

Domates öz nekrozuna neden olan etmenlere karşı PGPR ve biyoajan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması¹

Selma AKTAŞ², Recep KOTAN³

An investigation of the potential for biological control of tomato pith necrosis by using bio-control bacteria and PGPR under controlled conditions

Abstract: In this study, we investigated the possibility of biological control of tomato pit necrosis, caused by *Erwinia chrysanthemi* and *Pseudomonas viridiflava*, by using 14 plant growth promotion bacteria (PGPR) and 132 potential biocontrol bacteria. The potential biocontrol bacterial strains were tested to determine their antagonistic and/or hyperparasitic activities against the pathogens on Petri plate assays. A total of nine bacterial formulations for root application and two bacterial formulations for foliar spray application that were prepared using broth carrier material were tested for i) the suppression of tomato pith necrosis disease in tomato plants, ii) their effects on some plant growth parameters and iii) their effects on the amount of chlorophyll in greenhouse plants. Many of the bacterial formulations suppressed the disease, contributed to the development of the plant and increased the amount of chlorophyll. Results indicated that some of the formulations tested could be used as biocontrol agents for tomato pith necrosis disease and biofertilizer for tomato production.

Keywords: *Bacillus*, Biocontrol, biopesticide, tomato, PGPR, pith necrosis, *Pseudomonas*

Öz: Bu çalışmada; toplam 14 bitki gelişimini teşvik eden bakteri (PGPR) ve 132 potansiyel biyokontrol bakterisi kullanılarak *Erwinia chrysanthemi* ve *Pseudomonas viridiflava*'nın sebep olduğu domates gövde ve öz nekrozu hastalığının biyolojik mücadele imkânları araştırılmıştır. Potansiyel biyokontrol bakterileri petri denemelerinde patojene karşı antagonistik ve/veya hiperparasitik aktivitelerinin belirlenmesi için petride test edilmiştir. Sıvı taşıyıcı materyal kullanılarak hazırlanan kök uygulamaları için toplam dokuz bakteri ve yaprağa sprey uygulamaları için toplam iki bakteri formülasyonu sera koşullarında domates öz nekrozu hastalığının mücadelesi, bazı bitki gelişim parametreleri

¹ Bu çalışma; birinci yazarın yüksek lisans bitirme tezinden yapılmış olup, BAP-2014-223 nolu Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında desteklenmiştir.

² Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Erzurum

³ Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Erzurum

Sorumlu yazar (corresponding author) e-mail: rkotan@atauni.edu.tr

Alınış (Received): 17.02.2016

Kabul ediliş (Accepted): 08.12.2016

ve bitkideki klorofil miktarı üzerine etkinlikleri bakımından test edilmiştir. Bu bakteriyel formülasyonların birçoğunun hem hastalığı kontrol ettiği, hem de bitki gelişimi ve bitki klorofil miktarında artışlara sebep oldukları tespit edilmiştir. Sonuç olarak; bu çalışmada test edilen bazı formülasyonların hem domates öz nekrozu hastalığının mücadelesinde biokontrol ajanı hem de bitki gelişiminde mikrobiyal gübre olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Bacillus*, Biyolojik mücadele, biyopestisit, domates, PGPR, öz nekrozu, *Pseudomonas*

Giriş

Domates (*Lycopersicon esculentum* L.); ülkemizde başta Marmara, Ege ve Akdeniz Bölgeleri olmak üzere birçok bölgede hem açık alanda hem de örtü altında sofralık ve sanayii domatesi olarak yetiştirilmektedir (Vural et al., 2000). Türkiye; dünya domates üretiminde Çin, Hindistan ve ABD'den sonra dördüncü sırada yer almakta olup; dünya taze domates üretiminin %8'e yakını Türkiye tarafından karşılanmaktadır (FAO 2015).

Domateste fungal ve viral hastalık etmenlerinin yanı sıra pek çok bakteriyel etmen de önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Domates gövde ve öz nekrozu hastalığı da bakteri kaynaklı hastalıklardan birisi olup; bu hastalığın etmenleri arasında *Pseudomonas corrugata*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas mediterranea*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* ve *Erwinia chrysanthemi* yer almaktadır (Scortichini, 1992). Türkiye'de domateste öz nekrozuna sebep olan bakteriyel patojenlerin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda; *Pseudomonas corrugata* (Demir, 1990; Baş ve Çınar 1995), *Pseudomonas mediterraneae* (Basim et al., 2005), *Pseudomonas fluorescens* (Saygılı et al., 2004; Saygılı et al. 2008), *Pseudomonas cichorii* (Demir ve Gündoğdu, 1988; Mirik et al., 2011), *Pseudomonas viridiflava* (Aysan, 2001; Aysan et al., 2004), *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Aysan et al., 2005a) ve *Erwinia chrysanthemi* (Aysan et al., 2005b)'nin domateste varlığı rapor edilmiştir. Domateste öz ve gövde nekrozuna neden olan bu etmenlerin oluşturduğu hastalık belirtileri genelde benzer olmasına rağmen dış belirtilerde bazı farklılıklar olduğu belirtilmektedir (Üstün ve Saygılı, 2001). Hastalık genel olarak domates gövdesinde lekelenmelere, petiol ve meyve sapında lezyonlara, özde kahverengileşme ve boşalmaya ve iletim demetinde renk değişimine neden olmaktadır (Aysan ve ark., 2002).

Domates gövde nekrozunun mücadelesinde kültürel önlemler olarak; sağlıklı üretim materyali kullanılması, budama makaslarının temizliğine dikkat edilmesi, seraların iyi havalandırılması, fazla gübrelemeden kaçınılması ve sanitasyon

uygulamaları önerilmekte; ayrıca yaz aylarında seranın boş olduğu dönemlerde toprak dezenfeksiyonu ve solarizasyon gibi uygulamaların topraktaki inokulum miktarını bir miktar azaltabileceği bildirilmektedir (Saygılı ve ark., 2014). Yoğun sulama ve gübrelemenin ise hastalığı teşvik ettiği belirtilmektedir (Üstün ve Saygılı, 2000). Bakırlı fungusit uygulamalarının da hastalığın mücadelesinde önemli bir etkisinin bulunmadığı belirtilmektedir (Sabet et al., 2000). Ancak; yapılan bazı çalışmalarda dayanıklı çeşit kullanımı ve tohum dezenfeksiyonu yöntemlerinin etkili olabileceği belirtilmiştir (Ustün et al., 2009; Yıldız et al., 2009; Molan et al., 2010).

Bitki bakteri hastalıklarının mücadelesinde kültürel önlemler ve dayanıklı çeşit kullanımı sınırlı olup; kullanılan kimyasalların insan ve hayvan sağlığı ile çevre üzerindeki olumsuz etkilerinin her geçen gün daha iyi anlaşılması, entegre mücadele stratejileri içerisinde biyolojik mücadelenin önemini daha da artırmıştır (Kotan et al. 2009). Aşırı ve bilinçsiz kullanım sonucu artan kimyasal pestisit ve gübre tüketiminin yol açtığı sorunlar; kanser, doğum anormallikleri, sinir sistemi zararları, toksik maddelere bağlı çevre kirliliği, ilaca karşı oluşan direnç, faydalı faunanın yok edilmesi olarak özetlenebilir (Tiryaki ve ark., 2010).

Son yıllarda rizosferde doğal olarak bulunan ve bitki kökleri ile faydalı etkileşim içinde bulunan mikroorganizmaların önemi gittikçe artmaktadır. Bu mikroorganizmalar arasında, Bitki Gelişimini Artıran Kök Bakterileri (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) gerek antagonistik etkileri, gerekse bitki gelişimi ve veriminde artış sağlamaları nedeniyle önemli bir yere sahiptir. Dünyada bakteri içerikli mikrobiyal gübre ve biyopestisitlerin çok sayıda ticari preparatı yapılarak tarımda başarılı bir şekilde kullanıldığı bilinmektedir. Ülkemizde yerli izolatlardan geliştirilmiş bakteri içerikli ruhsatlı ticari mikrobiyal gübre preparatları son yıllarda tarımda başarılı bir şekilde kullanılmaya başlanmasına rağmen ruhsatlı herhangi bir biyopestisit bulunmamaktadır. Dünyada ve ülkemizde biyolojik mücadele çalışmaları her geçen gün daha da önem kazanmakta ve mücadele ile ilgili çalışmaların bu yöne kaymasına sebep olmaktadır (Kotan, 2014, Kotan ve Çelik, 2014). Türkiye’de bakteriyel organizmalar veya bitki aktivatörleri kullanılarak domateste sistemik enfeksiyon oluşturan ve gövde ve öz nekrozuna sebep olan bazı bakteri hastalıklarının mücadelesinde yönelik bazı çalışmalar bulunmaktadır (Çınar and Aysan, 1995; Altın ve Bora, 2001; Çınar ve Aysan, 2002; Aysan et al., 2003). Ancak yapılan çalışmaların sayısı oldukça azdır.

