

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mustafa Alparslan UMARUSMAN

**FARKLI BİTKİ EKSTRAKTLARININ BEZELYE
BAKTERİYEL YAPRAK YANIKLIĞINA (*Pseudomonas
syringae* pv. *psii*) ANTİBAKTERİYEL ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2018

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI BİTKİ EKSTRAKTLARININ BEZELYE BAKTERİYEL
YAPRAK YANIKLIĞINA (*Pseudomonas syringae* pv. *psii*)
ANTİBAKTERİYEL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mustafa Alparslan UMARUSMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu Tez 18/05/2018 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Yeşim AYSAN
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Menşure ÖZGÜVEN
II DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Ali ERKILIÇ
ÜYE

.....
Prof. Dr. Mustafa MİRİK
ÜYE

.....
Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI BİTKİ EKSTRAKTLARININ BEZELYE BAKTERİYEL YAPRAK YANIKLIĞINA (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) ANTİBAKTERİYEL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa Alparslan UMARUSMAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
II. Danışman : Prof. Dr. Menşure ÖZGÜVEN
Yıl: 2018, Sayfa 64
Jüri : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
: Prof. Dr. Menşure ÖZGÜVEN
: Prof. Dr. Ali ERKİLİÇ
: Prof. Dr. Mustafa MİRİK
: Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ

Bezelyede bakteriyel yaprak yanıklığı hastalığına neden olan *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* adlı patojen tohumla taşınır ve Dünya genelinde bezelye üretimi yapılan alanlarda önemli bir sorundur. Hastalığın ilk belirtileri kotiledon yapraklarda su emmiş lekeler şeklinde başlar ve ilerleyen aşamada nekrotik lekeler dönüşür. Bu yüksek lisans tez çalışmasında, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye karşı bitki ekstraktlarının antibakteriyel özelliği araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda, 34 farklı tıbbi ve aromatik bitkinin sulu ekstraktı *in vitro* çalışmalarda difüzyon disk yöntemine göre antibakteriyel etkisi araştırılmış ve etkili bulunan bitki ekstraktları tohuma uygulanarak hastalığı baskılama oranı saksı ve tarla denemeleriyle belirlenmiştir. Petri denemelerinde patojene karşı antibakteriyel etkiye sahip dokuz bitki türü tespit edilmiştir. Farklı dozlar uygulanarak yapılan petri denemelerinde en yüksek antibakteriyel etkiye sahip üç bitki ekstraktıyla (*Allium sativum*, *Cistus creticus* ve *Syzygium aromaticum*) saksı ve arazi denemeleri yapılmıştır. Bu üç bitki ekstraktı saksı denemesinde hastalığı %17-95, tarla denemesinde %76-98 oranında baskılamıştır. Çalışmada en etkili tohum uygulamasının *Syzygium aromaticum* ekstraktı olduğu belirlenmiştir. Bu uygulama saksı denemesinde %95 ve tarla denemesinde %98 oranda hastalığı engellemiştir. Ayrıca çimlenme oranında %5 artış da sağladığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, bu hastalığın entegre mücadelede bitki ekstraktlarının tohuma uygulanması başarılı mücadele stratejilerinden biri olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pisum sativum* L., *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, Bitki ekstraktları, Tohum uygulamaları, Organik tarım,

ABSTRACT

MSc THESIS

INVESTIGATION OF THE ANTIBACTERIAL EFFECTS OF DIFFERENT PLANT EXTRACTS AGAINST PEA BACTERIAL LEAF BLIGHT DISEASE CAUSED BY *Pseudomonas syringae* pv. *lisi*

Mustafa Alparslan UMARUSMAN

CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
II. Supervisor : Prof. Dr. Menşure ÖZGÜVEN
Year: 2018, Page 64
Jury : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
: Prof. Dr. Menşure ÖZGÜVEN
: Prof. Dr. Ali ERKILIÇ
: Prof. Dr. Mustafa MİRİK
: Asst. Prof. Sümer HORUZ

Pseudomonas syringae pv. *lisi* causing pea bacterial leaf blight disease in pea production areas all over the world is a seed-borne pathogen. The initial symptoms of the disease are observed as water-soaked stains on the cotyledon leaves and turn into necrotic stains at a further stage. In this study, the antibacterial properties of plant extracts has tested against *Pseudomonas syringae* pv. *lisi*. For this purpose, 34 different medicinal and aromatic plant extracts were investigated *in vitro* conditions by using diffusion disc method and the degree of inhibition on inoculum was determined through applying plant extracts that found effective to pathogen to seed before planting in the pot and field experiments. In the petri-experiments, nine plant species with antibacterial effects against the pathogen were identified. Three plant extracts (*Allium sativum*, *Cistus creticus* and *Syzygium aromaticum*) which showed the highest antibacterial effect *in vitro* experiments conducted by applying of different doses; were investigated in terms of their impact on disease outbreak in pot and field experiments. These three plant extracts suppressed the disease in the pot experiment by %17-95, in the field experiment by %76-98. In this study, the most effective seed application was determined as *Syzygium aromaticum*. The extract suppressed the disease by 95% in pot experiments and 98% in the field experiments. In addition, *Syzygium aromaticum* extract had 5% germination enhancing effect. To conclude, the use of plant extracts as seed application in the integrated management of this disease has been considered as one of the successful management strategies.

Key Words: *Pisum sativum* L., *Pseudomonas syringae* pv. *lisi*, Plant extracts, Seed treatments, Organic agriculture,

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Bu tez çalışması, *Pseudomonas pisi*'ye karşı antibakteriyel özelliğe sahip bitki türlerinin tespit edilmesi, tohum uygulaması olarak bitki ekstraktlarının hastalık çıkışını baskılama oranı ve tohum uygulamalarının tohumların çimlenme yeteneğine etkisinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ilk olarak laboratuvar koşullarında patojen bakteriye karşı 34 farklı tıbbi ve aromatik bitki ekstraktının antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. *In vitro* çalışmalarda 9 farklı bitki ekstraktı *Pseudomonas pisi*'ye karşı etkili bulunmuştur. İnhibisyon zonları ölçülerek elde edilen veriler doğrultusunda antibakteriyel özelliği en yüksek olan üç bitki ekstraktı (*Allium sativum*, *Cistus creticus*, *Syzygium aromaticum*) tohumla taşınan hastalığa etkisinin belirlenmesi amacıyla saksı ve arazi denemeleri ile araştırılmıştır.

Seralarda gerçekleştirilen saksı denemelerinde patojenle bulaşık bezelye tohumlarına *Cistus creticus* ekstraktı uygulandığında bitkilerin %51'inde, *Allium sativum* ekstraktı uygulandığında bitkilerin %33'ünde ve *Syzygium aromaticum* ekstraktı uygulandığında bitkileri %3'ünde hastalık görülmüştür. Arazi koşullarında hastalık çıkışının belirlenmesi için yapılan tarla denemelerinde patojenle bulaşık bezelye tohumlarına *Cistus creticus* ekstraktı uygulandığında bitkilerin %12'sinde, *Allium sativum* ekstraktı uygulandığında %8'inde hastalık saptanmıştır. *Syzygium aromaticum* ekstraktı uygulanan tohumlardan gelişen bitkilerin sadece %1'inde hastalık tespit edilmiştir.

Bitki hastalıkları ile mücadelede kullanılan tohum uygulamaları (fiziksel, kimyasal vb) tohum fizyolojisine etki ederek tohumların çimlenme başarısını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Çalışmada tohum uygulaması olarak uygulanan bitki ekstraktlarının tohum çimlenmesine etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan saksı denemelerinde sağlıklı tohumlar %42'lik *Allium sativum*'un sulu ekstraktına 30 dakika daldırıldığında tohumların %78'i çimlenmiştir. Bu uygulama tohumların çimlenme oranını %18 düzeyinde azalttığı görülmüştür.

%42'lik *Cistus creticus* ekstraktıyla 30 dakika uygulama görmüş tohumların %93'ü çimlenmiş ve çimlenme oranında %2.63 oranında azalmıştır. Bunların aksine sağlıklı tohumlara *Syzygium aromaticum* bitkisinin %42'lik sulu ekstraktı ile 30 dakika uygulama görmüş bezelye tohumlarının %100'ü çimlenmiş ve çimlenme oranında %5 artış sağlanmıştır.

Yapılan çalışmalar göz önüne alındığında bezelye bakteriyel yaprak yanıklık hastalığı ile çevreci mücadelede uygulanacak en etkili ve doğal yöntem, *Syzygium aromaticum* ekstraktının ekimden önce tohum uygulaması şeklinde kullanılmasıdır. Bu tez çalışması ile *Syzygium aromaticum* ekstraktının tohuma uygulanması doğal ve çevreci bir çözüm olması, tohum çimlenmesine olumlu etkisi ve patojene karşı yüksek etkinliği nedeniyle bezelye tarımının yapıldığı alanlarda kolaylıkla uygulanabilir bir yöntem olduğu belirlenmiştir. *Syzygium aromaticum* ekstraktının etkili maddesi gelecekte ticari olarak üretilip hastalık mücadelesinde kullanılabilir.

TEŞEKKÜR

Eğitim hayatım boyunca gerek lisans döneminde gerekse yüksek lisans döneminde bilgisiyle, tecrübesiyle, öğretileriyle ve içten samimiyeti ile yanımda olan, sadece bilimsel çalışmalarda değil zor günlerimde de elimden tutan, dürüstlük ve adalet çizgisini şiar edinerek bana önderlik eden, maddi ve manevi desteğini esirgmeden sabır ve anlayışıyla hayatıma ışık tutan ve bana ömür boyunca öğrencisi olma onurunu yaşatan kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Yeşim AYSAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmalarında tıbbi ve aromatik bitkilerin yetiştirilmesinde ve bu alandaki çalışmalarda bana önderlik eden, merhametli kalbi ile zor günlerimde beni ayağa kaldıran ve ilerlememde her daim desteğini esirgmeden bana inanan değerli büyüğüm ikinci danışmanım Sayın Prof. Dr. Menşure ÖZGÜVEN'e teşekkür ediyorum.

Tezimin değerlendirilmesinde bulunan değerli jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. Ali ERKILIÇ'a, Prof. Dr. Mustafa MİRİK'e ve Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ'a katılımlarından dolayı teşekkür ediyorum. Bakteriyolog arkadaşım Öğr. Gör. Sayın Feray KARABÜYÜK'e tezimin düzenlenmesi sırasındaki yardımları için teşekkür ediyorum. Mesleki eğitimimi en güzel şekilde tamamladığım Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ne ve çalışmalarına destek veren Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi'ne teşekkür ediyorum. Süregelen zaman içerisinde bana inanan güvenen telkinleriyle destekcim olan dost ve arkadaşlarıma yanımda oldukları için teşekkür ediyorum.

Ve tabi ki hayatımdaki her başarının gerçek sahipleri annem Selma UMARUSMAN ve babam Nazım UMARUSMAN'a bana olan inançları, sonu gelmeyen fedakarlıkları, maddi ve manevi her türlü desteği esirgmeden yanımda oldukları ve var oldukları için teşekkür ediyorum. Anne ve babamın en güzel hediyeleri olan birbirinden değerli kardeşlerime bana olan güvenleri ve destekleri için teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Patojen Bakteri Süspansiyonun Hazırlanması.....	19
3.2.2. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması.....	19
3.2.3. Farklı Bitki Ekstraktlarının <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>pisi</i> 'ye Antibakteriyel Etkinin Araştırılması.....	20
3.2.4. Bitki Ekstraktlarının Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Yaprak Yanıklığı Hastalığına Etkisi.....	21
3.2.5. Tohum Uygulamalarının Çimlenmeye Etkisi.....	23
4. BULGULAR.....	25
4.1. <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>pisi</i> 'ye Antibakteriyel Etkinin Araştırılması	25
4.2. Bitki Ekstraktlarının Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Yaprak Yanıklığı Hastalığına Etkisi.....	27
4.3. Tohum Uygulamalarının Çimlenmeye Etkisi.....	32
5. TARTIŞMA.....	35

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	55
EKLER	56



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılmak üzere koleksiyon bahçesinden temin edilen tıbbi ve aromatik bitki türleri	17
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılmak üzere floradan toplanan tıbbi ve aromatik bitki türleri	18
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılmak üzere ticari işletmelerden temin edilen tıbbi ve aromatik bitki türleri	18
Çizelge 4.1. Farklı tıbbi ve aromatik bitki ekstraktının <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>pisi</i> 'ye antibakteriyel etkisi (<i>in vitro</i> petri denemeleri)	26
Çizelge 4.2. Bitki Ekstraktlarının Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Yaprak Yanıklığı Hastalığına Etkisi (saksı denemesi).....	28
Çizelge 4.3. Bitki Ekstraktlarının Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Yaprak Yanıklığı Hastalığına Etkisi (tarla denemesi)	30
Çizelge 4.4. Bitki Ekstraktlarının Bezelye Tohumlarının Çimlenmesine Etkisi (saksı denemesi)	33



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 4.1. Sarımsak ekstraktının petride oluşturduğu inhibisyon (engelleme) zonu.	27
Şekil 4.2. Petri denemelerinde <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>pisi</i> 'ye karşı en yüksek antimikrobiyal etki gösteren bitki türleri (<i>Allium sativum</i> , <i>Cistus creticus</i> , <i>Syzygium aromaticum</i>).	27
Şekil 4.3. Bezelye bakteriyel yaprak yanıklığı hastalık etmeni <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>pisi</i> 'nin bitkide ilk belirti gösterdiği kotiledon yapraklardaki su emmiş lekeler ve ilerleyen safhalardeki nekrotik simptomlar (saksı denemesi).	28
Şekil 4.4. Tohum uygulamaları sonucundaki bitkilerde ortaya çıkan hastalık çıkış oranları (saksı denemesi).	29
Şekil 4.5. Bezelye bakteriyel yaprak yanıklığı hastalık etmeni <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>pisi</i> 'nin bitkide ilk belirti gösterdiği kotiledon yapraklardaki nekrotik simptomlar (tarla denemesi).	30
Şekil 4.6. Tohum uygulamaları sonucundaki bitkilerde ortaya çıkan hastalık çıkış oranları (tarla denemesi).	31
Şekil 4.7. Tohum uygulaması yapılan bezelyelerin sera içerisindeki genel görüntüsü.	32
Şekil 4.8. Tohum uygulamaları sonucunda tohumlardaki çimlenme oranları (saksı denemesi).	33



SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
EPPO	: European and Mediterranean Plant Protection Organization
FAO	: Food and Agriculture Organization
IPM	: Integrated Pest Management
SARGEM	: Stratejik Ar-Ge Merkezi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
°C	: Santigrat derece
da	: Dekar
dak	: Dakika
g	: Gram
King B	: King's medium B
KOH	: Potasyum hidroksit
MgSO ₄ .7H ₂ O	: Magnezyum sülfat heptahidrat
YDC	: Yeast Dextroz Calsiyum Karbonat Agar
NaCl	: Sodyum klorür
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
pv	: Pathovar



1. GİRİŞ

Bir baklagil bitkisi olan bezelye (*Pisum sativum* L.) protein kaynağı olarak yetiştirilmekte ve tüketilmektedir. Genetik çeşitlilik dikkate alındığında Orta Asya, Yakın Doğu, Etiyopya ve Akdeniz havzası bezelyenin orijin merkezidir (Gritton, 1980). Bezelye dünyada fasulye ve nohuttan sonra en fazla üretilen, gerek farklı ülkelerde gerekse ülkemizde birim alandan en fazla verim alınan yemeklik tane baklagil bitkisidir (Özdemir, 2002). Birleşmiş Milletler Tarım ve Gıda Örgütü (FAO), 2011 yılı dünya bezelye üretimini 10.4 milyon ton olarak açıklamış, 2012 yılında ise üretim miktarı 10.6 milyon tona yükseldiğini belirtmiştir. 2013-2014 yılları arasında dünya bezelye üretimi 11.1-11.2 milyon tona yükselmiştir. 2014 yılı üretim miktarında 4.4 milyon ton ile Amerika kıtası ilk sırada yer alırken, 3.3 milyon ton üretim ile Avrupa, 2.3 milyon ton üretim ile Asya, 662 bin ton üretim ile Afrika ve 361 ton üretim ile Okyanusya dünya bezelye üretiminde ilk sıralarda yer almaktadır (FAO, 2014). Ülkemiz ise 112.748 da alanda 112.638 ton tane bezelye üretimi gerçekleştirmiştir (TÜİK, 2015).

