelerle ilgili sorunlar canlı malçlara kıyasla artan akış, bertaraf ve depolama endişeleri ayrıca uzun vadeli bir stratejik yönetim olarak 'sertifikalı organik' üretimde kısıtlamaları içerir. Organik ürünlerin tüketimi günümüzde hızla artarken bu genişleyen üretim sistemi için çok az alternatif bulunmakta denebilir (Abouzienna, 2003). Bu durumun önüne geçebilmek için çeşitli doğal malç malzemeleri kullanılmaktadır. Bunlar; saman, birbirinden farklı mahsul artıkları, yaprak döküntüleri, talaşlar, ağaç kabukları, çakıl veya kırma taşlarıdır (Poesen, 1991). Doğal malçların sentetik malçlara göre ekolojik olarak daha avantajlı olsa da bazı malçlamalarda yabancı ot tohumları bulunabilmekte ve süreçte sıkıntı yaratabilmektedir.

Kullanılan toprak örtülerinin fiziksel bir bariyer oluşturması ile ışık geçirgenliğinin önüne geçilmekte ve bu sayede yabancı ot kontrolü sağlanmaktadır (Wilén, 1999; Datta, 2005; Subba, 2015; Manna, 2018). Böylece bitkinin korunumu sağlanarak bitkinin verimliliği büyük oranlarda artırılabilir. Bitki yetiştirilirken büyümenin ilk döneminde görülen erken don, bitki için önemli risk içerir ve bu da tüm tarlalarda önemli hasara neden olabilir. Bu tür riskleri en aza indirmek için tarımsal tekstiller kullanılır ve erken bitki üretiminin doğrudan maliyetini örtüsüz ekime kıyasla %40 ile %124 oranında artırır (Rebarz, 2015).

Bu amaçlar doğrultusunda toprak yüzeyi ince bir plastik filmle kaplanmaktadır (Yao, 2014). Plastik kullanımı gizli ısı akışını azaltır ve toprağa olan hassas ısı akışını artırır. Diğer kaplama türlerine kıyasla daha fazla ısıtma sağlamaktadır (Echer ve ark., 2015). Ancak kullanılan bu petrokimya esaslı malzemeler yüksek verim sağlayan özelliklerinin bulunmasının yanında problemler de yaratmaktadır. Doğada bozulmaları çok uzun yıllar sürmekte ve

bozunmaya başladıklarında da çevreye zararlı kimyasallar yaymaktadırlar (Haifeng Gu, 2021). Bu kimyasallar, gün geçtikçe azalan su kaynaklarımızı kirletmekte ve besin zincirlerine girerek yaşayan canlılar için büyük bir tehlike oluşturmaktadır (Atucha ve ark., 2013).

Çalışma, hedefler doğrultusunda alternatif ürün ile çözüm önerilerine odaklanmaktadır. Çalışmanın temel amacı doğaya birçok yönden zararlı olan petrokimya esaslı sentetikler yerine biyobozunur, çevreye zarar vermeyen, doğada atık bırakmadan yok olabilen doğal hammaddeler kullanmaktır. Bu bağlamda hammadde olarak doğal elyafların kullanılması değerli bir katkı olabilir. Kumaş yapısı oluşturulurken kenevir, muz atık lifi ve PLA' dan yararlanılmıştır.

Kenevir, son yıllarda oldukça artan bir ilgiye sahip yenilenebilir bir malzemedir (Jiangbo Liao, 2020). Kenevir, *cannabinaea* ailesinden tek yıllık bir bitkidir. Kendi türü içerisinde esrar oranı yüksek ve düşük olanlar bulunmaktadır (Hillig, 2005). Esrar oranı düşük olan türler endüstriyel amaçlı kullanılmaktadır (Gilmore ve ark., 2007). Yüksek gövde verimi ve gövdedeki yüksek sak lifi içeriği, genel olarak kenevir lifi (*Cannabis sativa* L.) için önemli özellikler olarak kabul edilmektedir (S.Sankari, 2000). Endüstriyel kenevir, sürdürülebilir bir tekstil lifi kaynağı olarak büyük potansiyele sahip, yüksek verimli, çevre dostu bir lif mahsulüdür (Paolo Ranalli, 2004). Dünyanın en popüler doğal tekstil lifi olan pamuğun aksine, kenevir ekimi çok az su ve böcek ilacı gerektirir (Cherrett, 2005; Vandepitte, 2020). Kenevir bitkisinin hasadı sonrasında saplardan lifler ayrılır. Saplardaki odunsu bölümlerin uzaklaştırılması ile liflerin ortaya çıkartılması hedeflenir. Bu işlem mekanik, çiğde bekletme, havuzlama, kimyasal işlem ve enzim uygulamaları gibi yöntemlerle yapılabilir (Gedik, 2010).

Kenevir liflerinin üretiminde yüksek su tüketiminin olmaması, gübre ve tarım ilacına ihtiyaç duymadan yetiştirilebilmesi gibi nedenlerle toprak ve çevrenin korunmasını amaçlayan organik tarım üretimi için uygunluğunu göz önüne sermektedir. Ek olarak kenevir, ürün rotasyonuna uygun bir bitki olduğundan yabancı otları yok ederek sonraki dönem için ürüne zengin bir toprak yapısı bırakmaktadır.

