

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**KÖK BAKTERİLERİNİN DOMATES  
BAKTERİYEL BENEK (*Pseudomonas syringae*  
*pv.tomato*) HASTALIĞINA KARŞI SİSTEMİK  
DAYANIKLILIĞI UYARMA POTANSİYELLERİNİN  
(ISR) PHENYL-ALANINE AMMONIA LYASE (PAL)  
ENZİMİ AKTİVASYONUyla İLİŞKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Nagihan ÖZEL**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN**

**Bitki Koruma Anabilim Dalı**

**Bilim Dalı Kodu: 501.03.01**

**Sunuş Tarihi:**

**Bornova – İZMİR  
2010**



**Nagihan Özel tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “ Kök Bakterilerinin Domates Bakteriyel Benek Hastalığına Karşı Sistemik Dayanıklılığı Uyarma Potansiyellerinin (ISR) Phenyl-Alanine Ammonia Lyase (PAL) Enzimi Aktivasyonu İlişkisinin Araştırılması ” başlıklı bu çalışma E.Ü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunulmaya değer bulunmuş ve 24.09.2010 tarihinde aday oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuştur.**

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

**Jüri Başkanı : Prof.Dr.Hatice ÖZAKTAN .....**

**Üye : Prof.Dr.Gülay TURHAN .....**

**Üye : Prof.Dr.Ayşe GÜL .....**



**ÖZET****KÖK BAKTERİLERİNİN DOMATES BAKTERİYEL BENEK  
(*Pseudomonas syringae pv.tomato*)  
HASTALIĞINA KARŞI SİSTEMİK DAYANIKLILIĞI UYARMA  
POTANSİYELLERİNİN (ISR) PHENYL-ALANINE AMMONIA  
LYASE(PAL) ENZİMİ AKTİVASYONUyla İLİŞKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI****ÖZEL, Nagihan**

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice Özaktan

Temmuz 2010, 42 sayfa

Bu çalışmanın amacı, kökbakterilerinin bakteriyel benek hastalığı etmeni *Pseudomonas syringae pv.tomato*'ya karşı domates bitkilerinde sistemik dayanıklılığı uyarma potansiyellerini değerlendirmektir. Çalışmada sağlıklı domates bitkilerinden izole edilen ve daha önce *P.syringae pv.tomato*'ya karşı etkili bulunan 5 kökbakterisi kullanılmıştır. Kökbakterileri tohum bakterizasyonu yoluyla uygulanarak *P.syringae pv.tomato*'ya karşı etkililiği saksı testleriyle değerlendirilmiştir. Ayrıca, kökbakterileri tarafından uyarılmış konukçu bitkide enfeksiyona karşı savunma ile ilişkili anahtar enzim olan Phenylalanine Ammonia-Lyase (PAL) aktivasyonundaki değişim kökbakterileri ile tohum bakterizasyonundan sonra, *P.syringae pv.tomato* ile inokule edilen domates bitkilerinin yapraklarında araştırılmıştır. Testlenen kökbakterileri patojenin gelişimini, Kontrol (+) bitkileriyle karşılaştırıldığında, %27-77 oranında engelleyerek domates bitkisinde sistemik dayanıklılığı uyarma potansiyelleri olduğunu göstermiştir. Konukçu bitkide PAL enzimi aktivitesindeki değişim, domates bitkilerinde bakteriyel benek hastalığındaki azalma ile PAL enziminin düzeyindeki artış arasında paralellik saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Bitki gelişimini artıran kökbakterileri (PGPR), biyolojik mücadele, domateste bakteriyel benek hasatlığı, *Pseudomonas syringae pv.tomato*, uyarılmış sistemik dayanıklılık, Phenylalanine Ammonia-Lyase (PAL)



**ABSTRACT****INVESTIGATION OF RELATIONSHIP BETWEEN THE ACTIVATION OF PHENYLALANINE AMMONIA-LYASE (PAL) ENZYME AND INDUCTION OF SYSTEMIC RESISTANCE ON TOMATO PLANTS AGAINST BACTERIAL SPECK DISEASE OF TOMATO (*Pseudomonas syringae* pv.*tomato*) BY RHIZOBACTERIA****ÖZEL, Nagihan**

MSc in Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

July 2009, 42 pages

The objective of this study was to evaluate the possible effects of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inducing systemic resistance on tomato plants against bacterial speck disease of tomato caused by *Pseudomonas syringae* pv.*tomato*. Five different rhizobacteria strains, which were isolated from healthy tomato plants and effectively inhibited the bacterial speck disease of tomato plants were tested in this study. The strains of rhizobacteria were applied as seed bacterization and evaluated for effectiveness to the spray inoculation of *P.syringae* pv.*tomato* onto tomato leaves by pot test. On the other hand, Phenylalanine Ammonia-Lyase (PAL) activity, which is a defence-related enzyme, was estimated spectrophotometrically in foliar extracts of tomato plants grown from seeds that were bacterized with PGPR strains, and inoculated with *P.syringae* pv.*tomato*. Rhizobacteria strains were found to be effective by showing 27% to 77% reduction in disease severity compared to the treatment with alone. These results indicated that seed bacterization with PGPR strains could induce systemic resistance in tomato plants to *P.syringae* pv.*tomato* infection.. The reduction in the incidence of bacterial speck disease of tomato was found to be correlative to the amount of increased level of PAL.

**Key Words:** plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), biocontrol, bacterial speck of tomato, *Pseudomonas syringae* pv.*tomato*, induced systemic resistance, Phenylalanine Ammonia-Lyase (PAL)





## TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya başlamam konusunda beni teşvik eden ve çalışmamın her aşamasında beni sonuna kadar destekleyen, görüş, düşünce ve tecrübesiyle bana yol gösteren ve benim için çok değerli olan danışman hocam Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN'a,

Laboratuar aşamasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Senem AKAT, Arş. Gör. Ahmet AKKÖPRÜ ve Arş. Gör. Adem BOZKURT'a,

Çalışmama devam etme olanağı sağlayan ve desteğini esirgemeyen Eşme İlçe Tarım Müdürüm Bülent Çiftçi'ye

Ve hayatımın her anında yanımda olan ve bana her konuda güç veren anneme ve kardeşlerime

Teşekkür ederim.



## İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa</u></b>
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vii
TEŞEKKÜR .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xv
KISALTMALAR DİZİNİ .....	xvii
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	7
2.1. Hastalık Etmeni .....	7
2.2. Hastalığın Epidemiyolojisi .....	7
2.3. Hastalığın Mücadelesi .....	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	11
3.1. Materyal .....	11
3.1.1. Bitkisel materyal .....	11
3.1.2. Bitki yetiştirme ortamı .....	11
3.1.3. Çalışmada kullanılan besi yerleri .....	11
3.1.4. Çalışmada kullanılan tampon çözeltiler .....	12
3.1.5. Çalışmada kullanılan test patojeni .....	12
3.1.6. Çalışmada kullanılan bakteriyel antagonistler .....	12
3.2. Yöntem .....	13
3.2.1. Araştırmada kullanılan bakteriyel antagonistlerin domates tohumlarına kaplanması .....	13
3.2.2. Patojen bakterinin inokulasyonu .....	14
3.2.3. Antagonistlerin in vivo koşullarda Pst'ye etkisinin testlenmesi .....	15

3.2.4. Antagonistlerin konukçu bitkide PAL enzimi aktivitesine etkisinin testlenmesi.....	16
4. BULGULAR.....	20
4.1. In vivo Testlerin Sonuçları.....	20
4.2. Kökbakterisi Uygulamalarının Domates Bitkilerinde PAL Enzimi Aktivitesine Etkisinin Belirlenmesi .....	23
5. TARTIŞMA .....	26
6. SONUÇ ve ÖNERİLER .....	33
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	35
ÖZGEÇMİŞ .....	43

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Bakteriyel Benek Hastalığı <i>P.syringae pv. tomato</i> 'nun yapraklarda oluşturduğu lekeler .....	5
Şekil 1.2. Bakteriyel Benek Hastalığı <i>P.syringae pv. tomato</i> 'nun meyvelerde oluşturduğu püstüller .....	5
Şekil 3.1. CMC süspansiyonun Petriye Pülverize edilmesi .....	13
Şekil 3.2. Süspansiyon içerisinde tohumların aktarılması .....	13
Şekil 3.3. Antagonistlerle tohum bakterizasyonu .....	14
Şekil 3.4. Tohumların viyollere ekimi .....	14
Şekil 3.5. Antagonistin bitkilere pülverize edilişi.....	14
Şekil 3.6. Uygulama gören domates bitkilerinin yüksek oransal nemde tutulması .....	16
Şekil 3.7. Patojenin hastalık şiddetini değerlendirmede kullanılan 0 - 5 Skalası	16
Şekil 3.8. Yaprak örneklerinin alınışı .....	17
Şekil 3.9. Yaprak örneklerine sıvı azot aktarılması .....	17
Şekil 3.10. - 20°C'de saklamak üzere hazırlanan kurutulmuş yaprak örnekleri ..	17
Şekil 3.11. Yaprak örneklerinin süspansiyon edilişi.....	18
Şekil 4.1. Kökbakterilerinin bakteriyel benek hastalığı etmeni <i>P.syringae pv.tomato</i> 'ya karşı domates bitkilerinde sistemik dayanıklılığı uyarma yoluyla biyolojik mücadele potansiyellerine ilişkin sonuçlar.....	21
Şekil 4.2. 70 no'lu( <i>Pseudomonas fluorescens</i> ) antagonistin Pst'ye karşı etkisi..	22
Şekil 4.3. K(+)'nin görünümü .....	22
Şekil 4.4. 18/1K no.lu antagonistin Pst'ye etkisi.....	22
Şekil 4.5. 62 no.lu antagonistin Pst'ye etkisi.....	23
Şekil 4.6. 66/3 no.lu antagonistin Pst'ye etkisi.....	23

Şekil 4.7. Tohumlarına Kökbakterisi uygulanan domates bitkilerinde Pst inokulasyonundan sonra zamana bağlı olarak Pal enzimi düzeyindeki değişim ( $\mu\text{g}/\text{gram}$  taze yaprak.....25

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<b><u>Çizelge</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 1.1. Türkiye genelinde 2000-2008 yıllarında domates üretim değerleri .	1
Çizelge 3.1. Farklı ppm dozlarında cinnamic asit dozları ve abs değerleri .....	19
Çizelge 4.1 Tohum Bakterizasyonu yoluyla uygulanan KB'lerinin <i>in vivo</i> saksı testinde Pst'ye karşı etkisine ilişkin sonuçlar .....	21
Çizelge 4.2. Tohumlarına Kökbakterisi uygulanan domates bitkilerinde patojen bakteri Pst inokule edildikten sonra yapraklarda Pal enzimi düzeyindeki değişim.....	24





**KISALTMALAR DİZİNİ****Kısaltmalar****Açıklama**

CMC	Carboxy Methyl Cellulose
ISR	Induced Systemic Resistance
KB	Kökbakterileri
K -	Kontrol Negatif
K+	Kontrol Pozitif
NGA	Nutrient Glycerol Agar
PAL	Phenyl –alanine ammonia lyase
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria
PMSF	Phenylmethylsulfonyl
Pst	<i>Pseudomonas syringae pv. tomato</i>
PVP	Polyvinylpyrrolidone



## 1.GİRİŞ

Domates, dünyada en çok üretilen, tüketilen ve ticarete konu olan tarım ürünlerinin başında gelmesi, insan beslenmesindeki vazgeçilmez ürünlerden olması ve gıda sanayiinde dondurulmuş, konserve, salça, ketçap, turşu gibi çok çeşitli kullanım alanlarına sahip olması nedeniyle önemli sebzelerin başında gelmektedir (Keskin ve Gül, 2004).

Dünya domates üretiminde AB, Çin ve ABD'den sonra Türkiye dördüncü sırada yer almaktadır. Nitekim 2005 yılı itibariyle dünya taze domates üretiminin %7,9'u Türkiye tarafından gerçekleştirilmiştir.(FAO, 2006). Türkiye'de yine 2005 yılı itibariyle toplam 1.048803 ha sebze alanının %24,8'i domates tarımı için kullanılmış ve 2005 yılında toplam 9.700.000 ton domates üretimi gerçekleştirilmiştir (TÜİK, 2006).

Türkiye genelinde açık ve örtü altı domates yetiştiriciliği son yıllarda önemli derecede artış göstermiştir. 2000-2008 yılları arasındaki domates üretim değerleri Çizelge 1.1 'de görülmektedir.