Bölgesel olarak ülkemizde en fazla bezelye üretimi sırasıyla Marmara, Akdeniz ve Ege Bölgelerinde gerçekleşmektedir. Pazar payı oldukça yüksek olan bezelye taze tüketiminin yanında, konserve ve dondurulmuş ürün olarak gıda sanayinin önemli bir ham maddesidir (Ceyhan ve ark, 2005). Bu nedenle üretimin daha yoğun yapıldığı bölgelerde konserve sanayinin geliştiği görülmektedir. Bezelye üretim alanları il bazında incelendiğinde Bursa, Hatay, Balıkesir, Adana ve İzmir illerinde yoğun olduğu görülmektedir (TÜİK, 2011).

Besleyici içerik bakımından oldukça zengin ve lezzetli bir sebze olan bezelye, kabuğuyla veya yalnızca taneleri ile tüketilmektedir. Yüksek oranda lif, nişasta, antioksidan, karoten ve yüksek kalitede protein ihtiva eden bezelye, içerdiği C vitamini açısından diğer baklagillere göre daha zengindir. Ayrıca A vitamini, B vitamini, demir, fosfor ve potasyum gibi mineralleri barındırır. Tüm bu zengin içeriğin yanında dünyada insan beslemesindeki bitkisel proteinlerin %22'si,

karbonhidratların %7'si, hayvan beslenmesindeki proteinlerin %38'i ve karbonhidratların %5'i yemeklik baklagillerden sağlanmaktadır (Ceyhan ve ark, 2005). Bu veriler göz önüne alındığında insan beslenmesinde gerekli olan proteini karşılamak için bilhassa konserve ve dondurulmuş gıda sanayisinde önemli bir yer tutmaktadır.

Yetiştiricilik açısından incelediğimizde, ülkemizde bezelye ekimi, kasım-mayıs aylarında bölgelere bağlı olarak muhtelif zamanlarda yapılabilmektedir. Ege ve Akdeniz sahil kuşağında kışlık bezelye ekimi, kasım veya aralık aylarında yapılırken, Orta Anadolu ve geçit bölgelerde kış sonu ve ilkbahar başlarında ekimi yapılmaktadır. Bir serin iklim sebzesi olan bezelyenin, optimal sıcaklık isteği 15-20°C arasındadır. Bezelye tohumlarının çimlenmesi için en ideal toprak sıcaklığı 10-25°C'dir ve -5°C'ye kadar da dayanabilmektedir. Derin, geçirgen, su tutma kapasitesi iyi, hafif asidik (pH 5.5-6.7) ve tınlı topraklarda iyi gelişmektedir (Kaya ve Şanlı, 2005).

Bezelye tarımında verim ve kaliteyi doğrudan etkileyen biyotik ve abiyotik pek çok bitki koruma problemi sorun oluşturabilmektedir. Bu çalışmanın ana konusunu oluşturan bakteriyel hastalıklar incelendiğinde *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas viridiflava*, *Xanthomonas campestris* pv. *pisi*, *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* ve *Erwinia rhapontici* adlı bakteriyel etmenlerin bezelyede sorun oluşturduğu görülmektedir.

Pseudomonas pisi Amerika'da (Arjantin, Brezilya, Kanada, Kolombiya, Kosta Rika, Meksika, ABD, Uruguay), Avrupa'da (Bulgaristan, Hırvatistan, Çekya, Danimarka, Fransa, Yunanistan, Macaristan, İtalya, Litvanya, Moldova, Slovakya, Ukrayna, Hollanda, Romanya, Rusya, Sırbistan, İngiltere), Asya'da (Suriye, Nepal, Pakistan, Hindistan, Endonezya, İsrail, Japonya, Kazakistan, Kırgızistan, Lübnan, Pakistan), Afrika'da (Kenya, Malavi, Kuzey Afrika, Güney Afrika, Tanzanya, Zimbabve) ve Okyanusya (Avusturalya, Yeni Kaledonya, Yeni Zelanda) kıtalarında var olduğu bilinmektedir (EPPO, 2011). İklim koşullarının uygunluğu nedeniyle Fransa, Kuzey Afrika, Kanada, Avustralya ve Yeni Zelanda

hastalığın en çok görüldüğü ülkelerdir (EPPO, 2011). Hastalık Avustralya'da 1943 ve 1954 yıllarında epidemi yapmış ve dikkat çekmiştir (Hollaway ve ark, 2007).

Ülkemizde ise bezelyede önemli fungal hastalıkların uzun zamandır sorun oluşturduğu bilinmesine (Göre, 2003) rağmen bakteriyel hastalıklar son yıllarda dikkat çekmeye başlamıştır. Türkiye'de ise ilk kez 2007 yılında Adana'da Utrillo çeşidi bezelyeden izole edilen etmen (Aysan, 2008), 2009 yılında Muğla'nın Fethiye, Aydın'ın Söke, İzmir'in Ödemiş ve Torbalı ilçelerinde Early Sweet, Geneva, Bolero ve Carina bezelye çeşitlerinden (Benlioğlu ve ark, 2010) 2014 yılında ise Adana'da Carina ve Jof çeşitlerinden (Horuz ve ark, 2015) izole edilmiştir. Bezelye tarımında önemli bir sorun olan etmen ile ilgili, ülkemizde bezelye ıslah programı kapsamında yapılan çalışmalarda, 30 farklı yerel bezelye hattının *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye karşı duyarlılığı konusunda çalışmalar yapılmış ve etmene karşı hatların duyarlılık derecesi tespit edilmiştir (Akça, 2016).

Pseudomonas syringae pv. *pisi* ile bulaşık tohumlar, etmenin neden olduğu bakteriyel yanıklık hastalığının en önemli inokulum kaynağıdır. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* tohum kökenli bir bitki patojenidir ve tohum kabuğunda yaşamını sürdürür. Patojen bakteri tohumun yüzeyinde veya içinde yaklaşık 3 yıl kadar hayatta kalabilmektedir (Reeves ve ark, 1996; Martin-Sanz ark, 2005; Ertan, 2012). Karantina yönünden *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* bezelye tohumlarında toleransı sıfır olan bakteriyel bir etmendir. Bu nedenle pek çok ülkenin karantina listesinde yer almaktadır. Etmenle bulaşık tohumların yetiştirilmesi sonucu ilk olarak bitkinin kotiledon yapraklarında hastalık belirtileri görülmektedir. Etmen bitkide hastalık belirtisi oluşturmadan bazı durumlarda latent olarak bitki bünyesinde yaşamını sürdürebilmektedir. Patojen bakteri genel olarak kışı tohumda geçirmekle birlikte bir önceki üretim sezonundan artakalan topraktaki bitki artıklarında da kışı geçirdiği belirtilmiştir (Parry, 1990; Ertan, 2012).

Pseudomonas syringae pv. *pisi*'nin en önemli inokulum kaynağı olan hastalıkla bulaşık tohumlardan gelişen bitkilerin özellikle en alt boğumundaki yaprak sapının gövde ile bağlandığı noktada suda haşlanmış görünümdeki belirtiler

tipik tohum enfeksiyonlarının göstergesidir (Lawyer, 1984; Ertan, 2012). Tohum kaynaklı taşınmanın haricinde patojen bakteri stomalardan ve yaralardan giriş yapmaktadır. Bakteriyel yanıklık patojeni bezelye bitkilerinin yüzeyinde çoğalmakta ve yağmur damlaları ile bitkiden bitkiye bulaşabilmektedir (Roberts, 1997). Soğuk ve yağışlı havalar hastalığın yayılmasında ve ürün kayıpları oluşturmada önemli rol oynamaktadır. Şiddetli yağmur, kuvvetli rüzgarlar, dolu ve özellikle don gibi etmenler bitkilerde yara oluşturarak sekonder enfeksiyonlara neden olmaktadır (Steven ve ark, 2007). Topraktaki bulaşıklılığın hastalığın yayılmasında önemli bir inokulum kaynağı olmadığı belirtilmiştir (Hollaway ve ark, 2007).

Tohumla taşınan patojenlerin neden olduğu tohum kökenli bakteriyel hastalıklarla mücadelede en etkili yöntemlerden biri üretimde hastaliksız tohum kullanmaktır. Hindistan'da *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* ile bulaşık bezelye tohumları ile yapılan yetiştiricilikte tarlalarda bu hastalığın çıkış oranının %4-92 arasında olduğu bildirilmiştir (Verma ve ark, 2015a). Hindistan'da 25 farklı tarlada kullanılan 127 tohum lotundan 125'inin bu patojenle bulaşık olduğu tespit edilmiştir (Verma ve ark, 2015a). Tohum lotları patojenler yönünden incelendikten sonra bulaşık bulunanlar ya imha edilir ya da çeşitli tohum uygulamalarıyla inokulum uzaklaştırılır.

Patojenle bulaşık tohumlar imha edilmek yerine çoğu kez tohumdaki patojeni azaltan veya yok eden çeşitli fiziksel (sıcak su, sıcak hava vb) ve kimyasal (bronopol, NaOCl, antibiyotikler vb) tohum uygulamaları kullanılır. Bu uygulamalar tohum yüzeyindeki bakteriyi yok etmede başarıyla tohumun iç kısmında yani embriyoda bulunan patojenleri yok etmede yeterli olmazlar. Ayrıca bu uygulamaların en önemli dezavantajı tohumun çimlenme gücünü azaltmasıdır (Cantore ve ark, 2009). Özellikle baklagiller ve tahıllar gibi tarla ürünlerinde tohum uygulamaları, tarlada hastalık çıkışını engellemede başarılı yöntemlerdir. Bezelye tohumlarından *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'nin eradikasyonunda sıcak

su ve sıcak hava uygulamalarının kombinasyonu önerilmektedir (Grondeau ve ark, 1992). Bu tip uygulamaların pek çok olumlu yönleri yanında çimlenmeyi azaltma gibi olumsuz yönleri de vardır. Örneğin sıcak suyla uygulama görmüş tohumlarda patojen yok olurken tohumların çimlenme yeteneği azalmaktadır. Sıcak kuru hava uygulaması ise çimlenmeye olumsuz bir etkide bulunmazken patojeni tohumdan yeterince yok edememektedir (Grondeau ve ark, 1992). Çimlenme yeteneğini azaltmayan aynı zamanda patojeni yok eden kombinasyon (sıcak su ve kuru hava) uygulaması bezelyede bu patojeni yok etmede etkilidir. Ancak bir sıvıyla uygulama görmüş tohumların dormansisi kırıldığından tohumlar uygulama sonrası hemen ekilmelidir.

Tohumdaki bakteri inokulumuyla mücadelede farklı bir uygulama olarak antibiyotikler incelendiğinde, streptomycin, tetracyclin gibi antibiyotikler tohum kökenli inokulumu yok etmede etkili (Taylor ve Dye, 1975) olmalarına rağmen tarımsal üretimde sürdürülebilir değildir. Rutin antibiyotik kullanımında kısa sürede dirençli bakteri popülasyonlarının ortaya çıkma riski oldukça yüksektir. Bu durum farklı bitki patojeni bakteriler için pek çok araştırmayla ortaya konmuştur (Topal ve ark, 2015). Ayrıca insan sağlığında kullanılan antibiyotiklerle bitki sağlığında kullanılanların aynı olması nedeniyle insan sağlığına olumsuz etkisi, toprak ve tohum mikroflorasına olan olumsuz etkisi, ayrıca ekonomik olmaması göz önüne alındığında ülkemizde olduğu gibi pek çok ülkede de tarımsal alanlarda antibiyotik kullanımı yasaktır (Altundağ ve ark, 2007).

Antibiyotiklerin kullanımının yasak olması nedeniyle, son yıllarda doğal antibiyotik olarak adlandırılan tıbbi ve aromatik bitkilerin bünyesinde bulunan biyokimyasalların kullanımı önem kazanmıştır. Tıbbi ve aromatik bitkiler sekonder metabolitler olarak adlandırılan biyokimyasal maddelerce zengin olan bitki gruplarıdır. Sekonder metabolitlerin en önemli işlevi, bitkilerin yaşadıkları çevredeki biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı savunma sistemlerini oluşturmasıdır (Baydar, 2009). Tıbbi ve aromatik bitkiler böcek, akar, nematod, bakteri, fungus ve virüslerin mücadelesinde yeni, çevre dostu ve ucuz bir

alternatiftir. Tıbbi ve aromatik bitkilerin yaprakları, tohumları veya diğer dokularından elde edilen ekstraktlar farklı bitkilerin yeşil aksam veya kök sorunlarının çözümünde başarıyla kullanılmaktadır. Özellikle az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde, çok eski tarihlerden beri yöresel tıbbi ve aromatik bitkilerin hem bitki hastalıklarının tedavisinde hem de insan hastalıklarının tedavisinde çok yaygın kullanıldığını gösteren kayıtlar vardır. Bu ülkelerde özellikle bu bitkilerin kolay temin edilmesi, uygulama kolaylığı ve ucuz olması nedeniyle tercih edilmiştir (Gahukar, 2012).

Bu bağlamda, tohum kökenli patojen bakterilere etkili, antibakteriyel özellikte pek çok bitki ekstraktı ve uçucu yağları tespit edilmiştir. Laboratuvar koşullarında petri denemeleriyle yapılan çalışmalarda *Thymra spicata*'nın uçucu yağı bakteriyel etmen *Acidovorax citrulli*'ye (Mengulluoglu ve Soylu, 2012), *Stevia rebaudiana*'nın yaprak ekstraktı *Pseudomonas syringae* pv. *glycinae*'ye (Sedghi ve Gholi-Toluie, 2013), *Eucalyptus* sp., *Coriandrum sativum*, *Allium sativum*, *Zingiber officinale*, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* ve *Origanum onites* bitki ekstraktları *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya (Karabuyuk ve Aysan, 2015) etkili olarak tespit edilmiştir. Çay ve kahve artıklarından elde edilen sulu ekstraktın bezelye patojeni *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye ve fasulye patojeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*'ya *in vitro* koşullarda etkili olduğu belirlenmiştir (Alstrom, 1992). Ayrıca *Allium sativum* ve *Treminele achebula* bitki ekstraktlarının *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'nin tohum kökenli inokulumunu baskı altına aldığı saptanmıştır (Verma ve Agrawal, 2015b).

Hem geleneksel hem de organik tarımsal üretim sistemlerinde, farklı bitki ekstraktları ve uçucu yağların entegre mücadelenin bir parçası olarak kullanımını son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Bakteriyel bitki hastalıklarının mücadelesinde çeşitli bitki ekstraktlarının tohum dezenfeksiyonu olarak domates (Kotan ve ark, 2007; Talibi ve ark, 2011; Mbega ve ark, 2012; Karabüyük ve Aysan, 2016), biber (Mirik ve Aysan, 2005), fasulye (Satish ve ark, 1998), çeltik (Kagale, 2004) ve

bezelyede (Verma ve Agrawal, 2015b) kullanımı üzerine pek çok başarılı araştırma bulunmaktadır.

Baklagillerde tohumlara çeşitli bitki ekstraktlarının uygulaması sadece bakteriyel hastalıkların mücadelesi için değil aynı zamanda fungal etmenlerin yok edilmesi (Tinivella ve ark, 2009; Masangwa ve ark, 2017), bitki büyümesinin teşviki (Mervad, 2018), tohumların eş zamanlı çimlenmesi (Slusarenko ve ark, 2008; Noor ve ark, 2016) ve çimlenme yeteneklerinin artırılması (Tinivella ve ark, 2009) için kullanılmaktadır.

Yapılan tüm bu mücadele çalışmaları göz önüne alınarak ortaya çıkan önem neticesinde, bu tez çalışması *Pseudomonas pisi*'ye karşı antibakteriyel özeliğe sahip bitki ekstraktlarının tespit edilmesi, tohum uygulaması olarak kullanıldığında hastalığı baskılama oranının belirlenmesi ve uygulamaların tohumların çimlenme yeteneğine etkisinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda çoğu tıbbi ve aromatik olmak üzere 34 farklı sulu bitki ekstraktının *Pseudomonas pisi*'ye antimikrobiyal etkisi *in vitro* petri denemeleriyle belirlenmiş, tohum uygulamalarının hastalığı baskılama oranı saksı ve arazi denemeleri ile araştırılmış ve bezelye bakteriyel yaprak yanıklığı hastalığıyla, bitki ekstraktları kullanarak kalıntı problemi olmaksızın, ekonomik ve çevre dostu bir stratejiyle mücadele edilebilme olanakları bu çalışmayla ortaya konmuştur.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Pseudomonas syringae pv. *pisi*'nin neden olduğu bezelyedeki bakteriyel yanıklık hastalığıyla ilgili yapılan çalışmaların azlığı nedeniyle, tezin bu kısmında üzerinde çalışılan hastalığın mücadelesi ve farklı bakteriyel etmenlerin tohumdaki popülasyonunun azaltılması veya yok edilmesinde bitki ekstraktlarının veya onların uçucu yağlarının etkisiyle ilgili yapılan tohum uygulamalarına yer verilmiştir.

***Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'nin Mücadelesiyle İlgili Çalışmalar:**

Taylor ve Dye (1975), Yeni Zelanda'da tohum kökenli *Pseudomonas pisi* enfeksiyonları nedeniyle bezelyede bakteriyel yanıklık hastalığının büyük sorun olduğunu bildirmişlerdir. Bezelye tohumlarındaki *Pseudomonas pisi* popülasyonunu yok etmek için, tarımsal kullanımda ruhsatlı olan "Agrimycin 17" ticari isimli streptomisin'in %0.25 ve %1'lik solüsyonuna tohumları iki saat daldırılmış, ayrıca 2.5 g/kg tohum dozunda toz ve bulamaç halinde streptomisin uygulaması yapmışlardır. Uygulama görmüş tohumlar sonbahar ve ilkbaharda olmak üzere iki farklı dönemde tarlalara ekilip hastalık oranı değerlendirilmiştir. Streptomisin toz halinde tohumlara uygulandığında hastalığı engelleyici hiçbir etkisi olmamıştır. Farklı dozlardaki streptomisin solüsyonu ve bulamacı hastalığı baskılamış ancak hiçbir uygulama hastalığı tohumdan tamamen yok edememiştir. Tohumların streptomisin solüsyonuna daldırılması 10 farklı bezelye çeşidinden dokuzunun çimlenme yeteneğini %11-41 oranında azaltmıştır. Sonuç olarak, 2.5 g/kg tohum dozunda bulamaç halinde tohumlara uygulanan streptomisin, *Pseudomonas pisi*'nin tohum kökenli enfeksiyonlarını %90 oranında baskılamıştır.

Forbes ve Bretag (1991), Avustralya'da *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'nin neden olduğu bezelyedeki bakteriyel yanıklık hastalığının önemli bir hastalık olduğunu ve mücadelesinde yeşil aksama streptomisin püskürtmelerinin etkisini araştırmışlardır. Tarımda ruhsatlı "Glaxo ve Glaxovet" ticari isimli streptomisin, bir üretim sezonu boyunca haftalık uygulamalarla 22 kez yeşil aksama püskürtüldüğünde hastalık sadece %62 oranında baskılandığını tespit etmişlerdir.

Grondeau ve ark (1992), *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* ile doğal olarak bulaşık bezelye tohumlarını sıcak kuru hava içeren bir fırında kurutmuşlar ve sıcak suya daldırmışlardır. Kuru hava için 50-80°C arasında farklı sıcaklık ve 2-72 saatlik sürenin farklı kombinasyonlarını denemişlerdir. Sıcak su içinse 10-60 dakika arasındaki farklı sürelerin bakteriye etkisi araştırılmıştır. Bu tohum uygulamalarının çimlenmeye olan etkisi incelendiğinde, tohumların sıcak havaya göre sıcak sudan daha fazla etkilendiğini ve çok tekrarlı yapılan denemelerde üçlü kombinasyonun (65°C'de 72 saat kuru hava + 55°C'de 15 dakika sıcak su + 60°C'de 15 dakika sıcak suya daldırma) en başarılı olduğunu tespit etmişlerdir. Patojen tohumdan yok olurken çimlenme yeteneğinin en az etkilendiğini belirtmişlerdir.

Bitki Ekstraktları ve Uçucu Yağlarının Tohum Uygulaması Olarak Kullanımıyla İlgili Çalışmalar: Nguetack ve ark (2005), çeltikte tohumla taşınan bakteriyel etmenlerin (*Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, *Burkholderia glumae*, *Burkholderia plantarii*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ve *X. oryzae* pv. *oryzicola*) tohumdan eradikasyonunda farklı bitki (*Cymbopogon citratus*, *Monodora myristica*, *Ocimum gratissimum*, *Thymus vulgaris* ve *Zingiber officinale*) ekstraktlarından elde edilen uçucu yağların etkisini araştırmıştır. Petride oluşan inhibisyon zonlarına göre en etkili olanların *Ocimum gratissimum* ve *Thymus vulgaris* olduğunu saptamışlardır. Bakteriyel patojenlerle %32 oranında doğal olarak bulaşık üç farklı çeltik tohumlarıyla yapılan çalışmada, *Ocimum gratissimum* ve *Thymus vulgaris* uçucu yağlarının tohum dezenfektanı olarak kullanıldığında *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* enfeksiyonu %60 ve %80 oranında baskı altına alındığını belirtmişlerdir. Aynı uygulamanın tohumdaki *Xanthomonas oryzae* popülasyonunu %92-97 oranında azalttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca uygulama görmüş tohumların çimlenme kapasitesi %13-23 oranında arttığını belirtmişlerdir. *Ocimum gratissimum* ve *Thymus vulgaris* ekstraktlarından elde edilen uçucu yağların tohumdaki patojen bakteri popülasyonunu azaltırken çimlenme yeteneğini arttırdığını tespit etmişlerdir.

Mirik ve Aysan (2005), domates ve biberde bakteriyel leke hastalığına neden olan *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın tohumdan eliminasyonunda 11 farklı bitki ekstraktının etkisini araştırmışlardır. *Allium sativum* ve *Eucalyptus* sp'nin sulu ekstraktının başarılı tohum uygulaması olduğunu saptamışlardır. *Eucalyptus* sp'nin sulu ekstraktının direkt veya otoklav edilerek kullanıldığında hem domateste hem de biberde hastalığı tamamen engellediğini belirtmişlerdir. Sarımsak ekstraktı otoklav edildiğinde antibakteriyel etkisinin tamamen yok olduğunu, otoklav edilmeyen *Allium sativum*'un suyla hazırlanan ekstraktının domateste hastalığı %95 azaltırken biberde %86 oranında azalttığını tespit etmişlerdir.

Cantore ve ark (2009), çeşitli tıbbi ve aromatik bitkilerin uçucu yağının 19 farklı aktif maddesini tohum dezenfeksiyonunda kullanmışlardır. *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans*'ın fasulye tohumlarından yok edilmesinde Eugenol'un başarılı olduğunu tespit etmişlerdir. Suni olarak patojenin 2.6×10^6 hücre/gr tohum popülasyonu ile bulaştırılmış fasulye tohumlarına 4 mg/ml dozunda Eugenol uygulandığında patojen popülasyonu tarlada enfeksiyon oluşturacak sınırın (10^3 - 10^4 hücre) altına yani 7×10^2 hücre/gr tohum popülasyonuna düştüğünü belirtmişlerdir. Organik üretimlerde, tohum kökenli bakteri inokulumunun yok edilmesinde uçucu yağlar veya onların aktif maddeleri tohum uygulaması olarak kullanılabilirliğini kanıtlamışlardır.

Talibi ve ark (2011), Fas'ın güneyinde doğal olarak yetişen ve hastalıkların geleneksel tedavisinde yaygın olarak kullanılan 40 adet tıbbi ve aromatik bitki ekstraktının domates patojeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e antibakteriyel etkisini ve tohum uygulaması olarak kullanım potansiyellerini araştırmışlardır. En etkili bitki ekstraktı olarak *Lavandula coronopifolia*, *Lavandula stoechas*, *Rosa canina*, *Cistus monspeliensis* ve *Cistus crispus* olduğunu tespit etmişlerdir. Tohumun çimlenme yeteneğini en fazla artıran ve hastalık çıkışını %72 düzeyinde engelleyen en başarılı uygulama *Lavandula coronopifolia* ekstraktından elde edildiğini belirtmişlerdir.

Dadasoglu ve ark (2011), *Origanum acutidens*, *Origanum rotundifolium* ve *Origanum vulgare*'nin sulu ekstraktı ile farklı çözücülerle (hekzan, kloroform, aseton, metanol) hazırlanmış uçucu yağlarının 25 farklı bakteriye antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Suyla hazırlanan ekstraktların hiçbir bakteriye etki göstermediğini belirtmişlerdir. *Origanum rotundifolium*'un hekzan veya asetonla hazırlanmış ekstraktının etkili olduğunu belirtmişlerdir. Suni olarak *Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria* ile bulaştırılmış domates ve biber tohumlarındaki bakteri popülasyonunu yok etmede *Origanum acutidens*'in başarılı olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmayla *Origanum* türlerinden elde edilen yağların tohum dezenfeksiyonunda kullanılabilceğini kanıtlamışlardır.

Mbega ve ark (2012), domates tohumlarından *Xanthomonas perforans*'ın baskılanmasında farklı bitki ekstraktlarını tohuma uygulamışlardır. Çoğunluğu Tanzanya'ya özgü, 84 bitki türüyle yaptıkları petri denemelerinde 71 bitki ekstraktının patojen bakteriye karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Laboratuvar şartlarında 13 bitki ekstraktının patojenin petride gelişimini tamamen baskıladığını tespit etmişlerdir. Seçilen bu 13 bitki ekstraktı patojenle suni olarak bulaştırılmış tohumlara uygulanmış ve gelişen fidelerde hastalık dört bitki ekstraktıyla (*Aloe vera*, *Coffea arabica*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Yucca schidigera*) tamamen engellendiğini belirtmişlerdir. Başarılı bu bitki ekstraktlarının tohumun çimlenme yeteneğinde de artışa sebep olduğu saptamışlardır. Özellikle bakıra direnç probleminin sorun olduğu yerlerde domates tohumlarındaki bakteri popülasyonunu baskılamak veya yok etmek için bu uygulamaların kullanılabilceğini önermişlerdir.

Sedghi ve Gholi-Toluie (2013), soya fasülyesinde tohum kökenli fungal ve bakteriyel patojenlerin bulaşıklılığının azaltılmasında *Stevia rebaudiana* bitki ekstraktını kullanmışlardır. Bakteriyel etmenlerden *Xanthomonas campestris* ve *Pseudomonas syringae* ile yapılan çalışmalarda *Stevia rebaudiana* ekstraktı suyla hazırlandığında hiçbir antibakteriyel etkisi yokken, aseton, etanol veya kloroform ile hazırlandığında *Pseudomonas syringae*'ye antibakteriyel etkisinin olduğu

belirlenmiştir. Uygulamalar soya fasulyesinde ayrıca dayanıklılık mekanizmasıyla ilgili olan salisilik asit üretimini de teşvik ettiğini belirtmişlerdir.

Kotan ve ark (2013), *Satureja hortensis* ekstraktı ve uçucu yağını, domates tohumlarında *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria* ile marul tohumlarında *Xanthomonas axanopodis* pv. *vitians* adlı bakterilerin dezenfeksiyonunda tohum uygulaması olarak kullanmışlardır. Uçucu yağlar direkt tohumlara uygulandığında toksik etkiden dolayı tohumların çimlenme yeteneği azaltırken, hekzan veya metanol ile ekstrakte edilen bitki ekstraktlarının uygulandığı denemelerde bu olumsuz etkinin ortadan kalktığını tespit etmişlerdir. Hekzan-metanol karışımıyla ekstrakte edilen, 2,5 mg/ml konsantrasyonunda hazırlanan *Satureja hortensis* ekstraktının marul tohumlarında *Xanthomonas axanopodis* pv. *vitians* bulaşıklılığı en başarılı şekilde yok ettiğini belirtmişlerdir.

Verma ve Agrawal (2015b), tıbbi ve aromatik bitki ekstraktlarının bezelye bakteriyel yaprak yanıklığı hastalık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye antimikrobiyal etkisi üzerine çalışma yapmıştır. Altı farklı tıbbi bitki ekstraktının (*Withania somnifera*, *Azadirachta indica*, *Emblica officinalis*, *Treminali achebula*, *Allium sativum* ve *Zingiber officinalis*) *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye antimikrobiyal etkisini kağıt disk yöntemi kullanarak, ardından bunları tohuma uygulayarak bezelye bakteriyel yanıklık hastalığına etkisini araştırmışlardır. Kullanılan altı bitki ekstraktının hastalık çıkışını önemli derecede baskı altına aldığını tespit etmişlerdir. En yüksek antimikrobiyal etki *Allium sativum* ve *Treminali achebula* bitki ekstraktlarından elde edilmiş, *Allium sativum* hastalık oluşumunu %86 oranında engellerken *Treminali achebula* hastalık çıkışını %81 oranında baskı altına aldığını belirtmişlerdir.

Verma ve Agarwal (2017), bezelyede yaprak lekesine neden olan *Xanthomonas pisi* adlı bakteriyel etmene karşı 18 farklı tıbbi bitkinin antibakteriyel etkisini *in vitro* koşullarda kağıt disk yöntemiyle, *in vivo* koşullarda ise tohum uygulamasıyla araştırmıştır. Tüm tıbbi bitki ekstraktları patojene karşı

antibakteriyel özelliğe sahip olsa da en büyük inhibisyon alanı *Terminella bellirica* ve *Allium sativum* ekstraktından elde edildiğini belirtmişlerdir. *Terminella bellirica* tohum kökenli hastalığı %95 oranında baskılarken çimlenmeyi %88 oranında artırdığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde *Allium sativum* hastalık çıkışını %91 oranında azaltırken çimlenme düzeyini %81 oranında artırdığını saptamışlardır. Bezelyede yaprak lekesi hastalığıyla, bitki ekstraktları kullanarak kalıntı problemi olmaksızın, ekonomik ve çevre dostu bir stratejiyle mücadele edilebileceğini bu çalışmayla göstermişlerdir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Patojen İzolat: Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan ve Horuz ve ark (2015) tarafından izole edilip tanılanan AK-3r kodlu *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* izolatu çalışmada kullanılmıştır. Bu izolat 2014 yılında Adana'da bezelye tarlasında yaprak lekelerinden izole edilmiştir.

Bezelye Tohumları: Bu tez çalışmasında Karina çeşidi bezelye tohumları kullanılmıştır. Akça (2016) tarafından yapılan çalışmada *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'nin neden olduğu bezelyede bakteriyel yaprak yanıklığı hastalığına en duyarlı çeşit olarak Karina çeşidinin tespit edilmesi nedeniyle çalışmalarda bu çeşit tercih edilmiştir.

Bitki Ekstraktları: Çalışmada 34 farklı tıbbi ve aromatik bitki türünden elde edilen ekstraktlar kullanılmıştır. İç Anadolu Bölgesi'ne adapte olabilecek tıbbi ve aromatik bitkilerin araştırılması, gen kaynaklarının *ex situ* olarak korunması, bilimsel çalışmalarda kullanılmak üzere bitkisel kaynak sağlanması ve üniversite öğrencilerinin tıbbi bitkiler alanında eğitilmesi amacıyla 2017 yılının Nisan ayı itibarıyla, Prof. Dr. Menşure Özgüven önderliğinde kurulmaya başlanan Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Bölümü Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Koleksiyon Bahçesinde yetiştirilen tıbbi ve aromatik bitkilerden 14 bitki türü bu çalışmada kullanılmıştır.

Ayrıca bu tez çalışmasında, yüksek uçucu yağ kalitesine sahip lavanta (*Lavandula angustifolia* L.) ile verim ve kalite potansiyelinin belirlenmesi amacıyla Konya ve çevre illerinde yürütülen tarla denemelerindeki bitkilerden faydalanılmıştır.

Çalışmada kullanılan *Mentha arvensis* L. ve *Mentha piperita* L. ekstraktları ise bu bitkilerle yürütülen ekim zamanı ve üretim şekli denemelerinde yer alan bitkilerden elde edilmiştir.

Ayrıca 13 Haziran 2017 tarihinde 6 bitki türü Kadirli iline bağlı Maksutoluğu yaylasından, 25 Temmuz 2017 tarihinde 7 bitki türü Adana'nın Sarıçam ve Karaisalı ilçeleriflorasından toplanmış ve 4 bitki türü de ticari işletmelerden satın alınmıştır. Çalışmada kullanılan bitki türleri ve özellikleri hakkındaki bilgiler Çizelge 3.1., Çizelge 3.2. ve Çizelge 3.3'de yer almaktadır.



Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılmak üzere koleksiyon bahçesinden temin edilen tıbbi ve aromatik bitki türleri

Bitki Türü	Yerel Adı	Toplandığı Bölge	Kullanılan Aksam
1 <i>Aloe vera</i>	Tıbbi Sarısabır	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
2 <i>Helichrysum italicum</i>	Ölmez Çiçek	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
3 <i>Lavandula angustifolia</i>	Lavanta	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
4 <i>Lavandula stoechas</i>	Karabaş Otu	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam-Çiçek
5 <i>Matricaria recutita</i>	Tıbbi Papatya	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
6 <i>Melissa officinalis</i>	Oğul Otu	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
7 <i>Mentha arvensis</i>	Nane	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
8 <i>Mentha piperita</i>	Nane	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
9 <i>Origanum onites</i>	İzmir Kekiği	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
10 <i>Origanum vulgare</i>	Güvey Otu	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
11 <i>Salvia hispanica</i>	Chia	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
12 <i>Salvia officinalis</i>	Tıbbi Adaçayı	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
13 <i>Santolina chamaecyparissus</i>	Lavantin	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam-Çiçek
14 <i>Satureja hortensis</i>	Sater Otu	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
15 <i>Thymbra spicata</i>	Karabaş Kekik	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
16 <i>Thymus citriodorus</i>	Limon Kekiği	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam
17 <i>Thymus vulgaris</i>	Adi Kekik	Koleksiyon Bahçesi	Yeşil Aksam

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılmak üzere floradan toplanan tıbbi ve aromatik bitki türleri

Bitki türleri	Yerel Adı	Toplandığı Bölge	Kullanılan Aksam
1 <i>Achillea nobilis</i>	Civanperçemi	Kadirli	Yeşil Aksam
2 <i>Arum rupicola</i>	Yılan Yastığı	Kadirli	Yeşil Aksam
3 <i>Capparis spinosa</i>	Gebre Otu	Sarıçam	Çiçek Tomurcuğu
4 <i>Cistus creticus</i>	Laden	Karaisalı	Yeşil Aksam
5 <i>Cupressus arizonica</i>	Arizona Servisi	Sarıçam	Yeşil Aksam
6 <i>Eucalyptus sp.</i>	Okaliptus	Sarıçam	Yeşil Aksam
7 <i>Ferula communis</i>	Çağşır Otu	Kadirli	Yeşil Aksam
8 <i>Juglans regia</i>	Ceviz	Kadirli	Meyve Kabuğu
9 <i>Laurus nobilis</i>	Defne	Kadirli	Yeşil Aksam
10 <i>Micromeria fruticosa</i>	Taş Nanesi	Kadirli	Yeşil aksam
11 <i>Myrtus communis</i>	Yaban Mersini	Sarıçam	Yeşil Aksam
12 <i>Nerium oleander</i>	Zakkum	Sarıçam	Yeşil Akşam-Çiçek
13 <i>Rosmarinus officinalis</i>	Biberiye	Sarıçam	Yeşil Aksam

18

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılmak üzere ticari işletmelerden temin edilen tıbbi ve aromatik bitki türleri

Bitki Türü	Yerel Adı	Toplandığı Bölge	Kullanılan Aksam
1 <i>Allium sativum</i>	Sarımsak	Ticari İşletme	Soğan
2 <i>Nigella sativa</i>	Çörek Otu	Ticari İşletme	Tohum
3 <i>Syzygium aromaticum</i>	Baharat Karanfil	Ticari İşletme	Tohum
4 <i>Zingiber officinale</i>	Zencefil	Ticari İşletme	Yumru

Besi Yerleri: Çalışmada patojen bakterinin çoğaltılmasında besi yeri olarak King B (KB: Proteose peptone 20.0 g/lt; MgSO₄7H₂O 1.5 g/lt; tri-potassium phosphate 3-hydrate 1.8 g/lt; agar-agar 10.0 g/lt) ve +4°C’de saklanması Yeast Dextroz Calsiyum Karbonat Agar (YDCA: Yeast Extract 10.0 g/lt; dextrose 20.0 g/lt; calcium carbonate 20.0 g/lt; agar 15.0 g/lt) besi yerleri kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

Kullanılan alet ve makineler: Çalışmada sıcak su banyosu (W. Kronnion), hassas terazi (Sartorius), saf su cihazı (Millipore), magnetik karıştırıcı (Shin Saeng), pH metre (WTW), otoklav (Hirayama), etüv (Nüve), spektrofotometre (Shimadzu), erlen çalkalayıcı (Heidolph), steril kabin (Holten), inkübatör (Memmert), Mcfarland Densitometer (Biosan) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Patojen Bakteri Süspansiyonun Hazırlanması

Pseudomonas syringae pv. *pisi* izolatu King B (KB) besi yerinde 48 saat geliştirildikten sonra steril saf suyla MCF:1 ölçüm değerinde bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu süspansiyon 1/10 oranında 5 kez seyreltilmiş ve hazırlanmış seyreltme serilerinin her birinden 100 µl King B besi yeri içeren petrilere bagetle yayılmıştır. Çalışmada patojenin MCF:1 ölçüm değerinde hazırlanmış bakteri populusyonu 3.4x10⁸ hücre/ml olarak belirlenmiştir.

3.2.2. Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Çizelge 3.1’de görüldüğü gibi tıbbi ve aromatik bitkilerin türüne göre değişmekle birlikte bazılarının tohumu, yeşil aksamı, çiçek tablası veya yumruları kullanılmıştır. Bitki kısımlarının kurutma ve ekstraksiyon işlemleri Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi SARGEM (Stratejik Ürünler Geliştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi)laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Antimikrobiyal etkinin belirlenmesi için hazırlanacak ekstraktlar için önce bitkiler tartılıp havanda öğütüldükten sonra 1/7 oranında saf su eklenmiştir. Uygulanan bu yöntemde

Mangamma ve Sreeramulu (1981) yöntemi modifiye edilmiştir. Hazırlanan karışım 30 dakika boyunca 150 rpm/dak hızda dairesel çalkalayıcıya bırakılmıştır. Çalkalama işlemi sonrasında bitki parçaları kaba filtre kağıdı kullanılarak süzölmüş ve geriye kalan sıvı tüplere alınmıştır. Besi yerine eklenmeden önce bitki ekstraktları steril kabin içinde etkili bileşenlerin sıcaklığa duyarlı olma olasılıkları nedeniyle otoklavda steril etmek yerine filtreden (Milipore marka 0.22 µm pora sahip) geçirilerek soğuk sterilizasyon yöntemiyle steril edilmiştir. Kullanılan ekstraktlar her deneme öncesi taze olarak hazırlanmıştır.

3.2.3. Farklı Bitki Ekstraktlarının *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması

Çalışmada 34 farklı tıbbi ve aromatik bitki ekstraktının bezelye bakteriyel yaprak yanıklığı hastalık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye antibakteriyel etkisi *in vitro* petri denemeleriyle kağıt difüzyon disk yöntemine göre araştırılmıştır (Mangamma ve Sreeramulu, 1981; Mirik ve Aysan, 2005). Çalışmanın bu kısmı Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi SARGEM laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. King B besiyeri içeren petrilere patojen bakterinin 3.4×10^8 hücre/ml popülasyonu içeren süspansiyondan 100 µl eklenerek bagetle yayılmıştır. Petriler kuruduktan (yaklaşık 1 saat) sonra, 5 mm çapında yuvarlak Oxoid blank diskler birbirinden eşit uzaklıkta olacak şekilde petrilerin üç ayrı noktasına yerleştirilmiştir. Farklı bitkilerden elde edilen steril bitki ekstraktlarının 10, 15 ve 20 µl konsantrasyonları steril diskler üzerine emdirilmiştir. Negatif kontrol olarak steril su, pozitif kontrol olarak streptomycin antibiyotiği içeren Oxoid diskler (25 µg) kullanılmıştır. Çalışma üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Petriler 25°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve diskler etrafında oluşan inhibisyon (engelleme) zonları ölçülerek (cm) kaydedilmiştir.

3.2.4. Bitki Ekstraktlarının Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Yaprak Yanıklığı Hastalığına Etkisi

Bir önceki aşama olan petri denemelerinde *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye antibakteriyel etkisi saptanan *Allium sativum* (Sarımsak), *Cistus creticus* (Laden) ve *Syzygium aromaticum* (Baharat Karanfil) bitki ekstraktları çalışmanın bu aşamasında kullanılmıştır. Suni olarak *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* ile bulaştırılmış bezelye tohumuna bu üç bitki ekstraktı uygulanarak tohum kökenli inokulumdan kaynaklı hastalığı engelleme oranları saksı ve tarla denemeleriyle araştırılmıştır. Arazi ve saksı denemelerinde kullanılacak patojen bakteri, King B (KB) besi yerinde 48 saat geliştirildikten sonra steril saf suyla MFC:1 ölçüm değerinde hazırlanan bakteri süspansiyonundan hazırlanmış ve yaklaşık 3.4×10^8 hücre/ml patojen bakteri popülasyonudenemelerde kullanılmıştır. Bitki ekstraktları ise ekstraksiyon için kullanılacak bitki kısımları tartılıp havanda öğütüldükten sonra 1/7 oranında saf su eklenerek hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım 30 dakika boyunca 150 rpm/dak hızda dairesel çalkalayıcıya bırakılmıştır. Çalkalama işlemi sonrasında bitki parçaları kaba filtre kağıdı kullanılarak süzölmüş ve geriye kalan sıvı tüplere alınarak kullanılmıştır.

Bezelye Tohumlarına Patojenin Bulaştırılması: Patojen bakterilerin tohumlara daha iyi yapışmasını sağlamak amacıyla, 5 gr karboksimetil selüloz (CMC) 1 litre saf su ile magnetik karıştırıcıda ısıtılarak %0.5 lik solüsyon hazırlanmıştır. Saf su içinde yeterince çözülen CMC soğutulduktan sonra MFC:1 ölçüm değerinde bakteri popülasyonu oluşuncaya kadar 48 saatlik saf bakteri kolonisinden solüsyona eklenmiştir. Hazırlanan süspansiyona bezelye tohumları eklenerek 30 dakika süreyle 150 rpm/dak hızda oda sıcaklığında çalkalanmaya bırakılmıştır. Çalkalanma işlemi bittikten sonra bakteri solüsyonundan süzölen tohumlar kaba filtre kağıdı üzerinde nemi uçana kadar bekletilmiştir. Negatif kontrol olarak bezelye tohumları aynı şekilde steril saf suyla, pozitif kontrol olarak tohumlar sadece patojenle bulaştırılmıştır.

Patojenle Bulaşık Tohumlara Bitki Ekstraktlarının Uygulanması: Erlen mayerlerde taze olarak hazırlanan bitki ekstraktları içine patojenle suni olarak bulaştırılan bezelye tohumları nemi uçuna kadar bekletilmiş (yaklaşık 1 saat) ve sonrasında %42'lik sulu bitki ekstraktları ile 30 dakika süreyle 150 rpm/dak hızda oda sıcaklığında çalkalanmaya bırakılmıştır. Çalkalama işlemi bittikten sonra süzülen tohumlar 20x20 cm ebatlarında üzeri tülbentle çevrilmiş tahta çerçevelere yayılarak oda koşullarında nemi uçana kadar bekletilmiştir.

Saksı Denemesi: Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Araştırma ve Deneme Parselinde bulunan cam serada 21 Şubat-1 Nisan 2018 tarihleri arasında yapılmıştır. Tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulan saksı denemesinde, uygulama görmüş bezelye tohumları 1:1 oranda toprak ve ahır gübresi karışımı ile doldurulmuş 3 litrelik saksılara ekilmiştir. Her uygulama 4 tekrar ve her tekrarda 10 tohum kullanılmıştır. Uygulama görmüş bezelye tohumları aynı gün içinde saksılara ekimi yapılmıştır. Çalışmada pozitif kontrol olarak *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* ile bulaştırılmış ve hiçbir uygulama yapılmamış Karina çeşidi bezelye tohumları kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak sağlıklı tohumlar saf suya daldırılmıştır.

Tarla Denemesi: Adana ilinin Karaisalı ilçesinde bir üretici tarlasında 23 Şubat -1 Nisan 2018 tarihleri arasında yürütülmüştür. Tesadüf blokları deneme desenine göre kurulan tarla denemesinde, uygulama görmüş bezelye tohumları 1.5x1.4 m ölçülerindeki parsellere 10 cm sıra üzeri 50 cm sıra arası mesafede ekilmiştir. Her uygulama 5 tekrar ve her tekrarda 60 tohum kullanılmıştır. Tohum uygulamalarıyla dormansisi kırılan bezelye tohumlarının çimlenme yüzdesinde olumsuz bir durum oluşmaması için uygulama yapılan tohumların aynı gün içerisinde ekimi tamamlanmıştır. Çalışmada pozitif kontrol olarak *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* ile bulaştırılmış ve hiçbir uygulama yapılmamış bezelye tohumları kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak sağlıklı tohumlar saf suya daldırılmıştır.

Denemelerin Değerlendirilmesi: Bitki ekstraktlarıyla uygulama görmüş patojenle bulaşık tohumlar, saksılara ve tarlaya ekildikten sonra haftalık kontrol edilerek ilk çıkan birleşik yapraklardaki ıslak lekeler veya nekrotik alanların varlığı takip edilmiştir. Pozitif kontrol bitkilerinin tamamına yakınında hastalık belirtileri gözlemlendiği zaman (ekimden yaklaşık 4 hafta sonra) denemeler sonlandırılmıştır. Denemelerde her tekrardaki, toplam bitki sayısı ve hastalıklı bitki sayısı kaydedilip hastalık oranı hesaplanarak uygulamaların hastalık oranına etkisi Abbott formülüne (% etki: (kontrol-uygulama/kontrol) x100) göre hesaplanmıştır. Daha sonra ortalama hastalık oranı hesaplanmış ve bu rakamların açılı değerleri alınarak ANOVA İstatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma testine ($P \leq 0,05$) göre, farklı bitki ekstraktlarının bezelye yaprak yanıklığı hastalığına etkisi istatistiki olarak değerlendirilmiştir.

Her bir uygulamadaki hastalıklı bitkilerden örnek alınarak klasik bakteriyolojik yöntemlerle izolasyon yapılmış ve elde edilen bakteri izolatlarının tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonları (Lelliott ve Stead, 1987) belirlenmiştir. Gözlenen hastalık belirtilerinin sorumlusunun *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* olup olmadığı teyit edilmiştir.

3.2.5. Tohum Uygulamalarının Çimlenmeye Etkisi

Deneme, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Araştırma ve Deneme Parselinde bulunan cam serada 21 Şubat-1 Nisan 2018 tarihleri arasında yapılmıştır. Sağlıklı bezelye tohumlarına *Allium sativum*, *Cistus creticus* ve *Syzygium aromaticum* bitki ekstraktları uygulanarak tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulan saksı denemeleriyle tohum uygulamalarının çimlenme üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Negatif kontrol olarak saf su ile uygulama görmüş tohumlar kullanılmıştır.



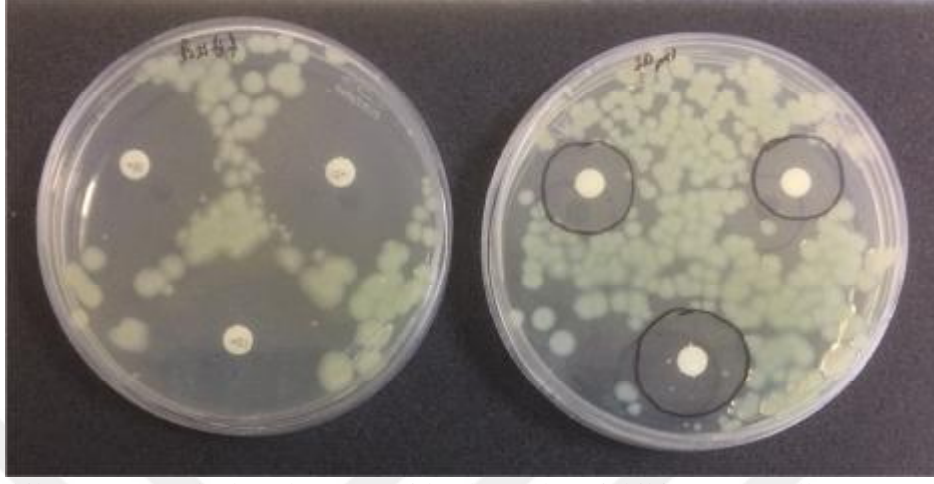
4. BULGULAR

4.1. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye Antibakteriyel Etkinin Araştırılması

Bezelye bakteriyel yaprak yanıklığı etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye (3.4×10^8 hücre/ml popülasyonu) üç farklı dozda hazırlanan 34 tıbbi ve aromatik bitki ekstraktının antibakteriyel etkisinin araştırıldığı *in vitro* petri denemelerinde, dokuz bitki ekstraktının etkili olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1). En düşük doz olan 10 µl konsantrasyondaki *Allium sativum*, *Cistus creticus* ve *Syzygium aromaticum* ekstraktları petride sırasıyla ortalama 3, 1 ve 1 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. Bitki ekstraktı dozu 15 µl'ye artırıldığında altı bitki ekstraktı (*Allium sativum*, *Aloe vera*, *Cistus creticus*, *Nigella sativa*, *Rosmarinus officinalis* ve *Syzygium aromaticum*) 1 ile 6 mm arasında inhibisyon zonu oluşturarak *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye antibakteriyel etki göstermiştir. Bitki ekstraktı konsantrasyonu 20 µl'ye artırıldığında dokuz bitki ekstraktı (*Allium sativum*, *Aloe vera*, *Cistus creticus*, *Matricaria recutita*, *Nigella sativa*, *Origanum onites*, *Rosmarinus officinalis*, *Syzygium aromaticum*, *Zingiber officinale*) 1 ile 8 mm arasında inhibisyon zonu oluşturarak patojen bakterinin gelişimini baskı altına almıştır (Şekil 4.1). Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi bitki ekstraktı dozu arttığında patojen bakteriyi engellemede artışın olduğu kaydedilmiştir. Örneğin *Allium sativum* ekstraktının dozu arttığında inhibisyon zonu sırasıyla 3, 6 ve 8 mm olarak kaydedilmiştir. Benzer durum *Cistus creticus* ve *Syzygium aromaticum* ekstraktında da saptanmıştır (Şekil 4.2).