Muz lifi, bitkinin gövdesinden elde edilen doğal bir sak lifidir (Ravi ve ark., 2015). Muz lifi, muzun hangi kısmından çıkarıldığına bağlı olarak, farklı ağırlık ve kalınlıklarda bir dizi farklı tekstil ürünü yapmak için kullanılabilir (Bulut ve Erdoğan, 2011). Muz bitkisi dönemsel olarak verimin artırılması için gövdesinden kesilir ve bu kısımlar yetiştirilme bölgelerinde gübre olması için atık olarak kullanılır (N. Venkateshwaran, 2011).

Polilaktik asit (PLA), yinelenen laktik asit birimlerinden oluşan alifatik poliestерler grubuna giren bir polimerdir. En önemli özelliklerinden biri; mısır, şeker kamışı ve buğday gibi nişasta zengini bitkisel kaynaklardan üretilen biyo-çözünür ve gübrelelenebilir (compostable) bir termoplastik polimer olmasıdır. Yenilenebilir kaynaklardan üretilen %100 biyobozunur PLA, doğada 0-2 yıl gibi kısa bir zaman periyodunda kendiliğinden yok olmaktadır. PLA doğada hiçbir tehlike yaratmadan parçalanabilen ve degradasyonu sırasında bulunduğu toprağı kirletmeyen ekolojik bir polimerdir (Ray ve Bousmina, 2005).

İstenilen özelliklere en uygun biçimde örtünün incelik ve gramajında farklılıklar yapılabilmektedir. Yapılan benzer çalışmalara göre örtünün gözeneklilik, yığın yoğunluğu gibi özelliklerine bakılarak bitkinin ve toprağın verimliliğini artıracığı düşünülmektedir (Bengal, 2016; Sarkar ve ark., 2018).

MATERYAL VE YÖNTEM

Kenevir lifleri

Kullanılan kenevir lifleri endüstriyel amaçlı olup yerli Narlı ve Vezir adlı Türk tohumlarından elde edilmiştir. Lifler enzimatik işlemlerini görmüş ve işlenebilir halde Marmara Üniversitesi bünyesinde bizim tarafımızdan temin edilmiştir.

Muz lifleri

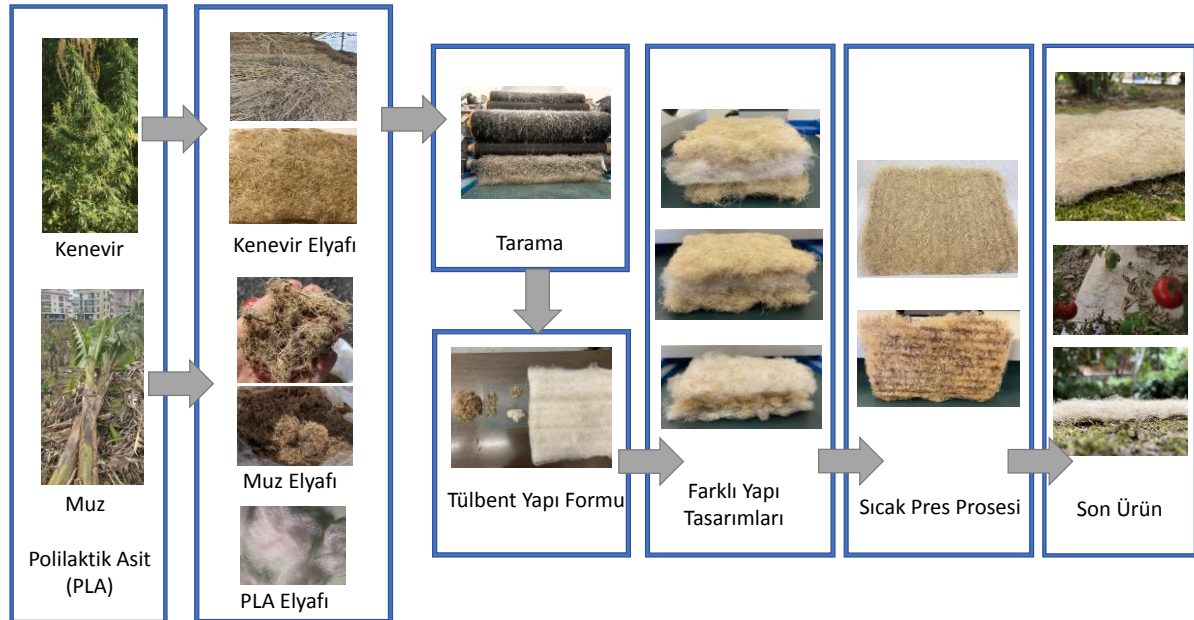
Muz lifleri Alanya bölgesinden lokal olarak temin edilmiştir. Alanya bölgesinde gövde atıklarından gübre elde edilmesi üzerine geliştirilmiş sistemin atık lifleri kullanılmıştır. Kompostlama sürecinde lifler oldukça kısalmış ve belirli noktalarda topakçık haline gelmişlerdir. Muz lifi biyolojik olarak doğada parçalanabilen ve çevreye olumsuz etkisi olmayan, çevre dostu bir lif olarak sınıflandırılır. Muz lifi üretiminin bir faydası da bitki artıklarını geri dönüştürerek, çevreye ve ekonomiye artı değer katmasıdır (Manickam ve ark., 2016; Sivaranjana, 2021).