Domateste gövde ve öz nekrozuna sebep olan bakteriyel etmenlerin mücadelesinde kullanılacak etkili bir kimyasalın geliştirilememiş olması biyolojik mücadele gibi alternatif mücadele yöntemlerinin önemini artırmaktadır. Yapılan bu çalışma ile PGPR ve biyoajan bakteri kombinasyonları kullanılarak insan ve hayvan sağlığını tehdit etmeyen, doğal düşmanlara ve yararlı faunaya

zarar vermeyen ve aynı zamanda toprağın yapısını düzelteren, verim ve kaliteyi artıran çevre dostu biyopreparatların tespiti ve domates tarımında hem bitki gelişimi açısından katkı sunan hem de hastalığın kontrolünü sağlayabilecek bakteri içerikli biyofarmülasyonların geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve yöntem

Materyal

Çalışmada kullanılan patojen, PGPR ve biyoajan bakterileri

Çalışmada kullanılan bakterilerin listesi Çizelge 1’de verilmiştir. Bu bakteri izolatları Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Mikroorganizma Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir. Patojen bakteriler Antalya’nın Serik İlçesi’nde seralarda yapılan gözlemlerde domates gövde ve öz nekrozu semptomu sergileyen bitkilerden alınan domates gövde örneklerinden Koch Postulatlarına göre elde edilmiş ve virülanslığı en yüksek olan izolatlardan seçilmiştir (Aktaş, 2014). PGPR ve biyoajan bakteri izolatları ise ülkemizdeki çeşitli kültür ve yabani bitkilerin toprak üstü aksamı veya kök rizosferinden izole edilmiştir. Bu izolatların birçoğu daha önce yürütülen çalışmalarda çeşitli bitkilerde bitki gelişimine önemli katkılar sağladıkları (Kotan, 2002; Karagöz, 2009; Kotan et al., 2009; Erman ve ark., 2010; Turan et al., 2014) ve çeşitli bitki patojeni bakteri ve funguslara karşı biyoajan özellikleri taşıdıkları (Kotan, 2002; Kotan and Sahin, 2006; Kotan et al., 2009) tespit edilmiştir. Bu izolatlar klasik sistemler ve moleküler sistemlerden MIS sistemi kullanılarak tanılanmıştır. Bakterilerin Nutrient Agar (NA) besi yerinde geliştirilen 24 sa’lik saf kültüründen, bir öze dolusu alınarak, içerisinde 500 µl %30’luk glycerol ve 500 µl LB Broth (1 L dH₂O’ya 10 g tryptone, 10 g NaCl ve 5 g yeast extract ilave edilerek hazırlanmıştır) bulunan eppendorf tüplere aktarılarak etiketlenmiş ve karıştırıcıda karıştırılarak daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C’de muhafaza edilmiştir.

Çalışmada kullanılan domates çeşidi

Saksı çalışmalarında test bitkisi olarak Anamas Tohum firmasına ait (*Lycopersicon esculentum* L.) Beton ticari isimli domates çeşidi kullanılmıştır.

Yöntem

Potansiyel biyoajan bakteri izolatlarının petride patojenlere karşı test edilmesi

Dondurulmuş patojen ve potansiyel biyoajan bakteri kültürleri NA besi ortamı içeren petrilere ekilmiş, 27°C’de inkübasyona bırakılarak 24 sa.’lik taze kültürleri

elde edilmiştir. Gelişen taze patojen kültürlerinden steril swap ile alınarak NA besi yüzeyine çizilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan bakteriler
Table 1. Bacteria used in this study

Patojen bakteri türleri	İzolot sayısı	Patojen bakteri türleri	İzolot sayısı
<i>Erwinia chrysanthemi</i>	1	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	1
PGPR bakteri türleri			
<i>Bacillus megaterium</i>	6	<i>Bacillus pumilus</i>	1
<i>Bacillus subtilis</i>	2	<i>Pseudomonas flourescens</i>	1
<i>Pantoea agglomerans</i>	2	<i>Pseudomonas putida</i>	1
<i>Agrobacterium rubi</i>	1		
Biyoajan bakteri türleri			
<i>Bacillus megaterium</i>	38	<i>Bacillus mycoides</i>	2
<i>Bacillus cereus</i>	17	<i>Bacillus thuringiensis</i>	2
<i>Bacillus pumilus</i>	12	<i>Bacillus coagulans</i>	1
<i>Brevibacillus choshinensis</i>	7	<i>Bacillus marinus</i>	1
<i>Bacillus atrophaeus</i>	6	<i>Bacillus oleronius</i>	1
<i>Bacillus subtilis</i>	10	<i>Brevibacillus centrosporus</i>	1
<i>Pseudomonas flourescens</i>	5	<i>Brevibacillus reuszeri</i>	1
<i>Bacillus psychrosaccharolyticus</i>	4	<i>Enterobacter agglomerans</i>	1
<i>Bacillus sphaericus</i>	4	<i>Micrococcus luteus</i>	1
<i>Bacillus laevolacticus</i>	3	<i>Paenibacillus macquariensis</i>	1
<i>Bacillus lentimorbis</i>	3	<i>Pantoea agglomerans</i>	1
<i>Bergeyella zoohelcum</i>	3	<i>Salmonella typhimurium</i>	1
<i>Pseudomonas putida</i>	3	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1
<i>Bacillus licheniformis</i>	2		

Yine steril swap ile alınan potansiyel biyoajanlar ise petrinin (çap 9 cm) tam ortasından çizgi ekimle çizilmiştir. Petriler parafilm ile sarılarak 27°C'de 48 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda oluşan inhibisyon zonları veya hiperparazitik etkilerinin değerlendirilmesinde biyoajan bakterinin kolonilerinin petri yüzeyindeki yayılımı ölçülerek kaydedilmiştir (Kotan 2002). Bu işlem her biyoajan bakteri için 3 kez tekrar edilmiş ve elde edilen bu 3 değerın ortalaması ve standart sapması değerlendirilmede kullanılmıştır.

Saksı toprağının hazırlanması

Saksı denemelerinde; organik maddece zengin toprak, torf ve kumdan eşit hacimlerde karıştırılarak elde edilen karışım bitki geliştirme ortamı olarak

kullanılmıştır. Bu karışımdan 3 litrelik plastik saksılara eşit miktarlarda doldurulmuştur.

PGPR ve biyoajan bakteri formülasyonlarında kullanılan sıvı taşıyıcı

Bakteriyel biyofarmülasyonlarda sıvı taşıyıcı olarak; Prof. Dr. Recep Kotan tarafından Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan tescillendirilen BM-MegaFlu (2013 tarih ve 5943 tescil nolu) isimli ticari karışım mikrobiyal gübrenin sıvı taşıyıcısı kullanılmıştır (Kotan, 2014). Bu taşıyıcı formülasyonun içeriği; su, çeşitli organik maddeler (deniz yosunu, peynir altı suyu ve bitkisel özütler) ve içeriğindeki bakteri izolatını koruyucu ve homojenizasyonunu sağlayıcı çeşitli maddelerden (carboxymethylcellülose, kalsiyum karbonat, glyserin, magnezyum sülfat) oluşmaktadır.