**Çizelge 1.1** Türkiye genelinde 2000-2008 yıllarında domates üretim değerleri (www.tuik.gov.tr ,2009).

YIL	Domates Üretimi (ton)		
	Sofralık	Salçalık	Toplam
2000	-	-	8890000
2001	-	-	8425000
2002	-	-	9450000
2003	-	-	9820000
2004	-	-	9440000
2005	7067000	2983000	10050000
2006	6912745	2942132	98547777
2007	6971650	2973393	9945043
2008	7419814	3565541	10985355

Çizelgedeki veriler incelendiğinde; Türkiye genelinde toplam domates üretiminin yıldan yıla artış gösterdiği görülmektedir. 2000 yılı verilerine göre toplam domates üretimi 8890000 ton iken bu değer 2008 yılında 10985355 tona çıkmıştır. Buna göre 2008 yılındaki üretim 2000 yılına göre %23 oranında artmıştır.

Domates Türkiye’de açıkta tarla sebzeçiliği ve örtü altı üretimi şeklinde üretilmektedir. Domates üretiminde bölgesel yoğunlaşmaya bağlı olarak, domates işleme sanayii Marmara ve Ege bölgelerinde yoğunlaşmıştır. Akdeniz Bölgesi ise daha çok taze tüketime yönelik sera tipi üretimde yoğunlaşmıştır (Arıkbay, 1996).

Türkiye ‘de domates verimi 2005 yılı itibariyle 3,73 ton/da olup, bu değer dünya ortalamasının (dünya ortalaması 2,70 ton/da) üzerindedir. Ancak 25 üyeli AB’deki verimden de (AB ortalaması 5,87 ton/da) düşüktür (FAO, 2006). Türkiye’de domates verimi son yıllarda kaliteli tohum ve teknolojik üretim sistemlerinin kullanılmasına bağlı olarak artış göstermektedir.

2004 yılı üretim sezonu sonunda dünya genelinde 120.000 milyon ton domates üretimi yapılmış ve bunun ise 9.440 milyon ton’luk kısmı ülkemizde yapılmıştır. Meyvesi yenen sebzeler içinde de domatesin önemi büyüktür. Ülkemizde toplam meyvesi yenen sebzeler 19. 769. 000 ton’luk bir üretim payına sahip iken, domates ise toplam üretimin % 45 – 50’ sini oluşturmaktadır (<http://www.tuik.gov.tr>, 2006). Domates, 1- 30 Haziran 2005 tarihleri arasında 193 bin 266 ton ihracatıyla meyvesi yenen sebze grubu içinde birinci sırayı almış ve bu ihracattan 120 milyon 699 bin dolar gelir elde edilmiştir (<http://www.antalya.bel.tr>, 2006). Toplam yaş sebze üretim alanı içerisinde % 24,8 üretim miktarı içerisinde ise % 38,2 ile önemli bir yere sahiptir (FAO, 2006).

Domates hem açıkta hem de örtü altı yetiştiriciliği yapılan bir sebzedir. Ülkemizde toplam örtü altı yetiştiriciliğinin %50,8’ inde domates üretimi yapılmaktadır. 2001 yılı verilerine göre 143.543 da alanda örtü altı domates yetiştiriciliği yapılmış ve 1.417. 667 ton’luk bir verim elde edilmiştir (Keskin ve ark, 2004).

Domates yetiştiriciliğindeki olumlu gelişmelere paralel olarak hastalık sorunları da artış göstermektedir. Tohumculuk sektörünün gelişmesi ve yurtdışından hızlı tohumluk girişi nedeniyle özellikle bakteriyel ve viral hastalıklarda büyük artış olmuştur. Bakteriyel hastalıkların tohumla bulaşabilme özelliği yanında fideliklerdeki koşulların bakterilerin gelişmesi için uygun oluşu ve sık dikim yapılması, hastalıkların yayılmasında etkili olmaktadır (Karaca ve Saygılı, 1977).

Domateste sorun olan bakteriyel hastalıklar incelendiğinde 3 önemli etmen öne çıkmaktadır. Bunlar; *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) 'in neden olduğu Domates Bakteriyel Solgunluğu Hastalığı; *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* Doidge Dye'nın neden olduğu Bakteriyel Leke Hastalığı ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Okabe'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığıdır (Karaca ve Saygılı, 1979).

Bu etmenlerden *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst) ilk kez , 1929'da Amerika Birleşik Devletlerinde Wisconsin'de, 1930'da Florida'da, 1933 yılında Formosa adasında (Japonya) görülmüştür (Okabe ,1933). 1931'de Florida'da yapılan detaylı çalışmalar ile yeni bir hastalık olarak tanımlanmıştır (Bryan,1933). Her ne kadar 1930'lu yılların başından beri hastalığın varlığı bilinse de 1978'e kadar yoğun epidemilerine rastlanılmamıştır. 1978'de ABD'nin Georgia eyaletinde 1600 dekarlık fide üretim alanındaki tüm bitkilerin bu hastalıktan dolayı imha edilmesinden sonra hastalık dikkat çekmeye başlamıştır. Fide üretimlerinin yapıldığı tarlada tek bir bitkinin hasta olması tehlike teşkil etmektedir. Hastalık uygun koşullarda kısa sürede diğer bitkilere hızlı bir şekilde yayılma özelliğine sahiptir (Smitley ve Mc Carter ,1982;Mc Carter ve ark.,1983).

Hastalık sonraları domates yetiştirilen tüm ülkelere yayılmıştır. ABD'nin pek çok eyaleti, İsrail, İsviçre (Burki,1972). Yeni Zelanda, Avustralya, Kanada, Yunanistan, Fransa, Çek Cumhuriyeti, Portekiz, Fas, İtalya, Şili, Bulgaristan, Brezilya ve Yugoslavya'da hastalığın varlığı pekçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Aysan ve ark., 1999).

Ülkemizde ise ilk kez varlığı 70'li yılların sonlarında Batı Anadolu Bölgesinde (Saygılı,1975) ve Akdeniz Bölgesinde (Çınar,1977) saptanmıştır.

Hastalığın ortaya çıkışı ile dünyada çeşitli ülkelere yayılışı yaklaşık aynı yıllara denk gelmektedir. 80'li yıllarda yapılan çalışmalarla patojenin tohumla taşındığı saptanmış (Kim ,1979;Devash ve ark.,1980) ve dünyanın çeşitli bölgelerine (Mc Carter ve ark.,1983) olduğu gibi ülkemizde (Karaca ve Demir , 1988 ; Aysan ve Çınar,2002 ;Geylani ,2004 )de yayılış nedeninin tohumlar olduğu düşünülmüştür.

Patojenin gelişmesi için yüksek nem ve 13-28°C sıcaklığa gereksinim vardır. Bu koşullarda hastalık çok hızlı gelişir. Üründeki verim kaybı iklim koşullarıyla direkt ilişkilidir. Ekim ayında fide dikiminin yapıldığı seralarda, iklim koşulları uygun olduğunda hasta bitki oranı %75 civarında olabilmektedir. Şiddetli etkilenen bir domates serasında %12-23'e kadar varan ürün azalışı olabilmektedir. Fidelikler, hastalık için oldukça uygun yerlerdir. Hasta fideler, tarlaya veya seraya nakledildiğinde etmen oraya da taşınmaktadır. Bazı yıllar bu hastalık ülkemizdeki fideliklerde sorun olmakta ve fidelerin imha edilmesine neden olmaktadır (Aysan ve ark.,2005).

Bitkinin tüm toprak üstü kısımlarında belirti oluşturan hastalık önce fidelerin yaprak ve sap kısmında görülmektedir. Zaman zaman tüm bitkinin kuruyup ölmesine neden olabilmektedir. Tarla döneminde ise bitkinin çiçeklerinde, sap ve meyvelerinde de belirti oluşturmaktadır. Hastalık ılık nemli havalarda leke ve kanser biçiminde, serin ve nemli havalarda ise benek biçiminde belirti verir. Yapraklardaki belirtiler, kahverengi-siyah arası renkte, etrafi genellikle sarı halelerle çevrili lekeler şeklindedir. Bu lekelerin çapı 1-3 mm. kadar olup bir yaprak üzerinde çok sayıda leke görülebilmektedir. Zamanla bu lekeler birleşerek yaprağın deforme olmasına, kısmen ya da bütünüyle kurummasına neden olabilir (Şekil 1.1). Ana gövdede, buna bağlı dallarda, yaprak ve çiçek saplarında da lekeler görülmektedir. Çiçeklerde görülen lekeler yapraklardaki kadar belirgin olmayabilir. Ancak çiçeklerin bulaşması oldukça önemlidir. Hastalık özellikle ilk çiçeklerde görüldüğünde meyve tutumu etkilenmekte ve önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Meyvelerdeki lekeler başlangıçta oldukça küçüktür, ilerleyen

dönemde büyürler ve toplu iğne başı büyüklüğünde püstüller meydana getirirler (Şekil 1.2). Yüzeysel ve kolayca kazınabilir yapıdaki bu püstüller meyve içine genellikle ilerlemezler. Sadece armut biçimli domates meyvelerinde püstüller meyve etine bir ölçüde girmiş durumdadırlar. Lekelerin artması ve birleşmesi sonucu meyvenin şekli bozulur ve pazar değeri düşer (Gindrat and Burki, 1969; Burki, 1972; Paulin, 1973; Fahy ve Persley, 1983; Thabsim et al., 1987; Saygılı, 1989).



Şekil 1.1. Bakteriyel Benek Hastalığı *P.syringae pv. tomato* 'nun yapraklarda oluşturduğu lekeler.(www.apsnet.org, 2002)



Şekil 1.2. Bakteriyel Benek Hastalığı *P.syringae pv. tomato* 'nun meyvelerde oluşturduğu püstüller (www.apsnet.org, 2002)

Domateste Bakteriyel Benek hastalığının önlenmesi amacıyla kullanılan bakırlı preparatlara karşı patojenin hızla dayanıklılık kazandığı, dithiokarbamatlı fungusitlerin ise kanserojenik olmaları nedeniyle salçada kalıntı toleranslarının sıfır olduğu ve dayanıklı çeşit arayışlarının da patojenin tüm ırklarına karşı başarılı olamadığı bilinmektedir. Son yıllarda, patojenik olmayan kökbakterileri

(KB) aracılığıyla konukçuda sistemik dayanıklılığın uyarılmasının patojenin engellenmesinde daha sorunsuz ve kalıcı bir çözüm olduğu bildirilmektedir. Bu konuda daha önce yürütülen bir TÜBİTAK projesi sonucunda, sağlıklı domates bitkilerinin rizoplaninden izole edilen toplam 129 patojenik olmayan KB straini (*Fluorescent Pseudomonas*, *Bacillus spp*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*), domates bitkilerinde Bakteriyel Benek hastalığına (Pst) karşı dayanıklılığı uyarma potansiyelleri açısından in vivo'da saksı testleriyle değerlendirilmiş, kök inokulasyonu yoluyla testlenen KB'lerden 9'u Pst'nin gelişimini, Kontrol (+) bitkileriyle karşılaştırıldığında, %51 – 71 oranında engelleyerek domates bitkisinde sistemik dayanıklılığı uyarma (ISR) potansiyelleri olduğunu göstermiştir (Özaktan ve ark.,2005). Sistemik dayanıklılığın (ISR) uyarıldığı bitkilerde savunma mekanizmasında önemli rol oynayan Phenyl –alanine ammonia lyase (PAL) enziminin aktive olduğu ve sentezinin arttığı bilinmektedir. Bu tez projesinin amacı, domates bitkilerinden izole edilen ve domates bitkilerinde sistemik dayanıklılığı uyarma potansiyelleri olduğu daha önce saptanan KB'lerinin, Pst'ye duyarlı domates bitkilerinde zamana ve uyarılmaya bağlı olarak PAL enziminin düzeyindeki değişimin saptanması ve PAL enzimi aktivitesi ile hastalığın engellenme düzeyi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.



## 2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bu tezin konusunu oluşturan Domates Bakteriyel Benek Hastalığı(*Pseudomonas syringae* pv.*tomato*) ana bulaşma kaynağı tohum olduğu için hastalığın mücadelesinde alınacak olan önlemler inokulum kaynakları yok etmeye yönelik olmalıdır. Bu nedenle hastalığın etiyolojisi ve epidemiyolojisinin bilinmesi anahtar rol oynamaktadır.