Polilaktik asit (PLA) lifleri

Bu çalışmada Polilaktik asit lifleri taşıyıcı elyaf olarak seçilmiştir. Erime sıcaklığının diğer lifler ile uyumlu olması tercih sebeplerinden biridir. PLA hammaddesi Marmara Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölümünün anlaşmalı olduğu firmalardan temin edilmiştir.

Nonwoven kumaş oluşumu

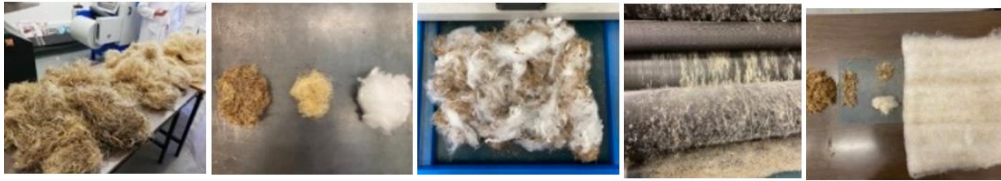
Çalışmadaki numune üretim süreci Şekil 1’de gösterildiği üzere gerçekleştirilmiştir. İlgili testleri yapılan lifler, akış şemasındaki sırayla işlenmiş ve numuneler oluşturulmuştur.



Şekil 1. Yapı oluşumu işlem akışı

Tarama süreci

Genel tekstil uygulamalarında harmanlama işleminden sonra tarama yapılmaktadır. Tarama işlemi demet halinde beslenen hammaddelerin lif halinde tek tek açılma işlemidir. Şekil 2’ de tarama süreci adım adım verilmiştir. Bu işlemde; kabuk, çekirdek parçaları ve toz gibi yabancı maddeler dışında kısa elyafın da uzaklaştırılması amaçlanmaktadır. Çalışmada kullanılan muz liflerinin bir kısmı, kompostlama sürecinin yan ürünleri olmaları sebebi ile sert topakçıklar halinde tarama işleminden geçmiştir. Bu süreçte taraklar bu kısımları açamamış ve tarama işlemi sonucunda telef olarak ayrılmışlardır. Kısa muz lifleri, telefleri azaltmak için PLA lifleri ile harmanlanarak tarama işlemine sokulmuştur. Kenevir, Muz ve PLA harmanlarından açılan lifler, paralelleştirilerek tülbent haline getirilmiştir.



Şekil 2. Lif Harman ve Tarama Süreci

Sıcak pres işlemi öncesinde numunelerin istenilen özellikleri karşılayabilmesi amacıyla farklı hammadde yüzdeleri ve çeşitli yapı tasarımları planlanmıştır. Burada çalışmadan istenilen sonuçları elde edebilmek amacıyla 3 farklı yapı tasarımı oluşturulmuştur. Çizelge 1’de numunelerin içerdiği hammadde yüzdeleri ve yapı tasarımları gösterilmiştir.

Çizelge 1. Oluşturulan Numunelerin İçerik Oranı ve Yapı Tasarımları

Numuneler	Kenevir Oranı (%)	Muz Lifi Oranı (%)	PLA Oranı (%)	Yapı Tasarımı
Numune 1	25	25	50	
Numune 2	75	12.5	12.5	
Numune 3	75	12.5	12.5	
Numune 4	60	20	20	
Numune 5	60	20	20	

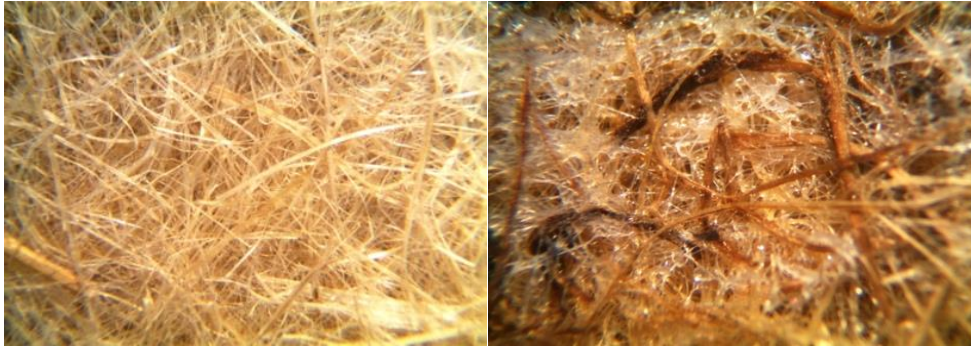
Sıcak pres süreci

Şekil 3’te farklı harman ve yapı kombinasyonlarından oluşmuş yüzeyler, sıcak pres ile PLA liflerinin eriyik haline gelmesi sonucu diğer liflere tutunmuş ve yapı sabitlenmesi sağlanmıştır. Bu uygulama ile yüzeylerin sıcaklık karşısında fikse işlemi sağlanmış olmaktadır. Kullanım süresince minimum boyutsal değişim kullanım verimliliği için önemlidir.