PGPR bakteri uygulamaları ve domates fidelerinin saksılara transferi

Her saksıya 3 bitki olacak şekilde dikimler yapılmış ve her uygulama için toplam 6 saksı kullanılmıştır. Deneme aynı koşullarda 3 kez tekrar edilmiştir. Çalışmada; hem hormon ve amino asit üreten bakterilerin bitkilerin sistemik dayanıklılık mekanizmaları üzerine etkilerinin araştırılması için kök daldırma şeklinde uygulama yapılmış; hem de biyoajan bakterilerin bitkinin toprak üstü aksamına sprey edilerek hastalığı koruyabilme potansiyeli araştırılmıştır. Kök daldırmada 9 farklı bakteri kombinasyonu, sıvı taşıyıcı, BM-Mega Flu isimli ticari mikrobiyal gübre ve hiçbir bakteri uygulaması yapılmayan uygulama kullanılmıştır (Çizelge 2). PGPR bakteri kültürleri TSB besi ortamında ayrı ayrı geliştirilerek daha sonra kombinasyonu oluşturan bakteri kültürlerinden eşit hacimlerde alınarak oluşturulan karışımdan 1/100 oranında sıvı taşıyıcıya aktarılmış ve ardından 48 sa biyoreaktörde inkübasyona bırakılmıştır. Geliştirilen bakteri kültürleri 1/100 oranında musluk suyu ile seyreltilerek kullanılmıştır. PGPR uygulamalarında yapışmayı kolaylaştırmak amacı ile sıvı kültürlerin içerisine sukroz (0,01 g/ml) ilave edilmiş ve 1 aylık domates fidelerinin kökleri bu karışıma daldırılarak 15 dk bekletilmiştir. Ardından fideler daha önceden hazırlanan saksılara şaşırtılmıştır. Saksılar %70 nem ve 18-20°C sıcaklıkta, 12 sa gece-gündüz olarak aydınlatılan bitki büyüme kabinlerine alınarak 10 gün bekletilmiştir.

Biyoajan ve patojen bakteri uygulamaları

In-vitro petri denemeleri sonuçlarında özellikle güçlü hiperparazitik etki gösteren izolatlar arasından seçilerek oluşturulan iki farklı bakteri formülasyonu *in-vivo* saksı denemelerinde biyoajan olarak; patojen bakteri olarak ise *Erwinia chrysanthemi* Ant 17a ve *Pseudomonas viridiflava* Ant 7b bakteri izolatlarınının 1/1 oranında oranındaki karışımı kullanılmıştır (Çizelge 3).

Çizelge 2. Saksı denemelerinde kök daldırmada kullanılan uygulamalar
Table 2. Applications used root dipping in pot assays

Formülasyonlar	Formülasyonlarda kullanılan bakteri izolatları*						
B1	A-16	RK-79	TV-42A	TV-6D			
B2	A-16	RK-79	TV-67C	TV-6D	TV-60D		
B3	A-16	RK-79	TV-12E	TV-6D	TV-60D	TV-6F	
B4	A-16	RK-79	KBA-10	TV-6D	TV-60D	TV-6F	TV-11D
B5	A-16	RK-79	TV-87A	TV-6D			
B6	A-16	RK-79	M-3	TV-6D	TV-60D		
B7	A-16	RK-79	FDG-37	TV-6D	TV-60D	TV-6F	
B8	A-16	RK-79	RK-92	TV-6D	TV-60D	TV-6F	TV-11D
B9	A-16	RK-79	RK-33	TV-6D	TV-60D	TV-91C	
Kontrol uygulamaları	İçerik						
K1	Sadece sıvı taşıyıcı						
K2	BM-Mega Flu isimli ticari mikrobiyal gübre						
K3	Hiçbir bakteri veya sıvı taşıyıcı uygulanmamıştır						

*A-16 ve RK-33: *Agrobacterium rubi*; RK-79 ve RK-92: *Pantoea agglomerans*; TV-42A: *Pseudomonas. Putida*; TV-67C: *Bacillus pumilus*; TV-12E: *Bacillus subtilis*; KBA-10, M-3, TV-6D, TV-60D, TV-87A ve TV-91C: *Bacillus megaterium*; FDG-37 ve TV-11D: *Pseudomonas flourescens*; TV-6F: *Bacillus subtilis*

Çizelge 3. Saksı denemelerinde biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan uygulamalar
Table 3. Applications used as biological control agents in pot assays

Formülasyonlar	Formülasyonlarda kullanılan bakteri izolatları*				
BA-A	TV 86E	TV 85F	RK 31	TV 95C	TV 6F
BA-B	TV 81B	TV 96B	RK 31	TV 95C	TV 17C

*RK-31: *Bacillus pumilus*, TV-6F ve TV-17C: *Bacillus subtilis*; TV-81B: *Bacillus cereus*; TV-85F: *Bacillus sphaericus*; TV-86E: *Bacillus-GC* group; TV-95C: *Bacillus megaterium*; TV-96B: *Bacillus laevolacticus*

Yukarıda izah edildiği gibi önce TSB besi ortamında ayrı ayrı geliştirilerek daha sonra kombinasyonu oluşturan bakteri kültürlerinden eşit hacimlerde alınarak oluşturulan karışımdan 1/100 oranında sıvı taşıyıcıya aktarılan biyoajan kültürleri 48 sa biyoreaktörde inkübasyona bırakılmıştır. Geliştirilen bakteri kültürleri 1/100 oranında musluk suyu ile seyreltilerek bitkiler üzerine 24 sa aralıklar ile 2 defa sprey edilmiştir. Üçüncü gün ise; patojen bakteri izolatlarından *Erwinia chrysanthemi* Ant 17a ve *Pseudomonas viridiflava* Ant 7b bakteri izolatlarının TSB'da hazırlanan 1×10^8 hücre/ml'lik karışımı (1/100 oranında) steril kürdan ile açılan ve her bitkide gövde üzerinde 10 yara bulunan bitkilere sprey edilmiştir.

Ardından 24 sa sonra üçüncü biyoajan uygulaması tekrar edilmiştir. Saksılar %70 nem ve 18-20°C sıcaklıkta, 12 sa gece-gündüz olarak aydınlatılan bitki büyütme kabinlerine alınarak 30 gün boyunca 3 günde 1 sulama yapılarak bekletilmiştir. Kontrol olarak kökleri bakteri içermeyen sıvı taşıyıcıda bekletilmiş fideler, BM-MegaFlu isimli ticari mikrobiyal gübre ve hiçbir uygulama yapılmayan uygulamalar kullanılmıştır. Deneme 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Fide dikiminden 30 gün sonra bitki boyu (cm), gövde çapı (mm), çiçek sayısı (çiçek/bitki) ve hastalık şiddeti (1-5 skalası) ölçümleri yapılmıştır. Hastalık şiddeti değerlendirmesinde 1-5 skalası kullanılmıştır. Bu skalaya göre; 1: Sağlıklı bitkiler, 2: Bitkilerde %1-25 oranında pörsüme var, 3: Bitkilerde %26-50 oranında pörsüme var, 4: Bitkilerde %51-75 oranında pörsüme var, 5: %76 veya daha fazla hastalık var veya bitkiler tamamen ölmüştür.

Yaprakta klorofil miktarı (SPAD değeri)

Taşınabilir klorofil metre yardımıyla bitkilerde büyüme parametreleri ve hastalık şiddeti açısından yapılan değerlendirmelerde tepe noktasına yakın sağlam yapraklardan ölçüm alınmıştır. Klorofil metre bitkilerin sağlam yapraklarından klorofil içeriği indeks (CCI Chlorophyll Content Index) ölçümlerini (1 cm çaplı) 0 ile 200 arasında yapabilmektedir.

Sonuçların analiz edilmesi

Saksı çalışmalarından elde edilen sonuçlar SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Version 9.0)'de analiz edilmiş, aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılığının önem derecesini belirlemek için Duncan testi ($p \geq 0.05$) yapılmıştır.