Çizelge 4.1. Farklı tıbbi ve aromatik bitki ekstraktının *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye antibakteriyel etkisi (*in vitro* petri denemeleri)

Bitki Ekstraktları	Ortalama Engelleme Zonu (mm)		
	10 µl	15 µl	20 µl
P.K. (25 µg Streptomycin)	17	17	17
N.K. (Steril Saf Su)	0	0	0
1 <i>Achillea nobilis</i>	0	0	0
2 <i>Allium sativum</i>	3	6	8
3 <i>Aloe vera</i>	1	1	2
4 <i>Arum rupicola</i>	0	0	0
5 <i>Capparis spinosa</i>	0	0	0
6 <i>Cistus creticus</i>	1	2	4
7 <i>Cupressus arizonica</i>	0	0	0
8 <i>Eucalyptus</i> sp.	0	0	0
9 <i>Ferula communis</i>	0	0	0
10 <i>Helichrysum italicum</i>	0	0	0
11 <i>Juglans regia</i>	0	0	0
12 <i>Laurus nobilis</i>	0	0	0
13 <i>Lavandula angustifolia</i>	0	0	0
14 <i>Lavandula stoechas</i>	0	0	0
15 <i>Matricaria recutita</i>	0	0	1
16 <i>Melissa officinalis</i>	0	0	0
17 <i>Mentha arvensis</i>	0	0	0
18 <i>Mentha piperita</i>	0	0	0
19 <i>Micromeria fruticosa</i>	0	0	0
20 <i>Myrtus communis</i>	0	0	0
21 <i>Nerium oleander</i>	0	0	0
22 <i>Nigella sativa</i>	0	1	2
23 <i>Origanum onites</i>	0	0	1
24 <i>Origanum vulgare</i>	0	0	0
25 <i>Rosmarinus officinalis</i>	0	1	1
26 <i>Salvia hispanica</i>	0	0	0
27 <i>Salvia officinalis</i>	0	0	0
28 <i>Santolina chamaecyparissus</i>	0	0	0
29 <i>Satureja hortensis</i>	0	0	0
30 <i>Syzygium aromaticum</i>	1	1	3
31 <i>Thymbra spicata</i>	0	0	0
32 <i>Thymus citriodorus</i>	0	0	0
33 <i>Thymus vulgaris</i>	0	0	0
34 <i>Zingiber officinale</i>	0	0	1



Şekil 4.1. Sarımsak ekstrektinin petride oluşturduğu inhibisyon (engelleme) zonu.



Şekil 4.2. Petri denemelerinde *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye karşı en yüksek antimikrobiyal etki gösteren bitki türleri (*Allium sativum* (a), *Cistus creticus* (b), *Syzygium aromaticum*(c)).

4.2. Bitki Ekstraktlarının Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Yaprak Yanıklığı Hastalığına Etkisi

Saksı Denemesi: 21 Şubat 2018'de saksılara ekilen tohumlar 1 Mart 2018 tarihinde çimlenmiş ve pozitif kontrolde hastalık belirtileri 16 Mart 2018 tarihinde gözlenmeye başlanmış ve değerlendirme 1 Nisan 2018'de yapılmıştır. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'nin neden olduğu bezelye bakteriyel yaprak yanıklığı hastalığından dolayı ilk çıkan birleşik yapraklarda düzensiz su emmiş lekeler tipik hastalık belirtisi olarak kaydedilmiştir. İlerleyen zaman içinde bu lekeler kahverengiye dönüşerek nekrotik alanlar meydana getirmiştir (Şekil 4.3).

Suni olarak *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* ile bulaştırılmış herhangi bir tohum uygulamasının yapılmadığı pozitif kontroldeki bitkilerin ortalama %61.1’inde hastalık belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Patojenle bulaşık bezelye tohumlarına *Cistus creticus* ekstraktı uygulandığında bitkilerin %50.6’sında, *Allium sativum* ekstraktı uygulandığında %32.5’inde ve *Syzygium aromaticum* ekstraktı uygulandığında %2.78’inde hastalık saptanmıştır (Şekil 4.4).



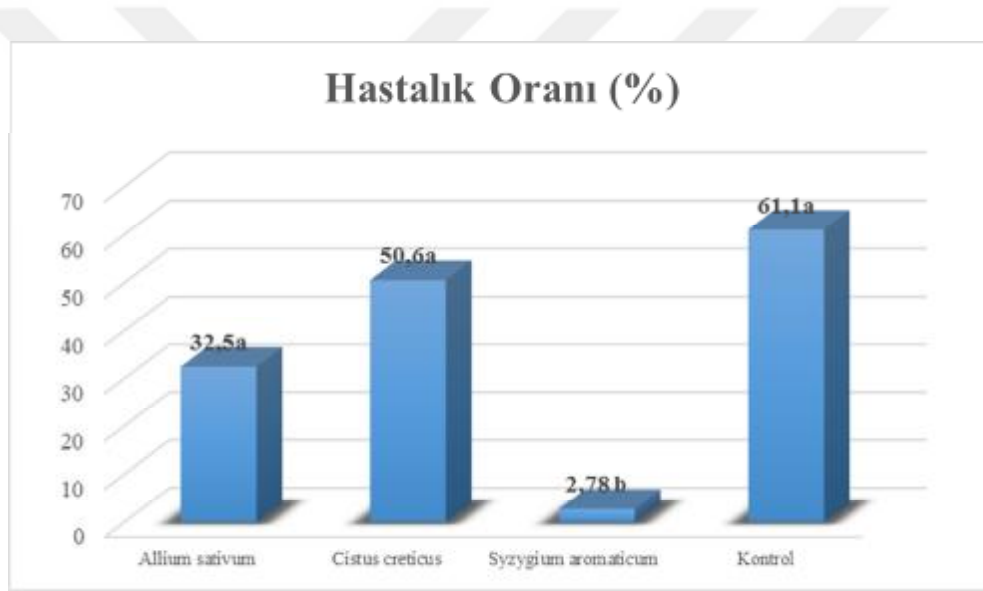
Şekil 4.3. Bezelye bakteriyel yaprak yanıklığı hastalık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*’nin bitkide ilk belirti gösterdiği kotiledon yapraklardaki su emmiş lekeler ve ilerleyen safhalardeki nekrotik belirtiler (saksı denemesi).

Çizelge 4.2. Bitki Ekstraktlarının Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Yaprak Yanıklığı Hastalığına Etkisi (saksı denemesi)

Uygulamalar	Hastalık Oranı (%)	Etki %
Negatif Kontrol	0.00	-
Pozitif Kontrol	61.1a*	-
<i>Allium sativum</i>	32.5±1.15a	46.8
<i>Cistus creticus</i>	50.6±0.47a	17.3
<i>Syzygium aromaticum</i>	2.78±0.82 b	95.4

*: istatistiki olarak %5 önem düzeyinde, aynı grupta yer alan uygulamalar aynı harfle gruplandırılmıştır.

Cam serada yapılan saksı denemesinde, *Syzygium aromaticum*, *Allium sativum* ve *Cistus creticus* ekstraktları tohum kökenli inokulumdan kaynaklı hastalığı sırasıyla %95.4, %46.8 ve %17.3 oranında baskılamıştır. İstatistiki olarak incelendiğinde, *Allium sativum* ve *Cistus creticus* ekstraktları ile yapılan uygulamalarda pozitif kontrol aynı grupta yer alarak etkisiz olarak değerlendirilmiştir. Saksı denemesinde *Syzygium aromaticum* ekstraktının tohuma uygulanması diğerlerinden farklı grupta yer alarak başarılı uygulama olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.4. Tohum uygulamaları sonucundaki bitkilerde ortaya çıkan hastalık çıkış oranları (saksı denemesi).

Tarla Denemesi: Adana ilinin Karaisalı ilçesinde bir üretici tarlasında 23 Şubat 2018’de ekilen tohumlar 10 Mart 2018 tarihinde çimlenmiş ve pozitif kontrolde hastalık belirtileri 17 Mart 2018 tarihinde gözlenmeye başlanmış ve son değerlendirme 1 Nisan 2018’de yapılmıştır. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*’nin neden olduğu bezelye bakteriyel yaprak yanıklık hastalığının tipik belirtisi olan su emmiş lekeler ve kahverengi nekrotik alanlar gözlenmiştir (Şekil 4.5). Çizelge

4.3’de görüldüğü gibi sadece *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* ile bulaştırılmış pozitif kontroldeki bitkilerin ortalama %49.2’sinde hastalık saptanmıştır. Patojenle bulaşık bezelye tohumlarına *Cistus creticus* ekstraktı uygulandığında bitkilerin %11.6’sında, *Allium sativum* ekstraktı uygulandığında %7.58’inde hastalık saptanmıştır. *Syzygium aromaticum* ekstraktı uygulanan tohumlardan gelişen bitkilerde %1 oranda hastalık tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



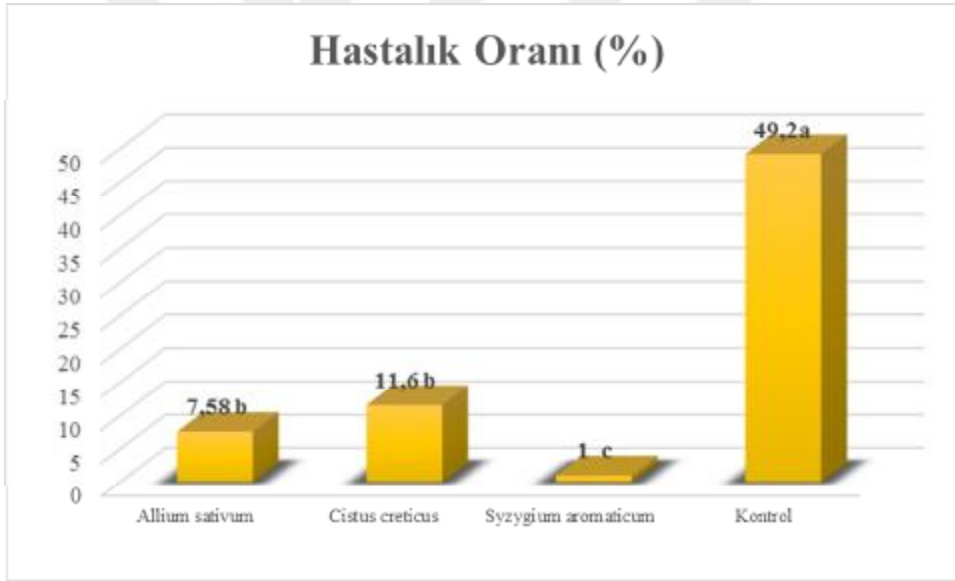
Şekil 4.5. Bezelye bakteriyel yaprak yanıklığı hastalık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'nin bitkide ilk belirtisi gösterdiği kotiledon yapraklardaki nekrotik simptomlar (tarla denemesi).

Çizelge 4.3. Bitki Ekstraktlarının Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Yaprak Yanıklığı Hastalığına Etkisi (tarla denemesi)

Uygulamalar	Ortalama Hastalık Oranı (%)	Etki %
Negatif Kontrol	0.00	-
Pozitif Kontrol	49.2a	-
<i>Allium sativum</i>	7.58±0.47 b	84.6
<i>Cistus creticus</i>	11.6±0.26 b	76.4
<i>Syzygium aromaticum</i>	1.00±0.44 c	97.9

*: istatistiki olarak %5 önem düzeyinde. aynı grupta yer alan uygulamalar aynı harfle gruplandırılmıştır.

Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi, *Syzygium aromaticum* ekstraktı tohum kökenli inokulumdan kaynaklı hastalığı tamamen engellemiştir. *Cistus creticus* ve *Allium sativum* ekstraktları tohum uygulaması olarak kullanıldığında hastalığı sırasıyla %76.4 ve %84.6 oranında baskılamıştır. İstatistiki olarak incelendiğinde tüm uygulamalar pozitif kontrolden farklı grupta yer alarak etkili uygulamalar olarak değerlendirilmiştir. Tohuma *Cistus creticus* ve *Allium sativum* ekstraktı uygulamaları aynı grupta yer alan etkili uygulamalarken *Syzygium aromaticum* ekstraktı uygulaması tek başına bir grup oluşturmuştur. Saksı denemesinde olduğu gibi tarla denemesinde de en başarılı tohum uygulamasının *Syzygium aromaticum* olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.6. Tohum uygulamaları sonucundaki bitkilerde ortaya çıkan hastalık çıkış oranları (tarla denemesi).

Saksı ve tarla denemelerinde hastalığın tespit edildiği her parselden örnek alınarak bakteriyolojik yönden yapılan incelemelerde patojen bakteri geri izole edilmiş, tütün de aşırı duyarlılık reaksiyonunun pozitif olduğu

belirlenmiş ve hastalık belirtilerinin sorumlusunun *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* olduğu kanıtlanmıştır.

4.3. Tohum Uygulamalarının Çimlenmeye Etkisi

Çizelge 4.4’de görüldüğü gibi hiçbir uygulamanın yapılmadığı Karina çeşidi bezelye tohumlarının %95’i saksıda çimlenmiştir. Sağlıklı tohumlar *Allium sativum*’un sulu ekstraktına daldırıldığında %77.5’i çimlenmiştir. Bu uygulama tohumların çimlenme oranını %18.4 düzeyinde azaltmıştır. *Cistus creticus* ekstraktıyla uygulama görmüş tohumların %92.5’i çimlenmiş ve çimlenme %2.63 oranında azalmıştır. Bunların aksine sağlıklı tohumlara *Syzygium aromaticum*’un sulu ekstraktı uygulandığında tohumların çimlenme oranında artış saptanmış ve çimlenme %5.26 oranında artmıştır. İstatistiki olarak incelendiğinde sadece tohuma *Allium sativum* ekstraktı uygulaması farklı bir grupta yer almış ve bezelye tohumlarının çimlenme düzeyini azaltan başarısız uygulama olarak değerlendirilmiştir. Tohuma *Cistus creticus* ve *Syzygium aromaticum* ekstraktı uygulandığında çimlenme düzeyi kontrolle aynı istatistiki grupta yer alarak tohumun çimlenmesine herhangi bir olumsuz etki yapmadığı kanıtlanmıştır (Şekil 4.7).



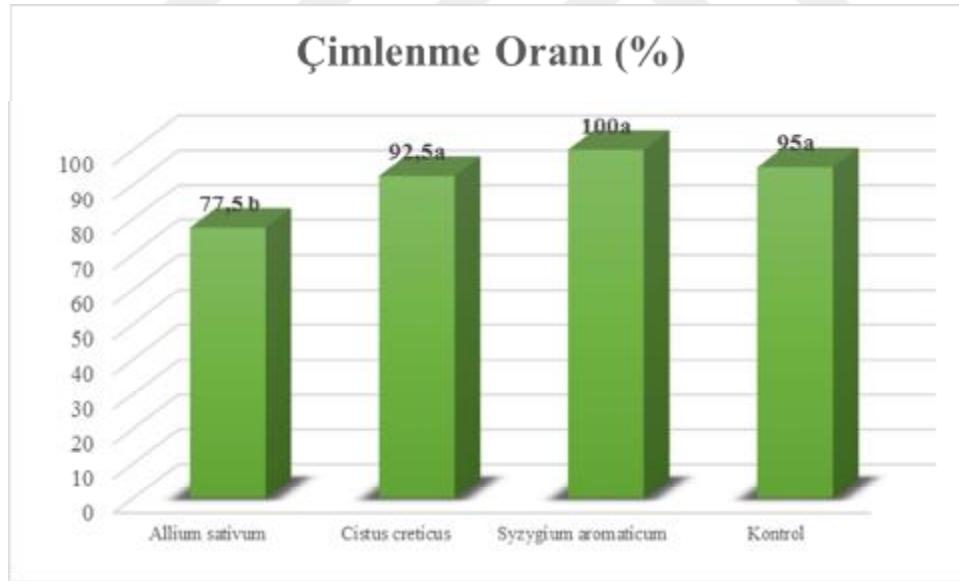
Şekil 4.7. Tohum uygulaması yapılan bezelyelerin sera içerisindeki genel görüntüsü.