Şekil 3. Numunelerin Yapı Tasarımları ve Preslenmiş Görüntüsü

Şekil 4'te Numune 5 ve Numune 3'ün sıcak pres sonrası OLYMPUS SZ-PT marka kumaş mikroskobu ile elde edilen görüntüleri verilmiştir. Numune 5' de yüzey yapı görünümünde herhangi bir PLA eriğinin olmadığını ancak Numune 3'te PLA liflerinin erime sıcaklığına ulaşmasıyla yüzeyi kapladığı gözlemlenmiştir. PLA eriğinin yapı mukavemet değerleri üzerindeki etkisine ilerleyen aşamalarda bakılmıştır.



Şekil 4. Sıcak pres sonrası numune görüntüleri; Numune 5 ve Numune 3

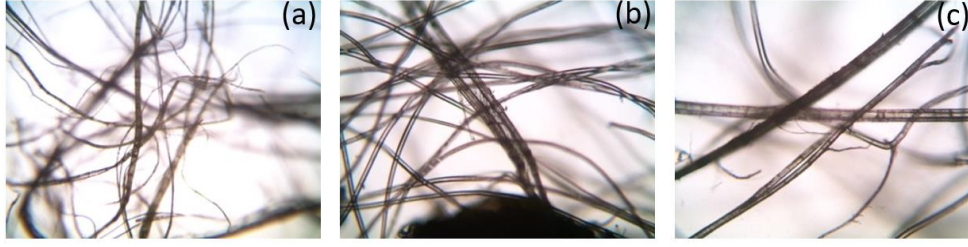
BULGULAR VE TARTIŞMA

Numuneler 24 saat boyunca standart atmosferde, 20 ± 2 °C sıcaklıkta, 65 ± 4 % bağıl nem şartlarında kondisyonlanmış ve gerekli testler bu koşullarda gerçekleştirilmiştir.

Elyaf Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Lif görüntüleri

Şekil 5 OLYMPUS CH-2 marka cihazda 40 kat yakınlaştırma ile çekilmiştir. Verilen lif görüntüleri nonwoven kumaşa kullanılan yapıların genel yapısını vermektedir.



Şekil 5. Mikroskopik Lif Görüntüleri; a- Kenevir Lifi, b- Muz ve PLA Lifi, c- Kenevir, Muz ve PLA Lifi

Ortalama lif uzunlukları

Kenevir liflerinin uzunluğu, ASTM D 1577-96 yöntemine göre ölçülmüştür. Sonuçlar için en az 100 lif numunesi ölçülmüştür.

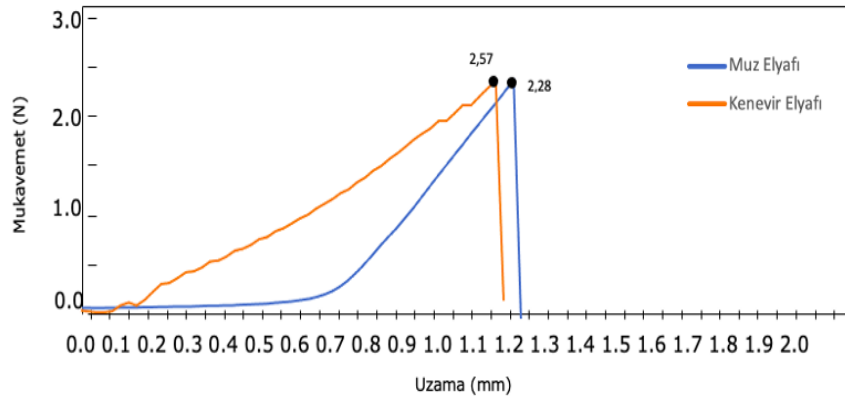
Çizelge 2. Kullanılan Liflerin Ortalama Uzunlukları

Kullanılan Lifler	Ortalama Lif Uzunlukları (cm)
Kenevir	4.68
Muz	3.42

Lif mukavemet testi

Çizelge 3. Lif Mukavemet Testi Sonuçları

	Kopma Standartında Uzama (mm)	Kopmadaki Çekme Gerinimi (%)	Maksimum yük (Newton)
Kenevir Elyafi	1.231	8.439	2.579
Muz Elyafi	1.265	8.215	2.283



Lif nem çekme testi

Tekstil liflerini önemli özelliklerinden biri de belli sıcaklık ve bağıl rutubette su absorplama yeteneğidir. Absorplanan nem miktarı elyafın türüne ve bulunduğu ortamın rutubetine göre değişiklik göstermektedir.