Bulgular ve tartışma

Petri denemelerinde *E. chrysanthemi* Ant 17a ve *P. viridiflava* Ant 7b patojenlerine karşı test edilen toplam 132 potansiyel biyoajan bakterinin hiperparazitik ve antibiyosis etkinlikleri Çizelge 4 ve Çizelge 5'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre; test edilen toplam 132 bakteri izolatlarının 94'ü petride *E. chrysanthemii*'ye karşı hiperparazitik ve 23 izolat ise antibiyosis etki göstermiştir. Toplam 11 bakteri izolatı ise hiçbir etki göstermemiştir. Yine bu izolatların 35'i petride *P. viridiflava*'ya karşı hiperparazitik ve 8 izolat ise antibiyosis etki göstermiştir. Toplam 92 bakteri izolatı ise hiçbir etki göstermemiştir.

Saksı denemelerinde uygulamaların domates bitkisinin bitki boyu, gövde çapı, çiçek sayısı, klorofil miktarı ve domates gövde ve öz nekrozu hastalık şiddeti üzerine etkisi Çizelge 6'da verilmiştir. Saksı çalışmaları ile ilgili genel bir görsel de Şekil 1'de verilmiştir.

Çizelge 4. Potansiyel biyokontrol bakterin Petri denemelerinde *Erwinia chrysanthemi*'ye karşı hiperparazitik ve antagonistik aktiviteleri
Table 4. Antagonistic and hyperparasitic activity of the potential biocontrol bacteria tested against *Erwinia chrysanthemi* on Petri assays

Bakteriler	TIS*	Hiperparazitik etki (cm)			Antagonistik etki (cm)		
		EIS	Min	Max	EIS	Min	Max
<i>Bacillus megaterium</i>	35	32	0.50	3.50	3	0.80	2.50
<i>Bacillus cereus</i>	16	10	0.70	3.50	8	0.80	1.50
<i>Bacillus pumilus</i>	11	5	0.70	5.20	1	0.60	1.80
<i>Bacillus atrophaeus</i>	6	5	0.20	1.30	0	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	6	3	0.60	2.50	3	0.70	1.10
<i>Brevibacillus choshinensis</i>	6	5	0.50	2.00	1	0.80	1.90
<i>Bacillus psychrosaccharolyticus</i>	4	3	0.80	5.00	1	0.70	1.00
<i>Bacillus sphaericus</i>	4	4	0.50	4.30	0	-	-
<i>Pseudomonas flourescens</i>	4	3	0.70	0.80	1	0.80	0.80
<i>Bacillus laevolacticus</i>	3	1	0.80	1.30	2	0.60	0.80
<i>Bacillus lentimorbus</i>	3	2	0.60	1.50	1	0.80	1.10
<i>Bacillus-GC group</i>	3	3	0.80	5.00	0	-	-
<i>Bergeyella zoohelcum</i>	3	3	3.00	4.30	0	-	-
<i>Pseudomonas putida</i>	3	3	0.50	2.70	0	-	-
<i>Bacillus licheniformis</i>	2	1	0.70	1.10	1	0.80	1.10
<i>Bacillus mycoides</i>	2	2	0.70	2.40	0	-	-
<i>Bacillus coagulans</i>	1	1	0.90	1.40	0	-	-
<i>Bacillus marinus</i>	1	0	-	-	1	0.50	1.20
<i>Bacillus oleronius</i>	1	1	0.90	1.60	0	-	-
<i>Bacillus thuringiensis</i>	1	1	1.60	2.20	0	-	-
<i>Brevibacillus centrosporus</i>	1	1	0.50	2.00	0	-	-
<i>Brevibacillus reuszeri</i>	1	1	0.90	1.80	0	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	1	1	0.80	1.00	0	-	-
<i>Paenibacillus macquariensis</i>	1	1	1.20	1.30	0	-	-
<i>Pantoea agglomerans</i>	1	1	0.10	1.50	0	-	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1	1.20	1.40	0	-	-
Diğer etkisiz izolatlar	11	0	-	-	0	-	-

*TIS: Toplam izolat sayısı; EIS: Etkili izolat sayısı

Bu sonuçlara göre; en yüksek bitki boyu B5+BA-B nolu uygulamasından (29,33 cm), en yüksek gövde çapı B3+BA-B nolu uygulamasından (7,33 mm), en yüksek çiçek sayısı B4+BA-B nolu uygulamasından (20 adet çiçek/bitki) ve en yüksek klorofil miktarı ise K2 (MF+BA-A) nolu uygulamasından (53,56) elde edilmiştir.

Çizelge 5. Potansiyel biyokontrol bakterinin Petri denemelerinde *Pseudomonas viridiflava*'ya karşı hiperparazitik ve antagonistik aktiviteleri

Table 5. Antagonistic and hyperparasitic activity of the potential biocontrol bacteria tested against *Pseudomonas viridiflava* on Petri assays

Bakteriler	TIS	Hiperparazitik etki (cm)			Antagonistik etki (cm)		
		EIS	Min	Max	EIS	Min	Max
<i>Bacillus atrophaeus</i>	5	1	0.80	0.80	4	1.00	2.20
<i>Bacillus cereus</i>	10	8	0.60	3.40	2	0.80	0.90
<i>Bacillus laevolacticus</i>	1	1	2.00	2.70	0	-	-
<i>Bacillus lentimorbus</i>	1	1	0.80	1.10	0	-	-
<i>Bacillus megaterium</i>	10	9	0.50	2.20	1	0.70	1.50
<i>Bacillus mycoides</i>	1	1	1.00	1.90	0	-	-
<i>Bacillus pumilus</i>	3	2	0.50	4.00	1	0.80	1.00
<i>Bacillus subtilis</i>	1	1	0.80	3.10	0	-	-
<i>Bacillus thuringiensis</i>	2	2	1.10	1.30	0	-	-
<i>Bacillus-GC group</i>	1	1	1.10	1.50	0	-	-
<i>Bergeyella zoohelcum</i>	2	2	0.90	1.20	0	-	-
<i>Brevibacillus choshinensis</i>	3	3	0.60	1.20	0	-	-
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	1	0.80	2.00	0	-	-
<i>Pseudomonas flourescens</i>	1	1	2.20	2.60	0	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	1	1	0.90	1.10	0	-	-
Diğer etkisiz izolatlar	92	0	-	-	0	-	-

*TIS: Toplam izolat sayısı; EIS: Etkili izolat sayısı



Şekil 1. Saksı denemelerinden genel bir görünüm
Figure 1. A general view of the pot experiments

Hastalık şiddeti değerlendirilmesinde; en düşük hastalık şiddeti B3+BA-A (1.00), B3+BA-B (1.00), B4+BA-B (1.00), B9+BA-A (1.00) ve B4+BA-A (1.33) uygulamalarından elde edilmiştir.

Çizelge 6. Saksı denemelerinde uygulamaların bitki gelişim parametreleri, klorofil miktarı ve domates gövde ve öz nekrozu hastalık şiddeti üzerine etkisi

Table 6. Effect of the applications on some plant growth parameters, chlorophyll contents and disease severity of tomato pit necrosis in pot assays