Çizelge 4.4. Bitki Ekstraktlarının Bezelye Tohumlarının Çimlenmesine Etkisi (saksı denemesi)

Uygulamalar	Ortalama Çimlenme Oranı (%)	Fark (%)
Negatif Kontrol	95.0a	-
<i>Allium sativum</i>	77.5±0.62 b	-18.4
<i>Cistus creticus</i>	92.5±0.00a	-2.63
<i>Syzygium aromaticum</i>	100±0.48a	+5.26

*: istatistiki olarak %5 önem düzeyinde. aynı grupta yer alan uygulamalar aynı harfle gruplandırılmıştır.

Tohum uygulaması olarak *Syzygium aromaticum*'un sulu ekstraktı kullanıldığında hastalık başarılı bir şekilde baskı altına alınırken çimlenmede de artış sağlanmıştır. Şekil 4.8' te görüldüğü gibi bu denemede de *Syzygium aromaticum* ekstraktı tekrar en başarılı uygulama olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.8. Tohum uygulamaları sonucunda tohumlardaki çimlenme oranları (saksı denemesi).



5. TARTIŞMA

Tarımın sürdürülebilir kılınması, ekolojik dengenin korunmasıyla mümkündür. Tarımsal üretimde verim ve kaliteyi etkileyen çok faktörlü bitki koruma problemleri bulunmaktadır. Biyotik ve abiyotik sorunlarla mücadele kullanılan tarım ilaçları, tarımda hem karlılığın azalmasına hem de çevre kirliliğine neden olarak ekolojik dengenin bozulmasına neden olmaktadır. Bu sebeple tarımsal üretimdeki patolojik ve diğer etmenlere karşı çevreci mücadelenin önemi her geçen gün artmaktadır. Bu tez çalışmasında, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'nin neden olduğu bezelye bakteriyel yaprak yanıklığı hastalığının mücadelesinde tohuma farklı bitki ekstraktları uygulanarak bitki koruma sorunlarından birine doğal bir çözüm olması amaçlanmıştır. Bu bağlamda, çevreci ve sürdürülebilir tarıma katkı sağlamak amacıyla yapılan bu tez çalışmasında, 34 bitki türünden elde edilen bitki ekstraktlarının *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye antimikrobiyal etkinliği difüzyon disk metoduna göre araştırılmıştır. *In vitro* testlerde antimikrobiyal etkinliği en yüksek olan üç bitki ekstraktının (*Allium sativum*, Sarımsak; *Cistus creticus*, Laden; *Syzygium aromaticum*, Baharat Karanfil) tohum uygulaması olarak kullanılmasıyla tohum kökenli bakteriyel hastalığı baskılama ve tohum fizyolojisine etki ederek çimlenme yeteneğini ne yönde etkilediği saksı ve tarla denemeleriyle araştırılmıştır.

Tıbbi ve aromatik bitkiler böcek, akar, nematod, bakteri, fungus ve virüslerin mücadelesinde kullanılan çevre dostu, ucuz ve yeni bir alternatiftir. Tıbbi ve aromatik bitkilerin yaprakları veya tohumlarından elde edilen ekstraktlar farklı bitkilerin yeşil aksam veya kök sorunlarının çözümünde başarıyla kullanılmaktadır. Zengin bitki florasına sahip ülkelerde bu bitkilerin kolay temin edilmesi, uygulama kolaylığı ve ucuz olması nedeniyle yaygın kullanımları vardır. Özellikle az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde çok eski tarihlerden beri yöresel bitkilerin hem bitki hastalıklarının hem de insan hastalıklarının tedavisinde yaygın kullanıldığını gösteren kayıtlar vardır (Gahukar, 2012). Örneğin sarımsak

ekstraktının eski Mısır'da M.Ö. 1800 yılında bile kullanıldığı bilinmektedir. Mısırlılar papirüsleri uzun süre saklamak için farklı tıbbi ve aromatik bitki ekstraktlarının karışımını kullanmaktaydı (Slusarenko ve ark, 2008).

Bitkiler arasında çeşitli mikroorganizmalara toksik etki gösteren çok sayıda bitki türü vardır. Evrim sürecinde bu bitkiler çevresel faktörlere, hastalık ve zararlılara karşı koymak için savunma mekanizması olarak bünyelerinde çeşitli toksik maddeleri biriktirmişlerdir. Günümüzde bilim insanları mikroorganizmalara toksik madde içeren bu doğal bitki türlerini bulup kullanma potansiyellerini araştırmaktadırlar (Slusarenko ve ark, 2008).

Bitki bakteriyel hastalıklarının mücadelesinde, doğal bakterisitler olarak değerlendirilen çeşitli tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen ekstraktların ve/veya onların uçucu yağlarının etken maddesi tarımda yeni modern kimyasalların ortaya çıkışına da neden olmuştur. Bu antimikrobiyal maddeler direkt olarak hastalık mücadelesinde biyopestisit olarak kullanılabilmesi gibi bunların etken maddesi sentetik olarak üretilerek yeni pestisitlerin piyasaya sürülmesine de katkı sağlamaktadır (Bajpai ve ark, 2011). Gün geçtikçe sayısında farklılık olsa da 1981-2006 yılları arasında kullanılan 109 yeni antibiyotiğin %69'u doğal bitkisel ürünlerden %21'i funguslardan elde edilmiştir. Bitkilerden elde edilen antimikrobiyal bileşikler, bakteriyel hastalıkların mücadelesinde antibiyotiklerin (streptomisin, oksitetrasiklin, kloramfenikol ve rifampisin) ve bakırın alternatifi olarak değerlendirilmektedir (Savoia, 2012).

Bitki ekstraktlarından elde edilen bu antibakteriyel ürünler, pek çok gram negatif ve gram pozitif bakterinin birbiriyle iletişim kurma mekanizması olan "quorum-sensing" mekanizmasını engelleyerek ve bakterilerin topluluk oluşturma yetenekleri olan "biofilm" oluşumunu engelleyerek bakteriyel enfeksiyonu azaltırlar. Bitki ekstraktlarının yapısındaki flavonoidler, alkaloidler, terpenler, fenolikler, polifenoller ve tat-koku veren kumarinler bu mekanizmalarla bakterilere etki ederler. Örneğin bakterilerin biofilm oluşumunu engellemede sülfürce zengin kokulu *Allium* (Savoia, 2012) ve *Cistus* türleri (Vieira ve ark, 2017) bunlara

örnektir. Çin’de yetiştirilen veya endemik olan pek çok tıbbi ve aromatik bitkilerin antibiofilm özellikleri kanıtlanmıştır. Ayrıca ülkemizde de pek çok endemik türü bulunan kekik türlerinin içerdiği thymol de bakterilerin birbiriyle iletişim kurmasını ve topluluk oluşmasını engeller. Böylece bakterilerin hastalık yapma yetenekleri azalır veya tamamen yok olur (Kotan ve ark, 2009). Özellikle ilaçlara direnç kazanmış bakterilerle mücadelede bitki ekstraktları ve onların uçucu yağlarının kullanımı hastalıklarla mücadelede yeni stratejilerdir (El-Astal, 2004). Doğal antibiyotik olarak bilinen bitki ekstraktlarının etken maddelerine şimdiye kadar herhangi bir direnç probleminin de rapor edilmemesi bunların diğer bir olumlu özelliğidir.

Bakırlı bileşiklerin bitkideki fitotoksite problemi, toprakta ağır metal olarak birikme özelliği, çok sık aralıklarla bitkiye püskürtülme zorunluluğu ve Avrupa Birliğinin 2002 yılında bakır tuzlarının kullanımını sınırlandırması nedeniyle Avrupa’da bakteriyel hastalıkların mücadelesinde alternatif uygulamalar araştırılmaya başlanmıştır (Balestra ve ark. 2009; Cantore ve ark. 2009). Halen bakırlı preparatların alternatifi olacak ticari ürünler piyasada bulunmamaktadır. Avrupa Birliğinin (Council Regulation 2092/91) yasaları gereği organik üretimlerde kullanılan tohum ve fide de organik üretilmiş olmalıdır. Tohum kökenli hastalıklar ve tohum hijyeni için kabul edilebilir tohum uygulamaları kullanılmalıdır. Ticari tohum firmaları çimlenme oranını artırmak ve tohumların aynı zamanda çimlenmesini sağlamak için “priming” denilen yöntemi kullanırlar. Tohumlar bilinen bir sıvıya batırılır ve dormansisi kırılmaksızın tekrar kurutulurlar. Her firmanın kullandığı priming protokolü gizli bilgidir. Bu bağlamda priming protokolüne bitki ekstraktlarını dahil etmek hem hastalık etmenleri hem de çimlenme başarısı için uygundur (Slusarenko ve ark, 2008). Tohumlardaki bakteri popülasyonunu yok etmek için sıcak su, NaOCl (hipo), organik ve inorganik asitler gibi farklı kimyasallar kullanılsa da bu uygulamalar tohum yüzeyindeki bakteriyi öldürmede başarılıyken tohumun iç kısmında yani embriyoda bulunan bakterileri öldürmede yeterli olamazlar. Ayrıca bu uygulamaların en önemli dezavantajı

tohumun çimlenme gücünü azaltmasıdır (Cantore ve ark, 2009). Bu nedenlerle bitki ekstraktları veya onların uçucu yağları üzerine pek çok araştırma yapılmaktadır.

Tıbbi ve aromatik bitkiler içerisinde bakteriyel etmenlere etkisi en çok araştırılan ve hakkında en fazla makale yazılan bitki türlerinden biri de *Allium sativum* (sarımsak)'dur. Yapılan araştırmalarda sarımsağın ana bileşenlerinin allicin, diallyl sulfide, thiosulfinala, diallyl cysteine sulfoxide olduğu belirlenmiştir (Gahukar, 2012). Sarımsak en az 33 farklı sülfürlü madde, pek çok enzim, 17 aminoasit ve selenyum gibi mineralleri de içerir (El-Astal, 2004). Sarımsağın dokuları parçalandığında alliin-lyase enziminin aktivitesi sonucu sarımsağın etkili maddesi olan allicin (diallyl thiosulfinala) açığa çıkar ve kendine has sülfürlü kokusu yayılır. Bir baş sarımsağı yaklaşık 50 gram, tek bir diş sarımsağı yaklaşık 5 gram kabul edersek bir kilo (yaklaşık 20 baş) sarımsakta 2 gram allicin bulunur. Taze sarımsağın antimikrobiyal etkisi daha güçlüdür. Hobi bahçeleri gibi küçük alanlarda hazırlanıp hemen kullanılabilir. Taze hazırlanmış sarımsak ekstraktı 4°C'de 10 gün özelliğini korurken 80°C'de 10 dakikada tüm özelliğini kaybeder. Laboratuvar çalışmalarında otoklav edildiğinde veya beş dakika kaynatıldığında antibakteriyel etki tamamen ortadan kalkar. Bu nedenle sıcağın korumak önemlidir. Buna karşın -10°C'de antibakteriyel etkisini kaybetmeden üç ay sarımsak suyu olarak saklanabilir (El-Astal, 2004). Taze sarımsak ekstraktı, insan ve bitki patojeni bakterilere karşı son derece etkili antimikrobiyal özelliğe sahiptir. Sarımsak ekstraktı *in vitro* koşullarda bitki patojeni *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in petride gelişimini engelleme yeteneğindedir. *In vitro* koşullarda insan patojeni *Esherichia coli*'ye karşı ampisilin ve kanamisin antibiyotiklerinden 10-12 kat daha güçlü etkiye sahiptir (Curtis ve ark, 2004). Sarımsak organik üretimlerde sentetik fungusitlerin alternatifi olarak düşünülebilir. Sarımsak havuç tohumlarında bulunan tohum kökenli *Alternaria* spp.'lerin,

domates ve patatestede mildiyö hastalığına neden olan *Phytophthora infestans*'ın mücadelesinde de kullanılır. Sarımsak fungal etmenleri baskı altına almasının yanı sıra bitkide salisilik asit birikimine neden olarak bitkinin dayanıklılık mekanizmasını uyarır. Bitki yapraklarına püskürtüldüğünde sadece patojenleri yok etmez aynı zamanda konukçu bitkide sistemik dayanıklılığı da uyarır (Curtis ve ark, 2004; Slusarenko ve ark, 2008). Ayrıca kuraklık stresine karşı bitkiyi koruma özelliğindedir. Bu bitkilerin yaygın kullanıldığı Çin ve Hindistan'da Amaryllidaceae familyasından *Allium cepa* (soğan) ve *Allium sativum* (sarımsak)'un fungal etmenlerden *Fusarium oxysporium*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* ve *Tetranychus urticae* adlı akarın mücadelesinde başarıyla kullanıldığı bilinmektedir (Gahukar, 2012). Bizim çalışmamızda da *in vitro* denemelerde en yüksek antimikrobiyal etkinlik sarımsak ekstraktında saptanmıştır. Fakat saksı ve arazi denemelerindeki sarımsak uygulaması diğer etkili bulunan *Cistus creticus* ve *Syzygium aromaticum* uygulamalarından daha az başarı sağlamıştır. Bunun nedeni kültür bitkisinin doğal koşullar altında yetiştirilirken çevresel faktörlerden kaynaklı etkileşimler sebebiyle etkisinin azalabilmesidir. Sarımsak ekstraktı *in vivo* denemelerde hastalığı baskılasa da tohumun çimlenmesine yaptığı olumsuz etkiden dolayı pratikte bu hastalığın mücadelesinde tohuma uygulanması önerilmemiştir. Sarımsak ekstraktının tohuma uygulanması tohum çimlenmesine negatif etki etmesine karşılık, sarımsak ekstraktının yeşil aksama uygulanması hastalık oluşumunu önemli derecede baskı altına aldığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Mirik ve Aysan (2005). Bu özelliği sayesinde bakteriyel hastalıkların mücadelesinde yeşil aksam uygulaması olarak sarımsak ekstraktlarının kullanımı önerilmektedir.

Yapılan bu çalışmada *Cistus creticus* ekstraktı saksı denemesinde hastalığı istatistiki olarak engelleyemezken tarla denemesinde hastalığı %76 oranında baskılamıştır. *Allium sativum* ekstraktının aksine *Cistus creticus* ekstraktı tohuma uygulandığında çimlenmeye herhangi bir olumsuz etkisi tespit edilmemiştir. Fas'ta yetişen *Cistus* türünden dört farklı bitki ekstraktının domates patojeni *Clavibacter*

michiganensis subsp. *michiganensis*'e antibakteriyel etkisi de kanıtlanmıştır (Talibi ve ark, 2011). *Cistus creticus* ekstraktı sadece bakteriyel hastalıklara değil hasat sonu fungal hastalıklardan turunçgillerde acı çürüklük etmeni *Geotrichum citri-aurantii*'nin mücadelesinde de başarı göstermiştir (Karim ve ark, 2017). Akdeniz ülkelerine özgü olan *Cistus* türlerinin kimyasal kompozisyonu araştırıldığında ana bileşenin carvacrol olduğu (Hutschenreuther ve ark, 2010) bunun %36'sı α -pinene, %12'si camphene, %9'u fenchone, %9'u bornyl acetate %8'i viridiflorol ve %26'sının diğer bileşenlerden oluştuğu (Vieira ve ark, 2017) saptanmıştır.

Çalışmada en başarılı bitki ekstraktı olarak saptanan *Syzygium aromaticum* ekstraktının bezelye tohumlarına uygulanması, tohum kökenli enfeksiyonu sakı denemesinde %95, tarla denemesinde %98 oranında baskılamıştır. Bu uygulama tohumun çimlenme yeteneğinde herhangi bir azalışa neden olmadığı gibi %5 artışa neden olmuştur. Kimyasal yapısının %83'ünün eugenol ve %9'unun eugenyl acetate olduğu *Syzygium aromaticum* ekstraktı, çeltikte hasat sonu fungal hastalık etmenleri *Alternaria*, *Penicillium* ve *Fusarium* türlerine (Pilar Santamarina ve ark, 2016), kakao bitkisinde patojen olan fungal etmen *Phytohthora megakarya*'ya (Nana ve ark, 2015), sorgum ve mısırdaki patojen olan fungal etmen *Aspergillus* türlerine (Satish ve ark, 2007) antifungal özellikte olduğu bilinmektedir. Ayrıca *Syzygium aromaticum* ekstraktının *Bradysia procera* (Ginseng kök mantar sivrisineği)'ya karşı ovisidal ve larvisidal aktivitesinin de olduğu yakın zamanda yapılan bir çalışmayla kanıtlanmıştır (Hong ve ark, 2018). *Syzygium aromaticum*'un etken maddesi olan eugenol'un diş eti iltihabına neden olan patojenik bakteri *Porphyromonas gingivalis*'e karşı antibakteriyel ve antibiofilm aktivitesi olduğu belirlenmiştir. Ağız ve diş sağlığı için bakteri plaklarının önlenmesinde eugenol'un sakıza ve/veya diş macununa eklenmesi önerilmiştir (Zhang ve ark, 2017).