105 °C' lik etüvede 1 saat süreyle sabit bir ağırlık elde edilinceye kadar kurutulur. Sonra desikatöre alınır, soğutulur ve tartılır. Etüve konulan ağırlık ile son ağırlık arasındaki farkın % olarak ifadesi lif örneğinin nemini gösterir.

Çizelge 4. Kullanılan Liflerin Nem Testi Sonuçları

Kullanılan Lifler	Bağıl Nem (&)	Mutlak Nem (%)
Kenevir	7.466	8.073
Muz	7.912	8.591

Kumaş Özelliklerin Değerlendirilmesi

Kumaş gramaj ve mukavemet değerleri

Numunelerin gramaj değerleri ASTM D 3776 standardına, kalınlık tayini TS EN ISO 9073-2 standardına uygun olarak bulunmuştur. Numunelere toplamda 10'ar kez uygulanan testin sonuçları aritmetik ortalama ile hesaplanmıştır. Instron Evrensel Çekme Test Cihazında uygulanan çekme mukavemeti tayini ASTM D1682-64 standart test yöntemi izlenerek bulunmuştur.

Çizelge 5. Üretilen Numunelerin Ortalama İncelik, Gramaj ve Çekme Mukavemet Değerleri

Numuneler	Ortalama İncelik Değerleri (mm)	Kumaş Gramaj Değerleri [g/m ²]	Kumaş Mukavemeti [cN.(tex ⁻¹)]
Numune 1	4.3	499	1.421
Numune 2	4.89	648	1.617
Numune 3	5.04	562	2.182
Numune 4	4.75	559	1.846
Numune 5	3.96	487	1.387

Elde edilen numunelerde incelik ve gramaj değerlerini etkileyen değişkenlerden birinin kat yapısı olduğu düşünülmektedir. Elde edilen numunelere bakıldığında 2 ve 3 numaralı numunelerin içerik oranları aynı iken tercih edilen yapı dolayısı ile Numune 3' ün daha mukavemetli olduğu tespit edilmiştir. Bunun sebebi dış yüzeydeki eriyik PLA'nın kumaş yapısını sabitlemesi olabilir. Numunelerdeki kenevir oranı ile çekme mukavemetinin doğru orantılı olduğu keşfedilmiştir. Öte yandan kullandığımız muz liflerinin kompostlama ve tarama süreçleri sonunda oldukça kısa olması, kenevir ve PLA'nın sağladığı mukavemet değerlerini olumsuz etkilediği ortaya çıkmıştır. Ayrıca bazı numunelerde sıcak preste PLA'nın yanması lif özelliklerine zarar verebileceğinden mukavemet değerlerinde bazı farklı sonuçlar doğurabileceği ön görülmektedir.

Hava geçirgenlik testi sonuçları:

Hava geçirgenlik testi TS 391 ISO 9237 standardına uygun olarak yapılmıştır. Bir kumaşın hava geçirgenlik özelliği; elyaf, iplik ve yapı formu ile etkilenmektedir. Kumaşın hava geçirgenlik özelliği neme karşı korunumu bakımından da oldukça önemlidir.

Çizelge 6. Üretilen Numunelerin 25Pa Basınç Altında Hava Geçirgenlik Değerleri

Numuneler	Hava geçirgenlik değerleri [L.(dk ⁻¹)]
Numune 1	24
Numune 2	17
Numune 3	24
Numune 4	23
Numune 5	25

Kumaş ağırlığının artmasıyla hava geçirgenlik değerinin düştüğü görülmektedir. Bunun nedeni kumaş numunelerinin ağırlıklarının artmasıyla daha kompakt bir yapı kazanması sonucu kumaş içerisinden geçen hava akımına direnmeyi sağlamasıdır. Bu davranış, dokunmamış kumaşın az gözenekliliği ve kalınlığı nedeniyledir.

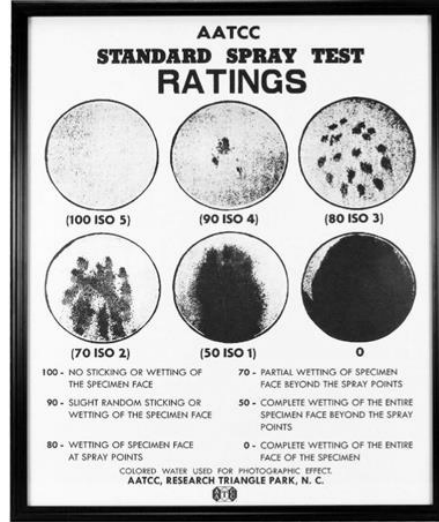
Öte yandan sıcak pres işlemi esnasında eriyen PLA liflerinin hava geçirgenliği azaltabileceğini fakat oldukça düşük miktarlarda tercih edildiğinden bu durumun sonuçlarda çok büyük bir değişikliğe sebep olmadığı gözlemlenmiştir. Kullanılan muz liflerinde taranamayan topçukların çoğunlukla bulunduğu bölgelerde kumaş hava geçirgenliğinin azaltabileceği ama bu bölgelerin 1 cm²'den fazla olmaması ve kumaş genelinde çok fazla bulunmamasıyla hava geçirgenliğini çok fazla etkilemeyeceği ön görülmektedir.