### 2.1 Hastalık Etmeni

*Pseudomonas syringae* pv.*tomato* aerobik, gram negatif, çubuk şeklinde ve 0.69-0.97x1.8 µm büyüklüğünde bir bakteridir. Bu bakteri, King B besi yerinde, floresan pigment oluşturmaktadır. Oksidaz ve arginin dihidrolaz testinde negatif sonuç vermektedir. Levan testinde ve β-glucosidase testlerinde pozitifdir. Karbon kaynağı olarak, D(-) tartrate'dan yararlanır, ancak eryhritol veya DL-lactate'dan yararlanmaz. Patojenin 0 ve 1 olmak üzere 2 ırkı bilinmektedir.

### 2.2 Hastalığın epidemiyolojisi

Hastalık etmeni tohumla taşınmaktadır. Tohum kabuğu üzerinde yaşamını sürdüren etmen, tohumun çimlenmesi sırasında popülasyonunu artırır ve tohum kabuğundan fide apeksine veya kotiledon yapraklara geçerek fideyi hastalandırır.

Hasta tohumdan gelişen fidelerin kotiledon yapraklarında kahverengi lekeler ortaya çıkar. Domates tohumlarında etmen 20 yıl yaşamını sürdürebilir (Bashan ve ark.,1982).

Patojen tohum dışında bulaşık bitki artıkları üzerinde toprakta, yaşamını devam ettirebilir (Karaca ve Saygılı,1982;Saygılı ve ark.,1985;Aysan ve Çınar,1998). Bu patojen, civarda bulunan etmenin konukçusu olmayan bitkiler ve yabancı otlarda epifitik olarak bir mevsimden diğerine kadar yaşamını sürdürebilir (Jones ve ark.,1981;Bogatzevska ve Boneva ,1991).

Bu etmen özellikle sıcaklık ve nem yönünden uygun koşulları bulduğunda hızla çoğalmaktadır. En iyi gelişmeyi, 13-28°C'de gösterir. Bitkiye doğal açıklıklardan ve yaralardan giriş yapar. Yağmur ve rüzgar, hastalığın bir bitkiden diğerine yayılmasında çok etkilidir. Özellikle fırtınalı bir yağmurdan sonra hastalık çok hızlı yayılır. Patojen bitkinin iletim sistemini etkilemez. Hastalık sistemik değil lokal lezyon hastalığıdır (Jones ve ark.1991).

### 2.3 Hastalığın mücadelesi

Bu hastalığın bu ırkına karşı dayanıklı çeşit kullanılarak etkili kontrol sağlanabilir. Kanada menşeyli olan Ontario 7710 isimli domates çeşidinin bu hastalığın 0 ırkına karşı dayanıklı olduğu belirlenmiştir (Pitblado ve Kerr ,1980). Bu dayanıklılık geni (Pto) istenilen çeşitlere aktarılarak hastalık belli bir süre kontrol edilmiştir (Abak ve ark., 1991;Aysan ve ark., 1995). Patojenin diğer ırkının (İrk 1) ortaya çıkışıyla bu dayanıklılık genini içeren çeşitlerin kullanımı sınırlanmıştır. Bu etmen tohumla taşındığından ve tüm dünyada yaygın olduğundan ilk önlem olarak,sağlıklı tohum kullanılmalıdır. Tohumlara çeşitli fiziksel ve kimyasal tohum uygulamalarının yapılması (Aysan ve ark., 2002), tohuma çeşitli antagonistlerin uygulanması (Aysan ve Çınar , 2002) başarı getirmektedir.

Fidelerin yetiştirildiği yerler iyice havalandırılmalıdır. Fidelik devresinde hastalık görülen fideler tarlaya/seraya aktarılmamalı ve yok edilmelidir. Bu etmen nemli koşullarda çok iyi geliştiğinden, üretim alanında mümkün olduğunca yağmurlama sulamadan kaçınılmalıdır. Tarla/sera devresinde de şiddetli hastalık görülen bitkiler yok edilmeli, bitkilerin mümkün olduğunca havalanmaları sağlanmalıdır. Bu hastalık, üretim alanında bitki artıkları üzerinde uzun zaman kalabildiğinden, hasat sonu bitki artıkları yok edilmelidir. Ayrıca en az 2 yıl domates dışında farklı bir bitkiyle münavebe yapılmalı ve topraktaki inokulum düzeyini baskılamak için sera gibi küçük üretim yerlerinde yaz aylarında toprak solarizasyonu (Erkılıçve ark., 1994; Aysan ve ark., 1997; Aysan ve Çınar, 2000) uygulanmalıdır. Bu hastalıkla mücadelede kültürel önlemler yanında kimyasal olarak, bakırlı ilaçların kullanımı başarı sağlamaktadır. Antibiyotik kullanımı ise ülkemizde yasaktır. Bilindiği gibi domatesler bakırlı ilaçlara duyarlıdır.

Bilhassa soğuk ve nemli havalarda atılmasından kaçınılmalıdır. Ayrıca bakır, domateste kalıntı sorunu da yaratacağından, özellikle salça üretimi için yetiştiriliyorsa bu ilaçları kullanmada daha dikkatli olunmalıdır. Özellikle hasada yakın dönemde ilaçlamadan kaçınılmalıdır. Ayrıca bakırlı preparatların yanlış kullanılmaları sonucu etmenin bu kimyasallara dayanıklılık kazandığı belirlenmiştir (Benlioğlu ve Benlioğlu, 1998).

Son dönemlerde, uygulamaya konulan bazı biyolojik preparatlar (Wilson ve ark., 1997; Aysan, 1999) ve bitki aktivatörleri de bu hastalığın savaşımında önerilmektedir. Bu alternatif yöntemlerden birisi de kökbakterilerinin kullanıldığı biyolojik mücadeledir. Bu mücadele yönteminin çevre ve insan sağlığı açısından olumlu yönlerinin gittikçe daha iyi kavranmasıyla hastalıklarla biyolojik mücadele ile ilgili çalışmalar son yıllarda artarak devam etmektedir. Günümüzde yapılan en geniş kapsamlı tarifiyle; biyolojik mücadele doğal veya genetik yapısı değiştirilmiş mikroorganizmalar ya da onların ürettikleri metabolitler kullanılarak patojen mikroorganizmaların ortadan kaldırılması veya populasyonlarının baskı altına alınmasını amaçlayan bir tarımsal mücaele yöntemidir. Kök bakterileri kök yüzeyinde yüksek miktarda bulunan epifitik bakterilerdir. Besinlerini bitki eksudatları ve lysate'lar oluşturur (Lynch, 1976, Rovira 1974). PGPR grubu bakteriler bitki gelişimini teşvik edici hormonların sentezlenmesi, biyolojik azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğünün artırılması ve siderofor üretimi vb. mekanizmalarla bitki gelişimini teşvik ederek dolaylı olarak hastalık gelişimini azalttığı gibi (Vessey, 2003), antibiyosis, yer veya besin için rekabet ve sistemik dayanıklılığın uyarılması gibi mekanizmalarla ise doğrudan patojen gelişimini engelleyerek veya hastalık şiddetini önemli ölçüde azaltarak etkili olabilmektedir (Bora ve Özaktan, 1998). Çünkü bunların uygulanmaları bitki gelişimini artırır ve stresli koşullar altında bitkiyi ayakta tutar (Kloepper 1996, Lynch, 1976). Bitki verimliliğinin artışı zararlı mikroorganizmaların ve toprak kökenli patojenlerin PGPR tarafından baskılanması sonucu olarak ortaya çıkar (Schippers 1988). Biyolojik gübre olarak bitki büyümesini teşvik eden bakterilerin (PGPR) çok yüksek bir potansiyele sahip olduğu, çeşitli bitki, iklim ve toprak koşullarında faydalı olabileceği bilinmektedir.

Biyolojik savaş hastalık etmenleriyle antagonistik organizmler arasındaki etkileşimin bir ürünü olarak ortaya çıkar. Bu etkileşim tiplerinden biride uyarılmış dayanıklılıktır. Uyarılmış dayanıklılık sistemi diğer antagonistik ilişki tiplerinden ayrı olarak konukçu üzerinden sağlanan bir biyolojik savaş olanağını kapsar. Antagonistin kimi salgıları ya da içerdiği kimi kimyasal maddeler konukçu bitkide patojene karşı dayanıklılık sistemlerinin çalışmasını ya da harekete geçmesini sağlar. Konukçunun artan savunma etkinliği patojeni konukçuda engeller. Özellikle bitki köklerini kolonize eden non-patojenik kök bakterileri hastalıkları baskılama ve konukçu bitkide sistemik dayanıklılığı uyarma (ISR) özellikleri yönünden ön plana çıkmıştır. Sistemik dayanıklılık kök bakterileri tarafından uyarılmışsa Uyarılmış Sistemik Dayanıklılık (Induced Systemic Resistance-ISR) olarak ifade edilir (Van Loon et al., 1998). Uyarılmış Sistemik Dayanıklılık hem toprak hem de yaprak patojenlerinin biyolojik savaşımında iş gören etkili bir biyokontrol mekanizmasıdır. Çok sayıda bitki patojenine karşı etkili olmasının yanı sıra bitkide var olan dayanıklılık mekanizmalarını aktive ettiği için hastalıklara karşı dayanıklılığın uyarılması son yıllarda bitki koruma yöntemi olarak dikkat çekmektedir. Üstelik konukçu bitkide dayanıklılık bir kez tetiklenerek uyarıldıktan sonra koruyucu etki diğer savaşım yöntemlerine oranla genellikle daha kalıcı olmaktadır. ISR'yi oluşturan kök bakterilerinin konukçu bitkide gelişme ve verim üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Böylece hastalıklara dayanıklılığın yanı sıra bitki gelişimini arttırıcı etkilerinin olması bütünleşik savaşım yaklaşımındaki üstünlüklerini göstermektedir.

PAL (Phenylalanine Amonia-Lyase) kökbakterileri tarafından sistemik dayanıklılığın (ISR) uyarılmasında önemli bir enzimdir ve siderofor üretimi ve kökbakterileri tarafından sistemik dayanıklılığın uyarılması sonucu bitkilerde üretimi teşvik edilen PAL (Phenylalanine amonia-lyase) enziminin aktivasyonu gibi etki mekanizmaları saptanarak bu mekanizmaların hastalık gelişimini engelleme etkileri belirlenmiştir. Domates bitkilerinde bazı kökbakterileriyle tohum uygulamasından sonra bakteriyel benek hastalığındaki azalma ile PAL enziminin düzeyindeki artış arasında paralellik saptanmıştır. PAL enzimi ISR için anahtar rol oynayan bir enzimdir (Van Loon et al., 1998).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Bitkisel materyal

Daha önce yapılan çalışmalarda domates bakteriyel benek hastalığına karşı duyarlı olduğu bilinen Rio Grande domates çeşidi kullanılmıştır.(Özaktan ve ark., 2005).

##### 3.1.2 Bitki Yetiştirme Ortamı

Domates fideleri steril torfta yetiştirilmiş, fideler 3 hafta sonra steril torf içeren saksılara şaşırtılmış ve besin çözeltisi verilerek gübre gereksinimi karşılanmıştır.

##### 3.1.3 Çalışmada Kullanılan Besi Yerleri

Bakteriyel antagonistlerin geliştirilmesi ile in-vitro ve in-vivo testler için King-B besi yeri, kültürlerin stokta, +4 C<sup>o</sup>de saklanması için NGA (Nutrient Glycerol Agar) besi yeri kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Araştırmada kullanılan besiyerlerinin bileşimleri

<b>King B</b>	<b>NGA</b>
(King et al., 1974)	(Lelliott and Stead,
20 g. Pepton	1987)
1,5 g. K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	8 g. Nutrient Broth
1,5 g. MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	20 g. Gliserol
10g. Gliserol	20 g. Agar
20g. Agar	1 lt. Saf Su
1 lt. Saf Su	

### 3.1.4 . Çalışmada kullanılan tampon çözeltiler

Sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH:6,5 ve %1 polyinylpyrolidone(pvp) Phenylmethylsulfonyl (PMSF) kullanılmıştır.

### 3.1.5 Çalışmada kullanılan test patojeni

Çalışmada bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan, Karacabey'de sanayi domatesi üretim alanlarından izole edilmiş ve virulensi yüksek bir *Pst* izolatu test patojeni kullanılmıştır.