Uygulamalar	Bitki boyu (cm)	Gövde çapı (mm)	Çiçek sayısı (adet/bitki)	Klorofil miktarı	Hastalık şiddeti (1-5)
Bakteri uygulamaları*					
B1+BA-A	17.50±8.82 a	05.16±0.75 a-e	11.33±5.31 c-f	43.66±5.87 b-e	3.33±0.51 gh
B1+BA-B	20.83±3.76 a-c	04.50±1.04 ab	08.50±5.46 a-c	39.20±3.56 a	4.00±0.00 ı
B2+BA-A	20.16±3.12 a-c	06.33±0.51 e-h	10.83±2.78 b-f	43.93±3.63 b-e	2.66±0.51 ef
B2+BA-B	21.16±3.86 a-c	05.50±0.54 b-e	13.50±3.14 d-g	40.83±4.71 a-c	3.33±0.51 gh
B3+BA-A	28.00±3.79 de	06.16±1.47 d-g	18.16±1.47 h-k	50.80±1.69 gh	1.00±0.00 a
B3+BA-B	27.66±3.32 de	07.33±0.81 h	19.00±3.28 ı-k	41.86±3.55 a-d	1.00±0.00 a
B4+BA-A	25.00±5.09 b-e	06.83±0.98 f-h	18.50±1.64 h-k	47.76±3.67 e-g	1.33±0.51 ab
B4+BA-B	27.83±4.11 de	06.66±1.03 f-h	20.00±4.85 k	52.96±0.83 h	1.00±0.00 a
B5+BA-A	25.50±3.44 c-e	06.66±0.51 f-h	14.16±1.16 e-h	45.90±1.12 d-f	2.66±0.51 ef
B5+BA-B	29.33±1.75 e	07.16±0.75 gh	18.16±2.92 h-k	48.60±3.56 f-g	1.66±0.51 bc
B6+BA-A	20.00±3.22 ab	04.83±0.98 a-c	08.16±3.06 a-c	41.23±5.31 a-c	3.33±0.51 gh
B6+BA-B	21.83±2.13 a-c	04.50±1.04 ab	07.50±2.50 a-c	39.76±1.83 ab	3.66±0.51 hı
B7+BA-A	20.33±2.42 a-c	05.00±1.09 a-d	11.00±1.67 c-f	43.76±1.06 b-e	2.33±0.51 de
B7+BA-B	22.66±3.32 a-c	05.00±0.63 a-d	11.50±2.94 c-f	46.50±3.22 e-f	3.00±0.00 fg
B8+BA-A	20.50±3.39 a-c	04.66±0.81 ab	06.33±1.75 ab	40.86±0.99 a-c	2.33±0.51 de
B8+BA-B	22.16±4.07 a-c	05.33±1.03 a-e	10.00±2.60 a-e	40.86±1.91 a-c	2.33±1.03 de
B9+BA-A	22.16±2.04 a-c	04.16±0.40 a	09.00±3.09 a-d	45.80±1.35 d-f	1.00±0.00 a
B9+BA-B	20.33±2.06 a-c	04.50±0.54 ab	06.16±3.06 a	45.66±2.14 d-f	1.66±0.51 bc
<hr/>					
K1+BA-A	21.16±4.35 a-c	05.00±0.89 a-d	08.16±3.25 a-c	40.83±3.72 a-c	3.66±0.51 hı
K1+BA-B	19.66±3.50 ab	04.16±1.16 a	08.00±2.52 a-c	40.40±1.47 a-c	4.00±0.00 ı
K2+BA-A	24.83±4.02 b-e	06.16±0.75 d-g	16.50±5.46 g-k	53.56±3.75 h	2.00±0.89 cd
K2+BA-B	24.66±4.63 b-e	06.00±1.09 c-f	14.66±5.24 f-ı	44.60±4.07 c-f	2.66±0.51 ef
K3+BA-A	21.50±1.64 a-c	05.16±0.75 a-e	08.50±2.34 a-c	41.93±3.61 a-d	2.66±0.51 ef
K3+BA-B	23.16±2.71 b-d	05.16±0.40 a-e	11.33±4.27 c-f	44.13±0.33 c-e	2.33±0.51 de
Ortalama	22.83±4.63	05.50±1.24	12.04±5.30	44.39±4.91	2.45±1.05
F	3.988	7.214	9.832	9.792	23.197

*B1-9: PGPR formülasyonları, BA-A ve BA-B: Biyoajan formülasyonları

Hastalık şiddetindeki bu azalış kontrol uygulamaları ile karşılaştırıldığında istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Daha önce yapılan benzer bir çalışmada; *Erwinia chrysanthemi*'ye karşı petri denemelerinde inhibasyon zonu oluşturan 16 aday antagonist organizmanın 13'ünün kontrollü koşullarda domates fidelerinde hastalığı %33-89 oranında engellediği, bu izolatlar arasından seçilen 5 bakterinin ise sera koşullarında test edildiği ve %74 oranında başarı sağladığı belirtilmiştir (Aysan et al., 2003). Bu çalışmada; PGPR bakterilerinin toprak altında kök

bölgesine uygulanması, biyoajan bakterilerinin ise toprak üstünde uygulanması ile hastalık mücadelesi yanında bitki gelişimi ve verimde de önemli kazanımlar elde edilebileceği düşünülmektedir. Şekil 2’de de görüldüğü gibi özellikle B3+BA-A ve BA-B, B4+BA-A ve BA-B, B5+BA-A ve BA-B ve K2+BA-A ve BA-B uygulamalarında hem bitki büyüme parametrelerinde önemli artışlar, hem de hastalık şiddetinde önemli azalışlar gözlenmiştir. Vejetatif aksamdaki bu geçilmeye paralel olarak çiçek sayılarında da çok büyük artışlara sebep olduğu görülmüştür. Bitkilerde hastalık oluşturan bakteriyel patojenlerle mücadelenin zaten zor olduğu bilinmesinin yanında özellikle de iletim demetine kolonize olarak hastalık oluşturan patojenlerle mücadelenin daha da büyük zorlukları bulunmaktadır. Domates gövde ve öz nekrozu hastalığının mücadelesinde etkili bir kimyasal mücadele yöntemi bulunmamaktadır. Kültürel önlem olarak ise; yüksek nem oluşumunu önlemek için seralar iyi havalandırılmalı, aşırı azot uygulamasından kaçınılmalı, potasyum uygulaması yapılmalı, ürün artıkları toplanarak imha edilmeli, hastalıklı bitkiler hemen uzaklaştırılmalı ve münavebe yapılmalıdır. Gövde ve öz nekrozuna sebep olan patojenlere karşı dayanıklı domates çeşitlerin bulunmadığı (Ustün et al., 2009a), bakırlı fungusit uygulamalarının ise hastalığın mücadelesinde önemli bir etkisinin olmadığı hatta yüksek dozlarda uygulandığında da toksik etkisinin olabileceği belirtilmektedir (Benlioğlu ve Özakman, 1992; Sabet et al., 2000; Ustün et al., 2005). Domateste gövde ve öz nekrozuna sebep olan patojenlerin pek çoğunun tohumla taşındığı bilinmekte ve tohum dezenfeksiyon yöntemleri ile patojenin elemine edilebileceği belirtilmektedir (Chellemi et al., 1994; Aysan ve ark., 2002, Yıldız et al., 2009). Ancak, organik tarım uygulamalarında tohum ve toprak dezenfeksiyonunda kullanılan pek çok dezenfektan maddenin kullanımı yasaklandığı için de yine bu amaçla da biyolojik ürünlerin kullanılabilmesi imkânları üzerinde durulmaktadır. Bu bakımdan; PGPR ve biyoajan bakterilerinden oluşturulacak formülasyonların hem toprak altı aksama hem bitkinin toprak üstü aksamına birlikte uygulanmasının önemli bir avantaj sağlayacağı düşünülmektedir. Bitkilerdeki beslenme noksanlıklarının yanı sıra abiyotik stres koşullarından, hastalık ve zararlılardan kaynaklanan kayıpların önüne geçilmesinde dünyadaki yeni yaklaşım, kimyasallara alternatif yeni yöntemlerin geliştirilmesi olmuştur (Saber, 2001). Bu yöntemler içerisinde en çok üzerinde durulan ise; tarımda kimyasal gübre ve pestisitlere alternatif olarak faydalı mikroorganizmaların kullanımınıdır. Bu mikroorganizmalar içerisinde bakteriler önemli bir yer tutmaktadır.



Şekil 2. Uygulamaların bitki gelişim parametreleri ve hastalık şiddeti üzerine etkisini gösteren saksı denemelerinden bir görünüm

Figure 2. A general view of the applications effected on some plant growth parameters, chlorophyll contents and disease severity in pot assays

PGPR bakterileri; havanın serbest azotunu bağlama (Çakmakçı et al., 2007a), inorganik fosfat kaynaklarını çözme (Aslantaş et al., 2007; Güneş ve ark., 2013), bitki patojenlerini inhibe etme (Kotan ve Şahin, 2002; Karagöz, 2009; Gökçe ve Kotan, 2014), enzim üretme (Şahin et al., 2004; Çakmakçı et al., 2007b), büyüme hormonları sentezleme (Aslantaş et al., 2007) ve çeşitli kompleks karbon kaynaklarını mineralize etme (Kotan and Şahin, 2006) gibi farklı mekanizmalara sahiptirler. Bu çalışmada bitki gelişiminde elde edilen önemli katkılar yukarıda sayılan mekanizmalardan bir ya da bir kaçının sayesinde olduğu düşünülmektedir.