Farklı yapı tasarımlarının sıcak presleme sürecine giren numuneler üzerinde farklı hava geçirgenlik değerleri sağladığı düşünülmektedir. Numune 2 ve Numune 3'ün içeriklerinin aynı olması fakat yapısal özellikleri sebebi ile farklı hava geçirgenlik değerlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Numune 2'de kenevirlerin dış yüzeyde yer alması sebebi ile hava tutumunda daha iyi özellikler gösterdiği düşünülmektedir.

Islanabilirlik (yağmur test yöntemi) testi

Islanabilirlik Testi AATTC 35 standardına uygun olarak şiddetli yağmurda havaya maruz kalan kumaşların su geçirmezliğini simüle etmektir. Numune 3 ve Numune 5'te 70 ISO 2; Numune 1,2 ve 4'te ise 50 ISO 1 sonuçları alınmıştır.

Numune 3 ve Numune 5' in teste maruz kalan yüzeylerinde PLA liflerinin yüzeyi örterek ıslak kalabilecek noktaların azalmasına yol açması sebebi ile benekli bir ıslaklık durumu gözlemlenmiştir. Kenevirden dış yüzeye sahip diğer numunelerde daha ıslak bir yüzey görünümü gözlemlenmiştir. Numune 1 ve Numune 2'nin harman değerlerindeki farklar sonucu etkilememiş, burada suyun temasta olduğu yüzey liflerinin sonucu daha fazla etkilediği düşünülmüştür.



Şekil 6. Islanabilirlik Testi Standartları

Su emme kapasite testi

Su emme kapasite testi TS 866 numaralı standart esas alınarak yapılmıştır. Her numune için on ölçüm yapılmış ve ölçümlerin aritmetik ortalaması alınmıştır. Su emicilik testi için her bir kumaştan beş adet numune hazırlanmış ve ağırlıkları ölçülerek kuru ağırlık olarak kaydedilmiştir. Bir dakika süre ile oda sıcaklığında suyun içerisinde bekletilen numunelerin üzerindeki fazla suyun uzaklaştırılması için üç dakika süre ile asılmıştır. Ölçülen sonuç yaş ağırlık olarak kaydedilmiştir.

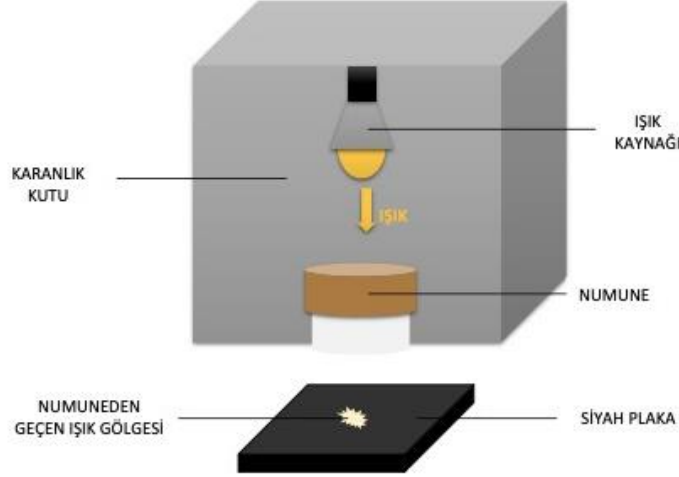
Çizelge 7. Üretilen Numunelerin Su Emme Kapasite Değerleri

Numuneler	Kuru Ağırlık (g)	Yaş Ağırlık (g)	Su Emme Kapasitesi (%)
Numune1	5.04	15.17	200.992
Numune2	6.47	36.89	470.170
Numune3	5.68	33.05	481.866
Numune4	3.61	15.25	322.437
Numune5	4.69	29.59	530.916

Dokunmamış kumaş numunesinin su tutma yüzdesinin oldukça yüksek olduğu sonuçlardan açıkça görülmektedir. Bunun nedeni dokunmamış kumaşta bulunan gözeneklerin sayısının doğal yapısı nedeniyle oldukça yüksek olmasıdır. Ayrıca nonwoven kumaş, kalınlığı nedeniyle hacimlidir. Bu sonuç hava geçirgenlik çalışmaları ile ilişkilendirilebilir olup ileride yapılabilecek benzer çalışmalarda detaylı olarak incelenebilir. Elde edilen sonuçlara dikkat edildiğinde su emme oranının kumaş içerisindeki kenevire göre etkilendiği görülmektedir. Öte yandan PLA'nın nem çekmesinin yok denecek kadar az olmasından kaynaklanacak sorunların önüne geçebilmek için PLA olabildiğince az oranlarda kullanılmıştır. Numune 2 ve 3, en yüksek kenevir oranına sahip olduğundan oldukça iyi bir su emme oranına sahiptir. Numune 1 ise en düşük kenevir oranına sahip olmasıyla birlikte oldukça düşük bir sonuç elde edilmiştir. Numune 5'teki yüksek sonucun sebebi ise yüksek kenevir oranının dışında hava geçirgenliğindeki gibi kumaş inceliğinin etkili olduğu düşünülmektedir.