### 3.1.6 Araştırmada kullanılan bakteriyel antagonistler

Daha önce yürütülen bir araştırma projesinde(Özaktan ve ark., 2005) sağlıklı domates bitkilerinin köklerinden izole edilen ve domates bitkilerinde dayanıklılığı sistemik olarak uyararak Bakteriyel Benek Hastalığına karşı etkili bulunan aşağıdaki antagonistler kullanılmıştır:

**18/1K**(*Pseudomonas putida*)

**62**(*Serratia marcescens*)

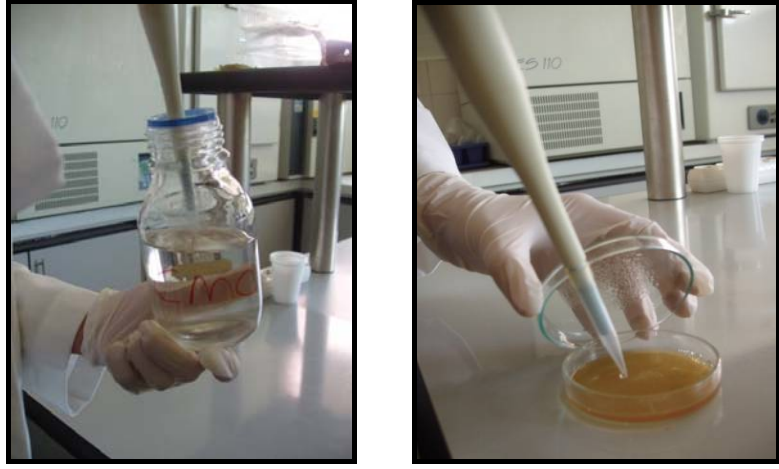
**66/3** (*Bacillus sp.*) ve

**70** (*Pseudomonas fluorescens biovar 1*)

## 3.2 YÖNTEM

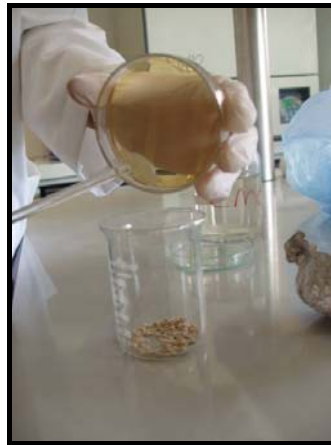
### 3.2.1 Araştırmada kullanılan bakteriyel antagonistlerin domates tohumlarına kaplanması ve ekimi

Antagonist KB'leri King B besiyerinde  $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 2 gün süreyle geliştirilmiştir. Petride gelişen kök bakterileri 5 ml %1'lik Carboxy Methyl Cellulose (CMC) ile süspansiyon edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. CMC süspansiyonunun Petriye Pülverize edilmesi

Bu süspansiyon içerisine domates tohumları aktarılmıştır.



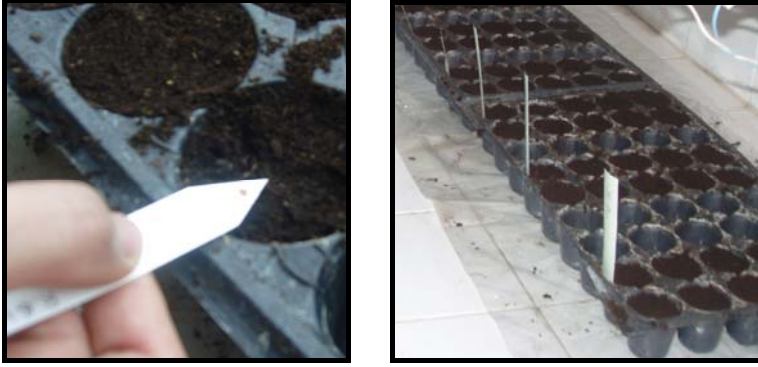
Şekil 3.2. Süspansiyon içerisine tohumların aktarılması

120 rpm'de 30 dakika çalkalanarak bakterilerin tohum yüzeyine homojen bir şekilde yapışması sağlanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Antagonistlerle tohum bakterizasyonu

Çalkalama işleminden sonra tohumlar içerisinde steril torf bulunan viyollere ekilerek uygun nem ve sıcaklıkta iklim odalarına yerleştirilmiştir (Şekil 3.4). Ayrıca sadece CMC ile kaplanmış tohumlar Kontrol (+) ve Kontrol (-) olarak denemeye dahil edilmiştir.



Şekil 3.4: Tohumların viyollere ekimi

### 3.2.2 Patojen Bakterinin İnokulasyonu

İklim odalarında uygun nem ve sıcaklıkta yetiştirilen KB'leri ile tohum bakterizasyonu yapılmış bitkilerin ilk gerçek yaprakları çıktıktan sonra  $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de King B besi yerinde geliştirilen 2 günlük Pst izolatu ( $10^8$  h/ml yoğunlukta ) bitkilere pülverize edilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Antagonistin bitkilere pülverize edilişi



### 3.2.3. Antagonistlerin *in vivo* koşullarda Pst'ye etkisinin testlenmesi

Domates tohumlarına kaplama şeklinde uygulanan KB'leri patojen bakteri Pst'a karşı *in vivo*'da biyolojik m¼cadele potansiyelleri açısından da değerlendirilmiştir. Bu testler iklim odasında saksı testleriyle gerçekleştirilmiş ve testler 4 yinelemeli olarak planlanmış, her yinelemede 2-3 yapraklı d¼nemde bulunan 4 bitki yer almıştır. Yukarıda belirtildiği şekilde, ilk gerçek yapraklı d¼nemdeyken Pst s¼spansiyonu ( $10^8$  cfu/ml) ile inokule edilen domates bitkileri saksılara şaşırtılarak 3-4 g¼n s¼reyle y¼ksek oransal nemde tutulmuştur (şekil 3.6). Patojen uygulamasından 7-10 g¼n sonra, her tekerr¼rde yer alan bitkilerin bileşik yapraklarındaki lezyonlar 0-5 skalasına g¼re (şekil 3.7) değerlendirilmiş ve skala değerlerine uygulanan Thousand Heuberger form¼l¼ ile % hastalık şiddeti belirlenmiştir.

$$\% \text{ hastalık şiddeti} = \frac{\Sigma(\text{Skala değeri} \times \text{skalada değerlendirmeye giren birey sayısı})}{(\text{En y¼ksek skala değeri} \times \text{toplam birey sayısı})} \times 100$$

B¼ylece her uygulamadaki ortalama hastalık şiddeti (%) saptanmıştır (Wilson et al., 2001). Tohum bakterizasyonu yapılmamış ancak Pst inokule edilmiş bitkiler Pozitif Kontrol olarak değerlendirilmiştir. Tekerr¼rlerde saptanan Hastalık şiddeti (%) değerlerine SPSS v.12.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois) istatistik analiz programı ile, varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Analizden ¼nce hastalık şiddeti değerlerine transformasyon uygulanmıştır. İşlemler arasındaki farklılıklar,  $P=0,05$  ¼nem d¼zeyinde, DUNCAN testi ile belirlenmiştir.



Şekil 3.6.Uygulama gören domates bitkilerinin yüksek oransal nemde tutulması



Şekil 3.7. Patojenin hastalık şiddetini değerlendirmede kullanılan 0 - 5 Skalası  
(0: hiç leke yok, 1: 1-3 leke, 2: 4-10 leke, 3: yapraklarda sayıca 10'dan çok leke birleşmiş ve yaprağın 1/4'ü nekroze olmuş, 4: yaprakların 1/3'ü nekroze olmuş, 5:yaprakların yarıdan fazlası nekroze olmuş)

### 3.2.4 Antagonistlerin Konukçu Bitkide PAL Enzimi aktivitesine etkisinin testlenmesi

Kök bakterileri tarafından uyarılan domates bitkisinde, domateste bakteriyel benek etmeni Pst'ye karşı sistemik dayanıklılık mekanizmasını tetiklemede anahtar enzim olarak rol oynayan PAL enziminin aktivasyonunu belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, KB'leri domates tohumlarına kaplama şeklinde uygulanmıştır. İlk gerçek yapraklı aşamaya gelen domates fidelerine patojen bakteri Pst süspansiyonu ( $10^9$  cfu/ml) inokule edildikten sonra, iklim odasında bulunan domates bitkilerinden 24-48-72 ve 96 saat ara ile alınan yaprak örnekleri laboratuvara getirilerek her bir örnekten 1g tartılmış ve 50ml'lik beherlere konulmuştur (Şekil 3.8). Beherlere konan örnekler üzerine sıvı azot aktarılmış ve baget yardımıyla yaprak örnekleri toz haline getirilmiştir.(Şekil 3.9).

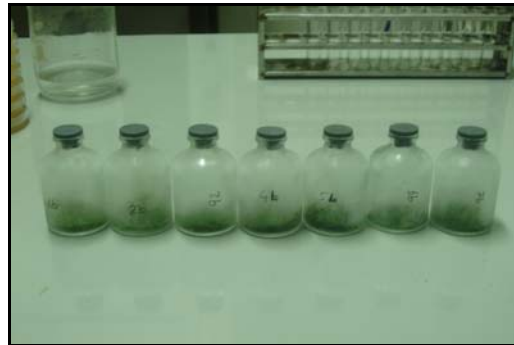


Şekil 3.8. Yaprak örneklerinin alınışı



Şekil 3.9. Yaprak örneklerine sıvı azot aktarılması

Toz haline getirilen örnekler liyofilizasyon tüplerine aktarılmış ve enzim aktiviteleri belirleninceye kadar  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10.  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklamak üzere hazırlanan kurutulmuş yaprak örnekleri

$-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilen örnekler alınarak üzerlerine 3ml 50mM sodyum fosfat tampon çözeltisi (pH:6,5 ve %1 polyinylpyrolidone(pvp) ve 1mM

phenylmethanolsulfonyl (PMSF) içeren) eklenerek toz halindeki yaprak örnekleri 30 sn. beklenerek süspansiyon edilmiştir (Şekil 3.11).



**Şekil 3.11.**Yaprak örneklerinin süspansiyon edilmesi

Bu süspansiyondan 1,5µl alınarak ependorf tüplere aktarılmış ve 20.000g'de +4 °C'de 25 dakika santrifüj edilmiştir.

Santrifüj işleminden sonra süspansiyonun üst kısmından 5 µl alınmış ve üzerine 500 µl %0,2'lik phenylalanine solüsyonu ilave edilmiştir. Referans olarak ise 50 µl fosfat tamponu üzerine 5ml %0,2'lik L-phenylalanine eklenmiş ve 37 °C'ye ayarlı su banyosunda 2 saat inkübe edilmiştir. Ayrıca farklı ppm dozlarında cinnamic asit standartı hazırlanarak 290 nm dalga boyunda absorbans (abs) değerleri alınmıştır. 37 °C'lik su banyosunda 2 saatlik inkübasyondan sonra Pal enziminin varlığında L-phenylalanine'nin cinnamic asite dönüşüm oranı 290 nm dalga boyunda abs değerlerinin alınması ile belirlenmiştir (Çizelge 3.1). Okumalar 5 dakika boyunca her 30 saniyede bir yapılmış ve elde edilen veriler cinnamic asit standartından elde edilen değerler ile karşılaştırılarak µg/gram taze yapraktaki PAL miktarı belirlenmiştir. Elde edilen PAL miktarı (µg/gram taze yaprak) değerlerine SPSS v.12.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois) istatistik analiz programı ile, varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. İşlemler arasındaki farklılıklar, P=0,05 önem düzeyinde, DUNCAN testi ile belirlenmiştir.