Bitki kök kısmına yapılacak bakteri uygulamaları ile toprak üstü patojenlerine karşı sistemik dayanıklılık mekanizmasına bağlı olarak bir koruma sağlanabileceği hatta oluşacak bu dayanıklılığın nematot ve virüs hastalıklarının yanı sıra stres koşullarına karşı da bitkiyi koruyabileceği bilinmektedir (Zdor and Anderson 1992; Leeman et al., 1995; Whipps, 2001; Siddiqui et al., 2006; Dashti et al., 2012). Bu nedenle bu çalışmada etkili bulunan izolatların gövde ve öz nekrozu patojenlerinden bitkideki sistemik dayanıklılığı uyararak *Erwinia chrysanthemi* ve *Pseudomonas viridiflava*'nın yanısıra diğer pek çok abiyotik ve biyotik faktörlere karşı da bir koruma sağlayabileceği de düşünülmektedir.

Son yıllarda PGPR izolatlarının hem mikrobiyal gübre hem de biyolojik mücadele amacı ile kullanıldığı çalışmalara sıklıkla rastlanmaktadır. Ji et al., (2006) Amerika Birleşik Devletleri'nde yaptıkları bir çalışmada *P. s. pv. tomato* ve *X. a. pv. vesicatoria*'nın domateste neden oldukları hastalıklara karşı PGPR izolatlarını denemişlerdir. Sonuçta bazı PGPR izolatlarının arazi şartlarında bu hastalıklara karşı bitkideki dayanıklılık mekanizmasını tetiklediklerini ve kök rizosferine uygulanan PGPR izolatları ile yaprak uygulamalarında biyoajan olarak kullanılan izolatların birlikte uygulanması durumunda daha iyi sonuçlar elde edilebileceğini öne sürmüşlerdir.

PGPR ya da biyoajan bakterilerin diğer konvensiyonel metotlarla organik tarımda tek başlarına kullanılabilmesi gibi önemli avantajları vardır. Ancak, konvensiyonel tarımda tek başlarına kullanılabildikleri gibi bazı kimyasal pestisitler ile birlikte entegre edilerek etkinliklerinin daha da artırılabilirliği belirtilmektedir (Bashan and de-Bashan, 2002; Omar et al., 2006). Bu çalışma kapsamında etkili bulunan izolatların ileride yapılacak çalışmalarda ülkemizde yaygın olarak kullanılan kimyasal pestisitlere duyarlılıkları da belirlendikten sonra dayanıklı oldukları pestisit grupları ile birlikte kullanılabilirliğinin araştırılması ve daha etkili sonuçların elde edilmesi de muhtemeldir.

PGPR bakterilerinin bitki beslenmesine etki ederek hastalıklara karşı koruma sağladığı da bilinen bir gerçektir. Bitki beslemesi ile hastalıklara duyarlılık arasındaki ilişkileri belirlemeye yönelik çalışmalar da son yıllarda artarak devam etmektedir. Gövde ve öz nekrozuna sebep olan *P. corrugata*, *P. cichorii*, *P.*

viridiflava ve *E. carotovora* subsp. *carotovora*'ya karşı 400 ppm düzeyindeki potasyum uygulamasının ve 120 ppm kalsiyum uygulamasının hastalık şiddetinde önemli düşüslere sebep olduğu ve aynı zamanda verimde de artışların görüldüğü belirtilmiştir (Ustün et al., 2009b). Köke uygulanan PGPR bakterilerinin hastalığı önleme başarısının bu izolatların bitki kök bölgesine kolonizasyonu ile de çok yakından ilişkili olduğu ve domates kök bölgesinin bu bakteriler için çok uygun bir ortam olduğu yapılan çalışmalar ile teyit edilmiştir (Chung et al., 2008; Ajilogba et al., 2013; Huang et al., 2013; Rocha and Moura, 2013). Daha önce yürütülen bazı çalışmalarda bu tez kapsamında kullanılan bakteri izolatlarının karbon profillerinin oldukça geniş olduğu ve bundan dolayı rekabetik yeteneklerinin oldukça üstün oldukları düşünülmektedir (Kotan and Sahin, 2006). Bu üstünlükleri sayesinde etkili biyoförmülasyonda bulunan bakteri izolatları bitkilerin kök sistemine çok iyi kolonize olabilir. Senol et al., (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada; bu çalışmada da kullanılan bazı bakteri izolatlarının kitinaz enzimi ürettiği tespit edilmiştir. Bu yüzden bu formülasyonların toprak orijinli fungal hastalıkların kontrolünde de önemli etkiler gösterebileceği düşünülmektedir. Ayrıca etkili formülasyonlar içerisinde ağırlıklı olarak *Bacillus* türlerinin olması oluşturulabilecek ticari formülasyonunun raf ömrünün uzun olması ve uygulama alanında uzun süre aktivitesinin devam edebilmesi açısından önemlidir.

Bitkilerin kök bölgesine yapılan PGPR uygulamalarında azot fiksasyonu, fosfatı çözebilme ve siderofor üretiminin bitki gelişimi ve verim parametreleri açısından önemli katkılar sağladığına yönelik çok sayıda çalışma vardır (Deng et al., 2013; Tan et al., 2012; Kurabachew and Wydra, 2013). Türkiye'de yapılan bir çalışmada; domates ve biberde *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın neden olduğu bakteriyel leke hastalığına karşı 3 farklı *Bacillus* izolatını tek veya kombine halde kullanmış, hastalık şiddetinde sera koşullarında %11-62, tarla koşullarında ise %38-67 oranında düşüş sağlamışlardır. Bu uygulama neticesinde gövde çapında %7-20, kök uzunluğunda %7 -17, kök kuru ağırlığında %4.5-23.5, sürgün kuru ağırlığında %16.5-38.5 ve verimde %11-33 artış elde edilmiştir (Mirik et al., 2008). Bu çalışmada kök daldırmada kullanılan biyoförmülasyonların içerisinde bulunan bakteri izolatlarının serbest azot fikseri, fosfat çözücü ve/veya siderofor ürettiği bilinmektedir (Kotan, 2002; Karagöz, 2009; Erman et al., 2010). Hastalık üzerine etkili olan bütün formülasyonların bitki gelişimi ve verim parametreleri açısından artışlara sebep olması bu özelliklerinden kaynaklanmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan ve etkili oldukları belirlenen bakteri izolatlarının bitki beslemesi üzerine etkinlikleri dolaylı olarak hastalığa karşı bir direnç de sağlamış olabilir. Yapılan bir çalışmada; gövde ve öz nekrozuna sebep olan *P. corrugata*, *P. cichorii*, *P. viridiflava* ve *E. carotovora* subsp. *carotovora*'ya karşı 400 ppm düzeyindeki potasyum uygulamasının ve 120 ppm kalsiyum uygulamasının

hastalık şiddetinde önemli düşümlere sebep olduğu ve aynı zamanda verimde de artışların görüldüğü belirtilmiştir (Ustun et al., 2009a). Bu çalışmada en yüksek çiçek sayısı B4+BA-B, B3+BA-B, B4+BA-A, B5+BA-B, B3+BA-A, K2 (MF+BA-A) ve K2 (MF+BA-B) nolu uygulamalardan elde edilmiştir. Çiçek sayısındaki artış ile fosfatı çözen bakteriler sayesinde bitkilerin fosfor yararlanılığının artırılmış olması arasında yakın bir ilişki vardır. Daha önce yürütölen pek çok çalışmada; *B. subtilis* TV12E, *B. megaterium* KBA10 ve *B. megaterium* TV87A izolatlarının değışik bitki gruplarında bitki gelişim ve verim parametreleri açısından önemli katkılarının olduğu belirlenmiştir (Gökçe ve Kotan, 2014; Mohammadi ve Kotan, 2014; Karagöz et al., 2014; Yıldırım et al., 2014). Bu izolatların B3+BA-A, B3+BA-B, B4+BA-A, B4+BA-B, B5+BA-A ve B5+BA-B formülasyonlarının öne çıkmasında önemli bir faktör olduğu sanılmaktadır.

Bitki hastalıkları ile mücadelede alternatif yöntemlerden olan biyolojik ürün kullanımı sadece mikrobiyal orijinli ürünlerden oluşmamaktadır. Son yıllarda bitkisel kökenli bazı biyolojik ürünlerinde bu amaçla kullanılabileceğine dair çalışmalar mevcuttur (Aysan ve Yıldız, 2000; Kotan et al., 2010; Dadasođlu, 2011, Kotan et al., 2014). Bu çalışma sonucunda etkili bulunan bakteriyel biyoformülasyonların ileride yapılacak sıvı ya da katı taşıyıcı oluşturma ve geliştirme çalışmalarında biyoformülasyonlara bazı bitkisel içerikli ekstrakt veya uçucu yağların karıştırılarak biyoformülasyonların etkinliğinin daha da artırılabilceğı düşünölmektedir.

Sonuç olarak; PGPR ve biooajan özellikleri dikkate alınarak hazırlanan bazı biyoformülasyonların (özellikle Mega Flu, B3+BA-A, B3+BA-B ve B4+BA-B) domates yetiştiriciliğinde hem gövde ve öz nekrozu hastalığının mücadelesini sağlayabileceğı hem de bitki gelişiminde önemli katkılar sunabileceğı düşünölmektedir.

Kaynaklar

- Ajilogba C.F., O.O. Babalola & F. Ahmad 2013. Antagonistic effects of *Bacillus* species in biocontrol of tomato *Fusarium* wilt. *Studies on Ethno-Medicine*, 7(3): 205-216.
- Aktaş S. 2014. Domates öz nekrozuna neden olan etmenlere karşı PGPR ve biooajan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 64 s.
- Altın N. & T. Bora 2001. Biological control studies by fluorescent pseudomonads against to *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Bergery et al. caused soft rot on potato. Ninth Turkish Phytopathology Congress, 3–8 September 2001, Tekirdag, Turkey, pp. 104–110.

- Aslantaş R., R. Çakmakçı & F. Şahin 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. *Scientia Horticulturae*, 111: 371-377.
- Aysan Y. & Ö. Çınar 2001. Doğu Akdeniz Bölgesi domates seralarında bakteriyel gövde nekrozu hastalığının yaygınlığı ve bu seralarda yapılan gözlemler. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, (3-8 Eylül 2001, Tekirdağ). s: 51-56.
- Aysan Y. & N. Yıldız 2000. Effect of plant extracts on tomato stem necrosis. Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate IOBC wprs Bulletin, 23 (1): 59-62.
- Aysan Y., A. Karatas & O. Cinar 2003. Biological control of bacterial stem rot caused by *Erwinia chrysanthemi* on tomato. *Crop Protection*, 22(6): 807-811.
- Aysan Y., F. Sahin, R. Cetinkaya-Yıldız, M. Mirik & Yucel F. 2005b. Occurrence and primer inoculum sources of bacterial stem rot caused by *Erwinia* species on tomato in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 112 (1): 42-51.
- Aysan Y., H. Saygılı, F. Sahin & R. Cetinkaya-Yıldız 2005a. Present status of bacterial stem rot on tomato in Turkey. *Acta Horticulture*, 695: 97-100.
- Aysan Y., Ülke G. ve Çınar Ö. 2002. Domates Tohumlarında *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya Karşı Tohum Uygulamaları. Türkiye 1. Tohumculuk Kongresi. 11-13 Eylül 2002, Bornova, İzmir.
- Aysan Y., N. Yıldız & F. Yucel 2004. Identification of *Pseudomonas viridiflava* on tomato by traditional methods and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Phytoparasitica*, 32(2): 146-153.
- Bashan Y. & L.E. de-Bashan 2002. Reduction of bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) of tomato by combined treatments of plant growth-promoting bacterium, *Azospirillum brasilense*, streptomycin sulfate, and chemo-thermal seed treatment. *European Journal of Plant Pathology*, 108 (9): 821-829.
- Basım H., E. Basım, S. Yılmaz & M. İlkucan 2005. First report of pith necrosis of tomato caused by *Pseudomonas mediterranea* in Turkey. *Plant Pathology*, 54: 240.
- Baş B. & Ö. Çınar 1995. Domates öz nekrozu etmeni *Pseudomonas corrugata* (Scarlett etol)'nın tanısı. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi 26-29 Eylül Adana, 392-421.
- Benlioğlu K. & M. Özakman 1992. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen ateş yanıklığı hastalığı (*Erwinia amylovora*) ve mücadelesi. Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü, Ankara.
- Chellemi D.O., S.M. Olson & D.J. Mitchel 1994. Effects of soil solarization and fumigation on survival of soilborne pathogens of tomato in Northern Florida. *Plant Disease*, 12: 1167-1172.
- Chung S., H. Kong, J.S. Buyer, D.K.Lakshman, J. Lydon, S.D. Kim & D.P. Roberts 2008. Isolation and partial characterization of *Bacillus subtilis* ME-488 for suppression of soilborne pathogens of cucumber and pepper. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80: 115-123.

- Çakmakçı R., M.F. Dönmez & Ü. Erdoğan 2007a. The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on barley, seedling growth, nutrient uptake, some soil properties and bacterial counts. *Turk Journal of Agriculture and Forestry*, 31: 189-199.
- Çakmakçı R., M. Erat Ü. Erdoğan & M.F. Dönmez 2007b. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170: 288-295.
- Çınar Ö & Y. Aysan 1995. Doğu Akdeniz Bölgesi domates seralarında yumuşak çürüklük etmeni erwinia türlerinin tespiti. 426-428. 7. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 26-29 Eylül, Adana.
- Çınar Ö. & Y. Aysan 2002. Domateslerde Yumuşak Çürüklük Etmeni Erwinia Türlerinin Biyolojik Savaşımı Üzerine Araştırmalar. TUBİTAK; TARP- 2498 Nolu Proje Sonuç Raporu.
- Dadasoglu F., T.Aydin R.Kotan A. Cakir H. Ozer S. Kordali R. Cakmakci N. Dikbas & E. Mete 2011. Antibacterial activities 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 (2): 271-282.
- Dashti N.H. N.Y. Ali, V.M. Cherian & M.S. Montasser 2012. Application of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in combination with a mild strain of Cucumber mosaic virus (CMV) associated with viral satellite RNAs to enhance growth and protection against a virulent strain of CMV in tomato. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 34 (2): 177-186.
- Demir G. & M. Gündoğdu 1988. The Bacterial disease of tomato caused by *Pseudomonas cichorii* in Turkey. 5th Turkish Phytopathological Congress, October 18-21, Antalya.
- Demir G. 1990. The occurrence of *Pseudomonas corrugata* on tomatoes in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*, 19: 63-70.
- Deng X., E.H. Cao, C.Y. Wu, J.K. Liu & Q.F. Li 2013. Study on the effects of 8 strains on growth promotion and disease resistance of tomato (*Solanum lycopersicum*). *Advanced Materials Research*, 807-809: 1042-1045.
- Erman M., R. Kotan, R. Çakmakçı, F. Çığ, K. Karagöz & M. Sezen 2010. Effect of nitrogen fixing and phosphate-solubilizing Rhizobacteria isolated from Van Lake Basin on the growth and quality properties in wheat and sugar beet. Turkey IV. Organic Farming Symposium, 28 June - 1 July 2010, Erzurum, Turkey. p: 325-329.
- FAO 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations, (www.faostat.fao.org/site/339/default.aspx).
- Gökçe A.Y. & R. Kotan 2014. Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) fungusunun PGPR ve antagonist bakteriler kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi 3-5 Şubat 2014, Antalya, Türkiye, 358.
- Güneş A., M. Turan, M. Güllüce, F. Sahin & M. R. Karaman 2013. Farklı bakteri uygulamalarının kaya fosfatının çözünürlüğü üzerine etkileri. *Toprak Su Dergisi*, 2 (1): 53-61.

- Huang J.F., Z. Wei, S. Y. Tan, X. L. Mei, S. X. Yin, Q. R. Shen & Y. C. Xu 2013. The rhizosphere soil of diseased tomato plants as a source for novel microorganisms to control bacterial wilt. *Applied Soil Ecology*, 72: 79-84.
- Ji H., M.R. Ramsey, D. N.Hayes, C. Fan, K. McNamara, P. Kozlowski, C. Torrice, M. Wu, T. Shimamura & S. A. Perera 2006. Structure, expression, and functional analysis of the hexokinase gene family in rice (*Oryza sativa* L.). *PLANTA* 224(3):598-611
- Karagöz K. 2009. Bazı PGPR Bakterilerin Marulun Gelişimi ve Marul Yaprak Leke Hastalığı Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 95.
- Kotan R. & S. Çelik 2014. Mikrobiyal gübre ve biyopestisitlerin kullanımında dikkat edilmesi gereken hususlar. *Harman Time*, 14: 64-68.
- Kotan R. & Sahin F. 2006. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and nutritional similarity in carbon source utilization of pathogen and its potential biocontrol agents. *Journal of Turkish Phytopathology*, 35 (1-3): 1-13.
- Kotan R. & Şahin F. 2002. Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede bakteriyel organizmaların kullanılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33(1): 111-119.
- Kotan R. 2002. Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından izole edilen patojen ve saprofitik bakteriyel organizmaların klasik ve moleküler metotlar ile tanısı ve biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Doktora Tezi, Erzurum, 217.
- Kotan R. 2014. Faydalı bakterilerin tarımda kullanımı. *Harman Time*, 11: 44-48.
- Kotan R. A. Cakir, F. Dadasoglu, T. Aydin, R. Cakmakci, H. Ozer, S. Kordali, E. Mete & N. Dikbas 2010. Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 90: 145-160.
- Kotan R., A. Cakir, H. Özer, S. Kordali, R. Cakmakci, F. Dadasoglu, N. Dikbas, T. Aydin & D. Kazaz 2014. Antibacterial effects of *Origanum onites* against Phytopathogenic Bacteria: Possible use of the extracts from protection of disease caused by some phytopathogenic bacteria. *Scientia Horticulturae*, 172: 210-220.
- Kotan R., N. Dikbaş & H. Bostan 2009. Biological control of post harvest disease caused by *Aspergillus flavus* on stored lemon fruits. *African Journal of Biotechnology*, 8 (2): 209-214.
- Kotan R., F. Sahin, E. Demirci & C. Eken 2009. Biological control of the potato dry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains. *Biological Control*, 50: 194-198.
- Kurabachew H. & K. Wydra 2013. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and their potential as bioprotectant against tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Biological Control*, 67 (1): 75-83.
- Leeman M., J.A. Van Pelt, F.M. Den Ouden, M. Heinsbroek, P.A.H.M. Bakker & B. Schippers 1995. Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* in radish

- cultivars differing in susceptibility to fusarium wilt, using a novel bioassay. *European Journal of Plant Pathology*, 101: 655-664.
- Mirik M., Y. Aysan & Ö. Çınar 2008. Biological control of bacterial spot disease of pepper with *Bacillus* Strains. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32: 369-379.
- Mirik M., Y. Aysan & F. Sahin 2011. Characterization of *Pseudomonas cichorii* isolated from different hosts in Turkey. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13: 203-209.
- Molan Y., Y. Ibrahim & A. Al-Masrahi 2010. Identification in Saudi Arabia of *Pseudomonas corrugata*, the tomato pith necrosis pathogen, and assessment of cultivar resistance and seed treatment. *Journal of Plant Pathology*, 92: 213-8.
- Omar I., T. M. O'Neill & S. Rossall 2006. Biological control of fusarium crown and root rot of tomato with antagonistic bacteria and integrated control when combined with the fungicide carbendazim. *Plant Pathology*, 55 (1): 92-99.
- Rocha D.A. & A.B. Moura 2013. Biological control of tomato wilt caused by *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by rhizobacteria. *Tropical Plant Pathology*, 38 (5): 423-430.
- Saber M.S.M. 2001. Clean Biotechnology for sustainable farming. *Eng. Life Science*, 1: 217-223.
- Sabet K.K., M.A. Mostafa, S.I. El-Said & N. G. El-Gamal 2000. Biological and chemical control of root diseases of tomato plants. International Conference on Pests and Diseases, Brighton, England, 1-3: 1043-1048.
- Saygılı H., Y. Aysan, F. Şahin, S. Soylu, M. Mirik & R. Kotan 2014. Fitobakteriyoloji-I-Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Baskı Yayın, Tekirdağ. ISBN: 978-605-4265-28-2. 169 s.
- Saygılı H., Y. Aysan, F. Sahin, N. Ustun & M. Mirik 2004. Occurrence of pith necrosis caused by *Pseudomonas fluorescens* on tomato plants in Turkey. *Plant Pathology*, 53: 803.
- Saygılı H., Y. Aysan, N. Ustun, M. Mirik & F. Sahin 2008. *Pseudomonas syringae* Pathovars and Related Pathogens Identification, Epidemiology and Genomics. pp 357-366.
- Scortichini M., 1992. Considerations on the appearance of *Pseudomonas corrugata* as a new plant pathogen. *Plant Pathogenic Bacteria*, 149- 154.
- Senol M., H. Nadaroglu, N. Dikbas & R. Kotan 2014. Purification of Chitinase enzymes from *Bacillus subtilis* bacteria TV-125, investigation of kinetic properties and antifungal activity against *Fusarium culmorum*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 13: 35-42.
- Siddiqui I.A., S.S. Shaukat I.H. Sheikh & A. Khan 2006. Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in tomato. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22 (6): 641-650.
- Şahin F., R. Çakmakçı & F. Kantar 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant Soil*, 265: 123-129.

- Tan S.Y., Y. Jiang, S. Song, J.F. Huang, N. Ling, Y.C. Xu & Q.R. Shen 2012. Two *Bacillus amyloliquefaciens* strains isolated using the competitive tomato root enrichment method and their effects on suppressing *Ralstonia solanacearum* and promoting tomato plant growth. *Crop Protection*, 43: 134-140.
- Tiryaki O., R. Canhilal & S. Horuz 2010. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26 (2): 154-169
- Turan M., M. Ekinci, E. Yildirim, A. üneş, K. Karagöz, R. Kotan & A. Dursun 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria improved growth, nutrient, and hormone content of cabbage (*Brassica oleracea*) seedlings. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 38: 327-333.
- Ustün N., G. Demir & H. Saygılı 2009a. Response of some tomato cultivars and wilt species of *Lycopersicon* to tomato pith necrosis. 2nd International Symposium on Tomato Diseases, 31 January 2009, Kuşadası, Turkey. 808: 291-294.
- Ustün N., H. Altunlu, I. Yokas & H. Saygılı 2009b. Influence of potassium and calcium levels on severity of tomato pith necrosis and yield of greenhouse tomatoes. 2nd International Symposium on Tomato Diseases, 31 January 2009, Kuşadası, Turkey. 808: 347-350.
- Ustün N., G. Demir & H. Saygılı 2005. Possibilities for control of tomato pith necrosis by using copper compounds and plant activators. *Acta Horticulture*, 695: 321-326.
- Üstün N. & H. Saygılı 2001. Pith Necrosis on Greenhouse Tomatoes in Aegean Region of Turkey. 11th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union and 3rd Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologia Evora-Portugal, 70-73.
- Üstün N. & H. Saygılı 2000. The effect of N, K, high relative humidity and low night temperature on tomato pith necrosis incited by *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas viridiflava* and *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *Phytopathology*, 90 (6): 79.
- Vural H., D. Eşiyok & İ. Duman 2000, Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme), Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 440 s.
- Whipps J. M. 2001. Microbial interaction and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52: 487-511.
- Yildiz H.N., Y. Aysan & O. Cinar 2009. Chemical and physical seed treatments for eliminating tomato pith necrosis caused by *Pseudomonas viridiflava*. 2nd International Symposium on Tomato Diseases, 31 January 2009, Kuşadası, Turkey, 808: 95-98.
- Zdor R.E. & A.J. Anderson 1992. Influence of root colonizing bacteria on the defense response in bean. *Plant and Soil*, 140 (1): 99-107.