Işık geçirgenlik testi

Işık geçirgenlik testi kumaşın gün ışığı altında geçirgenlik özelliklerini test etmek amacıyla test düzeneği bizim tarafımızdan oluşturulan in-House bir testtir. Dışarıdan ışık geçirmeyen bir kutu içerisinde gün ışığını taklit etmek amacıyla D65 ve D5000 aydınlatma kaynağı kullanılmıştır. Numunelerden geçen ışığın siyah plaka üzerine yansıyan miktarının gözlemlendiği bir testtir.



Şekil 7. Kumaşın Işık Geçirgenlik Özelliklerinin Değerlendirilmesi için Ölçüm Düzeneği

Numunelerin gözenekli olmaları, ışık geçirgenliğini arttıran bir özelliktir. Bu nedenle hava geçirgenliği düşük olan ve kalın olan numunelerin ışık geçirgenliği daha düşüktür. Bu durum görsel olarak analiz edildiğinde ışık şiddeti kaynaklı ton farkları gözlemlenmiştir. Kumaşın nemli olması ışık geçirgenliğini azaltmaktadır. Kumaşın nemlenmesi liflerin şişmesine neden olur ve doku yapısı kuru duruma göre daha sıkılaşır. Dolayısıyla nemli numunelerde gözenekler daha kapalıdır. Işık teması ve sıcaklık yansıma değerleri farklı test metodlarıyla analiz edilmesi çalışmanın devamında yapılacaktır.

SONUÇ

Çalışma için geliştirilen birden fazla numuneye yapılan testler incelenmiş ve gerekli değerler bulgular kısmında belirtilmiştir. Bu değerler içerisinde özellikle odaklanılan hava geçirgenlik değerinin oldukça yüksek olması ve ışığı geçirmemesi kumaşta istenen özelliklerin gerçekleştirilebileceği üzerine önemli bulgulardandır.

Öte yandan örtünün; bitki, toprak ve çevre üzerindeki uzun vadeli etkisi bulunduğumuz aşamada gerekli zamanın uzun süreçlere yayılmasından dolayı bilinmemektedir. Literatürde henüz üzerine çalışılmamış olan farklı hammaddelerden elde ettiğimiz örtü, Türkiye'deki sürdürülebilir agrotekstil çalışmaları için bir başlangıç olup ilerleyen süreçte daha farklı hammaddeler ile çalışılabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, TÜBİTAK 2242 Üniversite Öğrencileri Araştırma Proje Yarışmaları tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- A Sarkar, N. S., 2018. Influence of jute agro textiles on improvement of broccoli productivity in inceptisols. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 1451-1454.
- Amaya Atucha, I. A., 2011. Long-term Effects of Four Groundcover Management Systems in an Apple Orchard. *HortScience*, 1176–1183.
- Amaya Atucha, I. A., 2013. Soil erosion, runoff and nutrient losses in an avocado (*Persea americana* Mill) hillside orchard under different groundcover management systems. *Plant Soil* , 393–406.
- Andrés García-Díaza, R. B., 2017. Nitrogen losses in vineyards under different types of soil groundcover. A field runoff simulator approach in central Spain. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 256–267.
- Bakshi, P. W., 2015. Sustainable fruit production by soil moisture conservation with different mulches: a review. *African Journal of Agricultural Research*, 10(52), 4718–4729.
- Bengal, E. U., 2016. Efficient use of jute agro textiles as soil conditioner to increase chilli productivity on Inceptisol of West Bengal. *Journal of Soil and Water Conservation*, 15(3), 242-245.
- Bhatnagar Ravi, G. G., 2015. A Review on Composition and Properties of Banana Fibers. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 6(5), 49-52.
- Cherrett, N. B., 2005. Ecological footprint and water analysis of cotton, hemp and polyester. *Stockholm Environmental Institute*.
- Datta, M. S., 2005. Jute agro-textiles—its uses in agriculture. Resource documents. *ICAR Research Complex for NEH Region, Tripura Centre, Lembucherra-779 210 Tripura*. <http://tripuraicar.nic.in/publication/agriculture%2002/jute%20agrotexile.pdf> adresinden alındı
- Echer, M. M., Klosowski, E. S., Guimarães, V. F., 2015. Agronomic performances of Pak Choi grown with different soil cover. *Horticultura Brasileira*, 33(2), 261-266. doi:10.1590 / s0102-053620150000200020
- F.J.S. Salas, C. M., 2008. Evaluación Del Cultivo Protegido Por Agrotexil En La Cultura De. *Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal*, 75(4), 437-442.
- Gedik, G. A., 2010. Kenevir lifinin özellikleri ve tekstil endüstrisinde kullanımıyla sağladığı avantajlar. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(3), 39-48.
- Haifeng Gu, H. G., 2021. A new method for the treatment of kitchen waste: Converting it into agronomic sprayable mulch film. *Waste Management*. pp. 527-535.
- Hillig, K., 2005. Genetic evidence for speciation in Cannabis (Cannabaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution* , 52, 161-180.
- Jian Duan, Y.-J. L.-J.-H., 2019. Role of groundcover management in controlling soil erosion under extreme rainfall in citrus orchards of southern China. *Journal of Hydrology*. içinde Jiangxi, PR China: Journal Pre-proofs.
- Jiangbo Liao, S. Z., 2020. Sound Absorption of Hemp Fibers (*Cannabis Sativa* L.) Based Nonwoven Fabrics and Composites: A Review. *Journal of Natural Fibers*, 1-13.
- Jordan, A. Z., 2010. Effects of mulching on soil physical properties and runoff under semi-arid conditions in southern Spain. *Catena*, 81(1), 77-85.
- Kuzucu, M., 2021. Importance of Mulching In Dry Agricultural Areas For Soil Moisture Storage. *International Journal of Environmental Trends (IJENT)*, 5 (1),16-27.
- Manna, K. K., 2018. Effect of nonwoven jute agrotexile mulch on soil health and productivity of broccoli (*Brassica oleracea* L.) in lateritic soil. *Environ Monit Assess*, 190(82).
- Margit Olle, I. B., 2010. *The Effect Of Non-Woven Fleece On The Yield And*. Jogeva Plant Breeding Institute, J. Aamisepa 1 Jõgeva alevik 48309 Estonia.
- Mohammad Billal Hossain, B. H., 2017. Investigation of Spinnability of Banana Fibers through Yarn Formation Along with Analysis of Yarn Properties. *American Journal of Engineering Research*, 6.1, 322-327.
- N. Venkateshwaran, A. E., 2011. Effect of fiber length and fiber content on mechanical properties of banana fiber/epoxy composite . *Journal of Reinforced Plastics and Composites*.
- P. Sivaranjana, V. A., 2021. A brief review on mechanical and thermal properties of banana fiber based hybrid composites. *SN Applied Sciences volume 3*, 176 .
- Pain, D. D., 2013. Efficient use of geotextiles as soil conditioner to increase potato productivity on inceptisols of West Bengal. *Journal of Soil and Conservation*, 12(2), 103-107.
- Paolo Ranalli, G. V., 2004. Hemp as a raw material for industrial applications. *Euphytica volume* , 1-6.
- Ramachandran Manickam, S. B., 2016. Experimental Study of Bamboo using Banana and Linen Fiber Reinforced Polymeric Composites. *Perspectives on Science 8(C):313—316*.
- Ramakrishna, A. T., 2006. Effect of mulch on soil temperature, moisture, weed infestation and yield of groundnut in northern Vietnam. *Field Crops Research*, 95(2-3), 115-125.
- Ray S.S., B. M., 2005. Biodegradable Polymer/Layered Silicate Nanocomposites. *Progress in Materials Science*, 50(8).
- Reşbarz, K. B., 2015. Effects of Cover Type and Harvest Date on Yield, Quality and Cost-Effectiveness of Early Potato Cultivation. *American Journal of Potato Research*, 92(3), 359–366.