Tarımsal üretimdeki yoğun pestisit kullanımıyla tahrip edilen ekolojik düzen sadece insan sağlığını değil, ekolojik sistem içerisinde yer alan her türlü canlı ve cansız birçok doğa unsurunu olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle

doğanın bize sunduğu zenginliklerden faydalanarak sorunlara çevreci çözümler üretmekle doğayı koruyarak tarımsal üretim gerçekleştirmekde mümkündür. Yapılan bu çalışmada da görüldüğü gibi bitki hastalıklarının mücadelesinde çevre dostu yöntemlerin entegre mücadeleye dahil edilmesi son derece önemlidir. Bu bağlamda çalışmalarımızdan elde ettiğimiz sonuçlar çerçevesinde bezelye tarımında önemli bir sorun olarak karşımıza çıkan yaprak yanıklığı hastalığı ile mücadelede *Syzygium aromaticum* ekstraktının tohuma uygulanması etkili bir çözüm olarak ekonomik bitki korumaya katkı sağlamıştır.





6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Pseudomonas syringae pv. *pisi* adlı bakteriyel etmenin neden olduğu bezelye bakteriyel yaprak yanıklık hastalığı, dünya genelinde bezelye tarımının yapıldığı alanlarda bitki sağlığını olumsuz yönde etkileyerek verim kayıplarına neden olan önemli bir bitki koruma problemidir. Tohumla taşınan bakteriyel bir patojen olan etmenin en önemli inokulum kaynağı patojenle bulaşık tohumlardır. Bu nedenle ekim sonrası yapılan bitki koruma uygulamaları hastalıkla mücadelede istenilen sonuca ulaşmakta yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle ilk inokulum kaynağı olan tohumlardan patojenin uzaklaştırılması hastalıkla mücadelede yüksek etkili, pratik ve ekonomik bir çözüm olmaktadır. Tohum uygulamalarında kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemler tohum yüzeyinde bulunan patojenin uzaklaştırılmasında etkili olurken, tohum embriyosunda bulunan patojenin yok edilmesinde istenilen başarıyı sağlamakta yetersizdir. Ayrıca bazı tohum uygulamaları tohum çimlenmesini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Tüm bu olumsuz durumların çözümünü organik tarıma uygun ve çevreci bir şekilde gerçekleştirmek ve patojenle mücadelenin etkinliği artırmak için bitkilerin bünyesinde doğal olarak bulunan sekonder metabolit olarak adlandırdığımız biyokimyasalların tohum uygulaması şeklinde kullanılması etkili bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu doğal bileşikler antimikrobiyal özellikleri sebebiyle bakteriyel, fungal ve viral etmenlere, nematod, akar ve böcek zararlılarına karşı etkili biyokimyasallardır.

Bu tez çalışması *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*'ye karşı antibakteriyel özeliğe sahip bitki ekstraktlarının tespit edilmesi, tohum uygulaması olarak kullanıldığında hastalığı baskılama oranının belirlenmesi ve uygulamaların tohumların çimlenme yeteneğine etkisinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda laboratuvar koşullarında etmene karşı test ettiğimiz 34 farklı tıbbi ve aromatik bitki ekstraktından en yüksek etkiye sahip üç bitki türünün (*Allium sativum*, *Cistus creticus*, *Syzygium aromaticum*) sulu

ekstraktları ile yaptığımız saksı ve tarla denemelerinde hastalık çıkışını baskılamada önemli ölçüde başarı sağlanmıştır. Çalışmada kullandığımız bitki ekstraktları soğuk su ekstraksiyon yöntemine göre elde edilmiştir. Bitki ekstraktlarının elde edilmesinde sıcak suda bekletme, kaynatma, farklı çözücülerde ekstraksiyon (alkol, kloroform vb) veya doğrudan bitki uçucu yağlarının kullanımı gibi yöntemler ve uygulamalar ile antibakteriyel etki belirlenebilir. Söz konusu olan bu farklı yöntemler ekstraktın içeriğinde farklı yoğunluklarda biyokimyasallar ihtiva edeceğinden antimikrobiyal etkide farklılıklar gözlenebilir. Bu sayede antibakteriyel etkisi olmadığı düşünülen bitki türlerinin farklı yöntemler kullanılarak elde edilen ekstraktları ile yapılan testlerde pozitif sonuç alınabilir.

Seralarda yapılan saksı denemesinde patojenle bulaşık bezelye tohumlarına *Cistus creticus* ekstraktı uygulandığında bitkilerin %51'inde, *Allium sativum* ekstraktı uygulandığında bitkilerin %33'ünde ve *Syzygium aromaticum* ekstraktı uygulandığında bitkilerin %3'ünde hastalık saptanmıştır. Bitkinin doğal ortamında hastalık çıkışının belirlenmesi için yaptığımız tarla denemelerinde patojenle bulaşık bezelye tohumlarına *Cistus creticus* ekstraktı uygulandığında bitkilerin %12'inde, *Allium sativum* ekstraktı uygulandığında bitkilerin %8'inde hastalık saptanmıştır. *Syzygium aromaticum* ekstraktı uygulanan tohumlardan gelişen bitkilerin %1'inde hastalık saptanmıştır. Ayrıca uygulamaların tohum fizyolojisine etkisi sonucu tohumların çimlenme yeteneğindeki değişimi belirlemek amacıyla yaptığımız denemelerde sağlıklı tohumlar *Allium sativum*'un sulu ekstraktına daldırıldığında tohumların %78'i çimlenmiştir. Bu uygulama tohumların çimlenme oranını %18 düzeyinde azaltmıştır. *Cistus creticus* ekstraktıyla uygulama görmüş tohumların %93'ü çimlenmiş ve çimlenme %3 oranında azalmıştır. Bunların aksine sağlıklı tohumlara *Syzygium aromaticum*'un sulu ekstraktı uygulandığında tohumların çimlenme oranında %5'lik artış saptanmıştır.

Tüm bu veriler göz önüne alındığında bezelye bakteriyel yaprak yanıklık hastalığının mücadelesi kapsamında uygulanacak en etkili ve doğal yöntem,

Syzygium aromaticum (Baharat Karanfil) ekstraktının ekim öncesi tohum uygulaması şeklinde kullanılmasıdır. *Syzygium aromaticum* ekstraktının tohuma uygulanması pratik ve ucuz olması, doğal ve çevreci bir çözüm olması, tohum çimlenmesine olumlu etkisi ve patojene karşı yüksek etkinliği nedeniyle bezelye tarımının yapıldığı alanlarda uygulanabilir bir yöntemdir. Ayrıca gelecekte bu bitkinin etken maddesi (eugenol) sentetik olarak üretilip hastalık mücadelesinde kullanılabilir.





KAYNAKLAR

- Alstrom, S., 1992. Antibacterial Activity of Tea and Coffee Wastes against Some Plant Pathogenic *Pseudomonas syringae* Strains. *Journal of Phytopathology*, 136: 329-334.
- Altundağ, Ş., 2007. Labiatae Familyasına Ait Bazı Endemik Türlerin Önemli Bitki Patojeni Bakteriler Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması. Gazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü Yüksek Lisans Tezi Sayfa 85.
- Anonim, 2015. Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr>
Erişim Tarihi: 28.03.2018.
- Anonim, 2014. Food And Agriculture Organization of The United Nations Database. <http://www.fao.org/home/en/>, Erişim Tarihi: 13.02.2017
- Anonim, 2011. Eppo Database on Quarantine Pests [<http://www.eppo.org>],
Erişim Tarihi: 07.03.2014
- Anonim, 2011. Türkiye İstatistik Kurumu. [<http://tuik.gov.tr>],
Erişim Tarihi: 28.03.2018
- Akça, A., 2016. Farklı Yerel Bezelye (*Pisum sativum* L.) Hatlarının Bakteriyel Yanıklık Hastalığına Reaksiyonu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi Sayfa 74.
- Aysan, Y., 2008 Bezelye'de Bakteriyel Yanıklık Hastalığı. Bitki Bakteri Hastalıkları (Editörler H. Saygılı, F. Şahin, Y. Aysan) 109-11. Meta Basım İzmir Sayfa 317.
- Balestra, G.M., Heydarı, A., Ceccarelli, D., Ovıdı, E., Quattrucci, A., 2009. Antibacterial Effect of *Allium Sativum* and *Ficus Carica* Extracts on Tomato Bacterial Pathogens. *Crop Protection*, 28: 807-811.
- Bajpai, V.K., Kang, S., Xu, H., Lee, S., Baek, K., Knag, S.C., 2011. Potential Roles of Essential Oil on Controlling Plant Pathogenic Bacteria *Xanthomonas* Species: A Review. *The Plant Pathology Journal*, 27(3): 207-224.

- Baydar, H., 2009. Sekonder Metabolitlerin Önemi. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No:51 Ziraat Fakültesi. DÜ Basım Evi. Isparta. S: 45-63.
- Benlioglu, K., Özyilmaz, Ü., Ertan, D. 2010. First Report of Bacterial Blight Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* on Pea in Turkey. Plant Disease, 94: 923.
- Cantore, P., Shanmugaiyah, V., Iacobellis, S., 2009. Antibacterial Activity of Essential Oil Components and Their Potential Use in Seed Disinfection. Agricultural and Food Chemistry, 57: 9454-9461.
- Ceyhan, E., Avcı, M., Mcphee, K., 2005. Konya Ekolojik Şartlarında Kışlık Olarak Yetiştirilen Bezelye Genotiplerinin Verim ve Bazı Tarımsal Özellikleri. S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 19 (37): 6-12
- Curtis, H., Noll, U., Störmann, J., Slusanrenko, A.J., 2004. Broad-spectrum Activity og the Volatile Phytoanticipin Allicin in Extracts of Garlic (*Allium sativum* L.) against Plant Pathogenic Bacteria, Fungi, and Oomycetes. Physiological and Molecular Plant Pathology, 65: 79-89.
- Dadasoğlu, F., Aydın, T., Kotan, R., Cakir, A., Ozer, H., Kordali, S., Cakmakci, R., Dikbas, N., Mete, E., 2011. Antibacterial Activites of Extracts and Essential Oils of Three *Origanum* Species Against Plant Pathogenic Bacteria and Their Potential Use as Seed Disinfectants. Journal of Plant Pathology, 93: 271-282.
- El-astal, Z., 2004. The Inhibitory Action of Aqueous Garlic Extract on the Growth of Certain Pathogenic Bacteria. European Journal of Plant Pathology, 218: 460-464.
- Ertan, D., 2012. Aydın ve İzmir İlleri Bezelye Üretim Alanlarında Görülen Bakteriyel Hastalıkların Saptanması. Adnan Menderes Ünğversğtesğ Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi Sayfa 89.

- Forbes, C.J., Bretag, T.W., 1991. Efficacy of Foliar Applied Streptomycin For The Control of Bacterial Blight of Peas. *Australasian Plant Pathology*, 20: 115-117.
- Gahukar, R.T., 2012. Evaluation of Plant-Derived Products against Pest and Diseases of Medicinal Plants: A review. *Crop Production*, 42: 202-209.
- Göre, E., 2003. Bezelye’de Ascochyta Hastalıklarıyla Biyolojik Mücadelede Fluoresent *Pseudomonas*’ların Etkisinin Saptanması Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Doktora Tezi Sayfa 172.
- Gritton, E.T., 1980. Field Pea. In: Hybridization of Crop Plants (Fehr. W.R. And Hadley. H.H. Eds.). American Society of Agronomy. Inc; And Crop Science Society Of America. Inc; Pp.347-356. Wisconsin, USA.
- Grondeau, C., Saunier, M., Poutier, F., Samson, R. 1992. Evaluation of Physiological and Serological Profiles of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* for Pea Blight Identification. *Plant Pathology*, 41: 495-505.
- Hollaway, G.J., Bretag, T.W., Priceb, T.V., 2007. The Epidemiology and Management of Bacterial Blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) of Field Pea (*Pisum sativum*) in Australia: A Review. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58:1086-1099.
- Hong, T., Perumalsamy, H., Jang, K., Na, E., 2018. Ovicidal and Larvicidal Activity and Possible Mode of Action of Phenylpropanoids and Ketone Identified in *Syzygium aromaticum* Bug Against *Bradysia procera*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 145: 29-38.
- Horuz, S., Koksal-Akca, A., Gunes, M., Aktepe, B.P., And Aysan, Y., 2015. Occurrence of Pea Bacterial Blight Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. 18. International Plant Protection Congress 24–27 August 2015. Berlin. Germany. Abstracts Book Page 741.

- Hutschenreuther, A., Birkemeyer, C., Grötringer, K., Straubinger, R.K., Rauwaldi, H.W., 2010. Growth Inhibiting Activity of Volatile Oil from *Cistus creticus* L. against *Borrelia burgdorferi* s.s. *In vitro*. *Pharmazie*, 65:290-295.
- Kagale, S., Marimuthu, T., Thayyumanavan, B., Nandakurmar, R., Samiyappan, R., 2004. Antimicrobial Activity and Induction of Systemic Resistance in Rice by Leaf Extract of *Datura Metel* Against *Rhizoctonia Solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 65:91-100.
- Karabuyuk, F., Aysan, Y., 2015. Antibacterial Effects of Plant Extracts on Tomato Bacterial Diseases (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Xanthomonas vesicatoria* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*). 1st International Congress on Applied Biological Sciences. 16-20 September 2015 Üsküp (Makedonya). Abstracts Book Page 81.
- Karabuyuk, F., Aysan, Y., 2016. Aqueous Plant Extracts as Seed Treatments on Tomato Bacterial Speck Disease. 5 Th International Symposium on Tomato Diseases. Malaga. Spain, June 13-16. 2016. Page 96.
- Karim, H., Boubaker, H., Askarne, L., Cherifi, K., Lakhtar, H., Msanda, F., Boudyach, E.H., Aoumr, A., 2017. Use of *Cistus* Aqueous Extracts as Botanical Fungicides in Control of Citrus Sour Rot. *Microbial Pathogenesis*, 104: 263-267.
- Kaya, M., Şanlı, A., 2005. Bezelye (*Pisum sativum* L.)' de İlk Gelişme Devresinde Kök ve Toprak Üstü Organlarının Durumu. Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi Bildirileri. Cilt I. (5-9 Eylül 2005), 51-55. Antalya.
- Kotan, R., Dadasoglu, F., Karagoz, K., Cakir, A., Ozer, H., Kordali, S., Cakmakci, R., Dikbas, N., 2013. Antibacterial Activities of Essential Oils and Extracts of *Satureja hortensis* against Plant Pathogenic Bacteria and Their Potential Use as Seed Disinfectants. *Scientia Horticulturae*, 153: 34-41.

- Kotan, R., Cakir, A., Dadasoglu, F., Aydin, T., Cakmakci, R., Ozer, H., Kordali, S., Mete, E., Dikbas, N., 2009. Antibacterial Activities of Essential Oils and Extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* Species against Plant Pathogenic Bacteria. *Society of Chemical Industry*, 90: 145-160.
- Kotan, R., Kordali, S., Cakir, A., 2007. Screening of Antibacterial Activities of Twenty-One Oxygenated Monoterpenes. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, 62:7-8.
- Lawyer, A.S. 1984. Diseases Caused by Bacteria. In: *Compendium of Pea Diseases* (Hagedorn, D.J., Ed.), American Phytopathological Society Press, pp.8-11, USA.
- Lelliott, R.A., Stead, D.E., 1987. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. *Methods in Plant Pathology Volume 2* (Series editor T. F. Preece). Published on behalf of the British Society for Plant Pathology by Blackwell Scientific Publications. Oxford. UK. 219 pages.
- Martin-Sanz, A., Garcia Vaquero, C.A., Caminero Saldana, C. 2005. Pea Bacterial Blight: A Problem in Castilla y León. *Grain Legumes*, 41: 8-9.
- Mangamma, P., A. Speeramula, 1981. Garlic Extract Inhibitory to Growth of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Indian Phytopathology*, 44:372.
- Masangwa, J.I.G., Kritzinger, Q., Avelling, T.A.S., 2017. Germination and Seedling Emergence Responses of Common Bean and Cowpea to Plant Extract Seed Treatments. *Journal of Agricultural Science*, 155: 18-31.
- Mbega, E.R., Mortensen, C.N., Mabagala, R.B., Wulff, E.G., 2012. The Effect of Plant Extracts as Seed Treatments to Control Bacterial Leaf of Tomato in Tanzania. *Journal of General Plant Pathology*, 78: 277-286.
- Mengulluoglu, M., Soylu, S., 2012. Antibacterial Activities of Essential Oils Extracted from Medicinal Plants Against Seed-Borne Bacterial Disease Agent, *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Research on Crops*, 13(2): 641-646.

- Mervad, A.M.A., 2018. Using *Moringa oleifera* extract as Biostimulant Enhancing the Growth, yield and Nutrients Accumulation of Pea Plants. *Journal of Plant Nutrition*, 4: 425-431.
- Mirik, M., Aysan, Y., 2005. Effect of Some Plant Extracts As Seed Treatment on Bacterial Spot Disease of Tomato and Pepper. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 34(1-3): 9-16.
- Nana, W., Eke, P., Fokom, R., Bakanrga-Via, I., Begoude, D., Tchana, T., Tchameni, N., Kuate, J., Menut, C., Boyom, F., 2015. Antimicrobial Activity of *Syzygium aromaticum* and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Essential Oil against *Phytophthora megakarya*. *Journal Phytopathology*, 163: 632-641.
- Nguefack, J., Somda, I., Mortensen, C.N., Amvam Zollo, P.H., 2005. Evaluation of Five Essential Oils from Aromatic Plants of Cameroon for Controlling Seed-Borne Bacteria of Rice (*Oryza sativa* L.). *Seed Science and Technology*, 33: 397-407.
- Noor, M.A., Ahmad, W., Afzal, I., Salamh, A., Afzal, M., Ahmad, A., Ming, Z., Wei, M., 2016. Pea Seed Invigoration by Priming with Magnetized Water and *Moringa* Leaf Extract. *Philipp Agric Scientist*, 2: 171-175.
- Özdemir, S., 2002. *Yemeklik Baklagiller*. Hasad Yayıncılık. İstanbul.
- Parry, D.W. 1990. *Plant Pathology in Agriculture*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Pilar Santamarina, M., Rosello, J., Gimenez, S., Blazques, M., 2016. Commercial *Laurus nobilis* L. and *Syzygium aromaticum* L. Merr. & Perry Essential Oils against Post-harvest Phytopathogenic Fungi on Rice. *Food Science and Technology*, 65: 325-332.
- Reeves, J.C., Hutchins, J.D., Simpkins, S.A. 1996. The Incidence of Races of *Pseudomonas syringae* pv. *lisi* in UK pea (*Pisum sativum*) seed stocks, 1987-1994. *Plant Varieties and Seeds*, 9: 1-8.

- Roberts. S.J. 1997. Effect of Weather Conditions on Local Spread and Infection by Pea Bacterial Blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisii*). European Journal of Plant Pathology, 103: 711-719.
- Satish, S., Mohana, D.C., Raghavendra, M.P., Raveesha, K.A., 2007. Antifungal Activity of Some Plant Extracts against Important Seed-borne Pathogens of *Aspergillus* sp.. Journal of Agricultural Technology, 3: 109-119.
- Satish, S., Raveesha, K.A., Janardhana, G.R., 1998. Antibacterial Activity of Plant Extracts on Phytopathogenic *Xanthomonas campestris* Pathovars. Letters in Applied Microbiology, 28: 145-147.
- Savoia, D., 2011. Plant-derived Antimicrobial Compounds: Alternatives to Antibiotics. Future Microbiology, 7(8): 979-990.
- Sedghi, M., Gholi-Tolue, S., 2013. Influence of Salicylic Acid on the Antimicrobial Potential of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni, Asteracea) Leaf Extracts against Soybean Seed-Borne Pathogens. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 6: 1035-1038.
- Slusarenko, A.J., Patel, A., Ports, D., 2008. Control of Plant Diseases by Natural Products: Allicin from Garlic as a Case Study. European Journal of Plant Pathology, 121: 313-322.
- Steven, T.K., Gladders, P., Paylus, A.O. 2007. Vegetable Diseases a Colour Handbook. Academic Press, USA.
- Talibi, I., Amkraz, N., Askarne, L., Msanda, F., Saadi, B., Boudyach, E.H., Boubaker, H., Bouizgarne, B., Ait Ben aoumar, A., 2011. Antibacterial Activity of Moroccan Plants Extracts Against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, the Causal Agent of Tomatoes Bacterial Canker. Journal of Medicinal Plants Research, 5: 4332-4338.
- Taylor, J.D., Dye, D.W., 1975. Evaluation of Streptomycin Seed Treatments for Control of Bacterial Blight of Peas (*Pseudomonas pisi* Sackett 1916). Journal of Agricultural Research, 19: 91-95.

- Taylor, J.D. 1972. Specificity of Bacteriophages and Antiserum for *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*. New Zealand Journal of Agricultural Research, 15: 421-431.
- Tinivella F., Hirata, L., Celan, M., Wright, Sandra, Amein, T., Schmitt, A., Koch, E., Wolf, M., Groot, S., Stephan, D., Garibaldi, A., Gullino, M., 2009. Control of Seed-borne Pathogens on Legumes by Microbial and Other Alternative Seed Treatments. European Journal of Plant Pathology, 123: 139-151.
- Topal, M., Şenel, G., Topal, E., Öbek, E., 2015. Antibiyotikler ve Kullanım Alanları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 31(3):121-127
- Verma, K.A., Agrawal, K., Arora, P., 2015a. Incidence of Bacterial Blight Pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in Pea Seeds Grown in Rajasthan, India. Legume Research, 6: 1034-1037.
- Verma. K.A.. Agrawal. K.. 2015b. Bio-Efficacy of Some Medicinal Plant Extracts Against *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* Causing Bacterial Blight of Pea. International Journal of Pharmacology and Toxicology, 5(1): 67-70.
- Verma, K.A., Agrawal, K., 2017. *In vitro* Evaluation of Antibacterial Activity of Some Medicinal Plants Against *Xanthomonas pisi* Causing Leaf Spot of Pea. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 29: 156-159.
- Vieira, M., Bessa, L.J., Matins, M.R., Arentes, S., Teixeira, A.P.S., Mendes, A., Costa, P.M., Belo, A.D.F., 2017. Chemical Composition, Antibacterial, Antibiofilm and Synergistic Properties of Essential Oil from *Eucalyptus globulus* Labill. and Seven Mediterranean Aromatic Plants. Chemistry and Biodiversity, 6: 1-12.
- Zhang, Y., Wang, Y., Zhu, X., Cao, P., Wei, S., Lu, Y., 2017. Antibacterial and Antibiofilm Activities of Eugenol from Essential Oil of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr & L. M. Perry (clove) Leaf Against Periodontal Pathogen *Porphyromonas gingivalis*. Microbial Pathogenesis, 113: 396-402.

ÖZGEÇMİŞ

Mustafa Alparslan UMARUSMAN, 1989 yılı Kadirli doğumlu olup öğrenim hayatına Adana' da başlamıştır. 2013 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü' nden mezun olmuştur. 2013-2014 eğitim döneminde Mediterranean Agronomic Institute of Bari CIHEAM IAMB/İtalya'da "Integrated Pest Management (IPM)" konulu tezsiz master çalışmasını tamamlamıştır. 2015 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Anabilim Dalı ve Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans çalışmalarına başlamıştır. 2016 yılında Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Tarım ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Bölümünde araştırma görevlisi olarak akademik hayatına başlamış ve halen bu görevini sürdürmektedir.



EKLER



EK 1) İstatistiki Analizler

Bitki Ekstraktlarının Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Yaprak Yanıklığı Hastalığına Etkisi (Saksı Denemesi)

ANOVA

2018-03-27 10:28:21

Using: C:\Documents and Settings\BAKTERYOLOJ\Desktop\saks.dt

.AOV Filename: 1WCR.AOV - 1 Way Completely Randomized

Y Column: 3) A 1 de eri

1st Factor: 1) C1

Keep If:

Source	df	Type I SS	MS	F	P

Main Effects					
C1	4	8812.757	2203.1893	12.599384	.0001 ***
Error	15	2622.9725	174.86483<-		

Total	19	11435.7295			
Model	4	8812.757	2203.1893	12.599384	.0001 ***

Test: Duncan's

Significance Level: 0.05

Variance: 174.864833333

Degrees of Freedom: 15

Keep If:

n Means = 5

LSD 0.05 = 19.9301835331

Rank	Mean Name	Mean	n	Non-significant ranges
1	Pozitif Kontrol	51.75	4	a
2	<i>Cistus creticus</i>	45.025	4	a
3	<i>Allium sativum</i>	33.875	4	a
4	<i>Syzygium aromaticum</i>	4.875	4	b
5	Negatif Kontrol	0	4	b

Bitki Ekstraktlarının Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Yaprak Yanıklığı Hastalığına Etkisi (Tarla Denemesi)

ANOVA

2018-03-27 08:22:17

Using: C:\Documents and Settings\BAKTERYOLOJ\Desktop\Yeni Microsoft Excel Çalma Sayfas.dt

Rows of data with missing values removed: 0

Rows which remain: 25

Source	df	Type I	SS	MS	F	P

Main Effects						
C1	4	6197.033552	1549.2584	76.312711	.0000	***
Error	20	406.0289213	20.301446	<-		

Total	24	6603.062473				

Test: Duncan's

Significance Level: 0.05

Variance: 20.3014460667

Degrees of Freedom: 20

Keep If:

n Means = 5

LSD 0.05 = 5.94429256703

Rank	Mean	Name	Mean	n	Non-significant ranges

1		Pozitif Kontrol	44.5841462	5	a
2		<i>Cistus creticus</i>	19.506768	5	b
3		<i>Allium sativum</i>	14.867982	5	b
4		<i>Syzygium aromaticum</i>	3.5874582	5	c
5		Negatif Kontrol	0	5	c

Tohum Uygulamalarının Çimlenmeye Etkisi

2018-03-28 10:50:10

Using: C:\Documents and Settings\BAKTERYOLOJ\Desktop\Çimlenme
Mustafa.dt

Source	df	Type I SS	MS	F	P
--------	----	-----------	----	---	---

Main Effects

C1	3	1595.044364	531.68145	5.7973156	.0109 *
Error	12	1100.539963	91.711664	<-	

Total 15 2695.584327

Model 3 1595.044364 531.68145 5.7973156 .0109 *

$R^2 = SS_{\text{model}}/SS_{\text{total}} = 0.59172489909$

Root MSerror = $\sqrt{MS_{\text{error}}} = 9.57662067645$

Mean Y = 77.9583456875

Coefficient of Variation = $(\text{Root MSerror}) / \text{abs}(\text{Mean Y}) * 100\% = 12.284279\%$

Compare Means

Factor: 1) C1

Test: Duncan's

Significance Level: 0.05

Variance: 91.7116635805

Degrees of Freedom: 12

Keep If:

n Means = 4

LSD 0.05 = 14.7542525046

Rank	Mean Name	Mean	n	Non-significant ranges
------	-----------	------	---	------------------------

1	<i>Syzygium aromaticum</i>	90	4	a
2	Negatif Kontrol	80.7825255	4	a
3	<i>Cistus creticus</i>	78.75	4	a
4	<i>Allium sativum</i>	62.30085725	4	b

Ek 2. Araştırma Verileri

In vitro Petri Denemelerinin Farklı Dozlardaki Ortalama İnhibisyon Zon Çizelgesi

Bitki Ekstraktları	Ortalama Engelleme Zonu (mm)		
	10 µl	15 µl	20 µl
P.K. (25 µg Streptomycin)	17	17	17
N.K. (Steril Saf Su)	0	0	0
1 <i>Achillea nobilis</i>	0	0	0
2 <i>Allium sativum</i>	3	6	8
3 <i>Aloe vera</i>	1	1	2
4 <i>Arum rupicola</i>	0	0	0
5 <i>Capparis spinosa</i>	0	0	0
6 <i>Cistus creticus</i>	1	2	4
7 <i>Cupressus arizonica</i>	0	0	0
8 <i>Eucalyptus</i> sp.	0	0	0
9 <i>Ferula communis</i>	0	0	0
10 <i>Helichrysum italicum</i>	0	0	0
11 <i>Juglans regia</i>	0	0	0
12 <i>Laurus nobilis</i>	0	0	0
13 <i>Lavandula angustifolia</i>	0	0	0
14 <i>Lavandula stoechas</i>	0	0	0
15 <i>Matricaria recutita</i>	0	0	1
16 <i>Melissa officinalis</i>	0	0	0
17 <i>Mentha arvensis</i>	0	0	0
18 <i>Mentha piperita</i>	0	0	0
19 <i>Micromeria fruticosa</i>	0	0	0
20 <i>Myrtus communis</i>	0	0	0
21 <i>Nerium oleander</i>	0	0	0
22 <i>Nigella sativa</i>	0	1	2
23 <i>Origanum onites</i>	0	0	1
24 <i>Origanum vulgare</i>	0	0	0
25 <i>Rosmarinus officinalis</i>	0	1	1
26 <i>Salvia hispanica</i>	0	0	0
27 <i>Salvia officinalis</i>	0	0	0
28 <i>Santolina chamaecyparissus</i>	0	0	0
29 <i>Satureja hortensis</i>	0	0	0
30 <i>Syzygium aromaticum</i>	1	1	3
31 <i>Thymbra spicata</i>	0	0	0
32 <i>Thymus citriodorus</i>	0	0	0
33 <i>Thymus vulgaris</i>	0	0	0
34 <i>Zingiber officinale</i>	0	0	1

Farklı Tohum Uygulamalarının Hastalık Çıkışına Etkisi (Saksı Denemesi)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Hast. Bitki	Hast. Oranı (%)	Ort. Hast. (%)	Etki (%)
<i>Allium sativum</i>	10	9	1	11.1	32.50a	46.89
	10	9	6	66.7		
	10	9	2	22.2		
	10	10	3	30.0		
<i>Cistus creticus</i>	10	10	1	10.0	50.60a	17.32
	10	7	6	85.7		
	10	9	6	66.7		
	10	10	4	40.0		
<i>Syzygium aromaticum</i>	10	10	0	0.0	2.78 b	95.46
	10	10	0	0.0		
	10	9	1	11.1		
	10	10	0	0.0		
Pozitif Kontrol	10	10	4	40.0	61.19a	
	10	9	7	77.8		
	10	9	5	55.6		
	10	7	5	71.4		
Negatif Kontrol	10	8	0	0.0	0.00 b	
	10	9	0	0.0		
	10	9	0	0.0		
	10	10	0	0.0		

Farklı Tohum Uygulamalarının Hastalık Çıkışına Etkisi (Tarla Denemesi)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Hast. Bitki	Hast. Oranı (%)	Ort. Hast. (%)	Etki (%)
<i>Allium sativum</i>	60	50	7	14.0	7.58 b	84.61
	60	60	7	11.7		
	60	60	1	1.7		
	60	55	1	1.8		
	60	57	5	8.8		
<i>Cistus creticus</i>	60	60	9	15.0	11.61 b	76.45
	60	60	6	10.0		
	60	60	10	16.7		
	60	41	5	12.2		
	60	48	2	4.2		
<i>Syzygium aromaticum</i>	60	60	0	0.0	1.00 c	97.97
	60	57	0	0.0		
	60	60	2	3.3		
	60	60	1	1.7		
	60	47	0	0.0		
Pozitif Kontrol	60	51	28	54.9	49.28a	
	60	54	26	48.1		
	60	60	26	43.3		
	60	58	29	50.0		
	60	58	29	50.0		
Negatif Kontrol	60	38	0	0.0	0.00 c	
	60	56	0	0.0		
	60	60	0	0.0		
	60	58	0	0.0		
	60	55	0	0.0		

Farklı Tohum Uygulamalarının Çimlenmeye Etkisi

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Çimlenme (%)	Ort. Çim (%)	Çimlenmedeki Fark (%)
<i>Allium sativum</i>	10	9	90	77.5 b	18.42
	10	6	60		
	10	8	80		
	10	8	80		
<i>Cistus creticus</i>	10	10	100	92.5a	2.63
	10	8	80		
	10	9	90		
	10	10	100		
<i>Syzygium aromaticum</i>	10	10	100	100a	-5.26
	10	10	100		
	10	10	100		
	10	10	100		
Negatif Kontrol	10	9	90	95a	
	10	10	100		
	10	10	100		
	10	9	90		