**Çizelge 3.1.** Farklı ppm dozlarında cinnamic asit dozları ve abs değerleri

<b>Doz</b>	<b>Abs.Değerleri (290nm)</b>
5ppm	0,319
10ppm	0,689
15ppm	0,977
20ppm	1,126
25ppm	1,283
30ppm	1,454
35ppm	1,564
40ppm	1,610
45ppm	1,675
50ppm	1,688

## 4. BULGULAR

### 4.1. In-vivo Testlerin Sonuçları

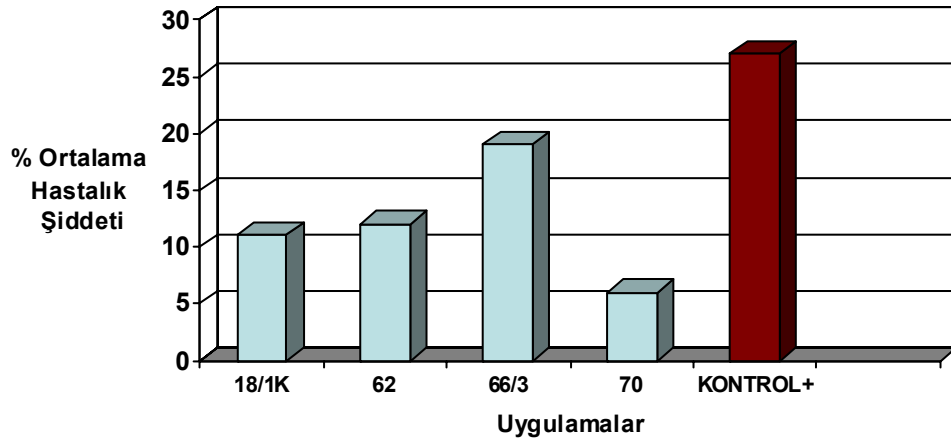
Kökbakterilerinin domates tohum bakterizasyonu yoluyla patosisteme sokulması ve ilk gerçek yapraklı aşamada patojen Pst süspansiyonu ile uygulama görmesinin domates bitkilerinde bakteriyel benek hastalığının gelişimine etkisinin araştırıldığı testlerden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1’de toplu olarak görülmektedir. Tüm uygulamalarda meydana gelen hastalık şiddeti oranları % olarak belirlenmiş, kökbakterileri uygulamasının K(+)’e göre hastalığı engelleme oranları (% etki) ayrıca belirtilmiştir (Çizelge 4.1). Tohum uygulaması biçiminde gerçekleştirilen in vivo saksı denemelerinde antagonist kök bakterileri Pst’yi Saksı denemelerinde K(+)’e göre %27-77 oranlarında engellemiş ve istatistik analizler sonucu tüm uygulamalar kontrolden farklı çıkmıştır. Pozitif kontroldeki ortama hastalık şiddeti %27 olarak saptanmıştır (Şekil 4.1, Şekil 4.3). Hastalığı engelleme ve konukçu bitkide sistemik dayanıklılığı uyarma konusunda en başarılı sonuç, Pst’nin domates bitkilerindeki hastalık şiddetini %77 oranında engelleyen 70 no.lu *Pseudomonas fluorescens biovar 1* izolatu (Şekil 4.2) olurken, bunu %60 etkililikle 18/1K no.lu *Pseudomonas putida* izolatu ve %55 etkililikle 62 no.lu *Serratia marcescens* izolatu (Şekil 4.4) izlemiştir (Şekil 4.5). İstatistiki açıdan ise, en başarısız kök bakterisi %27 etki düzeyiyle 66/3 no.lu *Bacillus spp.* (Şekil 4.6) olmuştur.

**Çizelge 4.1:** Tohum Bakterizasyonu yoluyla uygulanan KB'lerinin *in vivo* saksı testinde Pst'ye karşı etkisine ilişkin sonuçlar

Tohum Uygulamaları*	Tekerrürlerde Hastalık Şiddeti (%)				Ortalama Has. Şiddeti (%)	% Etki
	1. tek.	2. tek.	3. tek.	4. tek.		
<b>18/1K</b>	13	17	6	7	10.8 ab**	60
<b>62</b>	16	8	9	15	12 b	55
<b>66/3</b>	16	25	16	21	19.5 c	27
<b>70</b>	10	6	2	5	6 a	77
<b>K( +)</b>	32	22	26	28	27 c	-

\*Tohum bakterizasyonu 15.12.2008 tarihinde, fidelerin şaşırtılması ve Pst inokulasyonu 07.01.2009 tarihinde, değerlendirmeler 17. 01. 2009 tarihinde gerçekleştirilmiştir.

\*\*Tekerrürlerde saptanan ortalama hastalık şiddeti (%) değerlerine uygulanan Duncan testi sonucunda aynı harfi taşıyan uygulamalar,  $P \leq 0.05$  olasılıkla birbirinden farklıdır.



**Şekil 4.1.** Kökbakterilerinin bakteriyel benek hastalığı etmeni *P.syringae pv.tomato*'ya karşı domates bitkilerinde sistemik dayanıklılığı uyarma yoluyla biyolojik mücadele potansiyellerine ilişkin sonuçlar



Şekil 4.2. 70 no'lu(*Pseudomonas fluorescens* )antagonistin Pst'ye karşı etkisi



Şekil 4.3. K(+)'nin görünümü



Şekil 4. 4. 18/1K no.lu antagonistin Pst'ye etkisi





Şekil 4. 5: 62 no'lu izolatın Pst'ye karşı etkisi



Şekil 4. 6: 66/3 no.lu antagonistin Pst'ye etkisi

#### **4.2.Kökbakterisi uygulamalarının domates bitkilerinde PAL (Phenylalanine amonia-lyase) enzimi aktivitesine etkisinin belirlenmesi**

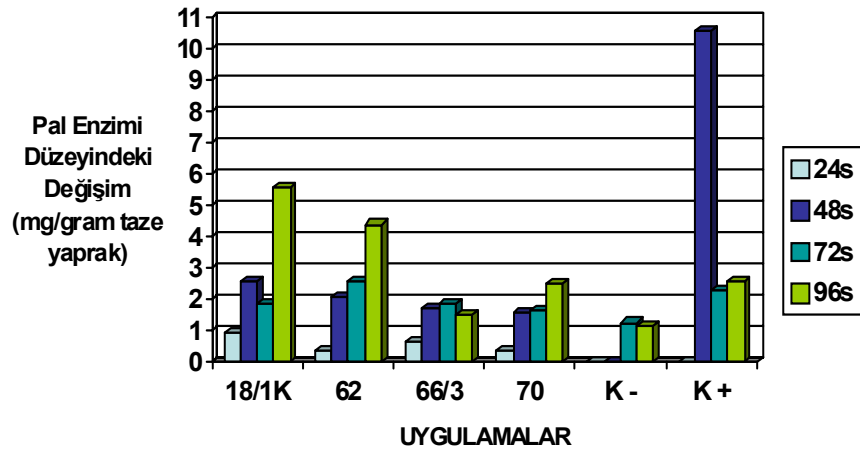
Alınan yaprak örneklerinden 1g tartılarak materyal ve yöntem bölümümde anlatıldığı şekilde yaprak ekstraktları hazırlanmış ve Pal enziminin varlığında L-phenylalanine'nin cinnamic asite dönüşüm oranı 290 nm dalga boyunda abs değerlerinin alınması ile belirlenmiştir. Elde edilen veriler farklı ppm dozlarında hazırlanan cinnamic asit standartından elde edilen değerler ile karşılaştırılarak  $\mu\text{g}/\text{gram}$  taze yapraktaki Pal miktarı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2 ve Şekil 4.7'de görülmektedir.

**Çizelge 4.2.** Tohumlarına Kökbakterisi uygulanan domates bitkilerinde patojen bakteri Pst inokule edildikten sonra yapraklarda Pal enzimi düzeyindeki değişim ( $\mu\text{g}/\text{gram}$  taze yaprak)

Testlenen İzolatlar	Pst inokulasyonundan sonra zamana bağlı olarak PAL enzimi miktarında değişim ( $\mu\text{g}/\text{gram}$ taze yaprak)*			
	24 saat	48 saat	72 saat	96 saat
18/1k	0,96 ab**	2,56abc**	1,87ab**	5,60 c**
62	0,36 a	2,07 ab	2,6abc	4,39 bc
66/3	0,64 a	1,7 ab	1,84ab	1,52 ab
70	0,33 a	1,58 ab	1,62ab	2,52 abc
K(+)	0,00 a	10,54 d	2,31abc	2,56 abc
K(-)	0,00 a	0,00 a	1.25ab	1,15 ab

\*Değerler iki yinelemenin ortalamasıdır

\*\*Elde edilen değerlere uygulanan, Duncan Çoklu Aralık Testine göre aynı harfi taşıyan uygulamalar  $P = 0.05$  olasılıkla birbirinden farksız bulunmuştur.



Şekil 4.7. Tohumlarına Kökbakterisi uygulanan domates bitkilerinde Pst inokulasyonundan sonra zamana bağlı olarak Pal enzimi düzeyindeki değişim ( $\mu\text{g}/\text{gram}$  taze yaprak)

Şekil 4.7. incelendiğinde patojen uygulanmayan bitki yapraklarından alınan Negatif Kontrol örneklerinde istatistik analizlere göre PAL üretiminde zamana bağlı olarak önemli bir fark gözlenmemiştir. Ancak Pozitif Kontrol uygulamalarında Pal enziminin aktivasyonu, Pst uygulamasından 48 saat sonra çok yüksek düzeyde saptanmış ( $10,54 \mu\text{g}/\text{gram}$  taze yaprak), daha sonra hızla düşmüştür. K(+) örneklerinde Pst uygulamasından 24 ve 72, 96 saat sonra yapılan ölçümlerin istatistiksel açıdan birbirinden farklı olmadığı görülmüştür. Tohum bakterizasyonu yapılan ve Pst ile inokule edilen bitkilerde inokulasyondan sonra zamana bağlı olarak PAL enziminin aktivasyonundaki değişikliklere bakıldığında; en yüksek PAL üretimi 96. saatte 18/1K no.lu kökbakterisi uygulanan bitkilerde saptanmış, bunu 62 no'lu KB'si uygulanması izlemiştir (Şekil 4.7).

## 5. TARTIŞMA

Domates tarımında sorun olan en önemli bakteriyel hastalıklardan, Domates Bakteriyel Benek Hastalığı (*P.syringae* pv. *tomato*) ile savaşım olanaklarının oldukça kısıtlı olduğu bilinmektedir. Bakırlı preparatlara karşı patojenin hızla dayanıklılık kazanması, dithiokarbamatlı fungusitlerin kanserojenik etkilerinin ortaya çıkması ve salçada kalıntı toleransının sıfır olması gerek iç pazara gerekse dışarıya yönelik yetiştiricilikte kimyasal savaşım olanaklarını oldukça kısıtlamaktadır. Bu noktada etmenle biyolojik savaş ve özellikle de patojenik olmayan bitki gelişimini uyarıcı kök bakterileri (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) aracılığıyla konukçu bitkide sistemik dayanıklılığın uyarılması (Induced Systemic Resistance-ISR) patojenin engellenmesinde sorunsuz ve kalıcı bir çözüm olarak dikkat çekmektedir.

Son yıllarda bitkisel üretimde karşılaşılan hastalıklarla biyolojik savaş araştırmalarında sistemik dayanıklılığın uyarılması konusu, sadece bakteriyel ya da fungal hastalıklara karşı etkili bir biyokontrol mekanizması olmakla kalmayıp, virüslere hatta nematod ve böceklerle karşı da etkili bulunmasıyla öne çıkmaktadır. ISR 'yi oluşturan kök bakterilerinin (PGPR) bir başka avantajı ise konukçu bitkide gelişme ve verim üzerine olan olumlu etkileridir. Böylece hastalıklara dayanıklılığın yanı sıra bitki gelişimini arttırıcı etkilerinin olması bütünsel savaşım yaklaşımındaki üstünlüklerini göstermektedir.

Sistemik uyarılmış dayanıklılığı saptayabilmek için temel yaklaşımlar, bakteriyel süspansiyonu otoklavlanmış toprağa karıştırmak, şaşırtma sırasında kökleri bakteriyel süspansiyona daldırmak ya da ekimden önce tohumları yüksek oranda bakteri ile kaplamaktır (Kloepper, 1996). Konukçu bitkide dayanıklılığın uyarıldığını ve bu uyarının sistemik olduğunu söyleyebilmek için uyarılmayı sağlayan kök bakterisinin patojenin engellendiği bölgede bulunmaması ve deney süresince bakteri ile çekişmeye giren patojenin tamamen ayrı kalması gerekir (Van Loon et al., 1998).

Konukçu bitkide antagonist bakteri uygulaması sonucu hastalık etmeni bakteriyel patojene (*Pst*) karşı sistemik dayanıklılığın uyarılması konusunda daha

önce yürütülen bir TÜBİTAK projesi sonucunda, sağlıklı domates bitkilerinin rizoplanından izole edilen toplam 129 non patojenik KB straini (*Fluorescent Pseudomonas*, *Bacillus spp*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*), domates bitkilerinde Bakteriyel Benek hastalığına (*Pst*) karşı dayanıklılığı uyarma potansiyelleri açısından *in vivo*'da saksı testleriyle değerlendirilmiş, kök inokulasyonu yoluyla testlenen KB'inden 9'u *Pst*'nin gelişimini, Kontrol (+) bitkileriyle karşılaştırıldığında, %51 – 71 oranında engelleyerek domates bitkisinde sistemik dayanıklılığı uyarma (ISR) potansiyelleri olduğunu göstermiştir (Özaktan ve ark.,2005). Sistemik dayanıklılığın (ISR) uyarıldığı bitkilerde savunma mekanizmasında önemli rol oynayan Phenyl –alanine ammonia lyase (PAL) enziminin aktive olduğu ve sentezinin arttığı bilinmektedir.