- Rekika, D. S., 2008. Row Covers Reduce Insect Populations and Damage and Improve Early Season Crisphead Lettuce Production. *International Journal of Vegetable Science*, 15(1), 71-82.
- S.Sankari, H., 2000. Comparison of bast fibre yield and mechanical fibre properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivars. *Industrial Crops and Products*, 11(1), 73-84.
- Sanjay M. R., A. G., 2016. Applications of Natural Fibers and Its Composites: An Overview. *Natural Resources*, 7, 108-114.
- Simon Gilmore, R. P., 2007. Organelle DNA haplotypes reflect crop-use characteristics and geographic origins of *Cannabis sativa*. *Forensic Science international*, volume 172, Issues 2-3, 179-190.
- Subba, R., 2015. Study on microbial population in rhizosphere under different agro-textile mulches in vegetable production system. *M. Sc. Thesis, Integrated Rural Development and Management Faculty Centre, Ramakrishna Mission Vivekananda University, Narendrapur, West Bengal, India.*, 46.
- Ulaş, E. 2018. Gerçek Köye Dönüş Projesi: Kenevir. (H. Bahtiyar, Dü.) *Hiperlink Yayınları*.
- Vandepitte, K. V., 2020. Hemp (*Cannabis sativa* L.) for high-value textile applications: The effective long fiber yield and quality of different hemp varieties, processed. *Industrial Crops & Products*.
- Wilén, C. A., 1999. Mulches and subirrigation control weeds in container production. *Journal of Environmental Horticulture*, 17(4), 174-180.
- Yao, Z. D.-B. (2014). Water-saving ground cover rice production system reduces net. *Biogeosciences*, 11(22), 6221-6236. doi:10.5194/bg-11-6221-2014
- Yasemin Bulut, Ü. H., 2011. Selüloz Esaslı Doğal Liflerin Kompozit Üretiminde Takviye Materyali Olarak Kullanımı. *The Journal of Textiles and Engineer*, 18(82), 26-35.
- Yong, L. H., 2000. Study on the effect of jute geotextile on rime growth. *Journal of Scientia Agricultura Sinica*, 33(3), 103-105.