Bu tez çalışmasında, domates bitkilerinden izole edilen ve daha önceki çalışmalarda *Pst*'ya karşı biyolojik savaş potansiyeli saptanmış olan yararlı bakterilerin domates bitkilerinde zamana ve uyarılmaya bağlı olarak PAL enziminin düzeyindeki değişimin saptanması ve PAL enzimi aktivitesi ile hastalığın engellenme düzeyi arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Tohuma uygulanan kökbakterisinin yaprakta enfeksiyon oluşturan bir hastalığı engellemesi ISR'nin en karakteristik özelliği olup yapılan bu çalışmada kullanılan kökbakterilerinin bitkilerde ISR'yi tetiklemesi sonucu hastalık gelişimini değişen oranlarda engellendiği saptanmıştır. İlk kez Van Peer et al., (1991) tarafından tanımlanan ISR genel olarak, birçok kökbakterisinin sahip olduğu farklı mekanizmlarla bitkilerin sistemik olarak uyarılması sonucu patojen enfeksiyonu sonrası, hastalıklı bitki sayısındaki azalış veya hastalık şiddetinde azalma olarak ifade edilmektedir (van Loon et al., 2006, Loon et al., 1998, Pieterse, et al., 2002, van).

Bu araştırmada ISR aktivitesi araştırılan 18/1K, 66/3, 62 ve 70 no 'lu kök bakterileri tohum bakterizasyonu uygulamasıyla verilmiş ve bu tohumlardan gelişen fidelere *Pst* inokulasyonu yapılmıştır. Bu KB'lerinin domates yapraklarında bakteriyel benek gelişimini %27-77 oranında engellemeyi başarması, ISR'nin kanıtı olarak yorumlanabilir. Konukçu bitkide sistemik dayanıklılığın varlığını söyleyebilmek için uyarılmayı sağlayan kök bakterisinin patojenin

engellendiği bölgede bulunmaması ve deney süresince bakteri ile çekişmeye giren patojenin tamamen ayrı kalması gerektiği kuralı (Van Loon et al., 1998) bu çalışmada kanıtlanmıştır. Üstelik; bu çalışmada KB'leriyle Pst'ye karşı elde edilen sonuçlar Özaktan ve arkadaşlarının (2005) elde ettiği sonuçlarla da büyük ölçüde paralellik göstermektedir. Özaktan ve ark (2005), KB'lerini patosisteme kök uygulaması biçiminde vermiş, domates bitkilerinin yapraklarına Pst uygulaması yapmıştır. Bu çalışmada ise, KB'leri tohum bakterizasyonu şeklinde patosisteme verilmiştir. Her iki uygulamada da patojen ve antagonist bakteri klasik biyolojik savaş çalışmalarında olduğu gibi karşı karşıya gelmemektedir.

Kök bakterilerinin bitkide farklı tip patojenlere karşı sistemik dayanıklılığı uyararak etkili olabildiği bildirilmektedir. Arabidopsis üzerinde yapılan bir çalışmada fungal ve bakteriyel etmenlere karşı sistemik dayanıklılığın uyarıldığı belirlenmiştir. *P.fluorescens* WCS417R köklere uygulandığında hem *Fusarium oxysporum* f.sp.*raphani* hem de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* 'ya karşı sistemik dayanıklılığı uyarabilmiştir. *P.fluorescens* WCS 417R kontrol ile karşılaştırıldığında Arabidopsis bitkisinde *P.syringae* pv.*tomato* infeksiyonunu %40 düzeyinde, *F.oxysporum* f.sp.*raphani* infeksiyonunu ise %60 düzeyinde engelleyen en başarılı uygulama olmuştur. Özellikle str.WCS 417R ile uyarılmış yapraklarda *P.syringae* pv. *tomato* 'nun kolonizasyonu kontrole göre oldukça düşük bulunmuştur. İnokulasyondan 4 gün sonra kontrolde *P.syringae* pv. *tomato* kolonizasyonu 1 gr. yaprakta  $7 \times 10^8$  hücreye ulaşırken 417R ile uygulama görmüş olan yapraklarda aynı sürede  $1 \times 10^7$  hücreye düşmüştür (Van Wees et al., 1997).

Çeşitli patojenlere karşı etkili sonuçların alındığı çeşitli ISR çalışmalarında yoğun olarak floresan Pseudomonaslar, ayrıca, *Bacillus* ve *Serratia* genuslarına ait bakteriler kullanılmaktadır (Compeau et al., 1998; Van Loon et al., 1998). Floresan Pseudomonaslar çok hızlı kolonize olmaları ile avantaj sağlayabilmektedir.

Bu çalışmada Pst'ye karşı ISR aktivitesi araştırılan 18/1K, 66/3, 62 ve 70 no 'lu kök bakterilerinin, sırasıyla, *Pseudomonas putida*, *Bacillus* spp., *Serratia marcescens* ve *P.fluorescens* oldukları bilinmektedir (Özaktan ve ark., 2005; Gül ve ark, 2008). Bu bakteriler, PGPR olarak da isimlendirilmekte olup ISR 'daki ve

bitki gelişimindeki rolleri ve önemleri iyi bilinmekte, son yıllarda bu bakterilerle ilgili çalışmaların yoğunlaştığı dikkati çekmektedir (Beena et al., 2003; Sharath Cahdra et al., 2003).

PGPR 'ın bakteriyel hastalıklara karşı ISR yoluyla koruma sağladığına ilişkin birçok örnek verilebilir. *P.fluorescens* str.97 ile fasulye tohumlarının uygulama görmesi Hale Yanıklığı hastalığını engellemiştir (Alstrom, 1991). Öte yandan hıyar tohumlarının *P.putida* str.89B-27 ve *Serratia marcescens* str.90-166 ile uygulama görmesi Bakteriyel Solgunluk (*Erwinia tracheiphila*) çıkışını azaltmıştır (Van Loon et al., 1998). Yine hıyar tohumlarının *P.putida*, *Flavomonas oryzihabitans*, *S.marcescens* ve *Bacillus pumilis* INR-7 ile bulaştırılması Bakteriyel Köşeli Yaprak Lekesi lezyonlarını azaltmıştır (Liu et al., 1995).

Bu araştırmada ISR aktivitesi saptanan 18/K, 70, 66/3 ve 62 no 'lu kök bakterilerinin PGPR etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; hıyar, domates ve biber ile yapılan sera denemelerinde; test edilen PGPR'ların bazı dönemlerde hıyar ve domateste önemli verim artışına yol açtığı belirlenmiştir (Gül ve ark., 2006). Domateste, kontrole oranla verim artışı *Bacillus* spp. strain 66/3'de sonbaharda %27, ilkbaharda %14 düzeyinde gerçekleşmiştir. Hıyarda ise, *Fusarium* solgunluğunun ortaya çıktığı dönemde, *S. marcescens* strain 62 ile inokule edilen bitkilerde verimin %30 düzeyinde arttığı belirlenmiştir (Gül ve ark., 2006).

Bu çalışmada Pst'ya karşı ISR etkisi test edilen 18/1K, 62, 66/3 ve 70 no.lu KB'lerinin PGPR potansiyellerinin de bulunması bunların integre ürün yönetimi (ICM) yaklaşımıyla kullanılmalarını sağlayabilir.

Bu tez çalışmasında, in vivo testlerde sistemik dayanıklılığı uyardığı saptanan KB'lerinin domates bitkilerinde zamana ve uyarılmaya bağlı olarak PAL enziminin düzeyindeki değişime etkisinin saptanması ve PAL enzimi aktivitesi ile hastalığın engellenme düzeyi arasındaki ilişkinin araştırılması da amaçlanmıştır.

Lignin biyosentezinin ve diğer fenolik bileşiklerinin öncüsü olan PAL (phenylalanine amonia-lyase) enzimi, abiyotik etkenler ve patojen inokulasyonu

sonucu bitkilerde sentezlendiği gibi, birçok kökbakterisi tarafından ISR'nin uyarıldığı bitkilerde de bu enzimin sentezlenmesinde ve miktarında artış meydana geldiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (De Meyer et al., 1999; Chen et al., 2000; Silva et al., 2004; Chandra et al., 2007). Bu tez çalışmasında PAL enziminin aktivasyonu, tohumlarına kökbakterisi uygulanmış domates bitkilerinin yapraklarına patojen inokule edildikten sonra araştırılmıştır. Yapılan testlerde, en yüksek PAL üretimi 18/1K nolu kökbakterisi ile tohumları kaplanan bitki yapraklarında belirlenmiş ve bunu 62 nolu izolatlar izlemiştir. Kökbakterisi uygulanan bitkilerde zamana bağlı olarak PAL seviyesinde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Denemeye alınan tüm kökbakterisi izolatları tohumları herhangi bir muamele görmemiş Negatif Kontrol bitkilerinin yapraklarına göre istatistiki olarak farklı miktarlarda Pal enzimi üretmiştir.

Bozkurt ve Özaktan (2009) tarafından yapılan bir çalışmada; fasulye tohumları kökbakterisi ile kaplandıktan sonra yapraklarına patojen bakteri *X. axonopodis pv. phaseoli* inokule edilen bitkilerin yapraklarında en yüksek PAL enzimi üretimi patojen inokulasyonundan 72 saat sonra saptanmış olup bu dönemde uygulamalarda 1,230 - 2,120 µg/g bitki arasında değişen düzeylerde PAL enzimi saptanmıştır. Tüm uygulamalar yalnız patojen inokule edilen bitki yapraklarıyla karşılaştırıldığına kontrol uygulamasına göre daha yüksek düzeyde Pal enzimi üretmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Bozkurt ve Özaktan (2009) tarafından elde edilen sonuçlarla bir ölçüde benzerlik göstermekle birlikte, zamana bağlı olarak PAL enziminin aktivasyonu konusunda farklılık saptanmıştır.

Tohumları kökbakterileri ile kaplandıktan sonra patojen uygulanan bitkilerde zamana bağlı olarak PAL üretiminde farklılıklar meydana gelmesi birçok çalışmada belirtilmiştir. Chen et al., (2000), köklerine farklı kökbakterisi izolatları ve *Pythium aphanidermatum* patojen fungusu uygulanan bitkilerde, kökbakterileri tarafından ISR'nin uyarılması sonucu sentezlenen enzimlerin varlığını araştırmış ve köklerine *Pseudomonas* strain 13-28-63 nolu kökbakterisi uygulanan hıyar bitkilerinde patojen inokulasyonundan 48 saat sonra en yüksek Pal düzeyi saptanırken, *Pseudomonas* strain CH33 uygulanan bitkilerde ise patojen uygulamasından 96 saat sonra en yük Pal enzimi üretimini saptamışlardır. Farkas et al., (1969), tütün nekroz virüsü (TNV) ile inokule edilen fasulye



bitkilerinde en yüksek Pal enzimi üretiminin inokulasyondan 72 saat sonra meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Tohumlarına kök bakterisi uygulandıktan sonra patojen uygulanan bitkilerde, daha yüksek düzeyde Pal enziminin üretilmesi kökbakterileri tarafından belirli bir düzeyde uyarılan dayanıklılığın patojen inokulasyonu ile tetiklenmesi sonucu meydana gelebilmektedir (Chen et al., 1996).

Kökbakterileri uygulanan bitkilerdeki Pal enzimi üretimi ile saksı testleri denemelerinde tohum uygulamalarının hastalık gelişimi üzerine etkileri karşılaştırıldığında genel olarak Pal seviyesindeki artışla hastalığın engellenmesi arasında doğrusal bir ilişki gözlenmiştir.

Kök bakterilerinin biyokontrol etkisi ile Pal enzimi düzeyleri arasında olumlu bir ilişki olduğu, özellikle, 18/1k ve 62 no'lu izolatlar için söylenebilir. Ancak 70 no'lu izolat Pst'yi önleme açısından en önemli antagonist olmasına karşın, Pal enzimi aktivasyonu konusunda diğer izolatlar kadar yüksek artış saptanmamış olması, burada Pal enzimi dışında başka yollar ve enzimlerin varlığını da göstermektedir. Daha önce yürütülen bir çalışmada 18/1k ve 62 no'lu kök bakteri izolatlarının güçlü siderofor aktivitesi saptanmıştır (Aslan, 2005). Siderofor üretimi ISR için önemli bir kriterdir. Aslan ve Özaktan'ın yürüttüğü çalışmada 70 no'lu Pf izolatının aktivitesinin biyokontrol kökenli değil siderofor antibiyotik üretiminden kaynaklandığı saptanmıştır. Bu antagonistlerin in vivo'daki biyolojik mücadele potansiyellerinin yüksek oluşu konukçu bitkide Pal enzimini aktive etmelerinin nedeni güçlü siderofor üretme potansiyellerinde aranabilir.

Pal enziminin hastalık gelişimi üzerine etkisi ile yapılan bazı çalışmalar incelendiğinde enzim-hastalık gelişimi ilişkisinde farklılıklar olabildiği görülmektedir. Bu çalışmalardan bazılarının inceleyecek olursak; Ongena et al., (2004), *Pseudomonas putida* BTP1 kökbakterisi uygulanmış bitkilerin *Botrytis cinerea* ile inokulasyonunda, kökbakterisinin hastalık gelişimini engellediğini fakat bu engellemede Pal enziminin etkili olmadığını, daha çok lipoxygenase (LOX) ve hidroperoxidase enzimlerinin etkili olduğunu belirlemişler;

kökbakterisi uygulanan ve daha sonra patojen inokule edilen fasulye yapraklarında salgılanan PAL enzimi ile, yalnız patojen inokule edilen kontrol bitkilerinin yapraklarındaki Pal enzimi miktarı arasında herhangi bir fark gözlenmediğini saptamışlardır. Benzer şekilde Silva et al., 2004, tohumları farklı kökbakterileri ile kaplanmış domates bitkilerini *P. syringae* pv. *tomato* ile inokule ettiklerinde hastalık gelişiminin azaldığını ve yapılan enzim analizlerinde yaprak ekstraktlarında peroxidase ve lipoxygenase enzimlerinde artış meydana gelirken, Pal enzimi aktivitesinde herhangi bir artış olmadığını belirlemişlerdir. Girish and Umesha (2005) tarafından yapılan bir çalışmada ise; kökbakterileri uygulanmış domates bitkileri bakteriyel kanser etmeni (*Clavibacter michiganensis* subs. *michiganensis*) ile inokule edildiğinde, hastalık yoğunluğunun yalnız patojen inokule edilen kontrol bitkisine göre daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Kontrol bitkisinde hastalık yoğunluğu %93 iken kökbakterisi uygulanan bitkilerde ise hastalık yoğunluğunun %44-53 arasında değiştiğini ve kökbakterisi uygulanan bitkilerde, kontrol bitkisine göre 4 kat daha fazla Pal enzimi salgılandığını saptamışlardır. Chen et al.,(1996) kökbakterileri uygulanmış hıyar bitkilerini *Pythium aphanidermatum* ile enfekte etmişler ve kökbakterileri tarafından ISR'nin uyarılması sonucu hastalık gelişiminde azalma meydana geldiğini ve bu bitkilerde Pal, peroxidase ve polyphenol oxidase enzimi aktivitelerinde artış meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Tüm bu sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde enzim aktivasyonunda, konukçu-patojen-kökbakterisi interaksiyonlarının önemli olduğu, bitki çeşidine, patojene ve kökbakterisi izolatına göre değişiklik gösterebilecekleri sonucuna varılabilmektedir. Tüzün (2001) tarafından da bildirildiği gibi, enzim aktivitesi ve birikimi; bitki genotipi, fizyolojik koşullar, patojen ve teşvik edici etmen veya faktöre göre değişiklik gösterebilmektedir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Son yıllarda Dünyada ve ülkemizde Domates bakteriyel benek hastalığı oldukça önemli ürün kayıplarına neden yol açmaktadır. Tohumla da taşınabilen bu hastalık özellikle fideliklerde, seralarda ve yazları yağışlı geçen bölgelerde zaman zaman çok etkili görülmekte ve önemli ürün kayıplarına neden olabilmektedir. Domateste Bakteriyel Benek hastalığının önlenmesi amacıyla kullanılan bakırlı preparatlara karşı patojenin hızla dayanıklılık kazandığı, dithiokarbamatlı fungusitlerin ise kanserojenik olmaları nedeniyle salçada kalıntı toleranslarının sıfır olduğu ve dayanıklı çeşit arayışlarının da patojenin tüm ırklarına karşı başarılı olamadığı bilinmektedir. Son yıllarda, patojenik olmayan kökbakterileri (KB) aracılığıyla konukçuda sistemik dayanıklılığın uyarılmasının patojenin engellenmesinde daha sorunsuz ve kalıcı bir çözüm olduğu bildirilmektedir. Özellikle yapılan çalışmalara bakıldığında tohum ilaçlaması, bakırlı preparatlar ile bitkiye uygulama gibi tek yönlü mücadele yöntemlerinin kullanıldığı dikkati çekmektedir. Bu tez çalışması, Pst'nin in sistemik dayanıklılığın uyarılması yoluyla biyolojik savaşımlı konusunda yapılmış bir ön çalışma niteliği taşımaktadır. Bu çalışmanın bulguları ışığında gelecekte hastalıkla mücadele konusunda yapılması gereken çalışmalar aşağıdaki gibi özetlenebilir:

Kökbakterileri uygulanan bitkilerdeki Pal enzimi üretimi ile saksı testleri denemelerinde tohum uygulamalarının hastalık gelişimi üzerine etkileri karşılaştırıldığında genel olarak Pal seviyesindeki artışla hastalığın engellenmesi arasında doğrusal bir ilişki gözlenmiştir. Kökbakterilerinin konukçu bitkide patojene karşı ISR mekanizmalarını harekete geçirme özelliklerinin saptanmış olması, bunların etki spektrumunun ve etki süresinin de uzun olmasını sağlayabilir. Bunlar da gelecekte araştırılması gereken konular arasında yer almalıdır.

Bu patojeni engellemede birden fazla yöntemin bir arada kullanıldığı entegre mücadele yöntemlerine önem verilmeli, bu amaca yönelik mücadele programları hazırlanmalıdır. Son yıllarda, bu anlamda daha çok zararsız kimyasallar ve biyolojik uygulamalar gibi alternatif yöntemler dikkati çekmektedir.

Özellikle, bitki iletim sistemlerine yapılacak uygulamalar (damla sulama sistemine antagonistlerin ya da kimyasalların verilmesi vb gibi), sorunu bir ölçüde hafifletebilir. Bu hastalığı engellemede, çevre dostu mücadele yöntemleri ile ümit var sonuçlar alınabilir.

Bakteriyel antagonistlerin başarılı olması durumunda bunların domates ekosisteminde popülasyonları giderek artacağı için dinamik bir savaşım stratejisi geliştirilerek hem tohum, hem de domates fidelerine içirme biçiminde uygulamalar yapılarak, domates yetiştiriciliğini tehdit eden bu hastalığa karşı etkin bir mücadele yöntemi geliştirilebilecektir.

### KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abak, K., Öktem, Y.E., Sakin, Ş., 1990.** Domates bakteriyel leke hastalığına (*Pseudomonas syringae* pv. tomato) dayanıklılık ıslahı. Doğ –Turkish Journal of Agriculture and Forestry 14:289-249.
- Alstrom, S. 1991.** Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonas. J. Gen. Appl. Microbiol. 37, 495-501.
- Arıkbay, C., 1996.**Gümrük Birliği Sürecinde Tarım Sektörü-Gıda Sanayi İlişkileri, Türkiye 2. Tarım Ekonomisi Kongresi 2. Cilt, 4-6 Eylül Adana, S.45-52.
- Aslan E., 2005.** Kökbakterilerinin Domates Bakteriyel Benek Hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. tomato)'na Karşı Dayanıklılığı Uyarma Potansiyelleri Üzerinde Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Ens., Bitki Koruma Anabilim Dalı, 92 sayfa.
- Aysan, Y., 1999.**Domates bakteriyel kara leke hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. tomato)tanımı, ırklarının tespiti, domates tohumlarında saptanması ve kimyasal savaşıma alternatif yöntemlerin araştırılması üzerine çalışmalar.Çukurova Üniversitesi,Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı,Doktora Tezi,106 sayfa.
- Aysan, Y., ve Çınar, Ö., 1998.**Domates bakteriyel kara leke hastalığı etmeni (*Pseudomonas syringae* pv. tomato)'nin tohum,toprak ve bitki kalıntılarında yaşamı ve primer infeksiyonlarındaki rolü. VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi. 384-389. 21-25 Eylül, Ankara.
- Aysan, Y., Cinar, O. And Rudolph, K., 1997.**Effect of soil solarization on the survival of bacterial speck on the tomato plant debris in soil.Second Soil Solarization and Integrated Managment of Soil Borne Pests. 16-21 March, 1997.
- Aysan, Y., Çınar, Ö., Nabizadeh-Ardekani, F., and Rudolph, K., 1999.**Identification of *Pseudomonas syringae* pv. tomato (PST) on tomatoes by ELISA and PCR, and determination of races of PST in Turkey.Journal of Turkish Phytopathology 28 (1-2) 45-54.
- Aysan, Y., Sarı, N., Erkılıç, A., Çınar, Ö., Abak, K., 1995.**Domates bakteriyel kara leke hastalığına karşı dayanıklı çeş it ile toprak solarizasyonunun

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)**

- hastalık gelişimi ve verim üzerine etkileri. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi.418 – 422. 26-29 Eylül,Adana.
- Aysan, Y., and Cinar, O., 2000.**Soil solarization: an alternative control method for *Pseudomonas syringae* pv. tomato. IOBS/WPRS Working Group on Integrated Control in Protected Crops in Mediterranean Climate. 24-28 April, Antalya Turkey.IOBC WPRS Bulletin 23(1) 83-87.
- Aysan, Y. ve Çınar, Ö., 2002 a.**Tohum kökenli *Pseudomonas syringae* pv.tomato'ya karşı antagonistlerin etkisi.Türkiye V.Biyolojik Mücadele Kongresi.4-7 Eylül,Erzurum.
- Aysan, Y. ve Çınar, Ö., 2002 b.**Domates tohumlarında *Pseudomonas syringae* pv. tomato'nun aranması.Türkiye I.Tohumculuk Kongresi. 161-166. 11-13 Eylül,İzmir.
- Aysan, Y., Ülke ,G., Çınar, Ö., 2002.**Domates tohumlarında *Pseudomonas syringae* pv.tomato'ya karşı tohum uygulamaları.Türkiye I. Tohumculuk Kongresi. 167-171.11-13 Eylül,İzmir.
- Aysan, Y., Mirik, M., Çetinkaya-Yıldız, R., Küsek, M., 2005.***Pseudomonas syringae* pv.tomato'nun yayılmasında tohum kökenli inokulumun rolü.Türkiye II.Tohumculuk Kongresi, 353 (özet), 9-11 Kasım 2005,Adana.
- Bakker, P. A. H. M., Pieterse, C. M. J., and van Loon, L. C. 2007.** Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 97:239-243.
- Bashan, Y., Okon, Y., Henis, Y., 1982.**Long-term survival of *Pseudomonas syringae* pv. tomato and *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria in tomato and pepper seeds.*Phytopathology* 72:1143-1144.
- Beena, B., Eapen, S.J. and Ramana, K.V., 2003.** Native rhizobacteria for the biological suppression of *Radopholus similis* infesting black pepper (*Piper nigrum* L.). 6th Int. PGPR Workshop 5-10 Oct. 2003, Calicut, India: 12.
- Benlioğlu, K. Ve Benlioğlu, S., 1998.***Pseudomonas syringae* pv. tomato'ya karşı bakır dayanıklılığı üzerinde çalışmalar.8.Türkiye Fitopatoloji Kongresi. 52-56.21-25 Eylül Ankara.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)**

- Bogatsevka, S. N., and Boneva K. P., 1991.**Survival of *Pseudomonas syringae* pv.tomato in seeds of weeds.Proceedings of Working Group *Pseudomonas syringae* pathovars in Italy.209 p.
- Bora, T. ve Özaktan H., 1998,** Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş, Prizma Matbaası, İzmir, 205s.
- Bozkurt, A., ve Özaktan, H., (2009).** Kök Bakterilerinin Fasulye Bakteriyeel Yanıklık Hastalığına (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) Karşı Biyokontrol Etkililiğinin Saptanması Doktora Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Ens., Bitki Koruma Anabilim Dalı, 151 sayfa.
- Bryan, M. K., 1933.**Bacterial speck of tomatoes.Phytopathology 23:897-904.
- Burki, T., 1972.** *Pseudomonas tomato* (Okabe) Alstatt Erreger einer für die Schweiz neuen Tomatenbacteriose. Schweizerische land. Forschung, 11, (2), 97-107.
- Chandra, A., Saxena, R., Dubey, A., and Saxena, P., 2007,** Change in phenylalanine ammonia lyase activity and isozyme patterns of polyphenol oxidase and peroxidase by salicylic acid leading to enhance resistance in cowpea against *Rhizoctonia solani*, Acta Physiol Plant 29:361–367p.
- CHEN Y., Mei R., Lu S., Liu L., Kloepper J. W., 1996,** The use of Yield increasing bacteria (YIB) as Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Chinese Agriculture. In: Management of soil borne diseases, R.S. Uthkede and W.K., Gupta (Eds), Ludhiana: Kalyani Publishers, 164-184.
- Chen, C., Belanger. R.R., Benhamou, N., and Paulitz, T.C., 2000,** Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*, Physiological and Molecular Plant Pathology 56: 13–23p.
- Compeasu, G., Al-Achi, B.J., Platsouka, E. And Levy, S.B., 1998.** Survival of rifampin resistant mutants of *Pseudomonas fluorescens* and *P.putida* in soil systems. Applied and Enviromental Microbiology, 54(10):2432-2438.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)**

- Çınar, Ö., 1977.**Doğu Akdeniz Bölgesi domateslerinde görülen bakteriyel kara leke hastalığı etmeni (*Pseudomonas tomato* Okabe)'nin biyokimyasal yöntemlerle tanımı.Çukurova Üniversitesi,Ziraat Fakültesi Yıllığı 8(4)288-296.
- De Meyer, G., Capieau, K., Audenaert, K., Buchala, A., Métraux, J.P., and Höfte, M., 1999,** Nanogram Amounts of Salicylic Acid Produced by the Rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 Activate the Systemic Acquired Resistance Pathway in Bean, Molecular Plant-Microbe Interactions, 12(5):450-458p.
- Devash Y., Okon, Y.,Henis, Y., 1980.** Survival of *Pseudomonas tomato* in soil and seeds .Phytopath.Zeitsch.99:175-185.
- Erkilic, A., Cinar, O., Aysan, Y., 1994.**Effects of soil solarization and chemical methods on bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv.tomato) on tomato.9th Congres of the Mediterrenean Phytopathological Union.397-399.September 18-24,Kusadasi,Aydın,Turkey.
- Fahy, P.C. and Persley, G.J. (ed.), 1983.** “Plant Bacterial Diseases” A diagnostic guide. Academic Press of Australia.
- Farkas, G. L., and Szirmai, J., 1969,** Increase in phenylalanine ammonia-lyase activity in bean leaves infected with tobacco necrosis virus, Neth. J. P1. Path. 75: 82-85p.
- Geylani,E., 2004.**Domateste tohumla taşınan bakterilerin tanılanması üzerinde çalışmalar.Ege Üniversitesi,Fen Bilimleri Enstitüsü,Yüksek Lisans Tezi, 93 sayfa.
- Gindrat, D. and Burki, T., 1969.** Note preliminaire sur l'apparition en Suisse d'une grave bacteriose des tomates. Rev. Hort. Suisse, 42: 245-246.
- Girish, N., and Umesha, S., 2005,** Effect of plant growth promoting rhizobactersa on bacterial cancer of tomato, Archives of Phytopathology and Palnt Protection, 38(3):235-243p
- GÜL A., Özaktan H., Tüzel Y., Öztan-Kıdoğlu F., 2006.**Önemli Sera Sebze Türlerinde Bazı Kök Bakterilerinin Bitki Gelişimi, Verim ve Besin Maddesi Alımına Etkileri. TÜBİTAK 105 O 571 nolu proje, 1. ara raporu.



**KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)**

- GÜL A., Kıdoğlu F., Tüzel Y., Tüzel I. H., 2008.**Effects of nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) growing in perlite, Spanish Journal of Agricultural Research, 6(3), 422-429.
- <http://www.antalya.bel.tr>, 2006.
- <http://www.apsnet.org>, 2002
- <http://www.fao.org>, 2006.
- <http://www.tuik.gov.tr>, 2006.
- <http://www.tuik.gov.tr>, 2009.
- Jones, J.B., Mc Carter, S. M., Smitley, D.R., 1981.**A vacuum infiltration technique for detecting *Pseudomonas* tomato in soil and plant tissue.Phytopathology 71: 1187-1190.
- Jones J.B., J.P. Jones, R.E. Stall and T.A. Zitter, 1991.**Compendium of Tomato Diseases.APS Pres,Minnesota,USA:
- Karaca, İ., H.Saygılı, 1977.**Domateslerde Bakteriyel Hastalıklar.İzmir Bölge Zirai Mücadele ve Karantina Başkanlığı,yayın No:1.
- Karaca İ. Ve Saygılı H., 1979.** Batı Anadolu'nun Bazı İllerinde Domates ve Biberlerde Görülen Bakteriyel Hastalıkların Oranı, Etmenleri, Belirtileri ve Konukçu Çeşitlerinin Duyurlılığı Üzerinde Araştırmalar. TÜBİTAK, Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu, TOAG/296 No'lu Proje Raporu, 140s.
- Karaca, İ., Demir, G., 1988.**Investigations on seed borne bacterial pathogens in some plants.Doğa-Turkish Journal of Agriculture and Forestry 12: 120-131.
- Karaca, İ., Saygılı H., 1982.**Batı Anadolu'nun bazı illerinde domates ve biberlerde görülen bakteriyel hastalıkların oranı, etmenleri,belirtileri ve konukçu çeşitlerinin duyarlılığı üzerine araştırmalar.3.Türkiye Fitopatoloji Kongresi. 182-192.12-15 Ekim, Adana.
- Keskin, G., Gül, U., 2004.**Domates, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, T.E.A.E-Bakış, Sayı:5, Nüsha:13, Ankara.
- Kim, S. H., 1979.** Dissemination of seed borne *Pseudomonas* tomato by transplants.Phytopathology 79:535.
- King, E.O., Ward, M.K., and Raney, D.E., 1974.** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 44, 301-307.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Kloepper, J. W. and Schroth, M. N., 1978,** Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. *Prov. IV Int. Conf. Plant pathol. Bacteria, Angers, Vol.2:879-882*
- Kloepper, J.W., 1996.** Host specificity in microbe-microbe interactions. *Bioscience* 46:406-9.
- Lelliott, R.A., and Stead, D.E., 1987.** Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Liu, L., Kloepper, J.W and Tuzun, S., 1995.** Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85, 695-698.
- Lynch, J.M., 1976.** Products of soil microorganisms in relation to plant growth. *Crit. Rev. Microbiol.* 5: 67-107
- Mc Carter, S.M., Jones, J.B., Gitaitis, R.D., Smitley, D.R., 1983.**Survival of *Pseudomonas syringae* pv.tomato in association with tomato see,soil,host tissue and epiphytic weed hosts in Georgia.*Phytopathology* 73:1393-1398.
- Okabe, N.1933.**Bacterial diseases of plants occurring in Formosa,II.J.Soc.Trop.Agric.5:2-36.(Rev.appl.Mycol. 12554-556, 1933)
- Ongena, M., Giger, A., Jacques, P.,Dommes, J., and Thonart, P., 2004,** Study of bacterial determinants involved in the induction of systemic resistance in bean by *Pseudomonas putida* BTP1, *European Journal of Plant Pathology* 108: 187–196p
- Özaktan,H., Bora,T., Yağmur,B., Tanyolaç,B., Tuncay,Ö., aslan,E., ve Göre,E., 2005.** Domates Bakteriyel Benek Hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv.tomato) Önlenmesinde Biyokontrol Odaklı İntegre Savaşım Araştırmaları. TÜBİTAK- TOG TAG 2787 NO.LU Proje Kesin Raporu, 32 s.
- Paulin, J.P., 1973.** La maladie des taches noires de la tamate, *Pseudomonas tomato* (Okabe) Brees et al. I.N. de Vulgarisation pour les frituts, legumes et. Champignons, 19pp.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)**

- Pieterse C. M. J., Van Pelt J. A., Verhagen B. W. M., Ton J., Van Wees S. C. M., Leon-Kloosterziel K. M., 2002.** Induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Symbiosis*, 35, 39–54.
- Pitblado, R. E., and Kerr, E. A., 1980.** Resistance to bacterial speck. (*Pseudomonas tomato*) in tomato. *Acta Hort.* 100:379-382.
- Rovira, A.D. and Davery, C.B., 1974.** Biology of the rhizosphere. In the *Plant Root and its Environment*, ed. Carson, E.W., pp. 153-204.
- Saygılı, H., 1975.** Investigation on new bacterial disease of tomatoes in Ege. *The Journal of Turkish Phytopathology* 4: 83-88.
- Saygılı, H., 1989.** “Domateste Bakteriyel Hastalıklar” In *Domateste Hastalıklar Zararlılar ve Yabancı Otlar*. SANDOM Yayını.
- Saygılı, H., Köseoğlu, T., Demir, G., 1985.** Batı Anadolu Bölgesi domates ekim alanlarında hastalık etmeni olan bakterilerin toprakta yaşam durumları ve kullanılan suni gübrelerin bu etmenlere etkileri üzerinde araştırmalar. *Doğa Bilim Dergisi* 9 (3)367-383.
- Schippers B., 1988.** Biological control of pathogens with rhizobacteria. *Phil. Trans. R. Soc. London B* 318: 283-93.
- Sharath Chandra, R.G., Niranjan Raj, S., Amruthesh, K.N., Shekar Shetty, H. And Reddy, M.S., 2003.** Induction of Growth Enhancement on systemic resistance against Downy Mildew in Pearl Millet by plant growth promoting rhizobacteria., 2003. 6th Int. PGPR Workshop 5-10 Oct. 2003, Calicut, India:229-235.
- Silva, H.S.A., Romerio, R.S., Macagnan, D., Halfeld, B. de A., Pereira, M.C.B., and Mounter, A., 2004,** Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities, *Biological Control* 29 (2004) 288–295p
- Smitley, D.R., and Mc Carter, S.M., 1982.** Spread of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and role of epiphytic populations and environmental conditions in disease developments. *Plant Disease* 66:713-717
- Thabssim, A., Ruissen, M. A. And Janse J.D., 1987.** Occurrence of *P. syringae* pv. *tomato* in the Jordan Valley, *Jordan Phytopathologia Mediterranea*, 26 (3): 183-184.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)**

- Tuzun, S.**, 2001, The relationship between pathogen-induced systemic resistance (ISR) and multigenic (horizontal) resistance in plants, *Eur. J. Plant Pathol.* 107: 85–93.
- Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M. and Pieterse, C.M.J.**, 1998. Systemic-resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu.Rev.Phytopathol.* 36:453-483.
- Van Loon LC, Rep M, Pieterse CMJ** ,2006. Significance of inducible defenselated proteins in infected plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* 44:135–162
- VAN PEER R., Niemann G. J., Schippers B.**,1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology*, 81, 728–734.
- Van Wees, S.C.M., Pieterse, C.M.J., Trijssenaar, A., Van't Westende, Y.A.M., Hartog, F., Van Loon, L.C.**, 1997. Differential Induction of Systemic Resistance in arabidopsis by Biocontrol Bacteria. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 10: 716-724.
- Vessey, Kewin, J.**, 2003, Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers, *Plant and Soil* 255: 571–586..
- Wilson, M., Moss, W. P., Campell, H.L., Wang, S. Y., Ji, P., Byrne, J. M., Jones, J. B.**, 1997.Molecular approaches involve in the development of biocontrol agents of bacterial speck and spot of tomato.IOBC/OILB European Foundation for Plant Pathology, Biological Control Working Group,Molecular Approches in Biological Control, 15-18 September,Delemont,Switzerland
- Wilson, M., Campbell, H.L., Jones, J.B. and Cuppels, D.A.**, 2001. Biological control of bacterial speck of tomato under field conditions at several locations in North America. *Phytopathology*

**ÖZGEÇMİŞ**

26/06/1980 tarihinde Manisa'da doğdu. İlköğrenimini Manisa Ali Rıza Çevik İlkokulunda, orta öğrenimini Manisa Atatürk Ortaokulu ve lise öğrenimini Manisa Lisesinde (Süper Lise) tamamladı. 1999 yılında başladığı Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim Programını 2004 yılında tamamladı.2007 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı.