BAZI PGPR VE BİYOAJAN BAKTERİLERİN MARULUN GELİŞİMİ VE MARUL YAPRAK LEKESİ HASTALIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Kenan KARAGÖZ

Yüksek Lisans Tezi
Bitki Koruma Anabilim Dalı
Yrd. Doç. Dr. Recep KOTAN

2009
Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI PGPR VE BİYOAJAN BAKTERİLERİN MARULUN GELİŞİMİ VE MARUL YAPRAK LEKESİ HASTALIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Kenan KARAGÖZ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ERZURUM

2009

Her Hakkı Saklıdır

Yrd. Doç. Dr. Recep KOTAN danışmanlığında, **Kenan KARAGÖZ** tarafından hazırlanan bu çalışma 25/08/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan	**: Prof. Dr. Ramazan ÇAKMAKÇI**	imza	:
Üye	**: Doç. Dr. Şaban KORDALİ**	imza	:
Üye	**: Yrd. Doç. Dr. Recep KOTAN**	imza	:

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ömer AKBULUT

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI PGPR VE BİYOAJAN BAKTERİLERİN MARULUN GELİŞİMİ VE MARUL YAPRAK LEKESİ HASTALIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Kenan KARAGÖZ

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Recep KOTAN

Bu çalışmada; marul gelişimi üzerine pozitif etkilerde bulunabilecek ve marul yaprak lekesi hastalığının biyolojik kontrolüne olanak sağlayabilecek potansiyel PGPR ve biyoajan bakteriler tespit edilerek sera şartlarında etkinlikleri araştırılmıştır. Çalışmada 2 farklı familya ve 8 farklı cinse mensup 40 bakteri straini seçilerek, bu strainlerin moleküler ve klasik yöntemlerle tanıları yapılmış; bunun yanı sıra azot fiske etme, fosfat çözme ve patojeni baskılama yönünden etkinlikleri test edilmiştir. Bu testler sonucunda etkili olduğu gözlemlenen strainler sera koşullarında denemeye alınmıştır.

Çalışma sonucunda marulun gelişimi üzerine olumlu etkileri gözlemlenen ve hastalık gelişimini baskılama yeteneğine sahip izolatlar belirlenmiştir. Bunlar arasında hem bitki gelişimini teşvik eden hem de hastalık gelişimini önemli ölçüde baskılayan *Bacillus megaterium* KBA-10'un PGPR ve biyoajan; yine hastalık gelişimini önemli ölçüde baskılayan *Pantoea agglomeran*s KBA-8 ve RK-198'in biyoajan; tohum dezenfeksiyon çalışmalarında avantajları tespit edilen *Pantoea agglomerans* RK-32'nin ise yine biyoajan olarak marul bitkisinde başarı ile kullanılabileceği gözlemlenmiştir.

2009, 95 sayfa
Anahtar Kelimeler: PGPR, biyolojik kontrol, *Xanthomons axonopodis* pv. *vitians*

ABSTRACT

MSc Thesis

EFFECTS OF SOME PGPR AND BIOAGENT BACTERIA ON GROWTH OF LETTUCE AND BACTERIAL LEAF SPOT LETTUCE

Kenan KARAGÖZ

Atatürk University
Natural Sciences Institute
Department of Plant Protection

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Recep KOTAN

In this study, we aimed determining potential plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and bioagent bacteria, which can positively influence lettuce growth and provide opportunities for biological control of bacterial lettuce leaf spot disease. Forty bacteria strains belonging to eight genera and two families were chosen, identified via classical and molecular methods, and tested for nitrogen fixing, phosphate solubilizing and pathogen suppressing properties. Strains found to be effective in the above mentioned tests were taken into trials for different purposes.

Results of the study revealed isolates that have positive effects on lettuce growth and ability to suppress disease growth. Among these, particularly important are; *Bacillus megaterium* KBA-10, which can trigger plant growth and significantly suppress disease development thus can be used as PGPR and bioagent; *Pantoea agglomerans* KBA-8 and RK-198, which can significantly suppress disease development and can be used as bioagent; *Pantoea agglomerans* RK-32, which has un-ignorable advantages in seed disinfection and can be used as biogaent. All these strains were found to be successfully used in lettuce.

2009, 95 pages
Keywords: PGPR, biological control, *Xanthomons axonopodis* pv. *vitians*

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasını titizlikle takip eden, maddi manevi hiçbir desteği esirgemeyen ve fikirleri ile daima bana yol gösteren danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Recep KOTAN'a, fikirleri ve becerileri ile hep yanımda olan, özellikle çalışmalarımın son aşamasında çok yorduğum değerli dostum ve mesai arkadaşım Sayın Fatih DADAŞOĞLU'na, yine çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen abim Sayın Arş. Gör. Yalçın KARAGÖZ'e, daima ilgisini ve desteğini gördüğüm değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Neslihan DİKBAŞ'a, çalışmalarımı yürüttüğüm laboratuarların kurulmasında büyük emeği geçen değerli hocamız Sayın Prof. Dr. Fikrettin ŞAHİN'e, burada isimlerini sayamadığım, birlikte çalışmaktan büyük zevk duyduğum, aynı zamanda çok şey öğrendiğim değerli hocalarıma ve arkadaşlarıma, hayatımın her döneminde seçimlerimi yargılamadan bana destek olan sevgili aileme teşekkür ederim.

Kenan KARAGÖZ

Ağustos 2009

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
TEŞEKKÜR ..... **iii**
SİMGELER DİZİNİ ..... **v**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vi**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **vii**
1. GİRİŞ **1**
2. KAYNAK ÖZETLERİ **8**
3. MATERYAL ve YÖNTEM **20**
3.1. Materyal 20
3.1.1. Yararlanılan alet ve cihazlar 20
3.1.2. Kullanılan besi yerleri ve çözeltilerin hazırlanışı 21
3.1.3. Kullanılan PGPR, biyoajan ve patojen bakteri strainleri 24
3.1.4. Kullanılan test bitkileri 25
3.2. Yöntem 25
3.2.1. Bakteriyel strainlerin MIS sistemi ile yağ asit profillerinin belirlenmesi 25
3.2.2. Bakteriyel strainlerin biyolog sistemi ile metabolik enzim profillerinin belirlenmesi 27
3.2.3. Tütünde aşırı duyarlılık (Hypersensitivity = HR) testi 27
3.2.4. Morfolojik ve biyokimyasal testler 28
3.2.5. Bakterilerin azotsuz (N-Free) kültür ortamında geliştirilmesi 32
3.2.6. Bakterilerin NBRIP-BPB besiyerinde geliştirilmesi 32
3.2.7. Bakterilerin çözebildiği fosfat miktarının belirlenmesi 32
3.2.8. Potansiyel biyoajanların in-vivo testlerde patojene karşı etkinliğinin test edilmesi 33
3.2.9. Tohum dezenfeksiyon çalışmaları 33
3.2.10. Sera çalışmaları 34
3.2.11. Sonuçların analiz edilmesi 35
4. ARAŞTIRMA BULGULARI **36**
4.1. Bakteriyel Strainlerin MIS ve Biolog Tanı Sonuçları 36
4.2. Bakteriyel Strainlerin Yağ Asidi Metil Esterleri 36
4.3. Bakteriyel Strainlerin Kullandıkları Karbon Kaynakları 45
4.4. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hiper Sensetivite=HR) Test Sonuçları 61
4.5. Strainlerin Morfolojik ve Biyokimyasal Test Sonuçları 61
4.6. Bakteri Strainlerinin Azotsuz (N-Free) Kültür Ortamında Gelişimi 65
4.7. Bakteri Strainlerinin NBRIP-BPB Besiyerinde Gelişimi 65
4.8. Potansiyel Biyoajan Bakteri Strainlerinin Çözebildiği Fosfat Miktarları 66
4.9. Kullanılan PGPR Strainlerinin Marulun Gelişimi Üzerine Etkileri 67
4.10. Kullanılan PGPR Strainlerinin Hastalık Şiddeti Üzerine Etkileri 70
4.11. İn-Vivo Petri Denemelerinde Patojene Karşı Potansiyel Biyoajanların Etkinlikleri 71
4.12. Tohum Dezenfeksiyon Çalışmaları 73
5.TARTIŞMA ve SONUÇ **77**
KAYNAKLAR **87**

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
CFU	Bakteri hücresi
cm	Santimetre
dH_2O	Distil su
dk	Dakika
DRB	Bitki gelişimini baskılayan rizobakteriler
g	Gram
HCl	Hidroklorik asit
HR	Aşırı duyarlılık testi
IAA	İndol asetik asit
ISR	Uyarılmış sistemik dayanıklılık
KB	King's Agar
KCl	Potasyum klorür
KOH	Potasyum hidroksit
L	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mol	Mol
NA	Nutrient agar
NaClO	Sodyum hipoklorit
NAS	Nutrient agar+ sukrose
PGPR	Bitki gelişimini teşvik edici rizobakteriler
sa	Saat
SAR	Kazanılmış sistemik dayanıklılık
sdH_2O	Steril ve distil su
sH_2O	Steril su
sn	Saniye
TSA	Tyripticase Soy Agar
TSB	Tyripticase Soy Broth

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. *P. agglomerans* RK-32'nin azotsuz (N-free) kültür ortamında gelişimi 65
Şekil 4.2. NBRIP-BPB'da kontrol ve *B. megaterium* KBA-10 65
Şekil 4.3. PGPR bakterilerinin köke uygulanmaları sonucunda hastalık gelişimi üzerine etkileri 71
Şekil 4.4. İnhibisyon zonu 73
Şekil 4.5. Hiperparazitik etki 73
Şekil 4.6. Petride tohum dezenfensiyonu çalışmalarında sadece patojen (*X. axonopodis* pv. *vitians*) ve biyoajan+patojen (*P. agglomerans* RK-32+ *X. axonopodis* pv. *vitians*) uygulaması..... 76

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Bakteriyel strainlerin MIS ve biolog tanı sonuçları 38
Çizelge 4.2. Bakterilerin içerdikleri yağ asidi metil esterleri (FAME) çeşidi ve strainlerde bulunma oranı (%) 40
Çizelge 4.3. Test edilen bakterilere ait yağ asiti metil esterleri değerlerinden elde edilen dendogram 44
Çizelge 4.4. Gram pozif bakteri strainlerinin kullandığı karbon kaynakları 46
Çizelge 4.5. Gram negatif bakteri strainlerinin kullandığı karbon kaynakları 49
Çizelge 4.6. Gram negatif bakterilerin kullandığı karbon kaynaklarının istatistik analizinden elde edilen dendogram 60
Çizelge 4.7. Gram pozitif bakterilerin kullandığı karbon kaynaklarının istatistik analizinden elde edilen dendogram 61
Çizelge 4.8. Potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin, morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları 63
Çizelge 4.9. Potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin çözebildiği fosfat miktarları . 66
Çizelge 4.10. PGPR bakteri uygulamalarının marulun gelişimi üzerine etkileri..... 69
Çizelge.4.11. PGPR bakteri strainlerinin marulun kök bölgesine uygulanması sonucu hastalık şiddetine etkilerini gösteren skala ortalamaları ve standart sapmalar 70
Çizelge 4.12. Potansiyel biyoajan bakterilerinin in vitro petri denemelerinde patojene karşı oluşturdukları ortalama inhibisyon zonu değerleri ve hiperparazitik (HP) etkiler 72
Çizelge 4.13. Tohumların TSB ve biyoajanlarla kodlandığı uygulamalar sonucunda çimlenen tohum ve sağlıklı bitki sayılarının ortalama ve standart sapmaları 75
Çizelge 4.14. Tohumların patojen ve biyoajanlarla kodlandığı uygulamalar sonucunda çimlenen tohum ve hastalıklı bitki sayılarının ortalama ve standart sapmaları 76

1.GİRİŞ

Farklı iklim özelliklerine sahip bölgeleri ve tarım sektöründe yoğun olarak çalışan nüfusu ile ülkemizde, geniş bir ürün yelpazesinin ticari anlamda yetiştiriciliği yapılmaktadır. Sebzeler de bu ürün yelpazesi içinde önemli bir yere sahiptir. Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK) 2006 yılı verilerine göre; ülkemizin yıllık sebze üretimi 25 851 612 tondur. Bunun 21 211 268 tonu meyvesi için yetiştirilen sebzeler, 2 978 659 tonu yumru ve kök sebzeleri, 1 661 685 tonu ise diğer yerlerde sınıflandırılmış sebzelerdir. Diğer yerlerde sınıflandırılmış sebzeler grubunu marul, baş salata, lahana, ıspanak, kereviz gibi sebzeler oluşturmaktadır. Bu guruptaki önemli sebzelerden biri de dünya genelinde yaklaşık 20 milyon ton (Anonymous 2007), ülkemizde ise 441 242 ton (Anonim 2009) üretilen maruldur.

Marul (*Lactuca sativa* L.) bitkisi, Plantae alemi, Magnoliophyta şubesi, Magnoliopsida sınıfı, Asterales takımı, Asteraceae familyası, Lactuca cinsi altında sınıflandırılmaktadır (Anonymous 2009). Marul salata gurubu sebzeler içerisinde en çok tüketilenlerden biri olup; yılın tamamında pazarlarda ve marketlerde bulunabilen, tek yıllık serin iklim sebzesidir (Aybak 2002). Bu özelliklerinden dolayı ülkemizin hemen her yerinde yetiştirilmektedir.

Dünyada her geçen gün artan açlık tehlikesinin önüne geçmek için bazı tedbirler alınması gerektiği muhakkaktır. Üretim alanları erozyon etkisi altında küçülmeye devam ederken yeni alanlar açmak ise mümkün görünmemektedir. Bu nedenle insanlık için geriye tek alternatif kalmaktadır ve bu da birim alandan elde dilen ürünün artırılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda verimi artıran uygulamalara yönelmek kadar, verimde düşüşe neden olan faktörlerle mücadele de önemlidir (Yıldırım 2000). O halde yetiştirme stratejileri planlanırken hem ürünlerin verimini artıran, hem de verim ve kalite kaybına neden olan faktörleri asgariye indiren uygulama ve tedbirler veya bunların birlikte uygulanabilirlikleri üzerinde durulmalıdır.

Genel olarak üretimde verim ve kalite kaybına neden olan etmenler; biyotik ve abiyotik faktörler olarak ikiye ayrılmaktadır. Abiyotik faktörler; olumsuz çevre ve toprak koşullarını ifade etmektedir. Biyotik faktörler ise; patojenler (fungus, bakteri, virüs, mikoplazma, spiroplazma..vs.), zararlılar (böcekler ve kemirgenler) ve yabancı otlardır. Bu etmenlerle mücadelenin gerektiği şekilde yapılması, birim alandan elde edilen verimin artırılmasında büyük önem taşımaktadır

Çok sayıda kültür bitkisinin yetiştirildiği ülkemizde, ekonomik düzeyde zarara neden olan 450'nin üzerinde hastalık zararlı ve yabancı ot bulunmaktadır (Anonymous 2002). Bunlar içinde bakteriyel etmenler de ülkemizde ekonomik düzeyde kayba neden oldukları 40'ın üzerinde (Saygılı vd 2008) hastalıkla önemli bir yer teşkil etmektedirler. Bu hastalıklardan birisi de marul yaprak lekesi hastalığıdır.

Marul yaprak lekesi hastalığının etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vitians* bakterisidir (Saygılı vd 2008). Sistematikte Bacteria alemi, Proteobacteria şubesi, Gammaproteobacteria sınıfı, Xanthomonadales takımı, Xanthomonadaceae familyası, Xanthomonas cinsi altında bulunmaktadır (Anonymous 2009). Sinomnimi ise; *Xanthomonas campestris* pv. *vitians*'dır (Saygılı vd 2008).

Bitkiye yaralar ve doğal açıklıklardan giren etmen marul bitkisinde iki farklı tip simptoma neden olmaktadır. Birincisi yaprak yüzeyinde dağınık şekilde bulunan nekrotik lekelerdir. İkincisi ise koyu kahverengi lezyonlar şeklinde başlayan, daha sonra yaprak damar aralarını sararak V şekilli lekelere ve geriye doğru ölüme neden olan sistemik enfeksiyonlardır (Sahin and Miller 1997).

Sahin ve Miller (1997) tarafından bildirildiğine göre hastalık ilk olarak 1918 yılında ABD'de ortaya çıkmış (Brown 1918), daha sonra dünyanın değişik bölgelerinde görülmüştür (Wallis 1972; Boesewinkel 1977; Ohata *et al.* 1977; Stefani *et al.* 1994; Elena *et al.* 2008; Al-Saleh and İbrahim 2009). Ülkemizde ise hastalık ilk olarak 2000 yılında Erzurum'da (Sahin 2000) tarafından rapor edilmiştir.

Çevre koşulları uygun olmadığında şiddetli epidemilere ve ürün kaybına neden olmamasına rağmen, koşullar uygun olduğunda şiddetli epidemiler yapabileceği bilinmektedir (Mirik vd 2004). Ohiao (ABD)'da 1995 yılında hastalıktan çok sayıda bitkinin etkilendiği (Şahin and Miller 1997), Çukurova'da meydana gelen epidemide ise ürünün tamamının kaybedilerek pazarlanamaz hale geldiği bildirilmiştir (Mirik vd. 2004). Ayrıca etmen biber (*Capsicum annum* L.) ve domates (*Lycopersicon esculantum* Mill.) bitkilerinde de nekrotik lekelere neden olabilmektedir (Sahin and Miller 1998).

Etmenin tanısında biyokimyasal ve morfolojik testlerin yanı sıra (Saygılı vd 2008; Sahin and Miller 1997) moleküler metotlar da kullanılabilmektedir (Sahin *et al.* 2003).

Hastalığın mücadelesinde, öncelikle dayanıklı çeşit kullanılması, ekim nöbeti ve yağmurlama sulamadan kaçınılması önerilmiştir. Kimyasal mücadele kapsamında Maneb, Cuprofix, elementel bakır gibi preparatların uygulanmasının (Bull and Koike 2005) yanı sıra tohum sterilizasyonu çalışmaları da göze çarpmaktadır (Küsek 2005; Sahin and Miller 1997). Ancak kimyasal mücadeleye başvurulması üretici için büyük maliyetlere neden olmasının ötesinde bazı risk ve problemleri de beraberinde getirmektedir. Pernezny ve arkadaşları (2008) tarafından bildirildiğine göre sebze üretiminde ciddi kayıplara neden olan bakteriyel hastalıkların kontrolünde üreticilerin bakırlı preparatlar kullandıkları ancak sonucun arzu edilen düzeyde olmadığı belirtilmiştir (Montesinos and Villardel 2001). Öte yandan patojenlerine karşı kullanılan antibiyotiklerinin insan ve hayvan sağlığında ortaya çıkarabilecekleri olumsuz etkilerden dolayı özellikle sebze üretiminde, tarla ve sera koşullarında kullanılmalarına izin verilmemektedir (Delaney *et al.* 1994). Bunun sebebi olarak sebzelerde bakırlı preparatlara karşı direnç kazanmış bakteriyel patojenlerin ortaya çıkması gösterilmiştir (Adaskaveg and Hine 1985). Kotan (1998) tarafından bildirildiğine göre Ohaio (ABD)'da 1993-1994 yıllarında *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın biberde hastalık yapan 3, domateste hastalık yapan 2 ırkına rastlanırken, 1998 yılında bu sayının biberde 8, domateste 3'e yükseldiği gözlenmiştir (Sahin 1997).

Tüm bu olumsuzluklar göz önünde bulundurulduğunda, araştırmacılar alternatif uygulamalara yönelmiş, daha ucuz, etkili, insan ve çevre sağlığını daha az tehdit eden biyolojik mücadele uygulamalarına ağırlık vermişlerdir (Kotan 1998; Guo *et al.* 2003; Kotan ve Şahin 2002; Byrne *et al.* 2005; Mirik vd. 2008).

Biyolojik mücadele; doğal ya da genetik modifiye organizmalar ve bunların ürettikleri metabolitler kullanılarak patojen veya zararlıların ortadan kaldırılması veya popülasyonlarının baskı altına alınmasıdır. Biyolojik mücadelede antibiyosis, rekabet, hiperparazitizm ve konukçu bitkilerin sistemik dayanıklılık mekanizmasının harekete geçirilmesi şeklinde 4 temel mekanizmadan oluşmaktadır (Kotan ve Şahin 2002).

Antibiyosis; herhangi bir organizmanın antibiyotik ve benzeri metabolitleri üretmek suretiyle diğer bir organizmayı engellemesi veya yıkıma uğratmasıdır. Bu mücadele mekanizması dayanıklılık riski taşımaktadır, ancak yine de bu yolla oluşan dayanıklılığın kimyasal kullanımı yolu ile oluşan dayanıklılığa nazaran çok daha yavaş olacağı muhakkaktır (Nikaido 1994). Çünkü biyolojik mücadelede kullanılan organizmalar kimyasallar gibi geniş bir alana yayılıp diğer organizmaları etkisi altına almamaktadır. Bu da dayanıklılığın oluşmaması için bir avantaj teşkil etmektedir. Ama uygun seleksiyon koşullarında biyolojik mücadele kullanılan organizmaların kontrol edemeyeceği strainlerin oluşması kaçınılmazdır (Davies 1994). Fakat şu da unutulmamalıdır ki, duyarlı populasyonlarda ortaya çıkacak dayanıklılık horizontal gen transferi ya da mutasyonlarla olmaktadır. Bu şekilde oluşan dayanıklılığa da ender rastlandığından, biyolojik mücadele organizmalarının ticari preparatları kimyasallara nazaran daha uzun süre başarılı bir biçimde kullanılabilir (Spratt 1994).

Rekabet; iki veya daha fazla organizma arasındaki ortamdan yararlanma üstünlüğüdür. Bu rekabet besin elementleri, yer ve ışık gibi faktörler için söz konusu olabilmektedir. Bu mekanizmada karbon ve demir elementleri önemli rol oynar (Hendelsman and Stabb 1996). Bitkilerin kök bölgesinde kolonize olan organizmalar, bu bitkiler tarafından salgılanan eksudatları karbon kaynağı olarak kullanırlar. İşte kompleks yapıdaki bu karbonhidratları kullanabilme yeteneğine sahip organizmalar rekabette avantajlı duruma

geçerler. Mikroorganizmalar demir ihtiyaçlarını karşılamak için siderefor denilen pigment proteinlerinden faydalanır. Özellikle demir bakımından zayıf olan topraklarda siderefor üretebilen mikroorganizmalar demir alımında üstünlük göstererek patojenleri baskılayabilirler (Leong 1986).

Hiperparazitizm; parazit bir mikroorganizmanın sekonder bir parazit tarafından parazitlenmesidir. Bu durumda konukçu ve parazit arasında kurulan yakın ilişki doğada yavaş bir biçimde cereyan etmektedir. Parazitizmin esasının hücre duvarını parçalayan ya da eriten enzimlerin üretilmesine dayandığı bildirilmiştir (Hendelsman and Stabb 1996). Üretilen bu enzimler patojen organizmanın direkt ölümüne neden olur ya da rekabette biyolojik kontrol için kullanılan organizmaya avantaj sağlar. Bu mekanizma ile biyolojik mücadele çalışmalarının kontrollü şartlarda başarılı olduğu ancak arazi şartlarında çevresel faktörlerin etkisi ile aynı ölçüde verim elde edilemediği kaydedilmiştir (Hendelsman and Stabb 1996).

Bitkilerdeki dayanıklılık mekanizmasının harekete geçirilmesi ise 3 grupta ele alınır. Bunlar; çapraz koruma, uyarılmış sistemik direnç (ISR) ve sistemik kazanılmış direnç (SAR)'dir. Çapraz koruma; biyokontrol organizmalar tarafından konukçu doku içinde antibiyosis, rekabet, parazitizm gibi mekanizmalardan biri ya da bunların kombinasyonu ile patojen gelişminin önlenmesidir (Bora ve Özaktan 1998). ISR bitkideki dayanıklılık mekanizmasının patojen olmayan rizobakter izolatlarının köklerde kolonize olması ile tetiklenmesi, SAR ise dayanıklılık mekanizmasının nekrotik patojenler tarafından tetiklenmesidir (Aktaş ve Güven 2005; Saygılı vd 2008).

Biyolojik mücadele mekanizmalarının kullanımı ile patojenleri elemine etmeyi amaçlayan çalışmalar oldukça ilgi görmektedir. Serenade isimli bir *Bacillus* straini olan ticari preparatın marul yaprak leke hastalığının mücadelesinde kullanıldığı bildirilmiştir (Bull and Kokie 2005). Yine başka *Xanthomonas* türlerinin biyolojik mücadelesine yönelik çalışmalar da mevcuttur (Kotan 1998; Kotan ve Şahin 2002; Oldaç vd. 2002; Stromberg *et al.* 2004; Byrne *et al.* 2005; Kamal 2008; Mirik vd. 2008).

Daha öncede bahsedildiği gibi verim ve kalitede düşüşe neden olan etmenler ile verim ve kalitede artış sağlayan uygulamalar bir arada değerlendirilerek çıkarımlar yapılmalı, yetiştirme stratejileri de bu çıkarımlar doğrultusunda şekillendirilmelidir. Ancak yüksek verim için fazla girdi kullanılan tarım sistemleri çevresel problemlere ve doğal kaynakların tükenmesine neden olmakta aynı zamanda da maliyeti yükseltmektedir. Bunun içinde araştırmacıların üzerinde durdukları konulardan biri ve beklide en önemlisi bitki gelişmesini teşvik edici bakterilerin kullanımıdır.

Serbest yaşayan, bitki gelişimini teşvik eden, biyolojik mücadele veya biyolojik gübreleme amacıyla kullanılan bakterilere Bitki Gelişimini Teşvik Eden (Plant Growth Promoting Rhizobacteria=PGPR) bakteriler adı verilmektedir. PGPR bakterilerinin bitki gelişmesini teşvik mekanizmaları tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte bu bakterilerin oksin (Jeon *et al.* 2003; Aslantas *et al*. 2007), sitokinin (Timmusk *et al.* 1999; García de Salamone *et al.* 2001), giberallin (Gutiérrez-Mañero *et al.* 2001) ve etilen (Glick *et al.* 1995) gibi bitkisel hormonları üretebildiği, asimbiyotik olarak azotu (N) fiske ettiği (Sahin *et al.* 2004); mineral fosfatı (P) çözebildiği, organik fosfat ve diğer besin elementlerini mineralize ettiği (Jeon *et al.* 2003; Canbolat *et al*. 2006), siderofor, antibiyotik, enzim ve fungusit bileşikler sentezleyerek veya rekabet gibi mekanizmalarla patojenere karşı antagonistik etki gösterdiği (Dobbelaere *et al.* 2002; Dey *et al.* 2004) bilinmektedir.

Son yıllarda PGPR bakteri strainleri farklı bitkilerde kullanılmaya başlanmıştır. *Bacillus* ırkları ile yürütülen araştırmalarda, çeltik (Sudha *et al.* 1999), arpa (Çakmakçi *et al.* 1999), şeker pancarı (Sahin *et al.* 2004), buğday (De Freitas 2000), mısır (Pal 1998) ve ıspanak (Çakmakçı *et al.* 2007b) veriminde önemli artışlar elde edilmiştir. PGPR inokulasyonu yazlık buğday (Walley and Germida 1997), ıspanak (Çakmakçı *et al.* 2007b), marul (Barazani and Friedman, 1999; Arkhipova *et al.* 2005), çilek (Kokalis-Burelle 2003) ve yerfıstığının (Dey *et al.* 2004) gelişmesini teşvik etmiştir. Azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri uygulamaları toprakta azot fiksasyonu yapan ve fosfat çözen bakteri sayısını, rizosferde N ve P miktar ve alımını artırmaktadır (Canbolat *et al*. 2006; Çakmacı *et al*. 2007a). PGPR etkinliği, toprak organik madde

içeriği başta olmak üzere toprak özellikleri, bitki ve bakteri çeşidi, ele alınan bitki parametreleri ve yetiştirilme koşullarına göre değiştiği ortaya konulmuştur (Çakmakçi *et al.* 2006). Karışık inokulasyon bakteri etkinliğini artırmakta ve besin elementlerin daha dengeli alınmasını sağlamaktadır (Çakmakçı vd. 2002, Sahin *et al*. 2004).

N_2-fiksasyon ve fosfat çözücü bakteri aşılamasının, su ve sıcaklığın uygun olduğu sera koşullarında daha fazla olmak üzere, sağladığı verim artışı, maliyet ve kirlilik bakımından mineral gübrelemeye alternatif olabileceğini göstermiştir (Çakmakçı 2002). Fakir topraklarda daha düşük mineral gübre dozları ile birlikte mikrobiyolojik gübrelemenin etkisinin araştırılması gerekmektedir. Bakterilerin özellikle erken dönemde bitki gelişmesini teşvik edici olmaları (Sahin *et al.* 2004), biyolojik gübrelemenin yaprakları kullanılan bitkilerde daha olumlu sonuçlar verebileceğini göstermiştir. Araştırmalarda şeker pancarında tek başına mineral azot gübresinin olumsuz etkilediği pancar kalitesi, bakteri aşılamalarında daha dengeli bulunmuştur (Çakmakçı 2002). Bu araştırma bulgularına göre, uygun strainlerin belirlenmesi durumunda biyolojik gübrelemenin diğer elementlerin daha dengeli alımını sağlayarak kültür bitkilerinin gelişimini olumlu etkilemesi beklenebilir.

Yapılan bu çalışma ile marul yaprak leke hastalığına karşı biyoajan olarak kullanılabilecek ve aynı zamanda bitki gelişimini teşvik ederek verim ve kalitenin artması yönünde katkı sağlayacak bakteri strainlerinin tespit edilerek bunların tek veya birlikte uygulanabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

İlk olarak 1918 yılında ABD'de görülen marul yaprak leke hastalığı daha sonra Kuzey Afrika, Yeni Zelanda, Japonya, İtalya (Wallis 1972; Boesewinkel 1977; Ohata *et al.* 1977; Stefani *et al.* 1994) ve dünyanın değişik bölgelerinde rapor edilmiştir. Al-Saleh ve İbrahim (2009) Sudi Arabistan' ın Al–Ouunia bölgesinde marul yapraklarında görülen simptomlar üzerinde yaptıkları çalışmada izole edilen etmenin patojenite testlerinin pozitif çıktığı, kültürel karakteristikleri ve moleküler tanı sonuçları ile etmenin *Xanthomonas axonopodis* pv. *vitians* olarak tanılandığını bildirmişlerdir. Elena ve arkadaşları (2008) hastalığın Yunanistan'da görüldüğünü rapor etmişler ancak hastalık üzerinde çalışıldığına dair herhangi bir veri sunmamışlardır. Hastalığa ülkemizde ilk kez Sahin (2000) tarafından Erzurum' da yapılan çalışmada rastlanmış, Mirik vd. (2004) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise 2002 kışında Adana civarında hastalığın görüldüğü, bitkiler arasındaki hastalıktan etkilenme oranının %100'e yakın olduğu ve yoğun olarak enfekte edilmiş bitkilerin pazarlanamaz hale geldiği rapor edilmiştir.

Nekrotik lekeler ve sistemik enfeksiyona neden olabileceği bildirilen (Sahin and Miller 1997) hastalık, tohum kaynaklı olarak başlamışsa ilk simptom kotiledon yapraklarda çevresi sarı bir hale ile çevrili kahverengimsi siyah lekeler olarak ortaya çıkar. Hastalık yaşlı yapraklarda ise, su emmiş lekeler şeklinde başlar ve ilerleyen dönemlerde koyulaşır. Yaprak yapısı dolayısı ile lekeler damarlarla sınırlı olduğundan siyah, V şeklinde köşeli lekeler görülür. Hastalığın şiddetli olması durumunda lekeler birleşip yaprağı kaplayabilir bu da yaprağın sararmasına ve kurumasına neden olabilir. Çok yaşlı yapraklarda ise lekeler kuruyarak kâğıdımsı bir görünüm alır. Patojenin bazen genç bitkilerde gövde dokusu içine girip çürümeye neden olabileceği de bilinmektedir (Saygılı vd 2008). Ayrıca patojenin nemli koşullarda ender olarak sarı renkli akıntılara neden olabileceği belirtilmiştir (Sherf and Macnab 1986).

Hastalık etmeninin gövde içinde, bitkinin apeksine doğru ilerleyebildiği bilinmektedir. İletim demetlerindeki hareketini ksilem vasıtasıyla sağlandığı düşünülmektedir. Çünkü floemin bakterinin serbest geçişine izin verecek büyüklükte olmadığı belirtilmiştir. Bakterinin burada görülebilir bir simptom sergilemediği ve tohum kontaminasyonunun vasküler kanallar yolu ile değil, çiçeklenme döneminde bakterinin tohum yatağına dışarıdan girişi ile olduğu öne sürülmüştür (Barak *et al.* 2002).

Etmen hastalık oluşturabilmek için serin ve nemli hava koşullarına ihtiyaç duymaktadır. Aynı şekilde hastalık belirtileri de fazla yağış alan ve yağmurlama sulamanın yapıldığı alanlarda daha fazla görülmektedir. Yağmurlama sulama etmenin bitkiden bitkiye yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Potojenin en önemli primer inokulum kaynağı bulaşık tohumlardır. Aynı alana sürekli marul ekimi de bulaşık bitki artıklarında patojenin yaşamını devam ettirerek hastalığı sonraki üretim dönemine taşımasına yardımcı olur (Saygılı vd 2008).

Etmenin tanısı için farklı metotlar kullanılabilmektedir. Biyokimyasal ve morfolojik testlerinde; Gram negatif, sarı mukoid, hareketli, çubuk şeklinde ve tek kamçılı karakterde olduğu bildirilen patojenin, oksidaz reaksiyonu negatif, katalaz reaksiyonu pozitif, nişasta hidrolizi negatif, pektolitik aktivitesi zayıf olarak nitelendirilmiştir (Sahin and Miller 1997; Saygılı vd 2008). Ayrıca MIS (Microbial Identification System), ELİSA (Enzyme-Linked Immunoabsorbance Assay), BIOLOG (Biolg System) ve PCR (Polimeraz Chain Reaction) gibi yaygın olarak kullanılan moleküler metotlarla da tanısı yapılmıştır (Sahin *et al.* 2002).

X. axonopodis pv. *vitians'*in çevre koşullarına duyarlılığı, konukçu dizisi, yaygınlığı, çeşitlerin dayanıklılığı ve antibiyotik duyarlılıkları ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Robinson ve arkadaşları (2006) Amerika Birleşik Devletlerinde yaptıkları çalışmada *X. axonopodis* pv. *vitians* enfeksiyonu için en uygun sıcaklığın 22,7ºC olduğunu belirtmişler; maydanoz, biber, domates, pancar ve marulda yaptıkları denemelerde patojenin en yoğun gelişiminin marul üzerinde olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca araştırma bulgularına göre biber, etmenin potansiyel konukçusu iken domates

meyvelerinde herhangi bir simptom gözlenmemiştir. Öte yandan Sahin ve Miller (1998) Amerika Birleşik Devletlerinde yaptıkları çalışmada etmenin domates ve biber bitkilerinde nekrotik lekelere neden olduğunu bildirmişlerdir.

Sahin ve Miller (1997) yaptıkları çalışmada; *X. axonopodis* pv. *vitians*'in marulun pazarlanabilirliğinde yaprak lekeleri ve diğer simptomların büyük soruna yol açtığını belirtmiş, patojenin farklı strainlerinin streptomisin sülfata karşı dayanıklılığını test etmiş ve dayanıklı strain bulunmadığını rapor etmişlerdir. Aynı zamanda marul varyetelerinin hastalığa karşı dayanıklılık durumunu da inceleyen araştırmacılar çok dirençli, direçli, kısmen direçli, hassas ve çok hassas varyetelerin varlığından bahsetmiştir. Araştırma kapsamında, patojen tohumla bulaşabildiği için tohum dezenfeksiyon çalışmaları yapılmış ve %0,52'lik sodyum hipoklorit (NaClO) ile muamele edilen tohumlardan hemen tamamının hastalık etmeninden arındığını ayrıca tohumların çimlenme oranında kayda değer bir düşüş yaşanmadığını bildirmişlerdir.

Öte yandan Küsek vd. (2005) yaptıkları çalışmada etmenin son birkaç yıl içinde Çukurova Bölgesin'de görülen önemli bir hastalık olduğunu bildirmişler ve bölge üreticisinden elde edilen marul tohumlarında etmenin bulaşıklık oranını belirlemişlerdir. Yapılan araştırmalar sonucunda tohumların %13,83 oranında bulaşık olduğu gözlemlenmiş, bu durum fiziksel ve kimyasal uygulamalarla ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır. Bulaşık tohumlar 3 dakika süre ile %1'lik NaClO, 30 dakika süre ile 0,6 M hidroklorik asit (HCl) ve 20 dakika süre ile 50°C'deki sıcak suya daldırılmıştır. Bulaşıklık oranı sıcak su uygulaması ile %39,4, NaClO uygulaması ile %32,61 ve HCl uygulaması ile %15,4 oranında azalış gösterirken hiçbir uygulama patojeni tamamen elemine edememiştir. Ayrıca uygulamalardan hiçbirinin tohumun çimlenmesi üzerine olumsuz etkisinin bulunmadığı belirtilmiştir.

Etmenin mücadelesi için tamamen biyolojik mücadele ajanlarına odaklanmış bir çalışmaya rastlanmamakla birlikte, Bull ve Koike (2005) ABD'de yaptıkları bir çalışmada hastalığın kontrolü için Serenade isimli bir *Bacillus* straini olan ticari prepatın, Maneb ve Cuprofix isimli ticari preparatlarla kombinasyonlarını ve buna ek

olarak bir harpin proteini olan Messenger, elementel bakır, Quadris ve Actigard'ı kullanmışlardır. Araştırma sonucunda en etkili bulunan uygulama Serenade ve Cuprofix kombinasyonu olurken, Maneb ve Cuprofix uygulaması hastalık şiddetinde önemli düşüşe neden olmasına karşın diğer uygulama (Serenade–Cuprofix) kadar etkili bulunmamıştır. Bu uygulamanın hastalığı engellemede önemli bir strateji olabileceğini belirten araştırmacılar yine de uygulamanın tek başına kullanılmak için fazla değişken olabileceğini belirtmişlerdir.

Farklı *Xanthomonas* türlerine karşı biyolojik mücadele ajanlarının kullanıldığı çok sayıda çalışma mevcuttur. Mirik vd. (2008) tarafından bildirildiğine göre, biberde *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın neden olduğu bakteriyel leke hastalığının engellenmesinde 3 farklı *Bacillus* izolatı tek veya kombine halde kullanılmış, sera koşullarında %11 - 62, tarla koşullarında ise %38 - 67 oranında başarı sağlanmıştır. 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.

Kotan (1998) tarafından *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*'ya karşı biber ve domates bitkileri üzerinde yapılan biyolojik mücadele çalışmasında; bitki aktivatörü olarak Actigard, biyoajan olarak ise *Bacillus subtilis* BA-140, *Burkholderia cepacia* BA-7 ve *Pseudomonas putida* BA-8 bakteri strainleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlarda bütün uygulamaların sera koşullarında kontrole göre hastalık şiddetinde önemli düşüşlere neden olduğu ancak Actigard'ın önerilen tozunun bitkiler üzerinde bir fitotoksik etkiye sebep olduğu görülmüştür.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Oldaç ve arkadaşları (2002) domateste *X. axonopodis* pv. *vesicatori*a ya karşı domates bitkilerinin kök ve yapraklarından izole edilen 73 bakteriyi test etmiş ve in vivo çalışmalar için seçtikleri 23 izolattan 7 tanesinin hastalık şiddetini %77 – 97,33 oranında azalttığını belirtmişlerdir.

Kamal (2008) Mısır'da rapor ettiği araştırmada domateste bakteriyel lekelere neden olan *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*'ya karşı *Pseudomonas flourescens* ve asibenzolar-S-metil (BTH) ve kombinasyonlarını kullanmıştır. Çalışma sonucunda tüm uygulamaların tohumların çimlenmesi ve yaşama güçlerinin artmasında olumlu etkiye sahip olduğu, fakat en etkili görülenin *P. flourescens* uygulaması olduğunu belirtmiştir. Kontrollü şartlar ve arazi koşullarında yürütülen çalışmalarda, tüm uygulamaların hastalık şiddetinde kontrollere kıyasla önemli düşüşlere neden olduğunu, burada en önemli düşüşün *P. flourescens*'ın yaprağa uygulanması ile elde edildiğini bildirmiştir.

Mısır'da Hoda ve arkadaşları (2005) aynı patojene karşı antagonistik bir bakteri olan *Rahnella aqualitis*'i kullanmışlardır. Tohum, yaprak, kök ve toprak uygulamalarının tamamında hastalık şiddetinin azaltıldığını belirten araştırmacılar, en etkili sonucun ise yaprak uygulaması ile elde edildiğini dile getirmişlerdir.

Byrne ve arkadaşları (2005) Auburn (ABD)'de farklı bölgelerden izole edilen potansiyel biyolojik mücadele ajanlarını *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*'ya karşı denemişler, etkili 3 *Pseudomonas* ve 1 *Cellulomonas* strainini bulmuşlardır. Kontrollü şartlarda *Cellulomonas turbata*'nın hastalık düşüşünde en yüksek verimi sağladığı, *Pseudomonas syringae*'nin ise etkinlik bakımından en istikrarlı strain olduğunu bulmuşlar. Farklı lokasyonlarda (Sanford, ABD; Clinton, ABD; Wooster, ABD; Londra, UK ve Ontario, Kanada) yapılan arazi denemelerinde hastalık şiddetindeki en önemli düşüşlerin *P. syringae* ve *P. putida* tarafından sağlandığını, etkinlik ve süreklilik açısından en yarayışlı strainin *P. syringae* olduğunu bildirmişlerdir. Yine de ne bakteriyel strainlerin ne de bakır terkipli bakterisitlerin domates meyvelerindeki hastalık simptomlarını tam olarak engelleyemediğini rapor etmişlerdir.

Biyolojik mücadele çalışmaları farklı patojen ve bitki gruplarında da yoğun ilgi görmektedir. Kore'de yapılan bir çalışmada Chung ve arkadaşları (2008) 500 farklı izolatı sebze patojenlerine karşı test etmişler ve seçilen bir *B. subtilis* izolatının test edilen 42 sebze patojenin 39 tanesine karşı etkili olduğunu belirtirken, bu izolatın

salatada fungal kaynaklı *Fusarium oxysporum* sp. *cucumerinum* ve yine biberde *Phytopthora capsici*'yi baskıladığını belirtmişlerdir

Ülkemizde Aysan ve Çınar (2002) tarafından yapılan bir çalışmada tohum kaynaklı bir patojen olan *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı antagonistik bakterilerin etkinliği test edilmiştir. Denenen izolatlar arasında 18 tanesinin in vitro çalışmalarda patojenin gelişimini engellediğini ve bu izolatların saksı denemelerinde kullanıldığını belirten araştırmacılar, saksı denemeleri sonucunda hastalık oluşumunun %31 – 90, hastalık şiddetinin ise %5 – 84 oranında azaltıldığını bildirmişlerdir.

Almanya' da Braun-Kiewnick ve arkadaşları (2000) tarafından rapor edilen bir çalışmada arpada çekirdek yanıklığı hastalığına neden olan *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'ye karşı antagonistik bir bakteri olan *Panteao agglomerans* kullanılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda hastalık, kontrollü şartlarda %50 – 100, tarla koşullarında ise %45 – 74 arası değişen oranlarda düşüş göstermiştir. Hastalıkta meydana gelişen düşüş oranının kullanılan izolat ve seçilen arpa varyetesine bağlı olarak değiştiği, özellikle *P. agglomerans* strainleri patojen inokulasyonundan önce uygulandığında etkilerinin arttığı bildirilmiştir.

PGPR'ların etkileri farklı yönlerde çok sayıda çalışma ile araştırılmıştır. Yang ve arkadaşları (2009) Kuzey Kore'de yaptıkları bir çalışmada PGPR bakterilerin, bitkilerin tuz ve kuraklık stresine karşı dayanıklılığı desteklediğini söylemişler ve bu mekanizmanın azot ve fosfat çözümü ile topraktan alınabilir maddelerin artması yanında suni gübrelere daha az ihtiyaç duyulacağından su kirliliğinin azalmasının da etkili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Paul ve Nair (2008) Kuzey Kore'de yaptıkları bir başka çalışmada tuz stresinin zararlı etkilerinden ve tuz seviyesi yüksek tarım alanlarının her geçen gün arttığından bahsetmişlerdir. Bir *P. flourescens* strainin tuz stresini engelleyici proteinler ürettiğini ve bu strainin tuzlu topraklarda bitki gelişimi için uygun bir inokulant olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Naiman ve arkadaşları (2009) Arjantin'de yaptıkları çalışmada karasal bir ekosistemin işleyişinin topraktaki mikroorganizma faaliyetine bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bazı *Azospirillum* strainlerinin bitki büyüme düzenleyicileri salgıladıkları ve azot fiske ettiklerini, bazı *Pseudomonas* strainlerinin ise sitokininleri salgılama yeteneğinde olduklarını ve ayrıca organik fosfatı çözebildiklerini belirten araştırmacılar çalışmalarında bu cinslere ait 3 ticari preperatın buğdayın gelişimi üzerine etkilerini test etmişlerdir. Sonuçta buğdayın gövde gelişiminde %12, kök gelişiminde %40, tane veriminde ise %16' lık bir artış elde edildiğini bildirilmişlerdir.

Çakmakçı ve arkadaşları (2007a) ise arpa bitkisinin gelişimi için *Bacillus* OSU-142, *Panibacillus polymyxa*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus* M-13, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas putida* ve *Rhodobacter capsulatus* izolatlarını kullanmışlardır. Bu izolatların bazılarının indol asetik asit ürettiğini, bazılarının fosfat çözebildiğini ve tamamının azotu fiske edebildiğini belirten araştırmacılar, sonuçta arpanın kök uzunluğunda %17,9-32,1, gövde uzunluğunda ise %28,8-54,2 artış elde etmişlerdir. Ayrıca azotu çözebilen bakterilerin inoklasyonunun bitki tarafından demir, azot, mangan ve bakırın alımına katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir.

Sahin ve arkadaşları (2004) şeker pancarı ve arpa üzerinde yaptıkları araştırmada azot fiske edici 2, fosfatı çözme yeteneğinde olan 1 *Bacillus* straini ve bunların kombinasyonlarını denemişlerdir. Sonuçta şeker pancarının kök gelişimi ve arpanın veriminde, türe bağlı olarak azot bağlayan strainler tek uygulandığında %5,6-11, fosfat çözebilen strain tek uygulandığında %5,5-7.5 bunların ikili veya üçlü uygulamalarında ise %7,7-12,7 lik bir artış elde etmişlerdir. Azot fosfat gübrelemesi kontrole oranla %20,7-25,9 luk bir üstünlük gösterirken araştırmacılar bakterilerin faydalı etkisinin çevresel şartlar, toprak ve bitki şartlarına bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini öne sürmüşlerdir.

Tsakelova ve arkadaşları (2008) Rusya'da yaptıkları çalışmada farklı cinslere ait PGPR izolatlarının indol asetik asit üretimlerini test etmiş ve bu izolatların özellikle durgun gelişim fazında yüksek miktarda oksin ürettiklerini öne sürmüşlerdir. Kullanılan

izolatlar *Pseudomonas, Erwinia, Burkholderia, Bacillus, Chryseobacterium, Stenotrophpmonas, Flavobacterium* ve *Agrobacterium* cinslerine ait türler olup, üretilen indol asetik asitin kök oluşumu ve büyümesinde önemli bir uyarıcı olduğunu belirtmişlerdir.

Jeon ve arkadaşları (2003) Kore'de yaptıkları çalışmada verimsiz bir göl kenarı toprağı kullanmışlardır. *P. flourescens* ve *B. megaterium* strainlerinin inoklasyonunun bitki büyümesine önemli miktarda katkıda bulunduğunu belirtmişler, bu etkinin strainlerin ürettiği fitohormonlar özellikle indol asetik asit ve toprakta çözünemeyen formdaki fosfatın çözünmesi ile ilgili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Barazani ve Friedman (1999) İsrail'de yaptıkları çalışmada strainlerin yararlı (PGPR) veya zararlı (DRB; deleterious rizobacteria) etkilerinin ürettikleri oksin maddelerinin miktarına bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Marul bitkisi üzerinde yürütülen çalışmada fazla miktar indol asetik asit üreten *Micrococcus luteus*, *Streptoverticillium* sp., *Gluconobacter* sp. ve *P. putida* bakterilerinin inokulasyonu ile kök gelişiminin baskılandığını, *Agrobacterium* sp., *Alcaligenes piechaudii*, *Comamonas acidovorans* gibi indol asetik asiti diğerlerine nazaran daha düşük seviyelerde üreten bakterilerin inokulasyonu ile bitki gelişimin tetiklendiğini kaydeden araştırmacılar PGPR strainlerinin indol asetik asit dışında gelişimi destekleyici salgılar ürettiğini öne sürmüşlerdir.

Çakmakçı ve arkadaşları (2007b) tarafından bildirilen başka bir çalışmada ise *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *P. polymyxa*, *P. putida*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Bacillus* OSU-142, *Bacillus* M-13 PGPR izolatlarının ıspanak ve buğday gelişimi ve farklı enzimlerin (glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, 6-fosfoglukanat dehidrogenaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-s-transferaz) aktiviteleri, üzerine etkilerine bakılmıştır. Bu bakterilerden 6 tanesinin nitrogenaz aktivitesinin yüksek olduğu, 4 tanesinin etkili bir biçimde fosfat çözebildiği ve tamamının indol asetik asit üretebildiği bildirilirken, sonuçta her iki bitki içinde PGPR uygulamaları ile verimde önemli artışlar elde edildiği belirtilmiş ve bitki büyümesi ile enzim aktiviteleri arasında yakın bir ilişki olduğu öne sürülmüştür.

Shaharoona ve arkadaşları (2008) Pakistan'da yaptıkları bir çalışmada bitkilerin besin elementlerini alımlarının kök büyüklüğü ve besin elementlerinin kök çevresindeki alınabilirliklerine bağlı olduğunu belirtmişler, farklı dozlarda azot, fosfat ve potasyum uygulamaları ile *Pseudomonas* cinsine ait PGPR strainlerinin etkinlikleri arasındaki bağlantıyı araştırmışlardır. Buğday bitkisinde yürütülen araştımalar sonucunda, strainlerin etkinliğinin yüksek doz gübre uygulamaları ile azaldığını öne sürmüş ve PGPR strainlerinin uygun dozlarda gübre uygulaması ile kombine halde kullanımlarının daha yarayışlı olacağını bildirmişlerdir.

Mena-Violante ve Olalde-Portugal (2007) yaptıkları çalışmada bir PGPR izolatı olan *B. subtilis*'in domatesin verim ve meyve kalitesine olan etkilerini araştırmışlardır. Sonuçta hem verim hem de kalite olarak *B. subtilis* uygulamasına tabi tutulan bitkilerin kontrollere oranla daha üstün olduğunu dile getirmişlerdir.

PGPR'ların değişik bitki türlerine tatbikini öngören çalışmalara da sıklıkla rastlanmaktadır. Aslantaş ve arkadaşları (2007) PGPR strainlerinin elma ağaçlarının verimi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında *Bacillus* OSU-142, *Burkholderia* OSU-7, *Pseudomonas* BA-8 ve *Bacillus* M-3 strainlerini kullanmışlar, bu strainlerin tamamının indol asetik asit ürettiğini ve *Bacillus* OSU-142 hariç hepsinin fosfatı da çözebildiğini belirtmişlerdir. Sonuçta kullanılan anaç, çeşit ve uygulamaya bağlı olarak meyve veriminde kontrollere nazaran önemli bir artış elde edilmiştir. Araştırmacılar özellikle bir strainin yüksek miktarda sitokinin ve oksin ürettiğini ve bu strainin verimde önemli artışlara neden olduğunu belirtmişledir.

PGPR'ların farklı amaçlar doğrultusunda kullanımını örnekleyen çalışmalara da rastlanmaktadır. Arjantin'de yapılan bir çalışmada Banchio (2008) ve arkadaşları PGPR bakterilerin bitkisel yağlar üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. *Origanum majorana* L. bitkisinde yaptıkları araştırmada *P. flourescens*, *B. subtilis*, *Sinorhizobium meliloti* ve *Bradyrhizobium* sp. strainlerini kullanmışlar, çalışma sonucunda *P. flourescens* ve *Bradyrhizobium* sp. strainlerinin bitkisel yağ veriminin yanı sıra sürgün uzunluğu, sürgün ağırlığı, yaprak sayısı, nod sayısı ve kök kuru ağırlığı gibi değerlerde de kontrol

ve diğer PGPR uygulamalarına nazaran önemli artışlar meydana getirdiklerini ve bitkisel yağın yapısında herhangi bir dönüşüm olmadığını belirtmişlerdir.

Çin'de yapılan farklı bir çalışmada ise Zhuang ve arkadaşları (2007) PGPR strainlerin farklı bir kullanım alanından bahsetmişledir. Fitoremedasyon adı verilen bu olgu kirlilik etmenlerinin çevreden uzaklaştırılmasını ifade etmektedir. Bitkinin remedasyonda tek başına yeterince verimli olmadığını ifade eden araştırmacılar *Azosipirillum lipoferum, Azosipirillum azosipirilla, Azosipirillum Brasilense, Enterobacrer cloacae, P. putida, P. flourescens* gibi PGPR'ların uygulanması ile bitkinin remedasyon potansiyelinin genişletebileceğini öne sürmüşlerdir.

PGPR strainlerinin biyolojik mücadele amacı ile kullanıldığı çalışmalara da sıklıkla rastlanmaktadır. Ji ve arkadaşları (2006) ABD'de yaptıkları çalışmada *P. syringe* pv. *tomato* ve *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın domateste neden oldukları hastalıklara karşı PGPR strainlerini denemişlerdir. Sonuçta bazı PGPR strainlerinin arazi şartlarında bu hastalıklara karşı bitkideki dayanıklılık mekanizmasını tetiklerini belirtmişler ve kök rizosferine uygulanan PGPR strainleri ile yaprak uygulamalarında biyoajan olarak kullanılan strainlerin birlikte uygulanması durumunda daha iyi sonuçlar elde edilebileceğini öne sürmüşlerdir.

Aliye ve arkadaşları (2008) Etiyopya'da yaptıkları çalışmada *Ralstonia solanacerum*'un patateste neden olduğu hastalığa karşı 112 PGPR strainini denemişlerdir. Sonuçta seçtikleri 1 *B. subtilis* ve 2 *P. macerans* strainininin hem hastalığı önemli derecede baskıladığını hem de bitki boyu ve ağırlığında kontrollere kıyasla önemli bir artış sağladıklarını dile getirmişlerdir.

Cartieaux ve arkadaşları (2008) Fransa'da yaptıkları çalışmada uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR) mekanizmasından bahsetmiş ve bu mekanizmanın PGPR strainler tarafından tetiklendiğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak ISR mekanizmasının, PGPR strainlerince önceden kolonize edilmiş ve patojen saldırısı altındaki bitkide büyük ölçüde jasmonik asit ve etilen tarafından etkilendiği düşünülen bir gurup gen tarafından

çalıştırıldığını öne sürmüşlerdir. Ramamoorthy ve arkadaşları (2001)'da ISR mekanizmasında PGPR strainlerinin rolünden bahsetmiş, tohumlara uygulanan PGPR strainlerinin yol açtıkları yapısal ve biyokimyasal değişiklikler sonucunda salgılanan bazı protein ve kimyasal maddelerin bitkide savunma mekanizmasının bir parçası olduğunu belirtmişlerdir. Lipopolisakkaritler, sideroforlar ve salisilik asidin PGPR vasıtasıyla oluşan ISR'nin en önemli belirleyicileri olduğunu bildiren araştırmacılar PGPR'ların bazı patojen, nematod ve böcek zararlılarına karşı arazi şartlarında başarılı olduğunu dile getirmişlerdir.

P. agglomerans türü bakterilerin de hem biyolojik mücadelede hem de bitkilerin dayanıklık mekanizmalarının uyarılmasında kullanımına yönelik çok sayıda araştırma mevcuttur (Ozaktan ve Bora 1994; Zeller and Wolf 1996; Braun-Kiewnick *et al.* 1997; Braun-Kiewnick *et al.* 2000; Remus *et al.* 2000; Costa *et al.* 2001; Verma *et al.* 2001; Kotan 2002).

Yapılan bir çalışmada *E. amylovora*'ya karşı *P. agglomerans*'ın E.h.89 nolu strainin tarla şartlarında *Catoneaster* bitkisinde %70 kontrol sağladığı belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada *in-vitro*, biyotest ve tarla testlerinde strainlerin aktiviteleri arasında bir korelasyon görülmemiş ancak, *P. agglomerans* E.h.89 straini bütün testlerde iyi sonuç vermiştir (Zeller and Wolf 1996).

Buğday tanelerinde yanıklığa sebep olan *P. syringae* pv. *syringae*'ye karşı kullanılan bitki aktivatörü CGA-245704 tek başına %94-98 oranında etkili bulunurken, *P. agglomerans*'ın %72-100 oranında etkili olduğu görülmüştür (Braun-Kiewnick *et al.* 1997). Yapılan bir başka çalışmada *P. agglomerans* buğday tanelerinde yanıklığa sebep olan *P. s.* pv. *syringae*'ye karşı kullanılmış ve tarla denemelerinde %45-74 oranında etkili bulunmuştur (Braun-Kiewnick *et al.* 2000).

P. agglomerans strain D5/23 ve *Klepsiella pneumoniae* strain CC12/12 bakterilerinin farklı buğday varyetelerinde toprak üstü ve toprak altı uygulanması sonucunda hem bakterilerin hücre gelişimlerine hem de bitkilerin gelişimi üzerine olan etkilerine

bakılmış, *P. agglomerans*'ın hem fillosferde hem de rizosferde iyi kolonize olmasıyla birlikte bitki büyümesinde belirgin bir artışa sebep olduğu, *K. pneumoniae*'nın ise kök bölgesinde daha iyi kolonize olup bitkinin kök gelişimini artırdığı tespit edilmiştir (Remus *et al.* 2000). Bu tez kapsamında kullanılan bakteri strainlerinin büyük çoğunluğu da *P. agglomerans*'tır. Bu strainlerin daha önceki çalışmalarda bazı bitki patojeni bakterilere karşı potansiyel biyoajan olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir (Kotan 2002).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Yararlanılan alet ve cihazlar

Çalışma esnasında aşağıdaki alet ve cihazlar kullanılmıştır.

Biolog mikroplate okuyucusu (Biolog, U.S.A., SN E11175)

Biolog turbudity (Biolog, U.S.A., SN 02071102)

Sterilizatör (Nüve, TÜRKİYE, FN 500, SN 303–3051)

Otoklav (Hırayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253)

İnkübatör (Nüve, TÜRKİYE, ES 500, SN 03–0591)

Mikroskop (Olympus, JAPAN, B x 50, ODO4368)

Mikrobiyal identifikasyon sistemi (MIDI, Inc., Newark, DE)

Hematoloji çalkalayıcısı (GERMANY, GEL–3025, SN 10365703 F)

Steril kabin (LABCAIRE)

Çalkalayıcı (Thermoshake, Gerhard, GERMANY, SN 4002319)

Su banyosu (Nüve, TÜRKİYE, ST–402, SN 02–0138)

Otomatik pipetler (Eppendorf, GERMANY)

Magnetik karıştırıcı (Nüve, TÜRKİYE, MK–418, SN 05–1083)

pH metre (Hana, PORTUGAL, HI 9321, SN 396202)

Derin dondurucu (Nuaire, U. S. A, -86 Ultralow Freezer, SN P07K–476316-PK)

Hassas terazi (Scaltec, GERMANY, SPB42, SN SPB42–90908239)

Buzdolabı (Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF)

Saf Su cihazı (Ateks, 7x35, Eu)

Mini karıştırıcı (IKA, U.S.A., M51, SN 03017581)

3.1.2. Kullanılan besi yerleri ve çözeltilerin hazırlanışı

Araştırma süresince kullanılan besi yerlerinin ve çözeltilerin hazırlanışı ile ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir:

Thornley 2A besi yeri: Hassas terazide 3 g agar, 0,01 g fenol kırmızısı,10 g arginine-HCl, 1 g pepton, 5 g NaCl ve 3 g K_2HPO_4 1 L distile suya (dH_2O) ilave edilmiştir. Elde edilen karışım magnetik karıştırıcıda çözülerek pH'sı 7,2'ye ayarlanmıştır. Karışımdan steril enjektörler ile 2'şer ml alınrak, 5 ml'lik cam test tüplerine aktarılmıştır. Tüplerin ağızları sıkı bir şekilde kapatılarak otoklavda 121°C'de 15 dk seril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra tüpler katılaşmaya bırakılmıştır (Thornley 1960).

Nitrat besi yeri: Hassas terazide 10 g pepton (Difco), 5 g NaCl, 2 g KNO_3 ve 3 g agar 1 L sdH_2O'ya ilave edilmiştir. Karışım içerisindeki agar çözülünceye kadar magnetik karıştırıcıda kaynatılmış ve NaOH ilave edilerek pH'sı 7'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan karışımdan steril enjektörler ile 3'er ml alınarak kapaklı tüplere aktarılmıştır. Tüplerin kapakları sıkıca kapatılarak otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiştir (Klement *et al.* 1990).

Lauryl Broth (LB): Hassas terazide 10 g NaCl, 10 g pepton ve 5 g yeast extract 1 L dH_2O'ya katılarak elde edilen sıvı besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiştir. (Klement *et al.* 1990).

%70'lik Etil alkol: 100 ml sdH_2O'ya 70 ml etil alkol ilave edilerek solüsyon hazırlanmış ve hazırlanan çözelti -20°C'de muhafaza edilmiştir.

%30 'luk Gliserol: 30 ml gliserol 70 ml sdH_2O'ya ilave edilerek hazırlanan karışım otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiştir.

Lugol solüsyonu: Hassas terazide 1 g iyot ve 2 g KCl tartılarak önceden hazırlanmış olan sdH_2O içerisine aktarılmıştır (Klement *et al.* 1990).

Nutrient agar: Hassas terazide 28 g nutrient agar karışımı (Oxoıd) tartılarak 1 L dH_2O içerisine aktarılmış ve hazırlanan besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilerek soğumaya bırakılmıştır. Besiyeri 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (Lelliot and Stead 1987).

Nutrient broth: Hassas terazide 13 g nutrient broth besiyeri tartılarak (Oxoid) 1 L dH_2O içerisine ilave edilmiş ve hazırlanan besi yeri otoklavda 121°C'de 15 dk steril edildikten sonra soğumaya bırakılmıştır (Lelliot and Stead 1987).

Azotsuz (N-Free) besiyeri: Hassas terazide 10 g sukroz, 5 g L-malik asit, 0,1 g K_2HPO_4, 0,4 g KH_2PO_4, 0,2 g $MgSO_4.7H_2O$, 0,01 g $FeCl_3$, 0,1 g NaCl, 0,02 g $CaCl_2.2H_2O$, 0,02 g $Na_2MoO_4.2H_2O$ ve 12 g agar tartılarak 1 L dH_2O içinde çözülmüştür. pH 7,0-7,2'ye ayarlanarak 121°C'de 15 dk steril edilmiş ve 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (Han *et al.* 2005).

NBRIP besiyeri: Hassas terazide 10 g glukoz, 5 g $Ca_3(PO_4)_2$, 5g $MgCl_2.6H_2O$, 0,25 g $MgSO_4.7H_2O$, 0,2 g KCl ve 0,1 g $(NH_4)_2SO_4$ tartılarak 1 L dH_2O içinde çözülmüş, pH 7,0-7,2'ye ayarlanarak 121°C'de 15 dk steril edilmiştir (Metha and Nautiyal 2001).

NBRIP-BPB besiyeri: Hassas terazide 10 g glukoz, 5 g $Ca_3(PO_4)_2$, 5g $MgCl_2.6H_2O$, 0,25 g $MgSO_4.7H_2O$, 0,2 g KCl, 0,1 g $(NH_4)_2SO_4$ ve 0,025 g BPB (Brom Phenol Blue) 1 L dH_2O içinde çözülmüştür. pH 7,0'a ayarlandıktan sonra besi yeri tüplere aktarılmış ve 121°C'de 15 dk steril edilmiştir (Metha and Nautiyal 2000).

Yeast dexrose carbonate agar (YDC): 1 L saf su içerisine 10 g yeast extract, 20 g dextrose, 20 g $CaCO_3$ ilave edilmiştir. Karışım otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiş,

besiyeri 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülmüş ve katılaşmaya bırakılmıştır (Lelliot and Stead 1987).

Trypticase soy broth agar (TSBA) besiyeri: Hassas terazide 40 g TSBA (Merck) tartılarak 1 L dH_2O içinde çözülüş, daha sonra karışım 121°C'de 15 dk süreyle otoklav edilmiştir. Steril edilen besi yeri 60°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril kabinde petrilere dökülmüş ve oda sıcaklığında katılaşmaya bırakılmıştır (Klement *et al.* 1990).

Starch agar: Hassas terazide 23 g nutrient agar (Difco) ve 10 g %1'lik nişasta tartılarak 1 L dH_2O saf su içerisinde çözülmüştür. Otoklavda 121^oC'de 15 dk steril edilmiş ve sterilizasyon sonrası 45°C'ye kadar soğutulan besiyeri steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (Klement *et al.* 1990).

Barton mixed reagent: 40 g amonyum molibdat 400 mI dH_2O içnde çözülmüştür. Daha sonra 1 g amonyum vanadat 300 ml dH_2O içinde çözülmüş ve üzerine 200 ml konsantrik nitrik asit eklenmiştir. Hazırlanan bu iki çözelti karıştırılarak dH_2O ile 1 L'ye tamamlanmıştır.

%7'lik H_2O_2 çözeltisi: 7 ml H_2O_2'in hacmi sdH_2O ile 100 ml'ye tamamlanarak çözelti hazırlanmıştır.

%3'lük KOH çözeltisi: 100 ml steril distile su içerisinde 3 g KOH çözülerek çözelti hazırlanmıştır (Fahy and Hayward 1983).

%0.85'lik NaCl çözeltisi: 8,5 g NaCl'ün hacmi 1 L'ye tamamlanmış, çözelti 121^oC'de 15 dk otoklavda steril edilmiştir.

Standart fosfor çözeltisi: Kurutulmuş 0,2196 g KH_2PO_4 1 L dH_2O içinde çözülmüştür. Bu çözelti 50 µg PO_4^{3-}P içermektedir (Yıldız 2007).

Hücre parçalama (Saponification) çözeltisi: 150 ml sdH_2O ve 150 ml metil alkol (HPLC Grade) 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmış, sonra katı formdaki sodyum hidroksit (ACS Grade)'den hassas terazide 45 g tartılarak çözeltiye ilave edilmiştir. Çözelti iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır (Şahin 1999).

Metilleştirme (Methylation) çözeltisi: 275 ml metil alkol (HPLC Grade) ve 325 ml hidroklorik asit (6 N) 1 L'lik renkli çözelti şişesi içerisine ilave edilmiş, iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır (Şahin 1999).

Saflaştırma (Exraction) çözeltisi: 200 ml metil-tert-butil-eter (HPLC Grade) 200 ml hexan (HPLC Grade) üzerine ilave edilerek 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmış, hazırlanan çözelti iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır (Şahin 1999).

Bazik yıkama (Base Wash) çözeltisi: Hassas terazide katı formdaki sodyum hidroksitden (ACS Grade) 10,8 g tartılarak 900 ml sdH_2O içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırılmış, karışım 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmıştır (Şahin 1999).

Biolog universal growth agar + %0.025 maltoz (BUG+M): Hassas terazide BUG+M besiyerinden 13 g tartılarak 1 L dH_2O içerisine ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım otoklavda 121^oC'de 15 dk steril edilmiş, sterilizasyon sonrası 45°C'ye kadar soğutulan besiyeri steril kabinde petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (Miller *et al.* 1993).

3.1.3. Kullanılan PGPR, biyoajan ve patojen bakteri strainleri

Bu çalışmada mikrobiyal tanı sistemi (MIS) sonucuna göre; 3 farklı cins (*Pantoea* sp., *Bacillus* sp. ve *Paenibacillus* sp) ve 6 farklı türe ait (*Pantoea agglomerans*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus megaterium*) toplam 40 PGPR ve biyoajan bakteri straini ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vitians* patojen bakteri straini kullanılmıştır. Kullanılan bakterilerin bir kısmı Yrd. Doç. Dr. Recep Kotan'ın kültür koleksiyonundan seçilmiş olup bir kısmı ise 2009 yılında Erzincan'da yapılan çalışmalarda izole edilmiştir. Kullanılan patojen bakteri

ABD'de marul bitkisinden izole edilmiş, virulanslığı oldukça yüksek bir straindir (Sahin and Miller 1997).

3.1.4. Kullanılan test bitkileri

Bu çalışmada test bitkisi olarak 25 °C'de ve %50 nem içeren bitki büyütme kabinlerinde tohumdan yetiştirilen marul (*Lactuca sativa* L. var. Yedikule) ve aşırı duyarlılık testleri için tütün (*Nicotiana tabacum* L. var. Samsun) bitkileri kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bakteriyel strainlerin MIS sistemi ile yağ asit profillerinin belirlenmesi

Bu çalışmada kullanılan bakteri strainleri Mikrobial Tanı Sistemi=MIS (MIDI, Inc., Newark, DE) kullanılarak tanılanmıştır (Miller and Berger 1985).

Bakteri strainlerinin trypticase soy broth agar (TSBA) besiyerinde geliştirilmesi

Test edilecek bakteriyel strainler steril öze ile donmuş kültürden alınarak, TSBA katı besi yerine 3 fazlı çizgi ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 24-48 sa süreyle 27 ^{o}C'ye ayarlı bir inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır.

Yağ asidi metil esterlerinin saflaştırılması

Yağ asidi metil esterlerinin saflaştırılmasında yukarıda bahsedilen çözeltiler kullanılmış olup aşağıdaki prosedür uygulanmıştır (Şahin 1999).

1. TSA besi ortamına 4 fazlı çizgi ekimi yapılarak geliştirilen 24 sa'lik bakteri strainlerinin 3. ve 4. fazlarından canlı bakteri hücreleri steril bir öze ile toplanarak (40

mg), ağızları teflon kapaklı steril cam test tüplerine (5 ml) aktarılmış, test tüpleri etiketlenerek ağızları kapatılmıştır.

2. Test tüplerine 1 ml çözelti 1 ilave edilmiş, 5–10 sn çalkalanarak 5 dk süreyle 100°C 'lik su banyosunda bekletilmiştir. Çıkarılan tüpler tekrar 5–10 sn çalkalanarak 25 dk süreyle 100°C'lik su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Bu muamele ile canlı hücreler parçalanarak, yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.

3. Test tüplerine 2 ml çözelti 2 eklenerek 5–10 sn'lik bir çalkalamadan sonra 80°C'de 10 dk süreyle su banyosunda bekletilmiş ve hemen takiben 2 dk süreyle buz veya soğuk su içerisinde soğutulmuştur. Bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenerek, yağ asitlerinden yağ asit metil esterler elde edilmiştir.

4. Soğutulan tüplere 1,25 ml çözelti 3 eklenerek 10 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısı ile çalkalanmıştır. Alt kısmında inorganik, üst kısmında da organik sıvı fazları olmak üzere iki ayrı faz oluşmuştur. Pastör pipeti kullanarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılmış ve organik faz muhafaza edilmiştir.

5. En son aşamada ise her tüpe 3 ml çözelti 4 ilave edilerek, 5 dk süreyle çalkalandıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Tüp içerisinde yine 2 ayrı faz oluşmuştur. Üst fazda toplanan ve yağ asit metil esterleri içeren faz pastör pipeti ile alınarak 2 ml'lik gaz kromotografi tüplerine transfer edilmiş ve ağızları sıkıca kapatılmıştır.

Örneklerin MIS sisteminde analiz edilmesi

Protokole göre hazırlanan örnekler MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirildikten sonra, cihaz çalıştırılmıştır. MIS sistem kılavuzunda belirtildiği gibi örnekler tek tek analiz edilmiş ve bilgisayar ortamında tanı sonuçları alınmıştır. Bu testler her bir örnek için 3 kez tekrar edilmiş ve yüzde olarak elde edilen en yüksek

değeri tanı sonucu olarak alınmıştır. Strainlerin birbirleri ile benzerlik ve farklılıkları, içerdikleri yağ asiti türleri ve yüzde oranlarına bakılarak SPSS (Statistical Package for Social Sciences)'in Windows Release 10.0.1994. (SPSS. Inc.) sürümü kullanılmış ve dendogramları yapılmıştır.

3.2.2. Bakteriyel strainlerin biyolog sistemi ile metabolik enzim profillerinin belirlenmesi

Test edilecek bakteriler gram reaksiyon özelliklerine göre gruplara ayrılarak; gram pozitifler BUG+M (Biolog Universal Growth Agar + %0.25 Maltoz) besi yerine gram negatifler TSA (Tryptic Soy Agar) besi yerine çizilmiştir. Kültürler 27°C'de 16-24 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Çoğaltılan canlı hücreler steril eküvyon çubukları ile alınarak salina tampon çözeltisi (%05'lik NaCl)'ye aktarılmıştır. Sonra vorteks cihazında karıştırılarak standart turbudity tüpüne göre turbitimetre ile konsantrasyonları 10^8 hücre/ml'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan solüsyonlardan pipet ile 150 µl alınarak mikroplate üzerindeki her bir çukurcuğa ilave edilmiştir. Mikroplateler 4 sa süreyle 27°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası mikroplateler üzerinde metabolik reaksiyon sonrası oluşan renklenme gözlenmiş ve test edilen bakteriyel strainlerin metabolik reaksiyon profilleri Biyolog kinetik okuyucuda okutulmuştur. Sistemin paket programındaki bilinen mikroorganizmaların metabolik profilleri, test edilen mikroorganizmaların profilleri ile karşılaştırılarak tanısı yapılmış ve bilgisayar ortamında sonuçlar alınmıştır. Strainlerin birbirleri ile benzerlik ve farklılıkları, metabolik enzim profilleri ve yüzde oranlarına bakılarak SPSS (Statistical Package for Social Sciences)'in Windows Release 10.0.1994. (SPSS. Inc.) sürümü kullanılmış ve dendogramları yapılmıştır.

3.2.3. Tütünde aşırı duyarlılık (Hypersensitivity = HR) testi

Saflaştırılan bakteriyel strainler NA besiyerine çizilerek inkübasyona bırakılmıştır. 24 sa'lik taze kültürlerden öze ile alınarak sdH_2O içerisine aktarılan bakteriler vorteks cihazında karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımın konsantrasyonu 10^8 hücre/ml'ye

ayarlanmıştır. Elde edilen solüsyondan steril şırınga ile 2 cc'lik alınarak tütün (*Nicotina tabacum* L. var. Samsun) yapraklarının damarları arasına enjekte edilmiştir. Uygulama yapılan bitkiler bitki büyütme kabinlerinde uygun şartlarda 24-48 sa süreyle bekletilerek, inokulasyonun yapıldığı bölgelerde ölü doku (nekroz) oluşup oluşmadığı takip edilmiştir. Ölü doku oluşturan strainler HR+ (pozitif), oluşturmayanlar ise HR– (negatif) olarak değerlendirilmiştir. Kontrol olarak ise sdH_2O kullanılmış olup test aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir (Klement *et al.* 1964).

3.2.4.Morfolojik ve biyokimyasal testler

MIS ve Biolog sistemi ile tanısı yapılan bakteriyel strainlerin biyokimyasal (oksidaz, gram reaksiyon, katalaz, arginine dehydrolase, nitrat üretimi) ve morfolojik (hücre morfolojisi, koloni morfolojisi ve hareketlilik) özellikleri yapılan çeşitli testler sonucu tespit edilmiştir (Buchanan and Gibbons 1974; Saygılı 1995). Testler aynı şartlar altında 3 kez tekrar edilmiştir.

Morfolojik testler

Koloni morfolojisi

Saflaştırılan bakteriyel strainler çizgi ekimle NA besi yerine ekilerek, 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 24 sa'lik bakteri kültürlerindeki kolonilerin şekil ve renklerine bakılmıştır (Saygılı 1995).

Hücre morfolojisi

Saflaştırılan bakteriyel strainler çizgi ekimle NA besi yerine ekilerek, 25°C'de inkübasyona bırakılmış ve 24 sa'lik kültürlerden öze ile alınan hücreler, lam üzerine ilave edilen bir damla sdH_2O içerisine aktarılmıştır. Bakteri hücreleri lam yüzeyine homojen bir şekilde iyice yayılmış, havada kuruması için bir süre bekletilmiştir.

Hazırlanan preparat kuruduktan sonra lamın alt yüzü alevden geçirilmek suretiyle bakteriler tespit edilmiştir. Preparat boya sehpası üzerine konularak metilen mavisi (3-5 dk) preparat üzerine dökülmüş bir süre bekletilmiştir. Bekleme süresinin sonunda boya lamın yüzeyinden uzaklaştırılarak sdH_2O ile yıkanmıştır. Kurutma kâğıdı ile kurulanmış, bir damla sedir yağı damlatılarak mikroskopta immersiyon objektifinde incelenmiş ve hücrenin şekline (yuvarlak, çubuk, spiral) bakılmıştır (Saygılı 1995).

Hareketlilik testi

Saflaştırılan mikroorganizmalar NA besi yerine 3 fazlı olarak çizilerek inkübasyona bırakılmıştır. 24 sa'lik bakteri kültürlerinden, öze ile bir miktar alınarak içerisinde sdH_2O bulunan cam tüplere aktarılmıştır. Hazırlanan solüsyondan öze ile alınan bir damla sıvı lamelin ortasına konulmuş, lamelin lama temas edecek noktalarına vazelin sürülerek, çukur lamın çukur kısmı lamel üzerindeki damlayı kapatacak şekilde çukur lam lamel üzerine kapatılmıştır. Preparat dikkatli bir şekilde ters çevrilerek mikroskopta incelenmiş ve mikroorganizmanın hareketli olup olmadığına bakılarak, hareketli olanlar belirlenmiştir (Saygılı 1995).

Biyokimyasal testler

Oksidaz testi

Test edilen bakterilerin Cytochrome C Oksidase enzimine sahip olup olmadıklarını belirlemek için bu test yapılmıştr. Solunum prosesinde bu enzim görev almakta ve elektron transfer sisteminde maddeleri birinden diğerine indirgeyerek hücresel enerji (ATP) oluşumuna neden olmaktadır. Test edilen organizma bu enzime sahip ise enzimin reaksiyona girmesi sonucu mavi renk oluşmaktadır (Kovacs 1956). Bu test için %1 Tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride içeren kit halindeki tabletler kullanılmıştır. Tabletler sdH_2O ile doyurulduktan sonra, nutrient agar + %1 glikoz içeren besi yerine ekilen 24 sa'lik bakteri kültüründen bir öze dolusu bakteri alınarak

tablet üzerine yayılmıştır. Mavi renk oluşumu pozitif, oluşmaması ise negatif olarak değerlendirilmiştir.

Potasyum hidroksil testi (KOH)

Lam üzerine damlatılan %3'lük potasyum hidroksit solüsyonu üzerine NA'da geliştirilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen alınan bir öze dolusu bakteri KOH solüsyonu ile iyice karıştırılmıştır. Bu testde Gram negatif bakteriler %3 KOH ile muamele edildiğinde hücre duvarı parçalanmakta böylece sitoplâzma ve nükleer materyalin açığa çıkması sonucu bir viskoz yapı oluşmaktadır. Bu nedenle öze karışıma dokundurulup sonra yukarı kaldırıldığında sakız gibi bir uzama meydana gelmekte veya herhangi bir uzama oluşmamaktadır. Uzamanın olması KOH pozitif, olmaması ise KOH negatif olarak değerlendirilmiştir. KOH pozitif bakteriler Gram negatif, KOH negatif bakteriler ise Gram pozitif olarak değerlendirilmiştir (Fahy and Hayward 1983).

Katalaz testi

NA'da geliştirilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen bir öze dolusu alınarak lam üzerine konulmuş ve üzerine bir damla H_2O_2 damlatılmıştır. Katalaz enzimine sahip olan bakterilerde bu enzim elektron transfer zincirinin sonunda açığa çıkan hidrojen peroksit (H_2O_2)'i parçalayıp H_2O ve O_2 gazına dönüşür. O_2 gazının oluşumu kabarcıklar halinde gözlenmektedir. Kabarcık oluşumu katalaz pozitif; oluşmaması ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.* 1990).

Arjinin dihidrolaz testi

NA'da geliştirilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen steril öze ile tek bir koloni alınarak, Thornley 2A besi yeri içeren tüplere saplama ekim yapılmış, üzerine 1 ml otoklav edilerek sıcaklığı 50°C'ye düşürülmüş %3'lük steril su agarı eklenmiştir. Numuneler 7-15 gün süreyle 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik koşullarda yaşayan bazı

bakteriler arginine'i ornithine dönüştürür. Bu dönüşüm esnasında karbondioksit ve NH_3 olmak üzere iki yan ürün oluşurki arginine'in dihidrolaz olup olmadığı da bu yan ürünlerden anlaşılır. Mikroorganizmaların bu özelliğini belirlemek için yapılan bu testte, pembemsi kırmızı renk oluşumu arginin pozitif, normal renk olan ten rengi (açık pembe) ise arginin negatif olarak değerlendirilmiştir (Thornley 1960).

Nitrat üretimi testi

Nitrifikasyon yapabilen bakteriler nitrat içeren bir besi yerinde ortamdaki nitrattan faydalanarak gelişirken, anaerobik bir ortamda nitrifikasyon yapamayanlar ise gelişmemektedir (Fahy and Hayward 1983). NA'da geliştirilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen steril çubuk öze ile tek bir koloni alınarak, nitrat besi yeri içeren tüplere saplama ekim yapılmış, üzerine 1 ml otoklav edilerek sıcaklığı 50°C'ye düşürülmüş %3'lük su agarı dökülmüştür. Sonra 25°C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik olan bu ortamda nitrifikasyon yapabilen bakterilerin ortamdaki nitrattan faydalanarak gelişmeleri pozitif, gelişemeyenler ise negatif olarak değerlendirilmiştir.

Amilaz testi

Amilaz testi nişasta molekülünü parçalayarak biyolojik enerjiye dönüştürmede görev yapan amilaz enziminin var olup olmadığını test etmek için kullanılmaktadır. NA'da geliştirilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen steril öze ile tek bir koloni alınarak standart bir besi ortamı (NA) içerisine %1 nişasta katılarak hazırlanan besiyerine nokta veya çizgi ekim yapılmış ve 2-7 günlük bir inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sırasında bakteri kolonisinin etrafında görülen renk açıklığı veya hale amilaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. Sonuç çıplak gözle fark edilemediğinde lugol solüsyonundan (1g iyot, 2g KCl, 100 ml dH_2O) 5 ml petrilere dökülmüş ve mavi renk oluşumu negatif, renk oluşmayan ekim çizgileri etrafındaki açık hale ise pozitif olarak değerlendirilmiştir (Saygılı 1995).

3.2.5. Bakterilerin azotsuz (N-Free) kültür ortamında geliştirilmesi

NA'da 24 sa geliştirilen bakteri kültürleri, steril öze yardımı ile N-free (azotsuz) kültür ortamına ekilmiş ve 4 gün süre ile 25-27ºC sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Besiyerinde gelişim gösteren bakterilerin azot fiske etme yetenekleri pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.6. Bakterilerin NBRIP-BPB besiyerinde geliştirilmesi

NA'da 24 sa geliştirilen bakteri kültürleri sdH_2O içinde süspanse edilmiş ve yoğunlukları 10^8 hücre/ml olarak ayarlanmıştır. Her bir süspansiyon içinde 5 ml NBRIP-BPB bulunan tüplere inokule edilmiştir. 15 günlük inkübasyon periyodundan sonra besiyerinde renk açılması gösteren bakterilerin fosfatı çözme yetenekleri pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.7. Bakterilerin çözebildiği fosfat miktarının belirlenmesi

NA'da geliştirilen 24 sa'lik bakteri kültürleri sdH_2O içinde süspanse edilmiş ve yoğunlukları 10^8 hücre/mlolarak ayarlanmıştır. Bakteri süspansiyonları içinde NBRIP besiyeri (Metha and Nautiyal 2001) bulunan erlenlere inokule edilmiş 1 hafta 90 rpm' de dönen çalkalayıcıda 25±2ºC'de geliştirilmiştir. Daha sonra 10.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatanttan 1 mI alınmış ve farklı bir tüpe aktarılmıştır. Süpernatant üzerine 5 mI dH_2O ve 1 mI Barton Mixed reagent eklenmiş ve 30 dk karanlık ortamda inkübe edilmiştir (Yıldız 2007). Çözeltilerin absorbansları 400 nm'de ölçülmüştür (Barton 1948). Elde edilen değerler 0, 25, 50, 100 µg/mI konsantrasyonda hazırlanan standart fosfor çözeltilerin absorbans okumasından elde edilen değerlerle karşılaştırılarak yorumlanmıştır (Yıldız 2007). Bunun için standart çözeltilerin absorbans değerlerinden bir regresyon eğrisi oluşturulmuş ve hesaplamalar bu doğrunun eğimi kullanılarak yapılmıştır.

3.2.8. Potansiyel biyoajanların in-vivo testlerde patojene karşı etkinliğinin test edilmesi

Çalışmada kullanılan saprofitik bakteri strainlerinin patojene karşı biyoajan olarak kullanılabilirliğini test etmek için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Öncelikle patojen bakteri sdH_2O içinde süspanse edilmiş ve yoğunluğu 10^8 hücre/ml olarak ayarlanmıştır. Ardından süspansiyondan 100 µl alınarak TSA besiyerine aktarıldıktan sonra cam bagetle besiyeri yüzeyine homojen bir şekilde yayılmıştır. Potansiyel biyoajan bakterilerden her biri sdH_2O içinde süspanse edilmiş ve yoğunlukları 10^8 hücre/ml olarak ayarlanmıştır. Bu aşamadan sonra süspansiyonlar üç uygulamaya tabi tutulmuştur. İlk uygulamada süspansiyonlar 121ºC'de 15 dakika otoklav edilmiş, ikinci uygulamada süspansiyonlar 45 µm'lik mebran filtreden (Syringe Driven Filter Unit MILLEX®-HA) süzülmüş, üçüncü uygulamada ise süspansiyonlar direkt olarak kullanılmıştır. Bu süspansiyonlardan disklere 10 µl emdirilerek diskler patojen çizili besiyerlerinin tam ortasına yerleştirilmiştir. Kültürler 25°C'de inkübasyona bırakılmış ve 24 sa sonra disk etrafında oluşan inhibisyon zonları ile hiperparazitik etkiler kaydedilmiştir. Bu işlem her biyoajan bakteri için 3 kez tekrar edilmiştir. Etkili olduğu gözlemlenen strainler tohum dezenfeksiyon çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2.9. Tohum dezenfeksiyon çalışmaları

Bu çalışmalar için in-vivo testlerde patojene karşı etkili olduğu belirlenen bakteri strainleri kullanılmıştır. Öncelikle marul tohumları dezenfekte edilmiştir. Bu işlem için %95'lik etil alkol içinde 5 dk bekletilen tohumlar sdH_2O ile yıkanarak süzülmüş, daha sonra %5'lik NaOCl içinde 5 dk bekletilmiş, ardından sdH_2O ile yıkanarak süzülmüş ve kurumaya bırakılmıştır. Patojen bakteri cam tüpler içinde hazırlanan TSB besiyerine aşılanmış ve yoğunluğu 10^8 hücre/ml olarak ayarlanmıştır. Kontrol olarak patojen ihtiva etmeyen TSB besiyeri kullanılmıştır. Steril edilmiş tohumlar besiyerleri içine bırakılarak hematolojik çalkalayıcıda 1 sa boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra seçilen biyoajan bakterilerin her biri hazırlanan 2 adet (kontrol ve patojen) TSB besiyerine aşılanmış ve yoğunlukları 10^8 hücre/ml olarak ayarlanmıştır. Ardından

önceden potojen ve kontrol olarak inkübe edilen tohumlar süzülmüş ve her biyoajan bakterinin aşılanmış olduğu 2 adet (kontrol ve patojen) TSB besiyeri içine alınmış ve hematolojik çalkalayıcıda 1 sa inkübasyonları sağlandıktan sonra tohumlar süzülerek kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan tohumlar için üç farklı işlem uygulanmıştır. Öncelikle, bir ELISA plate üzerindeki kutucuklara TSB besiyeri koyulmuş ve her kutucuğa iki farklı uygulamadan geçmiş tohumlardan 1'er adet bırakılarak 25±2ºC'de 24 sa inkübasyonları sağlanmıştır. İnkübasyon periyodunun ardından tohumların 3 tekerrürlü olarak bırakıldığı TSB besiyerlerinden, öze yardımı ile TSA besiyerine ekim yapılmıştır. 24 sa'lik inkübasyon periyodunun ardından besiyeri üzerinde gelişen bakteri popülasyonu kontrol edilmiştir. Aynı zamanda tohumlardan hazırlanan tüm sertler çimlenme yetenekleri bakımından da test edilmiştir. İçlerine nemlendirilmiş kurutma kağıtları bırakılan petrilerden her birine 20 adet tohum atılmış, 1 hafta süre ile çimlenen tohum sayıları kaydedilerek uygulamaların çimlenme üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın 12. gününde kotrol ve biyoajan uygulamalrı için çimlenen ve sağlıklı bitki sayıları değerlendirilmiştir. Solgunluk gösteren bitkiler sağlıksız olarak kabul edilmiştir. Patojen ve biyoajan uygulamalarında ise çimlenen ve hastalıklı tohum sayıları değerlendirilmiştir. Benek, solgunluk, çürüme gibi simptom gösteren bitkiler hasta olarak kabul edilmiştir.

3.2.10. Sera çalışmaları

Sera çalışmaları; %70 nem ve 18-20ºC sıcaklıkta, 12 sa gece-gündüz olarak aydınlatılan bitki büyütme kabinlerinde iki farklı deneme ile yürütülmüştür.

Birinci deneme, bakterilerin PGPR etkinliklerini test etmek amacıyla, laboratuar testlerinde azotsuz besiyerinde gelişebilen ve fosfat çözme yeteneği en fazla olan 11 bakteri straini (KBA-2, KBA-8, KBA-10, RK-32, RK-72, RK-77, RK-92, RK-126, RK-134, RK-198, RK-205) ve bunlardan bazılarının kombinasyonları (RK-126 + KBA-2, RK-126 + KBA-10, RK-134 + KBA-2, RK-134 + KBA-10) ile kurulmuştur. Denemede kontrol olarak uygulama yapılmamış bir hat ve gübre uygulaması yapılmış hatlar (azot uygulamasında saksı başına 107 mg üre, fosfat uygulamasında saksı başına 91 mg TSP

ve azot-fosfat uygulamasında saksı başına 107 mg üre + 97 mg TSP) kullanılmıştır. Tohumdan geliştirilen marul fideleri 2 haftalık olunca kalite olarak zayıf toprak dolu saksılara şaşırtılmış, 3. hafta sonunda seçilen bakteriler ve bakteri kombinasyonları 10^8 hücre/ml konsantrasyonda bitki başına 1 mI olacak şekilde steril enjektör yardımı ile bitkilerin rizosferine verilmiştir. Aynı uygulama gelişimin 5. haftasında da tekrarlanmıştır. Bitkiler gelişimlerinin 9. haftası sonunda sökülerek yaprak sayıları, kök uzunlukları, kök ağırlıkları, gövde ağırlıkları ve toplam ağırlıkları ölçülmüştür. Elde edilen değerler SPSS istatistik programı kullanılarak Duncan testine göre analiz edilmiştir. Deneme 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

İkinci denemede ise; PGPR uygulamalarının hastalık üzerine etkileri araştırılmıştır. Bunun için kullanılan tüm PGPR izolatları TSB sıvı besiyerine aşılanmış ve yatay çalkalayıcıda 1 gece geliştirilerek yoğunlukları 10^8 hücre/ml olarak ayarlanmıştır. Daha sonra yapışmayı kolaylaştırmak amacı ile tüm besiyerlerine sukroz (0,01 g / ml) ilave edilmiş ve marul fidelerinin kökleri besiyerine daldırılarak 15 dk bekletilmiştir. Ardından fideler daha önceden steril edilmiş toprakla dolu pet bardaklara şaşırtılmış ve son aşamada patojen sprey yöntemi ile bitkilere inokle edilmiş ve hastalık gelişimi gözlemlenerek 1-5 skalasına göre (1: sağlıklı bitki, 2: yapraklarının %25'inde simptom, 3: yaprakların %50'sinde simptom, 4: yaprakların %75'inde simptom, 5: yaprakların tamamında simptom) değerlendirilmiştir. Kontrol olarak kökleri bakteri içermeyen TSB besiyerinde bekletilmiş fideler kullanılmıştır. Deneme 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

3.2.11. Sonuçların analiz edilmesi

Tohum dezenfeksiyonu ve sera çalışmalarından elde edilen sonuçlar SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Version 9.0)'de analiz edilmis, aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıstır. Uygulamalar arasındaki farklıgının önem derecesini belirlemek için Duncan testi yapılmıstır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bakteriyel Strainlerin MIS ve Biolog Tanı Sonuçları

Bu çalışmada kullanılan toplam 40 PGPR ve biyoajan bakteri strainin MIS tanı sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Buna göre 33 strain *Pantoea agglomerans,* 2 strain *Bacillus subtilis,* 2 strain *Bacillus atrophaeus,* 1 strain *Bacillus cereus* ve 1strain *Paenibacillus polymyxa* olarak tanılanmıştır. En düşük tanılama oranı %40 iken en yüksek tanılama oaranının %94 olduğu görülmüştür. Biolog sistemi ile metabolik enzim profillerine göre değerlendirilen strainlerden 28'i *Pantoea agglomerans,* 3'ü *Raoultella terrigena,* 2'si *Bacillus amyloliqufaciens,* 2'*si Bacillus subtilis,*1'i *Escherichia vulneris,* 1'i *Enterobacter sakazakii, ,* 1'i *Bacillus cereus, ,* 1'i *Bacillus licheniformis ve* 1'i *de Paenibacillus polymyxa* olarak tanılanmıştır. En yüksek tanılama oranı %71 iken en düşük tanılama oranı %16 olarak kaydedilmiştir.

4.2. Bakteriyel Strainlerin Yağ Asidi Metil Esterleri

Stainlerin ihtiva ettiği yağ asidi çeşidi ve bulunma oranları Çizelge 4.2'de, SPSS istatistik analizinden elde edilen dendogram ise Çizelge 4.3'te verilmiştir. Buna göre *Bacillus* strainlerinde temel olarak bulunan yağ asitleri 15:0 iso ve 15:0 anteiso yağ asitleri olmuştur. Strainlere göre oranları değişiklik göstermekle birlikte 16:0 yağ asidi de tüm *Bacillus* strainlerinde bulunurken, 16:0 iso, 17:0 iso ve 17:0 anteiso yağasitlerinin bulunuşu strainlere göre farklılık göstemiştir. 16:0 iso yağ asidi; KBA-2, KBA-4, KBA-5, KBA-6 ve KBA-10 strainlerinde bulunurken KBA-1 ve KBA-7 strainlerinde rastlanmamıştır. Gene 17:0 anteiso yağ asidine KBA-7 straninde, 17:0 iso yağ asidine ise KBA-2 strainide rastlanmamıştır.

P. agglomerans strainleri için temel yağ asitlerinin 16:0, 16:1 w 7c ve 18:1 w 7c olduğu gözlemlenmiştir. Yine 12:0, 12:0 Aldeheyde ve 14:0 yağ asitlerine de tüm *P.agglomerans* strainlerinde rastlanmıştır. Bununla birlikte *P. agglomerans* strainleri

arasındaki varyasyonun fazla olduğu ve farklı yağ asitlerini ihtiva edebildikleri görülmüştür.

Yağ asidi metil esterlerinin analizinden elde edilen dendogram sonucuna göre bakteri strainleri 2 ana gruba ayrılmıştır. Buna göre B. cereus KBA-7 straini 2. ana grupta yer alırken diğer tüm strainler 1. ana grupta yer almıştır. 1. Ana grup ise kendi arasında iki farklı alt gruba ayrılmış olup, bu durum cins düzeyindeki farklılıkları ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.1. Bakteriyel strainlerin MIS ve biolog tanı sonuçları

Strain no	MIS tanı sonuçları	MIS %	Biolog tanı sonuçları	Biolog %	Konukçu	Lokasyon	Yıl
KBA-1	*Bacillus subtilis*	40	*Bacillus amyloliquefaciens*	53	Kaysı	Erzincan	2009
KBA-2	*Paenibacillus polymyxa*	56	*Paenibacillus polymyxa*	78	Kaysı	Erzincan	2009
KBA-4	*Bacillus subtilis*	53	*Bacillus subtilis*	22	Kaysı	Erzincan	2009
KBA-5	*Bacillus atrophaeus*	50	*Bacillus licheniformis*	23	Kaysı	Erzincan	2009
KBA-6	*Bacillus atrophaeus*	48	*Bacillus subtilis*	24	Kaysı	Erzincan	2009
KBA-7	*Bacillus cereus*	40	*Bacillus cereus*	71	Kaysı	Erzincan	2009
KBA-8	*Pantoea agglomerans*	72	*Pantoea agglomerans*	57	Kaysı	Erzincan	2009
KBA-9	*Pantoea agglomerans*	68	*Pantoea agglomerans*	53	Kaysı	Erzincan	2009
KBA-10	*Bacillus megaterium*	49	*Bacillus amyloliquefaciens*	16	Kaysı	Erzincan	2009
RK-32	*Pantoea agglomerans*	83	*Pantoea agglomerans*	53	Kiraz	Erzincan	1999
RK-44	*Pantoea agglomerans*	80	*Pantoea agglomerans*	16	Şeftali	Erzurum	1999
RK-59	*Pantoea agglomerans*	42	*Pantoea agglomerans*	40	Dut	Erzurum	1999
RK-72	*Pantoea agglomerans*	75	*Pantoea agglomerans*	32	Vişne	Erzurum	2000
RK-77	*Pantoea agglomerans*	83	*Pantoea agglomerans*	45	Vişne	Erzurum	2000
RK-79	*Pantoea agglomerans*	76	*Pantoea agglomerans*	55	Elma	Erzurum	2000
RK-80	*Pantoea agglomerans*	76	*Pantoea agglomerans*	56	Elma	Erzurum	2000
RK-83	*Pantoea agglomerans*	73	*Pantoea agglomerans*	60	Kiraz	Erzurum	2000
RK-84	*Pantoea agglomerans*	71	*Pantoea agglomerans*	56	Elma	Erzurum	2000
RK-85	*Pantoea agglomerans*	85	*Pantoea agglomerans*	71	Elma	Erzurum	2000
RK-87	*Pantoea agglomerans*	86	*Enterobacter asburiae*	16	Armut	Erzurum	2000
RK-92	*Pantoea agglomerans*	88	*Pantoea agglomerans*	58	Armut	Erzurum	2000
RK-93	*Pantoea agglomerans*	88	*Pantoea agglomerans*	62	Kaysı	Erzurum	2000

Çizelge 4.1 (devam)

Strain no	MIS tanı sonuçları	MIS %	Biolog tanı sonuçları	Biolog %	Konukçu	Lokasyon	Yıl
RK-94	*Pantoea agglomerans*	87	*Raoultella terrigena*	43	Elma	Erzurum	2000
RK-97	*Pantoea agglomerans*	63	*Pantoea agglomerans*	61	Kiraz	Erzurum	2000
RK-100	*Pantoea agglomerans*	88	*Pantoea agglomerans*	44	Elma	Erzurum	2000
RK-113	*Pantoea agglomerans*	40	*Pantoea agglomerans*	47	Elma	Erzurum	2000
RK-117	*Pantoea agglomerans*	38	*Pantoea agglomerans*	48	Kiraz	Artvin	2000
RK-118	*Pantoea agglomerans*	87	*Enterobacter sakazakii*	28	Kiraz	Artvin	2000
RK-120	*Pantoea agglomerans*	83	*Pantoea agglomerans*	56	Dut	Artvin	2000
RK-122	*Pantoea agglomerans*	46	*Raoultella terrigena*	32	Armut	Erzurum	2000
RK-126	*Pantoea agglomerans*	53	*Raoultella terrigena*	16	Ayva	Erzurum	2000
RK-134	*Pantoea agglomerans*	34	*Escherichia vulneris*	34	Elma	Erzurum	2000
RK-138	*Pantoea agglomerans*	85	*Pantoea agglomerans*	40	Elma	Erzurum	2000
RK-139	*Pantoea agglomerans*	47	*Pantoea agglomerans*	51	Dut	Artvin	2000
RK-160	*Pantoea agglomerans*	51	*Pantoea agglomerans*	35	Elma	Erzurum	2000
RK-169	*Pantoea agglomerans*	78	*Pantoea agglomerans*	35	Elma	Kars	2000
RK-196	*Pantoea agglomerans*	65	*Pantoea agglomerans*	43	Elma	Iğdır	2001
RK-198	*Pantoea agglomerans*	77	*Pantoea agglomerans*	79	Armut	Erzurum	2001
RK-205	*Pantoea agglomerans*	67	*Pantoea agglomerans*	60	Elma	Erzurum	2001
RK-441	*Pantoea agglomerans*	94	*Pantoea agglomerans*	51	Domates	Niğde	1999

* MIS %: MIS tanılama yüzdesi; Biolog %: biolog tanılama yüzdesi

Çizelge 4.2. Bakterilerin içerdikleri yağ asidi metil esterleri (FAME) çeşidi ve strainlerde bulunma oranı (%)

FAME	KBA-1	KBA-4	KBA-2	KBA-5	KBA-6	KBA-7	KBA-10
13:0 iso						15,00	
14:0 iso			3,02	0,92		7,80	
14:0			1,76			7,92	
15:0 iso	33,51	17,73	3,25	25,17	23,99	37,86	39,80
15:0 anteiso	42,82	47,89	67,06	49,41	49,22	8,10	47,48
16:0 iso		2,00	10,74	2,49	1,72		1,82
16:1 w 7c						11,64	
16:0	7,39	2,77	7,13	1,75	2,10	5,36	1,27
17:0 iso	8,45	12,96		7,83	9,54	6,31	2,99
17:0 anteiso	7,43	16,65	7,04	11,16	13,43		6,64
Bilinmeyen	0,04			1,27			

* KBA-1 ve KBA-4: *B. subtilis*; KBA-2: *P. polymyxa*; KBA-5 ve KBA-6: *B. atrophaeus*; KBA-7: *B. cereus*, KBA-10: *B. megaterium.*

Çizelge 4.2 (devam)

FAME	KBA-8	KBA-9	RK-32	RK-44	RK-59	RK-72	RK-77	RK-79	RK-80	RK-83	RK-84
12:0	4,69	5,53	2,66	3,15	2,93	2,92	3,41	2,52	2,92	2,95	2,83
12:0 alde	7,45	7,51	7,29	8,46	7,05	8,92	9,46	8,67	8,68	7,58	9,04
14:0	6,35	7,76	5,42	4,79	4,33	4,78	5,52	4,83	4,73	5,14	5,13
15:0			0,49	0,42		0,28		0,36	0,36		0,29
16:1 w 7c	34,64	32,74	32,13	29,66	30,98	33,00	32,35	33,60	33,24	34,25	34,68
16:0	31,48	30,41	28,09	29,23	28,36	28,97	30,07	29,43	29,60	29,88	30,59
17:0			0,37	0,45				0,27	0,41	0,08	
17:0 cyclo	5,14	7,33	6,79	6,27	5,19	4,26	4,47	4,05	3,86	3,38	3,05
18:1 w7c	10,24	8,72	14,97	16,17	15,32	15,13	13,43	14,69	14,65	13,92	13,07
18:0			0,29	0,40	0,45	0,29					0,22
19:0 10 Methyl					4,64					1,17	
Bilinmeyen			1,50	1,00	0,75	1,45	1,29	1,58	1,55	0,98	1,10

* KBA-8, KBA-9, RK-32, RK-44, RK-59, RK-72, RK-77, RK-79, RK-80, RK-83 ve RK-84: *P. agglomerans*

Çizelge 4.2 (devam)

FAME	RK-85	RK-87	RK-92	RK-93	RK-94	RK-97	RK-100	RK-113	RK-117	RK-118	RK-120
12:0	2,61	2,48	3,13	2,88	3,11	2,68	2,84	2,92	2,70	3,64	2,70
12:0 alde	7,69	7,83	8,86	8,28	8,92	9,48	8,53	6,32	6,57	7,58	7,84
14:0	4,97	5,05	5,26	5,16	5,20	4,70	5,15	4,70	4,78	5,45	5,25
15:0	0,22	0,21	0,38	0,27	0,32	0,28	0,26	0,26		0,25	0,26
16:1 w 7c	34,10	33,33	31,74	33,12	31,90	34,46	33,23	32,50	34,30	30,72	32,95
16:0	29,43	29,87	31,27	31,00	31,14	28,65	30,22	28,20	29,42	30,26	30,64
17:0	0,20		0,20	0,15	0,23		0,17			0,22	0,14
17:0 cyclo	5,06	5,25	5,29	4,75	4,91	3,30	4,72	4,35	3,62	5,88	5,46
18:1 w7c	14,39	13,60	12,50	13,05	12,95	14,82	13,62	12,63	13,78	13,04	11,93
18:0	0,39	0,93	0,27	0,29	0,26	0,31	0,27	0,25	0,34	1,08	0,46
19:0 10 Methyl		0,55						7,51	4,12	0,77	0,87
Bilinmeyen	0,94	0,92	1,10	1,05	1,06	1,32	0,99	0,36	0,35	1,11	1,5

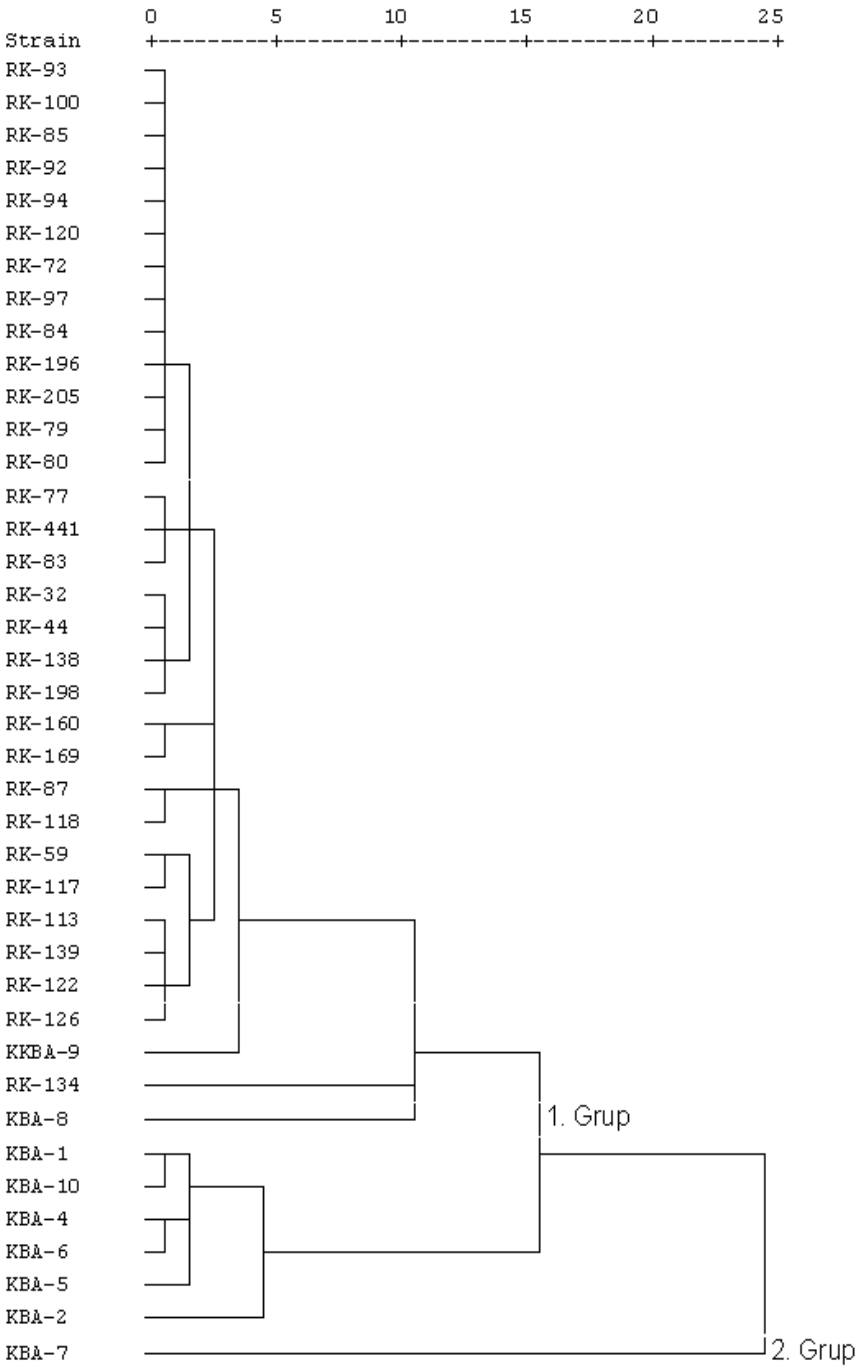
* RK-85, RK-87, RK-92, RK-93, RK-94, RK-97, RK-100, RK-113, RK-117, RK-118 ve RK-120: *P. agglomerans*

Çizelge 4.2 (devam)

FAME	RK-122	RK-126	RK-134	RK-138	RK-139	RK-160	RK-169	RK-196	RK-198	RK-205	RK-441
12:0	2,78	3,31	7,00	3,16	2,94	3,15	2,76	3,59	3,10	3,38	2,68
12:0 alde	6,53	6,75	6,10	7,90	6,60	5,77	8,51	7,85	7,97	7,62	8,53
14:0	4,77	5,18	0,64	4,88	4,70	5,29	5,32	5,10	4,89	5,21	5,40
15:0	0,33	0,37	0,34	0,45	0,25	0,39	0,20	0,16	0,63	0,17	
16:1 w 7c	32,73	33,74	17,71	27,78	33,61	36,13	30,44	34,00	31,52	34,96	31,70
16:0	28,21	28,44	23,23	30,16	28,18	28,85	30,90	28,06	28,40	29,71	30,05
17:0		0,21	1,11	0,55	0,21		0,11	0,15	0,60	0,13	
17:0 cyclo	4,74	6,29	4,04	8,49	4,42	3,80	6,30	3,44	5,32	2,40	6,26
18:1 w7c	13,31	11,97	31,52	14,18	12,42	11,72	11,79	15,21	14,46	14,37	14,49
18:0		0,17	0,65	0,43	0,28	0,49	0,44	0,43	0,44	0,63	
19:0 10 Methyl	6,22	3,11	6,96	1,15	6,01	1,50		0,77	0,94		
Bilinmeyen	0,38	0,46	0,7	0,87	0,38	2,91	3,23	1,24	1,73	1,42	0,89

* RK-122, RK-126, RK-134, RK-138, RK-139, RK-160, RK-169, RK-196, RK-198, RK-205 ve RK-441: *P. agglomerans*

Çizelge 4.3. Test edilen bakterilere ait yağ asiti metil esterleri değerlerinden elde edilen dendogram



4.3. Bakteriyel Strainlerin Kullandıkları Karbon Kaynakları

Gram pozitif bakterilerin kullandığı karbon kaynakları Çizelge 4.4'te, Gram negatif bakterilerin kulladığı karbon kaynakları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Metabolik enzim profillerine göre yapılan SPSS analizinden gram negatif bakteriler için elde edilen dendogram Çizelge 4.6'da, gram pozitif bakteriler için elde edilen dendogram Çizelge 4.7'de verilmiştir. Buna göre *Bacillus* strainlerinin kullandığı karbon kaynağı sayısı 28 ila 48 arasında değişiklik gösterirken, *P. agglomerans* strainlerinin kullandığı karbon kaynağı sayısı 50 ila 74 arasında değişkenlik göstermilştir. Dendogram sonucuna göre hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakteri strainleri 2 ana gruba ayrılmıştır. Aynı türün farklı strainlerinin kullandıkları karbon kaynakları arasında önemli değişkenliklerin olduğu görülmüş ve bu değişkenlikler, elde edilen dendogramda aynı türün farklı strainlerinin farklı gruplarda yer alabileceğini göstermiştir. Hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilerin 1. ana grupta yer alan strainleri de kendi aralarında 2 farklı alt gruba ayrılmıştır. Genellikle aynı türün farklı strainleri, aynı alt gruplarda yer almıştır.

Çizelge 4.4. Gram poziif bakteri strainlerinin kullandığı karbon kaynakları

Karbon kaynağı	**KBA-1**	**KBA-2**	**KBA-4**	**Karbon kaynağı**	**KBA-1**	**KBA-2**	**KBA-4**
Water				D-Tagatose			
α-Cyclodextrin				D-Trehalose	+	+	+
β- Cyclodextrin	+	+		Turanose			+
Dextrin		+	+	Xylitol			
Glycogen		+		D-Xylose		+	
Inulin		Z+		Acetic Acid			
Manan				α-Hydroxy Butyric Acid			
Twen 40	+			β-Hydroxy Butyric Acid			
Twen 80				γ-Hydroxy Butyric Acid			
N-Acetyl-D-Glucosamine	+		+	p-Hydroxy-Phenly Acetic Acid			
N-Acetyl-D-Mannosamine	Z+		Z+	α-Keto Glutaric Acid			
Amygdalin	+		Z+	α-Keto Valeric Acid,			
L-Arabinose			Z+	Lactamide			
D-Arabitol				D-Lactic Acid Methyl Ester			
Arbutin		+	+	D-Lactic Acid			+
D-Cellobiose	+	+	Z+	D-Malic Acid			
D-Fructose	+	+	+	L-Malic Acid			+
L-Fucose				Methyl Pyruvate	+		+
D-Galactose		+	Z+	Mono-methyl Succinate			
D-Galacturonic Acid				Propionic Acid			
Gentiobiose	+		+	Pyruvic Acid	+		+
D-Gluconic Acid		+	+	Succinamic Acid			
α-D-Glucose	+	+	+	Succinic Acid			Z+
m-Inositol				N-Acetyl-L-Glutamic Acid			
α-D-Lactose		+		L-Alaninamide			
Lactulose		+		D-Alanine	+		Z+
Maltose	+	+	+	L-Alanine	+		+
Maltotriose	+	+	Z+	L-Alanyl-glycine			
D-Mannitol	+	+	+	L-Asparagine	+		Z+
D-Mannose	+	+	+	L-Glutamic Acid	+		Z+
D-Melezitose				Glycyl-L-Glutamic Acid			
D-Melibiose		+		L-Pyroglutamic Acid	Z+		
α -Methyl-D-Galactoside				L-Serine	+		Z+
β-Methyl-D-Galactoside		+		Putrescine			
3-Methyl Glucose	+	+	+	2,3-Butanediol			
α –Methyl-D-Glucoside	+		+	Glycerol	+	+	+
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Adenosine	+		+
α –Methyl-D-Mannoside				2'-Deoxy Adenosine	+		+
Palatinose			+	Inosine	+		+
D-Psicose	+		+	Thymidine	+		+
D-Raffinose		+		Uridine	+		+
L-Rhamnose				Adenosine-5'-Monophosphate			
D-Ribose		+		Thymidine–5'-Monophosphate			
Salicin		+	+	Uridine-5'-Monophosphate			
Sedoheptulosan				Fructose-6-Phasphate			
D-Sorbitol	+		+	Glucose-1-Phosphate			
Stachyose		+		Glucose-6- Phosphate			
Sucrose	+	+	+	D-L-α-Glycerol Phosphate	+		+

* KBA-1ve K BA-4: *B. subtilis*,K BA-2:*P. polymyxa*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.4. (devam)

Karbon kaynağı	KBA-5	KBA-6	KBA-7	Karbon kaynağı	KBA-5	KBA-6	KBA-7
Water				D-Tagatose			
α-Cyclodextrin	+	+		D-Trehalose	+	+	+
β- Cyclodextrin	+	+		Turanose	+	+	
Dextrin	+	+	+	Xylitol		Z+	
Glycogen	+	+		D-Xylose			Z+
Inulin				Acetic Acid			
Manan				α-Hydroxy Butyric Acid			
Twen 40	Z+	Z+	+	β-Hydroxy Butyric Acid			
Twen 80		+	+	γ-Hydroxy Butyric Acid			
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	+		p-Hydroxy-Phenly Acetic Acid			
N-Acetyl-D-Mannosamine				α-Keto Glutaric Acid		Z+	
Amygdalin	Z+	+		α-Keto Valeric Acid,		+	+
L-Arabinose	Z+		Z+	Lactamide		Z+	
D-Arabitol				D-Lactic Acid Methyl Ester			
Arbutin	+	+		D-Lactic Acid		+	
D-Cellobiose	+	+	+	D-Malic Acid			
D-Fructose	+	+		L-Malic Acid	+		
L-Fucose				Methyl Pyruvate	+	+	
D-Galactose	Z+	+		Mono-methyl Succinate			
D-Galacturonic Acid				Propionic Acid			
Gentiobiose	+	+		Pyruvic Acid	+	+	+
D-Gluconic Acid	+	+		Succinamic Acid			
α-D-Glucose	+	+	+	Succinic Acid			
m-Inositol				N-Acetyl-L-Glutamic Acid			
α-D-Lactose				L-Alaninamide			
Lactulose				D-Alanine			
Maltose	+	+	+	L-Alanine			+
Maltotriose	+	+	+	L-Alanyl-glycine			+
D-Mannitol		+		L-Asparagine		+	+
D-Mannose		+		L-Glutamic Acid	+	+	
D-Melezitose				Glycyl-L-Glutamic Acid			
D-Melibiose				L-Pyroglutamic Acid		Z+	
α -Methyl-D-Galactoside				L-Serine		+	+
β-Methyl-D-Galactoside				Putrescine	Z+		
3-Methyl Glucose		+		2,3-Butanediol	+	+	
α –Methyl-D-Glucoside		+		Glycerol	+	+	+
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	Z+	Adenosine	+	+	+
α –Methyl-D-Mannoside				2'-Deoxy Adenosine	+		+
Palatinose	+	+		Inosine	+	+	+
D-Psicose	+	+		Thymidine	+	+	+
D-Raffinose				Uridine	+	+	+
L-Rhamnose				Adenosine-5'-Monophosphate			+
D-Ribose				Thymidine–5'-Monophosphate		+	+
Salicin	+	+		Uridine-5'-Monophosphate			+
Sedoheptulosan				Fructose-6-Phasphate			
D-Sorbitol	+	+		Glucose-1-Phosphate			
Stachyose				Glucose-6- Phosphate			
Sucrose	+	+	+	D-L-α-Glycerol Phosphate	+	+	+

* KBA-5 ve KBA-6: *B. atrophaeus,* KBA-7: *B. cereus*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.4. (devam)

Karbon kaynağı	**KBA-10**	**Karbon kaynağı**	**KBA-10**
Water		D-Tagatose	
α-Cyclodextrin		D-Trehalose	+
β- Cyclodextrin		Turanose	+
Dextrin		Xylitol	
Glycogen		D-Xylose	
Inulin		Acetic Acid	
Manan		α-Hydroxy Butyric Acid	
Twen 40	+	β-Hydroxy Butyric Acid	
Twen 80	+	γ-Hydroxy Butyric Acid	
N-Acetyl-D-Glucosamine		p-Hydroxy-Phenly Acetic Acid	
N-Acetyl-D-Mannosamine	Z+	α-Keto Glutaric Acid	
Amygdalin	+	α-Keto Valeric Acid,	
L-Arabinose		Lactamide	
D-Arabitol		D-Lactic Acid Methyl Ester	
Arbutin	+	D-Lactic Acid	
D-Cellobiose	+	D-Malic Acid	
D-Fructose	+	L-Malic Acid	+
L-Fucose		Methyl Pyruvate	+
D-Galactose		Mono-methyl Succinate	
D-Galacturonic Acid	Z+	Propionic Acid	
Gentiobiose	+	Pyruvic Acid	+
D-Gluconic Acid		Succinamic Acid	
α-D-Glucose	+	Succinic Acid	
m-Inositol		N-Acetyl-L-Glutamic Acid	
α-D-Lactose		L-Alaninamide	
Lactulose		D-Alanine	
Maltose	+	L-Alanine	
Maltotriose	+	L-Alanyl-glycine	+
D-Mannitol	+	L-Asparagine	+
D-Mannose	+	L-Glutamic Acid	
D-Melezitose		Glycyl-L-Glutamic Acid	
D-Melibiose		L-Pyroglutamic Acid	
α -Methyl-D-Galactoside		L-Serine	+
β-Methyl-D-Galactoside		Putrescine	
3-Methyl Glucose	+	2,3-Butanediol	
α –Methyl-D-Glucoside		Glycerol	+
β-Methyl-D-Glucoside	+	Adenosine	+
α –Methyl-D-Mannoside		2’-Deoxy Adenosine	+
Palatinose		Inosine	+
D-Psicose	+	Thymidine	+
D-Raffinose		Uridine	+
L-Rhamnose		Adenosine-5’-Monophosphate	
D-Ribose	Z+	Thymidine–5’-Monophosphate	
Salicin	+	Uridine-5’-Monophosphate	
Sedoheptulosan		Fructose-6-Phasphate	
D-Sorbitol		Glucose-1-Phosphate	
Stachyose	Z+	Glucose-6- Phosphate	
Sucrose	+	D-L-α-Glycerol Phosphate	

* KBA-10: *B. megaterium*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.5. Gram negatif bakteri strainlerinin kullandığı karbon kaynakları

Karbon kaynağı	**KBA-9**	**RK-32**	**RK-44**	**Karbon kaynağı**	**KBA-9**	**RK-32**	**RK-44**
Water				p-Hydroxy-Phenlyacetic Acid			
α-Cyclodextrin				Itaconic Acid			
Dextrin	+	+	+	α-Keto Butyric Acid			
Glycogen	+	+	+	α-Keto Glutaric Acid			+
Tween 40	+	+	+	α-Keto Valeric Acid			
Tween 80	+	+	+	D,L-Lactic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-galactosamine		+		Malonic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	Propionic Acid			
Adonitol				Quinic Acid	+	+	
L-Arabinose	+	+	+	D-Saccharic Acid	+	+	+
D-Arabitol	+	+	+	Sebacic Acid			
D-Cellobiose	+	+		Succinic Acid	+	+	+
i-Erytritol				Bromo Succinic Acid	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	Succinamic Acid			
L-Fucose			Z+	Glucuronamide	+	+	+
D-Galactose	+	+	+	L-Alaninamide			Z+
Gentiobiose	+	+	+	D-Alanine	+	+	+
α-D-Glucose	+	+	+	L-Alanine	+	+	+
m-Inositol	+	+	+	L-Alanyl-glycine	+	+	+
α-D-Lactose	Z+	+	Z+	L-Asparagine	+	+	+
Lactulose		Z+	Z+	L-Aspartic Acid	+	+	+
Maltose	+	+	+	L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Melibiose	Z+	+		L-Histidine			
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Hydroxy-L-Proline			
D-Psicose	+	+	+	L-Leucine			
D-Raffinose	Z+	+		L-Omithine			
L-Rhamnose	+	+	+	L-Phenylalanine			
D-Sorbitol	+	+	+	L-Proline	+	+	+
Sucrose	+	+	+	L-Pyroglutamic Acid			
D-Trehalose	+	+	+	D-Serine			Z+
Turanose		+		L-Serine	+	+	+
Xylitol				L-Threonine			
Methyl Pyruvate	+	+	+	D,L-Camitine			
Mono- Methyl Succinate	+	+	+	γ-Amino Butyric Acid			
Acetic Acid	+	+	+	Urocanic Acid	Z+	+	
Cis-Aconitic Acid	+	+	+	Inosine	+	+	+
Citric Acid	+	+	+	Uridine		+	+
Formic Acid	+	+	+	Thymidine	+	+	+
D-Galactonic Acid Lactone				Phenylethyl-amine		+	
D-Galacturonic Acid	+	+	+	Putrescine			
D-Gluconic Acid	+	+	+	2-Aminoethanol			
D-Glucosaminic Acid		Z+	Z+	2,3-Butanediol			
D-Glucuronic Acid	+	+		Glycerol	+	+	+
α-Hydroxy Butyric Acid	Z+	+	+	D,L,α-Glycerol Phosphate	+	+	+
β- Hydroxy Butyric Acid			+	Glucose–1 Phosphate	+	+	+
γ-Hydroxy Butyric Acid				Glucose–6 Phosphate	+	+	+

* KBA-9, RK-32 ve RK-44: *P. agglomerans*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.5. (devam)

Karbon kaynağı	**RK-59**	**RK-72**	**RK-77**	**Karbon kaynağı**	**RK-59**	**RK-72**	**RK-77**
Water				p-Hydroxy-Phenlyacetic Acid			
α-Cyclodextrin				Itaconic Acid			
Dextrin	+	+	+	α-Keto Butyric Acid			
Glycogen	Z+	+	+	α-Keto Glutaric Acid	+	+	
Tween 40	+			α-Keto Valeric Acid			
Tween 80	+	+		D,L-Lactic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-galactosamine		Z+		Malonic Acid	Z+	Z+	
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	Propionic Acid			
Adonitol				Quinic Acid	+	+	+
L-Arabinose	+	+	+	D-Saccharic Acid	+	+	+
D-Arabitol	+	+	+	Sebacic Acid			
D-Cellobiose		+		Succinic Acid	+	+	+
i-Erytritol				Bromo Succinic Acid	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	Succinamic Acid			
L-Fucose			+	Glucuronamide	+	+	+
D-Galactose	+	+		L-Alaninamide			
Gentiobiose			+	D-Alanine	+	+	+
α-D-Glucose	+	+	Z+	L-Alanine	+	+	+
m-Inositol	+	+	+	L-Alanyl-glycine	+	+	+
α-D-Lactose				L-Asparagine	+	+	+
Lactulose				L-Aspartic Acid	+	+	+
Maltose		+	+	L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	+	+
D-Mannose	+	+		Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Melibiose				L-Histidine			+
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Hydroxy-L-Proline			
D-Psicose	+	+	+	L-Leucine			
D-Raffinose				L-Omithine			
L-Rhamnose	+	+	+	L-Phenylalanine			
D-Sorbitol	Z+	+	Z+	L-Proline	Z+	Z+	Z+
Sucrose	+	+	+	L-Pyroglutamic Acid			
D-Trehalose	+	+	+	D-Serine	Z+		
Turanose				L-Serine	+	+	+
Xylitol				L-Threonine		Z+	
Methyl Pyruvate	+		+	D,L-Camitine		Z+	
Mono- Methyl Succinate	+	+	+	γ-Amino Butyric Acid		Z+	Z+
Acetic Acid	+	+		Urocanic Acid			Z+
Cis-Aconitic Acid	+	+		Inosine			+
Citric Acid				Uridine			+
Formic Acid	+	+	+	Thymidine	+	+	+
D-Galactonic Acid Lactone				Phenylethyl-amine			
D-Galacturonic Acid	+	+	+	Putrescine			
D-Gluconic Acid	+	+	+	2-Aminoethanol		Z+	
D-Glucosaminic Acid				2,3-Butanediol		Z+	
D-Glucuronic Acid	+	+	+	Glycerol		+	+
α-Hydroxy Butyric Acid			Z+	D,L,α-Glycerol Phosphate	+	+	+
β- Hydroxy Butyric Acid				Glucose–1 Phosphate	+	+	+
γ-Hydroxy Butyric Acid				Glucose–6 Phosphate	+	+	+

* RK-59, RK-72 ve RK-77: *P. agglomerans*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.5. (devam)

Karbon kaynağı	**RK-79**	**RK-80**	**RK-83**	**Karbon kaynağı**	**RK-79**	**RK-80**	**RK-83**
Water				p-Hydroxy-Phenlyacetic Acid			Z+
α-Cyclodextrin				Itaconic Acid			
Dextrin	+	+	+	α-Keto Butyric Acid			
Glycogen	+	+	+	α-Keto Glutaric Acid	+		+
Tween 40	+			α-Keto Valeric Acid			
Tween 80	+	+	+	D,L-Lactic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-galactosamine		Z+	Z+	Malonic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	Propionic Acid			
Adonitol				Quinic Acid	+	+	+
L-Arabinose	+	+	+	D-Saccharic Acid	+	+	+
D-Arabitol		+	+	Sebacic Acid			
D-Cellobiose			+	Succinic Acid	+	+	+
i-Erytritol				Bromo Succinic Acid	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	Succinamic Acid			
L-Fucose			Z+	Glucuronamide	+	+	+
D-Galactose	+	+	+	L-Alaninamide	Z+		
Gentiobiose	+		+	D-Alanine	+	+	+
α-D-Glucose	+	+	+	L-Alanine	+	+	+
m-Inositol	+	+	+	L-Alanyl-glycine	+	+	+
α-D-Lactose				L-Asparagine	+	+	+
Lactulose				L-Aspartic Acid	+	+	+
Maltose	+	+	+	L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Melibiose		Z+		L-Histidine	+	+	
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Hydroxy-L-Proline			
D-Psicose	+	+	+	L-Leucine			
D-Raffinose		+		L-Omithine	Z+	Z+	
L-Rhamnose	+	+	+	L-Phenylalanine			
D-Sorbitol	+	+	+	L-Proline	+	+	+
Sucrose	+	+	+	L-Pyroglutamic Acid			
D-Trehalose	+	+	+	D-Serine	Z+	Z+	Z+
Turanose		+	+	L-Serine	+	+	+
Xylitol				L-Threonine			
Methyl Pyruvate	+	+	+	D,L-Camitine			
Mono- Methyl Succinate	+	+	+	γ-Amino Butyric Acid	Z+	Z+	
Acetic Acid	+	+	+	Urocanic Acid	+	+	+
Cis-Aconitic Acid	+	+	+	Inosine	+	+	+
Citric Acid		+	+	Uridine	+	+	+
Formic Acid	+	+	+	Thymidine	+	+	+
D-Galactonic Acid Lactone				Phenylethyl-amine			
D-Galacturonic Acid	+	+	+	Putrescine			
D-Gluconic Acid	+	+	+	2-Aminoethanol			
D-Glucosaminic Acid				2,3-Butanediol			
D-Glucuronic Acid	+	+	+	Glycerol	+	+	+
α-Hydroxy Butyric Acid	+			D,L,α-Glycerol Phosphate	+	+	+
β- Hydroxy Butyric Acid				Glucose–1 Phosphate	+	+	+
γ-Hydroxy Butyric Acid				Glucose–6 Phosphate	+	+	+

* RK-79, RK-80 ve RK-83: *P. agglomerans*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.5. (devam)

Karbon kaynağı	**RK-84**	**RK-85**	**RK-87**	**Karbon kaynağı**	**RK-84**	**RK-85**	**RK-87**
Water				p-Hydroxy-Phenlyacetic Acid			+
α-Cyclodextrin				Itaconic Acid			
Dextrin	+	+	+	α-Keto Butyric Acid			
Glycogen	+	+	+	α-Keto Glutaric Acid	+		+
Tween 40	+		+	α-Keto Valeric Acid			
Tween 80	+	+	+	D,L-Lactic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-galactosamine			+	Malonic Acid	+	Z+	Z+
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	Propionic Acid			
Adonitol			+	Quinic Acid	+	+	Z+
L-Arabinose	+	+	+	D-Saccharic Acid	+	+	Z+
D-Arabitol		+	+	Sebacic Acid			
D-Cellobiose			+	Succinic Acid	+	+	+
i-Erytritol			Z+	Bromo Succinic Acid	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	Succinamic Acid			+
L-Fucose				Glucuronamide	+	+	+
D-Galactose	+	+	+	L-Alaninamide	Z+	Z+	+
Gentiobiose	+	+	+	D-Alanine	+	+	+
α-D-Glucose	+	+	+	L-Alanine	+	+	+
m-Inositol	+	+	+	L-Alanyl-glycine	+	+	+
α-D-Lactose			+	L-Asparagine	+	+	+
Lactulose			+	L-Aspartic Acid	+	+	+
Maltose	+	+	+	L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Melibiose			+	L-Histidine	+	+	+
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Hydroxy-L-Proline			
D-Psicose	+	+	+	L-Leucine			
D-Raffinose				L-Omithine	Z+		
L-Rhamnose	+	+	Z+	L-Phenylalanine			
D-Sorbitol	+		+	L-Proline	+	Z+	+
Sucrose	+	+	+	L-Pyroglutamic Acid			
D-Trehalose	+	+	+	D-Serine	Z+		+
Turanose			+	L-Serine	+	+	+
Xylitol				L-Threonine			+
Methyl Pyruvate	+	+	+	D,L-Camitine			Z+
Mono- Methyl Succinate	+	+	+	γ-Amino Butyric Acid	Z+		Z+
Acetic Acid	+	+	+	Urocanic Acid	+	Z+	+
Cis-Aconitic Acid	+	+	+	Inosine	+	+	+
Citric Acid				Uridine	+	+	+
Formic Acid	+	+	+	Thymidine	+	+	+
D-Galactonic Acid Lactone				Phenylethyl-amine			
D-Galacturonic Acid	+	+	+	Putrescine			
D-Gluconic Acid	+	+	+	2-Aminoethanol			
D-Glucosaminic Acid				2,3-Butanediol			
D-Glucuronic Acid	+	+	+	Glycerol	+	+	+
α-Hydroxy Butyric Acid	+	Z+	+	D,L,α-Glycerol Phosphate	+	+	+
β- Hydroxy Butyric Acid			+	Glucose–1 Phosphate	+	+	+
γ-Hydroxy Butyric Acid			+	Glucose–6 Phosphate	+	+	+

* RK-84, RK-85 ve RK-87: *P. agglomerans*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.5. (devam)

Karbon kaynağı	**RK-92**	**RK-93**	**RK-94**	**Karbon kaynağı**	**RK-92**	**RK-93**	**RK-94**
Water				p-Hydroxy-Phenlyacetic Acid			
α-Cyclodextrin			+	Itaconic Acid			
Dextrin	+	+	+	α-Keto Butyric Acid			
Glycogen		+	+	α-Keto Glutaric Acid		+	
Tween 40		+	+	α-Keto Valeric Acid			
Tween 80		+	+	D,L-Lactic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-galactosamine		Z+	+	Malonic Acid		Z+	+
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	Propionic Acid			
Adonitol			+	Quinic Acid	+	+	+
L-Arabinose	+	+	+	D-Saccharic Acid	+	+	+
D-Arabitol	+	+	+	Sebacic Acid			
D-Cellobiose		+	+	Succinic Acid	+	+	+
i-Erytritol				Bromo Succinic Acid	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	Succinamic Acid			
L-Fucose			+	Glucuronamide	+	+	+
D-Galactose	+	+	+	L-Alaninamide			+
Gentiobiose	Z+	+	+	D-Alanine	+	+	+
α-D-Glucose	+	+	+	L-Alanine	+	+	+
m-Inositol	+	+	+	L-Alanyl-glycine	+	+	+
α-D-Lactose		Z+	+	L-Asparagine	+	+	+
Lactulose		Z+	+	L-Aspartic Acid	+	+	+
Maltose	+	+	+	L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Melibiose			+	L-Histidine	+		+
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Hydroxy-L-Proline			
D-Psicose	+	+	+	L-Leucine			
D-Raffinose			+	L-Omithine			
L-Rhamnose	+	+	+	L-Phenylalanine			
D-Sorbitol			+	L-Proline	Z+		
Sucrose	+	+	+	L-Pyroglutamic Acid			
D-Trehalose	+	+	+	D-Serine			+
Turanose			+	L-Serine	+	+	+
Xylitol			+	L-Threonine			
Methyl Pyruvate	+	+	+	D,L-Camitine			
Mono- Methyl Succinate	+	+	+	γ-Amino Butyric Acid			
Acetic Acid	+	+	+	Urocanic Acid	Z+	Z+	Z+
Cis-Aconitic Acid	+	+	+	Inosine	+	+	+
Citric Acid	+		+	Uridine	+	+	+
Formic Acid	+	+	+	Thymidine	+	+	+
D-Galactonic Acid Lactone				Phenylethyl-amine			
D-Galacturonic Acid	+	+	+	Putrescine			
D-Gluconic Acid	+	+	+	2-Aminoethanol			
D-Glucosaminic Acid			+	2,3-Butanediol			
D-Glucuronic Acid	+	+	+	Glycerol	+	+	+
α-Hydroxy Butyric Acid			Z+	D,L,α-Glycerol Phosphate	+	+	+
β- Hydroxy Butyric Acid				Glucose–1 Phosphate	+	+	+
γ-Hydroxy Butyric Acid				Glucose–6 Phosphate	+	+	+

* RK-92, RK-93 ve RK-94: *P. agglomerans*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.5. (devam)

Karbon kaynağı	**RK-97**	**RK-100**	**RK-113**	**Karbon kaynağı**	**RK-97**	**RK-100**	**RK-113**
Water				p-Hydroxy-Phenlyacetic Acid			
α-Cyclodextrin				Itaconic Acid			
Dextrin	+	+	+	α-Keto Butyric Acid			
Glycogen	+	+	+	α-Keto Glutaric Acid			+
Tween 40	+	+		α-Keto Valeric Acid			
Tween 80	+	+		D,L-Lactic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-galactosamine		+		Malonic Acid	Z+	+	Z+
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	Propionic Acid			
Adonitol		+		Quinic Acid		+	+
L-Arabinose	+	+	+	D-Saccharic Acid	+	+	+
D-Arabitol	+	+	+	Sebacic Acid			
D-Cellobiose		+		Succinic Acid	+	+	
i-Erytritol				Bromo Succinic Acid	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	Succinamic Acid			
L-Fucose				Glucuronamide	+	+	+
D-Galactose	+	+	+	L-Alaninamide			Z+
Gentiobiose		+	+	D-Alanine	+	+	+
α-D-Glucose	+	+	+	L-Alanine	+	+	+
m-Inositol	+	+	+	L-Alanyl-glycine	+	+	+
α-D-Lactose		+		L-Asparagine	+	+	+
Lactulose				L-Aspartic Acid	+	+	+
Maltose	+	+	+	L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Melibiose	Z+	+		L-Histidine		+	+
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Hydroxy-L-Proline			
D-Psicose	+	+	+	L-Leucine			
D-Raffinose	Z+			L-Omithine			
L-Rhamnose	+	+	+	L-Phenylalanine			
D-Sorbitol	+	+	+	L-Proline	Z+	+	Z+
Sucrose	+	+	+	L-Pyroglutamic Acid			
D-Trehalose	+	+	+	D-Serine	Z+	+	Z+
Turanose	+	+		L-Serine	+	+	+
Xylitol				L-Threonine			
Methyl Pyruvate	+	+	+	D,L-Camitine			
Mono- Methyl Succinate	+	+	+	γ-Amino Butyric Acid			Z+
Acetic Acid	+	+	+	Urocanic Acid	Z+	+	Z+
Cis-Aconitic Acid	+	+	+	Inosine	+	+	+
Citric Acid				Uridine	+	+	+
Formic Acid	+	+	+	Thymidine	+	+	+
D-Galactonic Acid Lactone		Z+		Phenylethyl-amine			
D-Galacturonic Acid	+	+	+	Putrescine			
D-Gluconic Acid	+	+	+	2-Aminoethanol			
D-Glucosaminic Acid		Z+		2,3-Butanediol			
D-Glucuronic Acid	+	+	+	Glycerol	+	+	+
α-Hydroxy Butyric Acid		+		D,L,α-Glycerol Phosphate	+	+	+
β- Hydroxy Butyric Acid				Glucose–1 Phosphate	+	+	+
γ-Hydroxy Butyric Acid				Glucose–6 Phosphate	+	+	+

* RK-97, RK-100 ve RK-113: *P. agglomerans*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.5. (devam)

Karbon kaynağı	**RK-117**	**RK-118**	**RK-120**	**Karbon kaynağı**	**RK-117**	**RK-118**	**RK-120**
Water				p-Hydroxy-Phenlyacetic Acid			
α-Cyclodextrin		+	Z+	Itaconic Acid			
Dextrin	+	+	+	α-Keto Butyric Acid			
Glycogen	+	+	+	α-Keto Glutaric Acid	+		+
Tween 40	+	+	+	α-Keto Valeric Acid			
Tween 80	+	+	+	D,L-Lactic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-galactosamine	+	+	+	Malonic Acid	+	Z+	+
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	Propionic Acid			
Adonitol		+	Z+	Quinic Acid	+		+
L-Arabinose	+	+	+	D-Saccharic Acid	+	Z+	+
D-Arabitol	+	+	+	Sebacic Acid			
D-Cellobiose	+	+	+	Succinic Acid	+	Z+	+
i-Erytritol				Bromo Succinic Acid	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	Succinamic Acid			
L-Fucose	Z+	+		Glucuronamide	+	+	+
D-Galactose	+	+	+	L-Alaninamide	+		
Gentiobiose	+	+	+	D-Alanine	+	+	+
α-D-Glucose	+	+	+	L-Alanine	+	+	+
m-Inositol	+	+	+	L-Alanyl-glycine	+	+	+
α-D-Lactose		+		L-Asparagine	+	+	+
Lactulose	Z+	+		L-Aspartic Acid	+	+	+
Maltose	+	+	+	L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Melibiose	+	+	+	L-Histidine			
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Hydroxy-L-Proline			
D-Psicose	+	+	+	L-Leucine			
D-Raffinose	+	+	+	L-Omithine			
L-Rhamnose	+	+	+	L-Phenylalanine			
D-Sorbitol	+	+	+	L-Proline	+	Z+	+
Sucrose	+	+	+	L-Pyroglutamic Acid			
D-Trehalose	+	+	+	D-Serine			+
Turanose	+	+	+	L-Serine	+	+	+
Xylitol		Z+		L-Threonine			
Methyl Pyruvate	+	+	+	D,L-Camitine			
Mono- Methyl Succinate	+	+	+	γ-Amino Butyric Acid			
Acetic Acid	+	+	+	Urocanic Acid	+	Z+	+
Cis-Aconitic Acid	+	+	+	Inosine	+	+	+
Citric Acid	+	+	+	Uridine	+		+
Formic Acid	+	+	+	Thymidine	+	+	+
D-Galactonic Acid Lactone				Phenylethyl-amine			
D-Galacturonic Acid	+	+	+	Putrescine			
D-Gluconic Acid	+	+	+	2-Aminoethanol			
D-Glucosaminic Acid	Z+	+	Z+	2,3-Butanediol			
D-Glucuronic Acid	+	+	+	Glycerol	+	+	+
α-Hydroxy Butyric Acid	+	+	+	D,L,α-Glycerol Phosphate	+	+	+
β- Hydroxy Butyric Acid				Glucose–1 Phosphate	+	Z+	+
γ-Hydroxy Butyric Acid		Z+		Glucose–6 Phosphate	+	Z+	+

* RK-117, RK-118 ve RK-120: *P. agglomerans*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.5. (devam)

Karbon kaynağı	**RK-122**	**RK-126**	**RK-134**	**Karbon kaynağı**	**RK-122**	**RK-126**	**RK-134**
Water				p-Hydroxy-Phenlyacetic Acid			
α-Cyclodextrin		+		Itaconic Acid			
Dextrin	+	+	+	α-Keto Butyric Acid			Z+
Glycogen	+	+	+	α-Keto Glutaric Acid	Z+	+	Z+
Tween 40	+	+	+	α-Keto Valeric Acid			
Tween 80	+	+	+	D,L-Lactic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-galactosamine	+	+		Malonic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	Propionic Acid			
Adonitol	+	+		Quinic Acid	+	+	
L-Arabinose	+	+	+	D-Saccharic Acid	+	+	+
D-Arabitol	+	+	+	Sebacic Acid			
D-Cellobiose	+	+	+	Succinic Acid	+	+	+
i-Erytritol				Bromo Succinic Acid	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	Succinamic Acid			+
L-Fucose	+	+		Glucuronamide	+	+	+
D-Galactose	+	+	+	L-Alaninamide	+		Z+
Gentiobiose	+	+	+	D-Alanine	+	+	+
α-D-Glucose	+	+	+	L-Alanine	+	+	+
m-Inositol	+	+		L-Alanyl-glycine	+	+	+
α-D-Lactose	+	+	+	L-Asparagine	+	+	+
Lactulose	+	+		L-Aspartic Acid	+	+	+
Maltose	+	+	+	L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Melibiose	+	+	+	L-Histidine		+	
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Hydroxy-L-Proline			
D-Psicose	+	+	+	L-Leucine			
D-Raffinose	+	+	+	L-Omithine			Z+
L-Rhamnose	+	+	+	L-Phenylalanine			
D-Sorbitol	+	+	+	L-Proline	Z+	Z+	Z+
Sucrose	+	+	+	L-Pyroglutamic Acid			
D-Trehalose	+	+	+	D-Serine	+		+
Turanose	+	+	+	L-Serine	+	+	+
Xylitol				L-Threonine			+
Methyl Pyruvate	+	+	+	D,L-Camitine			
Mono- Methyl Succinate	+	+	+	γ-Amino Butyric Acid		Z+	
Acetic Acid	+	+	+	Urocanic Acid	Z+	Z+	
Cis-Aconitic Acid	+	+		Inosine	+	+	+
Citric Acid		+		Uridine	+	+	+
Formic Acid	+	+	+	Thymidine	+		+
D-Galactonic Acid Lactone	+		+	Phenylethyl-amine			
D-Galacturonic Acid	+	+	+	Putrescine			
D-Gluconic Acid	+	+	+	2-Aminoethanol			
D-Glucosaminic Acid	+	+		2,3-Butanediol			
D-Glucuronic Acid	+	+	+	Glycerol	+	+	+
α-Hydroxy Butyric Acid	Z+	Z+	+	D,L,α-Glycerol Phosphate	+	+	+
β- Hydroxy Butyric Acid				Glucose–1 Phosphate	+	+	+
γ-Hydroxy Butyric Acid				Glucose–6 Phosphate	+	+	+

* RK-122, RK-126 ve RK-134: *P. agglomerans*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.5. (devam)

Karbon kaynağı	**RK-138**	**RK-139**	**RK-160**	**Karbon kaynağı**	**RK-138**	**RK-139**	**RK-160**
Water				p-Hydroxy-Phenlyacetic Acid			
α-Cyclodextrin				Itaconic Acid			
Dextrin	+	+	+	α-Keto Butyric Acid			
Glycogen	+	+	+	α-Keto Glutaric Acid			+
Tween 40	+	+		α-Keto Valeric Acid			
Tween 80	+	+		D,L-Lactic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-galactosamine	Z+	Z+		Malonic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	Propionic Acid			Z+
Adonitol		Z+		Quinic Acid	+	+	+
L-Arabinose	+	+	+	D-Saccharic Acid	+	+	+
D-Arabitol	+	+	+	Sebacic Acid			
D-Cellobiose	+	+	+	Succinic Acid	+	+	+
i-Erytritol				Bromo Succinic Acid	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	Succinamic Acid			
L-Fucose			Z+	Glucuronamide	+	+	+
D-Galactose	+	+	+	L-Alaninamide	Z+		Z+
Gentiobiose	+	+	+	D-Alanine	+	+	+
α-D-Glucose	+	+		L-Alanine	+	+	+
m-Inositol	+	+	+	L-Alanyl-glycine	+	+	+
α-D-Lactose	Z+	+		L-Asparagine	+	+	+
Lactulose	Z+	Z+	Z+	L-Aspartic Acid	+	+	+
Maltose		+	+	L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Melibiose	Z+	+	+	L-Histidine		+	+
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Hydroxy-L-Proline			
D-Psicose	+	+	+	L-Leucine			
D-Raffinose			+	L-Omithine			Z+
L-Rhamnose	+	+	+	L-Phenylalanine			
D-Sorbitol	+	+	+	L-Proline	+	+	+
Sucrose	+	+	+	L-Pyroglutamic Acid			
D-Trehalose	+	+	+	D-Serine			+
Turanose	+	+	+	L-Serine	+	+	+
Xylitol				L-Threonine			Z+
Methyl Pyruvate	+	+	+	D,L-Camitine			
Mono- Methyl Succinate	+	+	+	γ-Amino Butyric Acid		Z+	
Acetic Acid	+	+	+	Urocanic Acid	+	+	+
Cis-Aconitic Acid	+	+	+	Inosine	+	+	+
Citric Acid			+	Uridine	+	+	+
Formic Acid	+	+	+	Thymidine	+	+	+
D-Galactonic Acid Lactone				Phenylethyl-amine			
D-Galacturonic Acid	+	+	+	Putrescine			
D-Gluconic Acid	+	+	+	2-Aminoethanol			
D-Glucosaminic Acid		Z+		2,3-Butanediol			
D-Glucuronic Acid	+	+	+	Glycerol	+	+	+
α-Hydroxy Butyric Acid	+	+	+	D,L,α-Glycerol Phosphate	+	+	+
β- Hydroxy Butyric Acid				Glucose–1 Phosphate	+	+	+
γ-Hydroxy Butyric Acid				Glucose–6 Phosphate	+	+	+

* RK-138, RK-139 ve RK-160: *P. agglomerans*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.5. (devam)

Karbon kaynağı	**RK-169**	**RK-196**	**RK-198**	**Karbon kaynağı**	**RK-169**	**RK-196**	**RK-198**
Water				p-Hydroxy-Phenlyacetic Acid			
α-Cyclodextrin	Z+			Itaconic Acid			
Dextrin	+	+	+	α-Keto Butyric Acid			
Glycogen		+	+	α-Keto Glutaric Acid			+
Tween 40		+	+	α-Keto Valeric Acid			
Tween 80		+	+	D,L-Lactic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-galactosamine		Z+		Malonic Acid	Z+	+	+
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	Propionic Acid			
Adonitol				Quinic Acid	+	+	+
L-Arabinose	+	+	+	D-Saccharic Acid	+	+	+
D-Arabitol		+	+	Sebacic Acid			
D-Cellobiose		+	+	Succinic Acid	+	+	
i-Erytritol				Bromo Succinic Acid	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	Succinamic Acid			
L-Fucose				Glucuronamide	+	+	+
D-Galactose	+	+	+	L-Alaninamide	Z+	Z+	Z+
Gentiobiose		+	+	D-Alanine	+	+	+
α-D-Glucose	+	+	+	L-Alanine	+	+	+
m-Inositol	+	+	+	L-Alanyl-glycine	+	+	+
α-D-Lactose		Z+		L-Asparagine	+	+	+
Lactulose				L-Aspartic Acid	+	+	+
Maltose	+	+	+	L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Mannitol		+	+	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Melibiose		Z+	Z+	L-Histidine	+		+
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Hydroxy-L-Proline			
D-Psicose	+	+	+	L-Leucine			
D-Raffinose				L-Omithine			
L-Rhamnose	+	+	+	L-Phenylalanine			
D-Sorbitol		+	+	L-Proline	Z+	+	
Sucrose	+	+	+	L-Pyroglutamic Acid			
D-Trehalose	+	+	+	D-Serine	Z+		
Turanose		+	+	L-Serine	+	+	+
Xylitol				L-Threonine			
Methyl Pyruvate	+	+	+	D,L-Camitine			
Mono- Methyl Succinate		+	+	γ-Amino Butyric Acid	Z+		
Acetic Acid	+	+	+	Urocanic Acid	Z+		+
Cis-Aconitic Acid	+	+	+	Inosine	+	+	+
Citric Acid			+	Uridine		+	+
Formic Acid	+	+	+	Thymidine	+		+
D-Galactonic Acid Lactone				Phenylethyl-amine			
D-Galacturonic Acid	+	+	+	Putrescine			
D-Gluconic Acid	+	+	+	2-Aminoethanol			
D-Glucosaminic Acid				2,3-Butanediol			
D-Glucuronic Acid	+	+	+	Glycerol	+	+	+
α-Hydroxy Butyric Acid		Z+	+	D,L,α-Glycerol Phosphate	+	+	+
β- Hydroxy Butyric Acid				Glucose–1 Phosphate	+	+	+
γ-Hydroxy Butyric Acid				Glucose–6 Phosphate	+	+	+

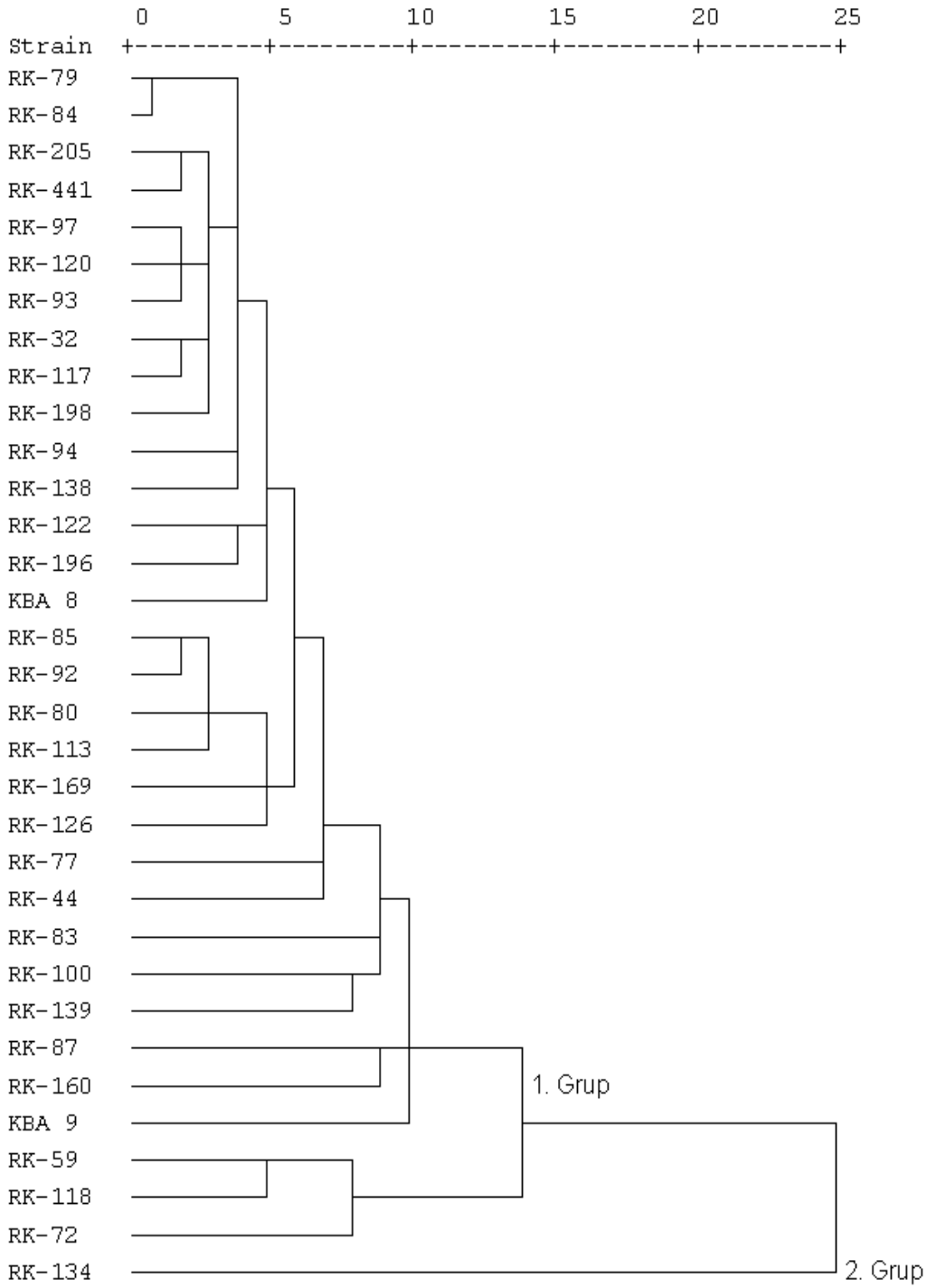
* RK-169, RK-196 ve RK-198: *P. agglomerans*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.5. (devam)

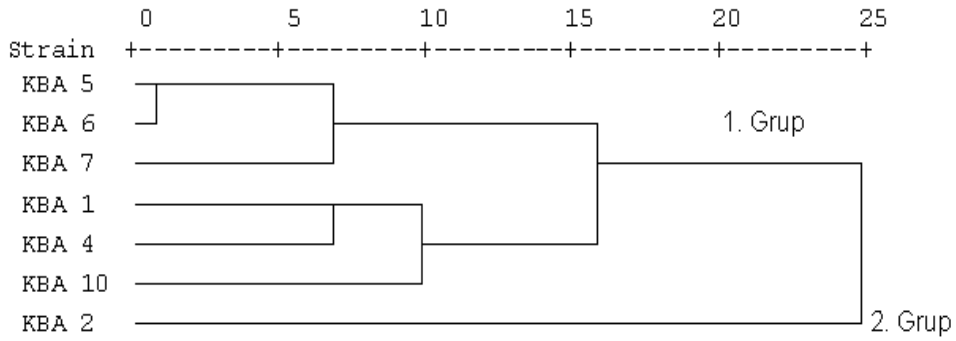
Karbon kaynağı	**RK-205**	**RK-441**	**KBA-8**	**Karbon kaynağı**	**RK-205**	**RK-441**	**KBA-8**
Water				p-Hydroxy-Phenlyacetic Acid			
α-Cyclodextrin				Itaconic Acid			
Dextrin	+	+	+	α-Keto Butyric Acid			
Glycogen	+	+	+	α-Keto Glutaric Acid	+	+	+
Tween 40	+	+	+	α-Keto Valeric Acid			
Tween 80	+	+	+	D,L-Lactic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-galactosamine	Z+	Z+		Malonic Acid	+	+	+
N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	Propionic Acid			
Adonitol	Z+	Z+		Quinic Acid	+	+	+
L-Arabinose	+	+	+	D-Saccharic Acid	+	+	+
D-Arabitol	+	+	+	Sebacic Acid			
D-Cellobiose	+	+	+	Succinic Acid	+	+	+
i-Erytritol				Bromo Succinic Acid	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	Succinamic Acid			
L-Fucose	Z+			Glucuronamide	+	+	+
D-Galactose	+	+	+	L-Alaninamide	Z+	Z+	
Gentiobiose	+	+	+	D-Alanine	+	+	+
α-D-Glucose	+	+	+	L-Alanine	+	+	+
m-Inositol	+	+	+	L-Alanyl-glycine	+	+	+
α-D-Lactose	+			L-Asparagine	+	+	+
Lactulose	Z+	Z+		L-Aspartic Acid	+	+	+
Maltose	+	+	+	L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	Glycyl-L-Aspartic Acid	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	Glycyl-L-Glutamic Acid	+	+	+
D-Melibiose	+		Z+	L-Histidine	+	+	+
β-Methyl-D-Glucoside	+	+	+	Hydroxy-L-Proline			
D-Psicose	+	+	+	L-Leucine			
D-Raffinose	+			L-Omithine			
L-Rhamnose	+	+	+	L-Phenylalanine			
D-Sorbitol	+	+	+	L-Proline	+	+	+
Sucrose	+	+	+	L-Pyroglutamic Acid			
D-Trehalose	+	+	+	D-Serine			Z+
Turanose	+			L-Serine	+	+	+
Xylitol				L-Threonine			
Methyl Pyruvate	+	+	+	D,L-Camitine			
Mono- Methyl Succinate	+	+		γ-Amino Butyric Acid			Z+
Acetic Acid	+	+	+	Urocanic Acid	+	+	Z+
Cis-Aconitic Acid	+	+	+	Inosine	+	+	
Citric Acid	+	+		Uridine	+	+	+
Formic Acid	+	+	+	Thymidine	+	+	+
D-Galactonic Acid Lactone				Phenylethyl-amine			
D-Galacturonic Acid	+	+	+	Putrescine			
D-Gluconic Acid	+	+	+	2-Aminoethanol			
D-Glucosaminic Acid				2,3-Butanediol			
D-Glucuronic Acid	+	+	+	Glycerol	+	+	+
α-Hydroxy Butyric Acid	+	+	Z+	D,L,α-Glycerol Phosphate	+	+	+
β- Hydroxy Butyric Acid				Glucose–1 Phosphate	+	+	+
γ-Hydroxy Butyric Acid				Glucose–6 Phosphate	+	+	+

* RK-205, RK-441 ve KBA-8: *P. agglomerans*, +: pozitif, Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4.6. Gram negatif bakterilerin kullandığı karbon kaynaklarının istatistik analizinden elde edilen dendogram.



Çizelge 4.7. Gram pozitif bakterilerin kullandığı karbon kaynaklarının istatistik analizinden elde edilen dendogram.



4.4.Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hiper Sensetivite=HR) Test Sonuçları

Bakteriyel strainlerin tütün bitkisinde yapılan aşırı duyarlılık test sonuçları Çizelge 4.8'te verilmiştir. Tütün yapraklarında nekroz oluşturan bakteriyel strainlerin aşırı duyarlılık test sonuçları pozitif, nekroz oluşturmayanlar ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Yapılan gözlemlere göre tüm PGPR ve biyoajan bakterilerin HR sonuçları negatif olarak belirlenmiştir.

4.5. Strainlerin Morfolojik ve Biyokimyasal Test Sonuçları

Kullanılan strainlerin bazı morfolojik (hareketlilik, hücre şekli, koloni rengi) ve biyokimyasal (oksidaz, katalaz, potasyum hidroksit, nitrat, arginin ve amilaz) özellikleri belirlenerek sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir. Çukur lamda yapılan hareketlilik testinde tüm strainlerin hareketli olduğu, şekil olarak ise uzun ya da kısa çubuk şeklinde olduğu belirlenmiştir. YDC besi yerinde oluşturdukları koloni renginde ise türler arasında değişkenliğin olduğu belirlenirken; aynı türün farklı strainleri arasında tam bir benzerlik görülmüştür. KOH testi sonucunda *Bacillus* ve *Paenibacillus* cinslerine mensup strainlerin gram reaksiyonları pozitif, diğer strainlerin gram reaksiyonları negatif olarak değerlendirilmiştir. Amilaz testi sonucunda *B. subtilis* KBA-1 ve KBA-4 strainleri kuvvetli pozitif, *B. cereus* KBA-7 ve *B. megaterium* KBA-10 strainleri zayıf pozitif, diğer bütün strainler ise

pozitif olarak değerlendirilmiştir. Arjinin testinde *P. polymyxa* KBA-2 straini pozitif sonuç verirken diğerleri negatif olarak değerlendirilmiştir. Katalaz reaksiyonu bakımından bütün strainler pozitif reaksiyon vermiştir. Nitrat testi bakımından ise *B. subtilis* KBA-1 ve KBA-4, *P. polymyxa* KBA-2, *B.cereus* KBA-7 ve *B. megaterium* KBA-10 strainleri pozitif sonuç verirken geri kalan tüm strainler negatif sonuç vermiştir. Oksidaz testinde ise *B. subtilis* KBA-1 ve KBA-4 strainleri pozitif sonuç verirken geri kalan tüm strainler negatif olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.8. Potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin biyokimyasal ve morfolojik test sonuçları

Strain no	MIS tanı sonuçları	Biyokimyasal testler							Morfolojik testler		
		HR	KOH	Amilaz	Katalaz	Arginin	Nitrat	Oksidaz	Hareket	Hücre şekli	Koloni şekli (YDC'de)
KBA-1	*B. subtilis*	-	+	K+	+	-	+	+	Hareketli	Eliptik	Kirli beyaz
KBA-2	*P. polymyxa*	-	+	+	+	+	+	-	Hareketli	Eliptik	Kirli sarı
KBA-4	*B. subtilis*	-	+	K+	+	-	+	+	Hareketli	Eliptik	Kirli beyaz
KBA-5	*B. atrophaeus*	-	+	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Koyu krem
KBA-6	*B. atrophaeus*	-	+	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Koyu krem
KBA-7	*B. cereus*	-	+	Z+	+	-	+	-	Hareketli	Eliptik	Kirli beyaz
KBA-10	*B. megaterium*	-	+	Z+	+	-	+	-	Hareketli	Eliptik	Beyaz
KBA-8	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
KBA-9	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-32	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-44	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-59	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-72	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-77	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-79	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-80	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-83	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-84	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-85	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-87	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-92	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid

63

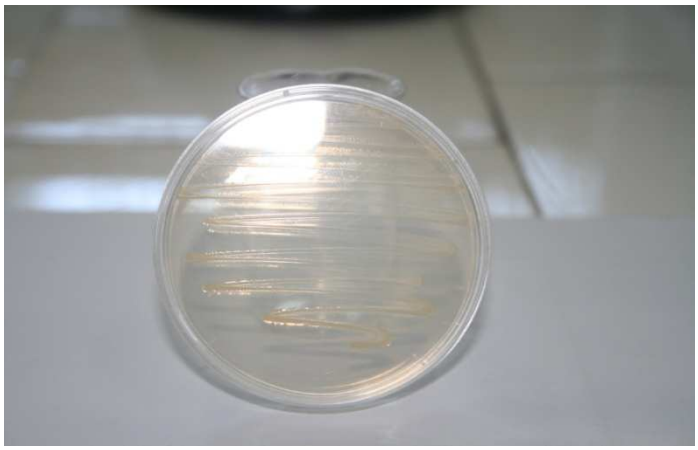
Çizelge 4.8 (devam)

Strain no	MIS tanı sonuçları	Biyokimyasal testler							Morfolojik testler		
		HR	KOH	Amilaz	Katalaz	Arginin	Nitrat	Oksidaz	Hareket	Hücre şekli	Koloni şekli (YDC'de)
RK-93	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-94	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-97	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-100	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-113	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-117	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-118	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-120	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-122	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-126	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-134	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-138	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-139	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-160	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-169	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-196	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-198	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-205	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
RK-441	*P. agglomerans*	-	-	+	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid

* HR: Aşırı duyarlılık testi, KOH: Potasyum hidroksil testi, -: Negatif, +: Pozitif, K^+: Kuvvetli pozitif, Z^+: Zayıf pozitif sonuç

4.6. Bakteri Strainlerinin Azotsuz (N-Free) Kültür Ortamında Gelişimi

Test edilen tüm bakteriler N-free malate sucrose ortamında gelişim göstermişler ve azot fiksasyon yetenekleri pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *P. agglomerans* RK-32'nin azotsuz (N-free) kültür ortamında gelişimi.

4.7. Bakteri Strainlerinin NBRIP-BPB Besiyerinde Gelişimi

Test edilen tüm bakteriler sıvı NBRIP-BPB besiyerinde kontrolle kıyaslandığında renk açılması meydana getirmiş fosfat çözme yetenekleri pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. NBRIP-BPB besiyerinde kontrol ve *B. megaterium* KBA-10

4.8. Potansiyel Biyoajan Bakteri Strainlerinin Çözebildiği Fosfat Miktarları

Bakterileri strainlerinin çözebildiği fosfat miktarları Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Buna göre; bakterilerin çözebildiği fosfat miktarı 40,95 µg ml^{-1} ila 227,20 µg ml^{-1} arasında değişkenlik göstermiştir. Fosfatı çözme yetenekleri en fazla olan *P. agglomerans* strainlerinin RK-134 (227,20 µg ml^{-1}), RK- 126 (217,54 µg ml^{-1}) ve RK- 198 (192,18 µg ml^{-1}), *Bacillus* strainlerinin ise KBA-10 (188,94 µg ml^{-1}) ve KBA-2 (172,52 µg ml^{-1}) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.9. Potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin çözebildiği fosfat miktarları

Bakteri türü	**Strain**	**ÇFM (µg ml^{-1})**	**Bakteri türü**	**Strain**	**ÇFM (µg ml^{-1})**
B. subtilis	KBA-1	40,95	*P. agglomerans*	RK-92	188,56
P. polymyxa	KBA-2	172,52	*P. agglomerans*	RK-93	140,45
B. subtilis	KBA-4	124,42	*P. agglomerans*	RK-94	139,10
B. atrophaeus	KBA-5	69,74	*P. agglomerans*	RK-97	123,64
B. atrophaeus	KBA-6	85,00	*P. agglomerans*	RK-100	151,66
B. cereus	KBA-7	129,05	*P. agglomerans*	RK-113	153,78
B. megaterium	KBA-10	188,94	*P. agglomerans*	RK-117	142,19
P. agglomerans	KBA-8	177,35	*P. agglomerans*	RK-118	130,01
P. agglomerans	KBA-9	122,87	*P. agglomerans*	RK-120	166,15
P. agglomerans	RK-32	171,56	*P. agglomerans*	RK-122	153,40
P. agglomerans	RK-44	143,93	*P. agglomerans*	RK-126	217,54
P. agglomerans	RK-59	150,50	*P. agglomerans*	RK-134	227,20
P. agglomerans	RK-72	180,83	*P. agglomerans*	RK-138	152,62
P. agglomerans	RK-77	211,74	*P. agglomerans*	RK-139	150,11
P. agglomerans	RK-79	146,44	*P. agglomerans*	RK-160	152,82
P. agglomerans	RK-80	136,39	*P. agglomerans*	RK-169	147,60
P. agglomerans	RK-83	131,56	*P. agglomerans*	RK-196	150,69
P. agglomerans	RK-84	138,91	*P. agglomerans*	RK-198	192,18
P. agglomerans	RK-85	155,71	*P. agglomerans*	RK-205	185,66
P. agglomerans	RK-87	141,61	*P. agglomerans*	RK-441	139,48

* ÇFM: Çözünebilen fosfat (PO_4^{3-}P) miktarı (µg ml^{-1})

4.9. Kullanılan PGPR Strainlerinin Marulun Gelişimi Üzerine Etkileri

Marul bitkilerinde PGPR olarak kullanılacak strainler fosfatı çözme yetenekleri en fazla olanlardan seçilirken, kombinasyon uygulamaları için fosfatı çözme yetenekleri en fazla olan 2 *P. agglomerans* ve 2 *Bacillus* straini tercih edilmiştir. Bitki büyütme kabinlerinde gerçekleştirilen denemeyi takiben 9. haftada sökülen bitkilerin kök uzunlukları, kök ağırlıkları, gövde ağırlıkları, toplam ağırlıkları ve yaprak sayıları belirlenmiştir. Bu ölçümlere ait sonuçların SPSS istatistik programında analizi ile elde edilen ortalama ve standart sapmalar Çizelge 4.10'da verilmiştir. Bu sonuçlara göre; yaprak sayılarında *P. agglomerans* RK-32 ve RK-77 strainleri haricinde tüm uygulamalar kontrole oranla artış göstermiş ancak istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Kök uzunluğu bakımından yalnızca *P. agglomerans* RK-126 uygulamasının kontrolle kıyaslandığında negatif etkisi görülürken, tüm uygulamalar artış sağlamış, istatistiki olarak yalnız azot uygulaması önemli bulunmuştur. Kök ağırlıkları değerlendirildiğinde yine *P. agglomerans* RK-126 uygulamasının negatif etkisi gözlemlenirken diğer tüm uygulamalar artışa yol açmış, bunlar içnde ise azot, fosfat, azot-fosfat, P. polymyxa KBA2, *B. megaterium* KBA10, *P. agglomerans* KBA8, RK-134, RK-205 ve kombinasyon uygulamalarının tamamı istatistiki olarak önemli bulunan artışlara neden olmuştur. Gövde ağırlıkları bakımından *P. agglomerans* RK-32, RK-72, RK-77, RK-92 ve RK-126 uygulamaları negatif etki gösterirken, diğer uygulamaların tamamı kontrole oranla artış sağlamış, azot, azot-fosfat ve *B. megaterium* KBA10 uygulamalarının sağladığı artışlar ise istatistiki olarak öenmli bulunmuştur. Toplam ağırlıklar ele alındığında; *P. agglomerans* RK-32, RK-72 ve RK-126 uygulamaları negatif etki gösterirken, geriye kalan uygulamaların tamamı kontrole oranla artış sağlamış bunlar içerisinde azot, azot-fosfat, *B. megaterium* KBA10, *P. agglomerans* RK-134, RK-205, *P. agglomerans* RK-126 +*P. polymyxa* KBA2 ve *P. agglomerans* RK-126+*B. megaterium* KBA10 uygulamaları istatistiki olarak önemli bulunan artışlar meydana getirmiştir.

Yaprak sayısı ölçümlerinde minimum değer *P. agglomerans* RK-32 uygulaması sonucu 18,66 maksimum değer ise *P. agglomerans* KBA-8 uygulaması sonucu 23,66 olarak tesbit edilmiştir. Kök uzunluğu değerlerine bakıldığında minimum değerin *P.*

agglomerans RK-126 uygulaması sonucu 4,73 cm, maksimum değer ise azot uygulaması sonucu 9,53cm olduğu görülmüştür. Kök ağırlıklarında minimum değeri 1,65 g ile *P. agglomerans* RK-126, maksimum değeri ise 3,81 g ile *P. agglomerans* RK-134 uygulaması vermiştir. Gövde ağırlıkları için minimum değer *P. agglomerans* RK-32 uygulaması ile 6,07 g, maksimum değer azot-fosfat uygulaması ile 10,51 g olarak kaydedilmiştir. Toplam ağırlıklta ise minimum değerin *P. agglomerans* RK-32 uygulaması sonucu 8,22 g, maksimum değerin ise azot uygulaması ile 13,56 g olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.10. PGPR bakteri uygulamalarının marulun gelişimi üzerine etkileri

Uygulamalar	Yaprak sayısı	Kök uzunluğu	Kök ağırlığı	Gövde ağırlığı	Toplam ağırlık
Kontrol	19,33±1,66	5,00±0,07	1,84±0,72	7,30±0,79	9,15±0,81
Azot	21,66±1,20	9,53±0,74**	3,50±0,30**	10,06±0,58*	13,56±0,89*
Fosfat	21,00±2,30	7,26±0,14	3,55±0,19**	8,43±0,23	11,83±0,33
Azot + Fosfat	23,00±3,05	5,96±0,68	3,12±0,25**	10,51±1,03*	13,52±1,36*
KBA2	21,33±0,33	6,86±0,23	2,92±0,29*	7,42±0,66	10,33±0,97
KBA8	23,66±1,76	6,56±0,23	3,22±0,22**	9,23±0,70	12,51±0,91
KBA10	22,33±0,33	7,17±1,30	3,41±0,33**	10,05±1,07*	13,23±1,56*
RK-32	18,66±1,45	7,46±0,55	2,08±0,29	6,07±0,59	8,22±0,77
RK-72	22,00±1,15	5,80±1,01	2,01±0,15	6,72±0,31	8,74±0,46
RK-77	19,33±0,33	5,20±0,11	2,34±0,19	6,88±0,32	9,22±0,51
RK-92	21,00±1,52	7,46±0,24	2,67±0,23	6,94±0,11	9,61±0,33
RK-126	23,00±0,57	4,73±0,41	1,65±0,02	6,70±0,39	8,47±0,53
RK-134	23,66±1,76	6,66±1,08	3,81±0,38**	9,61±1,04	13,42±1,26*
RK-198	22,66±0,88	6,96±0,29	2,47±0,17	8,25±0,66	10,72±0,77
RK-205	20,00±2,08	6,60±0,15	3,61±0,55**	9,57±1,23	13,19±1,62*
RK-126 + KBA-2	21,66±1,76	6,43±0,82	3,57±0,20**	9,63±1,19	13,21±1,39*
RK-134 + KBA-2	20,66±1,33	6,76±1,47	3,18±0,54**	8,81±0,88	11,99±1,36
RK-126 + KBA-10	20,00±2,64	5,26±1,07	3,63±0,05**	9,15±1,20	12,78±1,15*
RK-134 + KBA-10	22,00±1,00	6,66±0,83	2,92±0,10*	8,78±0,83	11,71±1,03

*p< 0,05'e göre kontrolden farklı, **p< 0,01'e göre kontrolden farklı; KBA-2: *P. Polymyxa*; KBA-10: *B. megaterium*; KBA-8, RK-32, RK-72, RK-77, RK-92, RK-126, RK-134, RK-198 ve RK-205: *P. agglomerans*

4.10. Kullanılan PGPR Strainlerinin Hastalık Şiddeti Üzerine Etkileri

PGPR bakteri strainlerinin, bitkilerde hastalık gelişimi üzerine etkilerini gözlemlemek amacı ile kurulan deneme (Şekil 4.3)'de 1-5 skalasına göre yapılan değerlendirmelere ait ortalama ve standart sapmalar Çizelge 4.11'de verilmiştir. Hastalık şiddetinde tüm uygulamalar az veya çok düşüşe neden olmuştur. *P. agglomerans* RK-72 ve RK- 77 dışındaki tüm uygulamaların yol açtığı düşüşler istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Ancak özellikle *P. agglomerans* RK-198 hastalık gelişimine hiç müsaade etmezken, *P. agglomerans* KBA-8 ve *B. megaterium* KBA-10 uygulamalarında hastalık gelişiminin çok az olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge.4.11. PGPR bakteri strainlerinin marulun kök bölgesine uygulanması sonucu hastalık şiddetine etkilerini gösteren skala ortalamaları ve standat sapmalar.

Uygulamalar	Hastalık şiddeti (1-5 skalası)
Kontrol (TSB)	4,00 ±0,00 ^{e*}
P. polymyxa KBA-2	2,67±0,33 ^{cd}
P. agglomerans KBA-8	1,33±0,66 ^{a}
B. megaterium KBA-10	1,67±0,33 ^{ab}
P. agglomerans RK-32	2,33±0,33^{bc}
P. agglomerans RK-72	3,33±0,66 ^{de}
P. agglomerans RK-77	3,33±0,66 ^{de}
P. agglomerans RK-92	2,33±0,33 ^{bc}
P. agglomerans RK-126	2,67±0,57 ^{cd}
P. agglomerans RK-134	3,00±0,00 ^{cd}
P. agglomerans RK-198	1,00±0,00 ^{a}
P. agglomerans RK-205	3,00±0,00^{cd}

* İstatistiki analiz $p<0,05$ önem derecesine göre yapılmış olup, farklı harfler istatistiki olarak önemli bulunan uygulamarı göstermektedir.



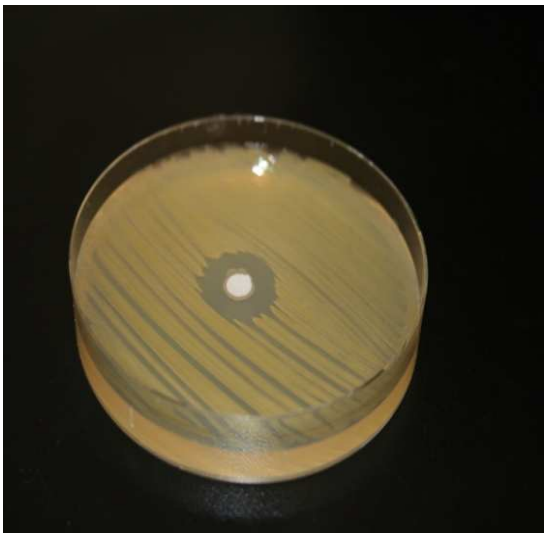
Şekil 4.3. PGPR bakterilerinin köke uygulanmaları sonucunda hastalık gelişimi üzerine etkileri (soldan sağa: Xcvit (kontrol), RK-32 ve RK-198)

4.11. İn-Vivo Petri Denemelerinde Patojene Karşı Potansiyel Biyoajanların Etkinlikleri

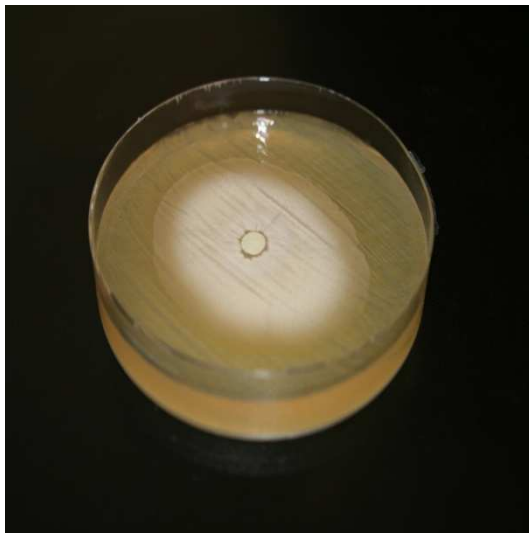
Yapılan testler sonucunda üzerinde çalışılan bakterilerden hiçbiri otoklav ve filtre uygulamaları sonucunda patojene etkili olmamış ancak direkt uygulama sonucunda 40 strainden 10 tanesinin patojen üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bunlardan 3 tanesi patojene karşı inhibisyon zonu meydana getirirken (Şekil 4.4), 7 tanesi ise hiperparazitik etki göstermiştir (Şekil 4.5). Yapılan uygulamalar ve sonuçları Çizelge 4.12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.12. Potansiyel biyoajan bakterilerinin in vitro petri denemelerinde patojene karşı oluşturdukları ortalama inhibisyon zonu değerleri ve hiperparazitik (HP) etkiler

Bakteri strainleri	Otoklav edilen hücre uygulaması	Direkt bakteri hücresi uygulaması	Filtre edilen hücre uygulaması
B. subtilis KBA-1	0	HP	0
P. polymyxa KBA-2	0	13 mm	0
B. subtilis KBA-4	0	HP	0
B. atrophaeus KBA-5	0	HP	0
B. atrophaeus KBA-6	0	HP	0
B. cereus KBA-7	0	HP	0
P. agglomerans KBA-8	0	HP	0
P. agglomerans KBA-9	0	HP	0
B. megaterium KBA-10	0	21,3 mm	0
P. agglomerans RK-32	0	24,6 mm	0
P. agglomerans RK-44	0	0	0
P. agglomerans RK-59	0	0	0
P. agglomerans RK-72	0	0	0
P. agglomerans RK-77	0	0	0
P. agglomerans RK-79	0	0	0
P. agglomerans RK-80	0	0	0
P. agglomerans RK-83	0	0	0
P. agglomerans RK-84	0	0	0
P. agglomerans RK-85	0	0	0
P. agglomerans RK-87	0	0	0
P. agglomerans RK-92	0	0	0
P. agglomerans RK-93	0	0	0
P. agglomerans RK-94	0	0	0
P. agglomerans RK-97	0	0	0
P. agglomerans RK-100	0	0	0
P. agglomerans RK-113	0	0	0
P. agglomerans RK-117	0	0	0
P. agglomerans RK-118	0	0	0
P. agglomerans RK-120	0	0	0
P. agglomerans RK-122	0	0	0
P. agglomerans RK-126	0	0	0
P. agglomerans RK-134	0	0	0
P. agglomerans RK-138	0	0	0
P. agglomerans RK-139	0	0	0
P. agglomerans RK-160	0	0	0
P. agglomerans RK-169	0	0	0
P. agglomerans RK-196	0	0	0
P. agglomerans RK-198	0	0	0
P. agglomerans RK-205	0	0	0
P. agglomerans RK-441	0	0	0



Şekil 4.4. İnhibisyon zonu



Şekil 4.5. Hiperparazitik etki

4.12. Tohum Dezenfeksiyon Çalışmaları

Daha önce belirtildiği şekilde kutucuklarına TSB besiyeri koyulan elisa pleytlerine, yalnız TSB ve biyoajanlarla, yalnız patojen ve patojen+biyoajanlarla kodlanan tohumlar 3 tekerrürlü olarak koyulmuş ve 24-27ºC'de 24 sa inkübasyona bırakılmıştır. Ardından öze yardımı ile tohumların bulunduğu sıvı TSB besiyerlerinden, TSA besiyerlerine ekimler yapılmıştır. Besiyerlerinde gelişen bakteri kolonileri 24, 48 ve 72 sa sonra incelenmiştir. *Bacillus* strainleri krem ve beyaz koloniler oluştururken, *P. agglomerans* strainleri sarı, patojen ise koyu sarı mukoid koloniler oluşturmuştur. Yalnızca TSB sıvı besiyeri kullanılarak kodlanan tohumlarda 24 ve 48 sa sonra bakteri gelişimi gözlemlenmezken 72 sa sonunda saprofit bakteri gelişimi gözlemlenmiştir. Biyoajan bakterilerle kodlanan tohumların tamamında 24 sa sonra biyoajan bakterilerin geliştiği gözlemlenmiş, 72 sa sonra yer yer saprofitik gelişimler göze çarpmıştır. Patojenle kodlanan tohum setlerinde ise yalnız patojenle kodlanan tohumlarda 24 sa sonra patojen gelişimi görülmüş, patojen ve biyoajanlarla kodlanan tohumlarda ise *P. agglomerans* KBA8 ve KBA9 strainleri dışında hiçbir biyoajan bakteri patojen gelişimine izin vermemiştir.

Önceden belirtilen şekilde TSB ve biyoajanlarla kodlanmış tohumlarla petrilerde yapılan çimlenme testlerine ait çimlenen tohum ve sağlılı bitki sayılarının ortalama ve standart sapmaları Çizelge 4.13'te verilmiştir. Buna göre çimlenen tohum sayıları ele alındığında *P. polymyxa* KBA-2, *B. atrophaeus* KBA-5 ve KBA-6, *B. cereus* KBA-7, *P. agglomerans* KBA-9 ve *B. megaterium* KBA-10 kontrole kıyasla düşüş meydana getirmişler, bunlar arasında *P. polymyxa* KBA-2, *B. atrophaeus* KBA-5 ve *P. agglomerans* KBA-9'un yol açtığı düşüş istatistiki olarak önemli bulunmuştur. *B. subtilis* KBA-1 ve KBA-4, *P. agglomerans* KBA-8 ve RK-32 çimlenen tohum sayılarında artışa neden olurken, tüm tohumların çimlenmesini sağlayan *P. agglomerans* RK-32 uygulaması istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Sağlıklı bitki sayılarına bakıldığında *P. polymyxa* KBA-2, *B. atrophaeus* KBA-5, *B. cereus* KBA-7 ve *P. agglomerans* KBA-9 uygulamaları kontrolle kıyaslandığında bir düşüşe neden olmuş, bunlar arasında *P. polymyxa* KBA-2 ve *B. atrophaues* KBA-5'in sebebiyet verdiği düşüş istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Öte yandan *B. subtilis* KBA-1 ve KBA-4, *B. atrophaeus* KBA-6, *B. megaterium* KBA-10, *P. agglomerans* KBA-8 ve RK-32 uygulamaları kontrole kıyasla artışa neden olmuş, bunlar arasında ise *P. agglomerans* KBA-8 ve RK-32 uygulamalarının neden olduğu artışlar istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.13. Tohumların TSB ve biyoajanlarla kodlandığı uygulamalar sonucunda çimlenen tohum ve sağlıklı bitki sayılarının ortalama ve standart sapmaları

Uygulamalar	Çimlenen tohum sayısı (%)	Sağlıklı bitki sayısı (%)
Kontro (TSB)	17,67±0,33 (88,3) ^{de*}	16,00±0,00 (80) ^{bc}
B. subtilis KBA-1	18,00±0,00 (90) ^{def}	16,67±0,33 (83,3) ^{bcd}
P. polymyxa KBA-2	13,33±0,66 (66,5) ^{a}	12,33±1,20 (61,6) ^{a}
B. subtilis KBA-4	19,67±0,33 (98,3) ^{ef}	18,67±0,66 (93,3) ^{cde}
B. atrophaeus KBA-5	15,00±0,57 (75) ^{ab}	12,00±1,00 (60) ^{a}
B. atrophaeus KBA-6	17,00±0,57 (85) ^{bcd}	16,67±0,66 (83,3) ^{bcd}
B. cereus KBA-7	17,00±1,73 (85) ^{bcd}	15,67±1,76 (78,3) ^{b}
P. agglomerans KBA-8	19,67±0,33 (98,3) ^{ef}	19,33±0,33 (96,6) ^{de}
P. agglomerans KBA-9	15,33±0,66 (76,6) ^{abc}	14,33±0,33 (71,6) ^{ab}
B. megaterium KBA-10	17,33±0,66 (86,6) ^{cd}	17,00±1,00 (85) ^{bcde}
P. agglomerans RK-32	20,00±0,00 (100) ^{f}	19,67±0,33 (98,3) ^{e}

* İstatistiki analiz $p<0,05$ önem derecesine göre yapılmış olup, aynı sütundaki farklı harfler istatistiki olarak önemli bulunan uygulamarı göstermektedir.

Daha önceden belirtildiği gibi tohumlara patojen ve patojenle birlikte biyoajanların kodlandığı uygulamalara (Şekil 4.6) ait çimlenen ve hastalıklı tohum sayıları Çizelge 4.14'te verilmiştir. Çimlenen tohum sayılarına bakıldığında patojen+*B. subtilis* KBA-1 uygulaması dışında tüm patojen+biyoajan kombinasyonları, sadece patojen uygulamasına kıyasla çimlenen tohum sayılarında çok küçük oranlarda düşüşe neden olmuş yalnızca patojen+*B. atrophaeus* KBA-5 kombinasyonunun yol atığı düşüş istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Hastalıklı bitki sayılarına bakıldığında tüm kombinasyonlar tek başına patojen uygulamasına kıyasla önemli düşüşlere neden olurken, patojen+*P. polymyxa* KBA-2 ve patojen+*P. agglomerans* RK-32 uygulamaları en çok düşüşe neden olan kombinasyonlar olarak dikkat çekmiştir.

Çizelge.4.14. Tohumların patojen ve biyoajanlarla kodlandığı uygulamalar sonucunda çimlenen tohum ve hastalıklı bitki sayılarının ortalama ve standart sapmaları

Uygulamalar	Çimlenen tohum sayısı (%)	Hastalıklı bitki sayısı (%)
Kontrol (Xcvit)	18,67±0,33 (93,3) ^{bc*}	17,33±0,33 (86,6) ^{e}
Xcvit + *B. subtilis* KBA-1	19,00±0,57 (95) ^{bc}	5,67±0,33 (28,3) ^{b}
Xcvit + *P. polymyxa* KBA-2	17,33±0,66 (86,6) ^{c}	2,67±0,33 (13,3) ^{a}
Xcvit + *B. subtilis* KBA-4	17,33±0,66 (86,6) ^{bc}	7,00±0,57 (35) ^{b}
Xcvit + *B. atrophaeus* KBA-5	14,67±1,76 (73,3) ^{a}	7,00±1,00 (35) ^{b}
Xcvit + *B. atrophaeus* KBA-6	17,00±0,57 (85) ^{bc}	7,00±0,57 (35) ^{b}
Xcvit + *B. cereus* KBA-7	16,33±0,33 (81,6) ^{ab}	5,67±0,33 (28,3) ^{b}
Xcvit + *P. agglomerans* KBA-8	17,00±0,57 (85) ^{bc}	11,33±0,66 (56,6) ^{d}
Xcvit + *P. agglomerans* KBA-9	18,00±0,00 (90) ^{bc}	9,67±0,33 (48,3) ^{cd}
Xcvit + *B. megaterium* KBA-10	17,00±0,57 (85) ^{bc}	8,00±1,15 (40) ^{bc}
Xcvit + *P. agglomerans* RK-32	18,00±0,00 (90) ^{bc}	2,67±1,74 (13,3) ^{a}

* İstatistiki analiz $p<0,05$ önem derecesine göre yapılmış olup, aynı sütundaki farklı harfler istatistiki olarak önemli bulunan uygulamarı göstermektedir.



Şekil 4.6. Petride tohum dezenfensiyonu çalışmalarında sadece patojen (*X. axonopodis* pv. *vitians*) ve biyoajan+patojen (*P. agglomerans* RK-32+ *X. axonopodis* pv. *vitians*) uygulaması.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bakterilerin tanısı için genel olarak klasik ve moleküler teknikler kullanılmaktadır. Bu çalışmada test edilen bakteriyel strainlerin tanısında; yağ asidi metil esterleri esas alan moleküler tekniklerden mikrobiyal tanı sistemi (MIS) ve strainlerin kullandıkları karbon kaynaklarını esas alan Biolog tanı sistemi kullanılmıştır. Gerek strainlerin yağ asidi metil eserleri gerekse de kullandıkları karbon kaynakları bakımından strainlerin istatistiki olarak 2 farklı gruba ayrıldığı görülmüştür. Biolog sisteminde Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler için öngörülen karbon kaynakları farklı olduğundan bunlar arasındaki benzerlik ve farklılıklar ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

MIS sonuçlarının istatistik analizinden elde edilen dendogarama göre 2 gruba ayrılan strainlerden 1. grup iki ana alt guruptan meydana gelirken, alt grupların birini *Paenibacillus polymyxa* ve *Bacillus* strainleri, diğerini ise *Pantoea agglomerans* srtainleri oluşturmuştur. 2. Grubu ise *Bacillus cereus* KBA-7 tek başına oluşturmuştur. Bakterilerin içerdikleri yağ asitlerinin oranları dikkatle incelendiğinde *B.cereus* KBA-7'nin diğer strainlerde var olmayan 13:0 iso yağ asidini bünyesinde yoğun olarak bulundurduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra farklı türlere mensup *Bacillus* strainlerinin içerdiği yağ asidi oran ve çeşitlerinde önemli varyasyonlara rastlanırken, aynı türe mensup *P. agglomerans* strainlerinin de yağ asidi metil esterleri oranlarında küçük varyasyonlar görülmüştür. Yağ asidi metil esterleri çeşit ve oranlarınındaki değişimlerin her iki grupta da daha önce yapılan bazı çalışmalarda olduğu gibi konukçu ve lokasyondan bağımsız olduğu gözlemlenmiştir (Şahin 1999; Kotan 2002). Yapılan bazı çalışmalarda bakteri strainlerinin yağ asidi metil esterleri ile strainlerin antibiyotik duyarlılıkları arasında bir ilişkinin olduğu ve bu sistemin tanı yanında antibiyotik duyarlılığında da kullanılabileceği belirtilmiş olup (Dikbaş vd. 2009; Kotan ve Karagöz 2008) bu çalışmada test edilen strainlerin biyokontrol ve PGPR etkinliği ile yağ asidi metil esterleri arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir.

Karbon profillerinin istatistiki analizlerden elde edilen sonuçlara göre; Gram pozitif bakteriler kendi aralarında iki gruba ayrılmış olup 1. grupta 6, 2. grupta ise 1 bakteri straininin yer aldığı görülmüştür. *P. polymyxa* KBA-2 tek başına 2. grubu oluştururken, *Bacillus* strainleri 1. grupta yer almıştır. *P. polymyxa* KBA-2 ve *Bacillus megaterium* diğer Gram pozitif bakterilerden farklı olarak D-ribose ve stachyose karbon kaynaklarını kullanırken, *P. polymyxa* KBA-2 ınulin, α-D-lactose, lactulose, D-melibiose, β-methyl-D-galactoside ve D-raffinose karbon kaynaklarını, *B. megaterium* KBA-10 ise D-galacturanic acid karbon kaynağını diğer Gram pozitif bakterilerden farklı olarak kullanmışlardır. Gram negatif strainler incelendiğinde ise yine farklı iki gruba ayrıldığı, *P.agglomerans* RK-134'ün tek başına 2. grubu oluşturduğu ve diğer strainlerin tamamının 1. grupta yer aldığı görülmüştür. Buradada *P. agglomerans* RK-32 diğer strainlerden farklı olarak Phenylethyl-amine karbon kaynağını tek başına kullanmıştır. Dikkati çeken nokta *P. agglomerans* RK-32, *P. polymyxa* KBA-2 ve *B. megaterium* KBA-10 strainlerinin aynı gruba dahil diğer strainlere kıyasla farklı karbon kaynaklarını kullanmaları olmuştur. Bu 3 strainin patojene karşı petri denemelerinde antibiyotik üreterek inhibisyon zonu meydana getirdikleri görülmüştür. Buradan hareketle bakterilerin kullandığı farklı karbon karnaklarının antibiyosis mekanizması ve dolayısıyla biyolojik mücadele çalışmalarında ayırt edici bir özellik olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Tabiî ki bu düşüncenin pratiğe aktarımı için üzerinde daha fazla çalışılması ve yoğun araştırmalar yapılması gerekmektedir.

MIS ve biolog tanı sistemlerinden alınan sonuçların uyumu incelendiğinde, test edilen 40 strainden 30 tanesinin tanı sonuçları paralellik göstermiştir. Genel olarak tanı sonuçları arasındaki uyum %75 olurken, bu oran *Bacillus* strainleri için %33,3, *P. agglomerans* stainleri için %81,8 olarak kaydedilmiştir. Tanı için kullanılan MIS ve Biolog sistemleri test edilen bakteri strainlerinin tanısı için genel olarak başarılı bulunmuş ancak *P. agglomerans* strainlerinin tanısında *Bacillus* strainlerine oranla daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Kotan (2002), Kotan ve arkadaşları (2005)'da yaptıkları çalışmalarda MIS ve Biolog sistemlerinin bazı bakteri türlerinin tanısında başarı ile kullanılabileceğini ve her iki tanı sisteminin sonuçlarında büyük oranda

benzerliklerin görüldüğünü ancak bazı türler için elde edilen sonuçlar bakımından farklılıkların olduğunu belirtmişlerdir.

Morfolojik ve biyokimyasal testlerin sonuçlarına bakıldığında; *P. agglomerans* strainlerinin tamamı kendi aralarında paralellik göstermiştir. *Bacillus* strainleri kendi aralarında farklılıklar göstermiş ancak MIS tanı sonuçları aynı olan strainlerin morfolojik ve ve biyokimyasal test sonuçları arasında farklılıklar görülmemiştir. HR testleri sonucu tüm potansiyel biyoajan ve PGPR bakteriler için negatif olarak değerlendirilmiştir. *P. agglomerans*'ın patojen strainlerinin bulunduğunu gösteren bazı çalışmalar mevcuttur. Baird ve Gitaitis (1997), Kaliforniya'da Georgia bölgesinde pamuktan yaptıkları izolasyonlarda *P. agglomerans* olarak tanıladıkları bakteriyel strainlerin, pamuk kozalaklarındaki liflerde çürümeye sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Gitaitis (1997), yapmış olduğu bir diğer çalışmada; *P. agglomerans* ve *Pantoea ananas*'ın soğanda yaptıkları patojenite testleri sonucunda *P. agglomerans*'ın herhangi bir simptom oluşturmadığını ancak, *P. ananas*'ın yapraklarda yanıklık, sapta çürüme ve çiçeklerde ölüme sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada kullanılan bütün *P. agglomerans* strainlerinin tütünde aşırı duyarlılık testleri sonucu negatif olarak tespit edilmiştir. Ayrıca bu stainlerin elma ve kayısı bitkilerinde patojenite test sonuçları negatif olarak değerlendirilirken (Kotan *et al*. 2005; Kotan 2002), marul üzerinde de herhangi bir patojenik etkileri görülmemiştir. Yapılan morfolojik ve biyokimyasal testler daha önce yapılan çalışmalarla paralellik göstermiştir (O'Donnel *et al*. 1980; Logan and Berkeley 1984; Gavini *et al*. 1989; Weid *et al*. 2000; Kotan 2002; Manulis and Barash 2003; Dadaşoğlu 2007; Abusham *et al*. 2009). Öte yandan bu çalışmada Gram pozitif olarak değerlendirilen *P. polymyxa*'nın Gram negatif ve Gram pozitif strainlerinin olabileceği bildirilmiştir (Weid *et al*. 2000). Bir başka çalışmada ise; aynı *B. subtilis, B. licheniformis* ve *Bacillus amyloliquefaciens* türlerinin farklı strainleri arasında biyokimyasal testler bakımından farklılıklar olabileceği bildirilmiştir (O'Donnel *et al*. 1980)

Bu çalışmanın amaçlarından biri de marul bitkisinin verimini artırmak olarak belirlenmiş ve bu amaç doğrultusunda PGPR bakteri uygulamaları yapılmıştır. PGPR

bakterilerin, farklı yönleriyle; havanın serbest azotunu toprağa bağlayarak (Çakmakçı *et al.*, 2001; Eşitken *et al.*, 2003), inorganik fosfat kaynaklarını çözerek bitki tarafından kullanılabilir PO_4 oluşumunu sağlayarak (Orhan *et al.* 2006; Aslantaş *et al.* 2007), bitki patojenlerini inhibe ederek (Cuppels *et al.* 1999; Kotan *et al.* 1999; Şahin *et al.* 2000), büyüme hormonları sentezleyerek (Aslantaş *et al.* 2007) bitkilere faydalı oldukları bildirilmiştir.

Azot dünyanın hemen her yerinde noksanlığı duyulan üretimi sınırlayan temel bitki besin maddesidir. Tüm canlı formların temelini oluşturan protein ve nükleik asitlerin esas kısmını azot oluşturur. Ancak N_2 biyolojik sistemler tarafından doğrudan kullanılamaz. Kimyasal gübre üretimi ise yenilenemez kaynakların kullanımına bağlı olup yüksek enerji gerektiren ve sürdürülebilir olmayan bir prosestir (Çakmakçı 2005). Bu yüzden havanın serbest azotunu toprağa bağlayan bakteriler büyük önem kazanmıştır. Bu çalışmada da kullanılan PGPR bakterilerin tamamının azotu fikse etme yeteneğinde oldukları belirlenmiştir. Bu açıdan kullanılan bakterilerin azot fiksasyonu ile bitkilere fayda sağlayacağı düşünülmektedir. Ancak arazide, farklı bitki ve toprak koşullarında daha detaylı araştırtmalar yapılması gerekmektedir.

Bitkiler metabolizma olaylarında fosfata da büyük ölçüde ihtiyaç duyarlar. Nükleik asitler, fosfolipidler ve ATP gibi moleküllerin yapısında bulunmalarının yanı sıra metabolik olayların düzenlenmesinde de rol alırlar (Smith *et al.* 2003). Bu yüzden fosfat, eksikliğinde suni gübreleme yoluna gidilen bir besin elementidir. Ancak toprağa gübre olarak verilen fosfatın büyük bir kısmının hızlı bir şekilde immobilize olduğu ve bitkiler tarafından alınamadığı bilinmektedir. Bu yüzden fosfatın topraktaki çözünmeyen ve sabit formlarının yarayışlı hale getirilmesi topraktan alınabilen fosfat miktarlarının artmasında çok önemli olduğu, fosfatı çözebilen bakterilerin de topraktan alınabilen fosfat miktarının artmasına yardımcı olduğu bildirlmiştir. (Metha and Nautiyal 2001; Canbolat *et al.* 2006). Bu çalışmada kullanılan PGPR bakterilerin tamamı fosfatı az ya da çok çözme yeteneğinde olup her biri için bu miktarlar hesaplanmıştır. *P. agglomerans* strainlerinin genel olarak *Bacillus* strainleri ve *P. polymyxa*'dan daha fazla fosfat çözdüğü tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada da *P.*

agglomerans strainlerinin çözebildiği fosfat miktarının *Ralstonia picketii* ve *Serretia* sp. ile kıyaslandığında daha fazla olduğu bildirilmiştir (Perez *et al.* 2007). Yine farklı bir çalışmada *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*'in çözebildiği fosfat miktarları µg ml^{-1} P olarak hesaplanmış, bunlar arasında fosfatı en fazla çözen bakterinin *B. megaterium* olduğu bildirilmiştir (Çakmakçı *et al*. 2007b). Yapılan bu çalışmada da *B. megaterium* KBA-10, test edilen *Bacillus*'lar arasında fosfatı en çok çözen strain olarak tespit edilmiştir. Strainlerin çözebildiği fosfat miktarları ile içerdikleri yağ asidi oranları arasında herhangi bir ilişki bulunamazken, Gram pozitif bakterilerin kullandığı karbon kaynakları göz önünde bulundurulduğunda, diğer bakterilerin kullanmadığı bazı karbon kaynaklarını kullanabilen *P. polymyxa* KBA-2 (inulin, α-D-lactose, lactulose, D-melibiose, β-methyl-D-galactoside ve D-raffinose) ve *B. megaterium* KBA-10 (D-galacturanic acid) strainleri fosfatı en çok çözen strainler olmuştur. Yine Gram negatif bakterilerin kullandıkları karbon kaynakları ile fosfat çözme yetenekleri arasında herhangi bir bağlantı bulunamamıştır.

Azotu fikse etme ve fosfatı parçalama yetenekleri doğrultusunda seçilen PGPR bakterilerin tek ve kombinasyon uygulamalarında başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Kombinasyon uygulamaları fosfatı çözme yeteneği en fazla olan *P. agglomerans* RK-126 ve RK-134 ile yine fosfatı çözme yeteneği en fazla olan *P. polymyxa* KBA-2 ve *B. megaterium* KBA-10 strainleri ile yürütülmüştür. Bu uygulamalar kontrol ile mukayese edildiğinde tüm parametrelerde üstünlük sağladıkları görülmüş, ancak yaprak sayısı kök uzunluğu ve gövde ağırlığı parametrelinde elde edilen artış istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Aynı zamanda yaprak sayılarındaki farklılıklar hiçbir uygulama için önemli bulunmazken, kök uzunluklarında sadece azot uygulamasının sağladığı artış önemli bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada (Şahin *et al*. 2004) *Bacillus* OSU-140, *Bacillus* OSU-142 ve *Bacillus* M-13 izolatları arpa ve şeker pancarı bitkilerine tek ve kombine halde uygulanmıştır. Çalışma sonucunda tüm uygulamalar kontrollere nazaran önemli artışlar sağlarken, nispeten daha başarılı kombinasyon uygulamaları göze çarpmıştır. Ancak kombinasyonlar kendi aralarında değerlendirildiğinde, tekli uygulamlara nazaran parametrelerin tamamında önemli artışlar meydana getirmemiştir. Elde edilen veriler bu çalışmanın sonuçları ile örtüşmüştür. Ayrıca Şahin ve arkadaşları

tarafından yapılan çalışmada kullanılan tüm strainler aynı cinse (*Bacillus*) mensupken, bu çalışmada kombinasyon uygulamaları farklı cinslere mensup (*Bacillus*, *Paenibacillus*, *Pantoea*) strainleri içermiştir. Buradan hareketle bu çalışmada kombinasyon için kullanılan strainlerin birbirlerinin gelişimi üzerine negatif etkide bulunmuş olabileceği düşünülmektedir. Gövde ağırlığında PGPR olarak önemli tek artışı sağlayan *B. megaterium* KBA-10 aynı zamanda *Bacillus* strainleri arasında fosfatı en fazla çözebilen bakteridir ve sağladığı artışın suni gübre uygulamalarına çok yakın olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle marulun gövde kısmından faydalanılan bir bitki olması göz önünde bulundurulduğunda, bu strainin marul bitkisi için özellikle organik yetiştiricilikte başarılı bir şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir. Çakmakçı (2007b) ve arkadaşları da *B. megaterium* RC07'yi yine gövde kısmından yararlanılan ıspanak bitkisinde başarı ile kullanılmıştır. *P.agglomerans* strainlerinin PGPR olarak kullanıldığı bir çalışmada (Bonaterra *et al.* 2003) *Prunus* cinsine ait farklı bitkilerde, bitki boyu ve kök ağırlığında önemli artışlara neden olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan *P.agglomerans* strainlerinin etkinlikleri incelendiğinde RK-134 ve RK-205 bakterilerinin kök ağırlığı ve toplam ağırlıkta, strain KBA-8'in ise yalnızca kök ağırlığında istatistiki olarak önemli bir artışa sebep olduğu belirlenmiştir. Aslında çözebildikleri fosfat miktarı bakımından *Bacillus sp.* ve *P. polymyxa*'dan daha üstün olan *P. agglomerans* strainleri olmasına karşın en önemli artış *B. megaterium* KBA-10' dan elde edilmiştir. Bunun, *Bacillus* grubu strainlerin bitki kök rizosferinde daha iyi kolonize olması ve olumsuz koşullara daha dayanıklı olması nedeniyle gösterdikleri yüksek aktiviteye bağlı olduğu düşünülmektedir. Zaten *P. agglomeranslar* kendi aralarında değerlendirildiğinde faydalı olduğı düşünülen strainlerin (KBA-8, RK-134, RK-205) fosfat çözme yeteneklerinin genel itibari ile strainlerin birçoğundan fazla olduğu görülmüştür. Ancak artışların aksine *P. agglomerans* RK-126 kök ağırlığı, *P. agglomerans* RK-32, RK-72, RK-77, RK-92 ve RK-126 gövde ağırlığı ve *P. agglomerans* RK-32, RK-72 ve RK-126 ise toplam ağırlık parametrelerinde istatistiki olarak önemli bulunmayan düşüşlere neden olmuştur. Bu düşüşün bitki-bakteri arasındaki interaksiyon ve bakteriler tarafından üretilen maddelerin miktarına bağlı olduğu sanılmaktadır. Nitekim Barazani ve Friedman (1999) İsrail'de yaptıkları çalışmada strainlerin yararlı (PGPR) veya zararlı (DRB; deleterious rizobacteria) etkilerinin ürettikleri oksin maddelerinin miktarına bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Marul bitkisi üzerinde yürütülen çalışmada fazla miktar indol asetik asit (IAA) üreten *Micrococcus luteus, Streptoverticillium* sp., *Gluconobacter* sp. ve *Pseudomonas putida* bakterilerinin inokulasyonu ile kök gelişiminin baskılandığı, *Agrobacterium* sp., *Alcaligenes piechaudii, Comamonas acidovorans* gibi indol asetik asiti diğerlerine nazaran daha düşük seviyelerde üreten bakterilerin inokulasyonu ile bitki gelişimin tetiklendiği bildirilmiştir. Bu çalışmada strainlerin IAA üretimlerine ilişkin bir araştırma yapılmamasına karşın *P. agglomerans* strainlerinin IAA üretebildikleri daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Sergeeva *et al.* 2007; Chou *et al.* 2002).

PGPR uygulamalarının bazı besin elementlerinin alımını teşvik ettiği ve dolaylı olarak fitopatojenik organizmaları engellediği, bunun yanı sıra bitkilerin fiziksel ve biyokimyasal olarak etkilenmeleri sonucu dayanıklılık meydana getirebildikleri bildirilmiştir (Çakmakçı 2005). Bu çalışmada kullanılan PGPR bakterilerin hastalık gelişimi üzerine etkilerine bakıldığında tüm uygulamaların hastalık şiddetinde düşüşe neden olduğu ve *P.agglomerans* RK-72 ve RK-77 dışında uygulamaların meydana getirdiği düşüşün istatistiki olarak önemli olduğu görülmüştür. Zaten *P. agglomerans* yoğun olarak kullanılan bir biyolojik mücadele ajanıdır. Yapılan bir çalışmada *P. agglomerans,* ateş yanıklığı etmeni *Erwinia amylovora* bakterisine karşı kullanılmış ve yanıklık simptomlarının %63-76 oranında azaltıldığı belirtilmiştir (Ozaktan and Bora 2004). Yine başka bir çalışmada *P. agglomerans,* muzda kahverengi kök çürüklüğüne neden olan *Colletotrichum musae* ve *Botryodiplodia theobromae*'ye karşı kullanılmış, sonuçta *P. agglomerans*'ın hastalığı büyük oranda baskıladığı bildirilmiştir (Gunashinghe *et al.* 2004). Farklı bir çalışmada (Han *et al.* 2000) *P. agglomerans*'ı turpta yaprak lekelerine neden olan *Xanthomonas campestris* pv. *armoraciae*'ya karşı kullanılmıştır. Araştırmacılar *P. agglomerans*'ın simptom oluşumunu baskıladığını ve bitkiye uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR) sağladığını öne sürmüşlerdir. Yine *P. agglomerans*'ın biyokontrol mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik yapılan bir çalışmada demir (Fe^{+3}) iyonları yönünden rekabete girdiği ve bitkilerin SAR mekanizmasını harekete geçirdiği bildirilmiştir (Kim *et al.* 1998). Kotan (2002)'da yaptığı çalışmada *P. agglomerans* strainlerini *Erwinia amylovora* ve *P. syringae* pv. *syringae*'nin mücadelesinde kullanmış ve başarılı sonuçlar elde etmiştir. Elde edilen

veriler bu çalışmaların sonuçları ile örtüşmüştür. Simptom gelişimine izin vermeyen *P. agglomerans* RK-198'in marul bitkisinde dayanıklılık gelişimini tesis ederek, hastalık oluşumunu engellediği düşünülmektedir. *P. agglomerans* KBA-8 ve *B. megaterium* KBA-10'da hastalık şiddetini önemli oranda azaltan strainlerden olmuştur. Yapılan bir çalışmada *B. megaterium* çay bitkisinde kahverengi kök çürüklüğüne neden olan Fomes *lamaoensis*'e karşı kullanılmıştır. Toprağa yapılan *B. megaterium* uygulaması ile hastalığın önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Çalışmada aynı zamanda, kökte *B. megaterium* kolonizasyonunun ardından patojen inoklasyonu yapılmış ve çay bitkisinde meydana gelen biyokimyasal değişimler incelenmiştir. Sonuçta bitki savunma mekanizmasıyla ilgili peroksidaz, kitinaz, β-1,3-glukanaz gibi enzimlerin üretiminin arttığı görülmüştür (Chakraborthy *et al.* 2006). *B. megatrium* KBA-10 için bu doğrultuda bir araştırma yapılmamış olsa da, marul bitkisinin dayanıklılık mekanizmasını harekete geçirdiği düşünülmektedir. Yapılan bir çok çalışmada da bazı *Bacillus* strainlerinin bitki büyümesini teşvik edici etkilerinin yanı sıra bakteriyel ve fungal patojenlere karşı potansiyel biyokontrol ajanları oldukları belirtilmiştir (Cuppels *et al.* 1999; Kotan *et al.* 1999; Sahin *et al.* 2000; Çakmakçi *et al.* 2001; Eşitken *et al.* 2003; Compant *et al.* 2005; Young *et al.2006*; Orhan *et al.* 2006; Aslantaş *et al.* 2007).

X. axonopodis pv. *vitians* tohumla taşınabilen bir bakteri olduğu için in-vitro testlerle potansiyel biyoaajan bakteriler seçilerek tohum dezenfeksiyon çalışmaları yapılmıştır. İn- vitro testler sonucunda *P. agglorans* RK-32, *B. megaterium* KBA-10 ve *P. polymyxa* KBA-2'nin antibiyotik üreterek, *Bacillus subtilis* KBA-1 ve KBA-4, *B. atrophaeus* KBA-5 ve KBA-6, *B.cereus* KBA-7, *P. agglomerans* KBA-8 ve KBA-9'un ise hiperparazitik etkilerle patojene karşı etkili olduğu görülmüştür. *P. polymyxa*'nın iki farklı tipte antibiyotik ürettiği, bunlardan polymyxin grubu antibiyotiklerin (polymyxin, circulin ve colistin) yalnız Gram negatif bakteriler üzerinde etkili olduğu,. fusaricidin grubu antibiyotiklerin ise Gram pozitif bakteriler ve funguslar üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Raza *et al.* 2008). Buradan hareketle bu çalışmada kullanılan *P. polymyxa* strainin polymyxin grubu bir antibiyotik ürettiği düşünülmektedir. *P. agglomerans* strainlerinin de pantocin A ve B, phenazine gibi antibiyotikler ürettiği ve bu antibiyotiklerin *E. amylovora*'ya karşı kullanıldıkları, yine microsin antibiyotiğini

üretebildikleri bildirilmiştir (Wright *et al.* 2001; Hale and Mitchell 2002; Giddens *et al.* 2003). *B. megaterium*'un da bacteriosin ve penicillin G acylase (PAG) antibiyotiklerini üretebildiği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Aslım *et al.* 2002; Pinotti *et al.* 2002).

Yapılan tohum dezenfeksiyon çalışmalarında dikkate değer sonuçlar elde edilmiştir. En dikkat çekici sonuç *P. agglomerans* RK-32 straininin tek başına uygulandığında çimlenmeyi artırıcı etkisinin yanında patojenle birlikte uygulandığında bitkilerde hastalık oluşumunu büyük oranda engellemesidir. Patojenle birlikte tatbik edildiğinde kotrol olarak kullanılan yalnız patojen uygulamasına kıyasla çimlenen tohum sayısında çok küçük bir düşüşe neden olsa da bu düşüş istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Yapılan bir çalışmada da *P. agglomerans*, fasülye bakteriyel solgunluk etmeni *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens*'e karşı tohum dezenfeksiyonunda kullanılmış ve simptom gösteren tohum sayısını %56 oranında azaltmıştır (Huang *et al*. 2007). Elde edilen veriler bu çalışmanın sonucunu destekler mahiyette bulunmuştur. Strainlerin gerek çimlenme gerekse hastalıklı bitki sayıları üzerine farklı yönlerde etkileri görülmüştür. Kontrol (TSB) ve yalnız biyoajan uygulamalarında *P. polymyxa* KBA-2, *B. atrophaeus* KBA-5, *P. agglomerans* KBA-8 ve KBA-9' un çimlenen tohum sayılarında, *P. polymyxa* KBA-2 ve *B. atrophaeus* KBA-5'in sağlıklı bitki sayılarında meydana getirdikleri düşüş istatistiki olarak önemli bulunurken, patojen + biyoajan uygulamalrında bu bakterilerden yalnız *B. atropaheus* KBA-5'in çimlenen tohum sayılarında meydana getirdiği düşüş önemli bulunmuştur. Aynı zamanda patojenle birlikte uygulandıklarında hastalıklı bitki sayılarında önemli miktarda düşüş meydana getirdikleri gözlemlenmiş ve bu düşüşlerin tamamı istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Özellikle *P. polymyxa* KBA-2'nin sağladığı etkinliğin *P. agglomera*ns RK-32'ye denk olduğu görülmüştür. Uygulamalar arasındaki bu farklılıkların bakterilerin ürettiği sekonder metabolitlerin farklı durumlarda değişebilmesine bağlı olduğu düşünülnektedir. Kısaca bazı biyoajanların patojen varlığında ürettikleri sekonder metabolitleri, patojenin yokluğunda üretmedikleri ve bu metabolitlerin, patojeni elemine etmenin yanı sıra, tohum çimlenmesi üzerine de olumlu etkileri olduğu sanılmaktadır.

Sonuç olarak bu çalışma ile kontrollü şartlar altında marul yaprak leke hastalığının gelişimi üzerine etkili olan ve aynı zamanda PGPR bakteri olarak kullanılarak verim ve kalite artışı sağlayacak strainler tespit edilmiştir. Özellikle *B. megaterium* KBA-10'un bu amaçla tek başına kullanılabileceği düşünülmektedir. Öte yandan PGPR olarak etkinliği fazla bulunmayan ancak hastalık gelişimini engellemede büyük başarı sağlayan *P. agglomerans* KBA-8 ve RK-198 strainlerinin de kombinasyon uygulamalarına dahil edilerek tatbiklerinin başarılı sonuçlar vereceği, bunun yanı sıra tohum dezenfeksiyon çalışmalarında avantajları görülen *P. agglomerans* RK-32'nin bu amaçla kullanılabileceği düşünülmektedir. Ancak bu strainler ve kombinasyonlarının arazi şartlarında denenerek etkinliklerinin araştırılması gerekmektedir. Bu aşamadan sonra etkili bulunan strainlerin tek veya kombine halde arazi koşullarında denenmesi amaçlanmaktadır.

KAYNAKLAR

Abusham, R. A., Rahman, R. N. Z., Saleh, A. B and Basri, M., 2009. Optimization of physical factors affecting the production of thermo-stable organic solvent-tolerant protease from a newly isolated halo tolerant *Bacillus subtilis* strain Rand. Microbial Cell Factories, 8(20), 1-9.

Adaskaveg, J. E. and Hine, R. B., 1985. Copper tolerance and zinc sensitivity of Mexician strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria,* causal agent of bacterial leaf spot of pepper. Plant Disease, 69, 993-996.

Aktaş, L. Y. and Güven, A., 2005. Bitki savunma sistemlerinde hormonal sinyal moleküller ve çapraz iletişimleri. Çankaya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Journal of Arts and Sciences. 3, 1-12.

Aliye, N., Fininsa, C. and Hiskias, Y., 2008. Evaluation of rhizosphere bacterial antagonists for their potential to bioprotect potato (*Solanum tuberasum*) against bacterial wilt (*Ralstonia solanacerum*). Biological Control, 47, 282-288.

Al-Saleh, M. and İbrahim, Y., 2009. First report of bacterial leaf spot of lettuce (Lactuca sativa) *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* in Saudi Arabia. Plant Disease, 93(1), 107.

Anonim, 2002. Türkiye'de Zirai Mücadelenin Dünü Bugünü ve Geleceği, Tarım ve Köyişleri Bak. Kor ve Kont. Gen. Müd., 1s, Ankara.

Anonim, 2009. Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK), Bitkisel üretim istatistikleri. http://www.tuik.gov.tr (24. 03.2009)

Anonymous, 2007. Food and Agricultural Organization (FAO). http://www.fao.org (24.03.2009)

Anonymous, 2009. Catalogue of life: 2009 annual checklist. http://www.catalogueoflife.org (28.04.2009).

Arkhipova, T. N., Veselov, S. U., Melentiev, A. I., Martynenko, E.V., Kudoyarova, G. R., 2005. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. Plant Soil, 272, 201-209.

Aslantaş, R., Çakmakçi, R. and Şahin, F., 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. Scientia Horticulturae, 111, 371-377.

Aslım, B., Sağlam, N. and Beyatlı, Y., 2002. Determination of some properties of *Bacillus* isolated from soil. Turkish Journal of Biology., 26, 41-48.

Aybak, H. Ç., 2002. Salata / Marul Yetiştiriciliği. Hasad Yayıncılılık, 9 s, İstanbul

Aysan, Y. ve Çınar, Ö., 2005. Tohum kökenli *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı antagonistlerin etkisi. Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, Erzurum.

Baird, R. E. and Gitaitis, R. D., 1997. First report of cotton lint rot by *Pantoea agglomerans* in Georgia. Plant Disease., D-1997-0326-01N.

Banchio, E., Bogino, P. C., Zygadio, J. and Giordano, W., 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. Biochemical Systematics and Ecology, 36, 766-771.

Barak, J. D., Koike, S. T. and Gilbetson, R. L., 2002. Movement of *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* in the stems of lettuce and seed contamination. Plant Pathology, 51, 506-512.

Barazani, O. and Friedman, J., 1999. Is IAA major root growth factor secreted from plant-growth mediating bacteria? Journal of Chemical Ecology., 25(10), 2397-2406.

Barton, C. J., 1948. Photometric analysis of phospate rock. Analytical Chemistry, 20(11), 1068-1073.

Boesewinkel, H. J., 1977. A new disease of lettuce. New Zeland Journal of Agricultural Research., 134, 54.

Bonaterra, A., Ruz, L., Bodosa, E., Pinochet, J. and Montesinos, E., 2003. Growth promotion of *Prunus* rootstocks by root treatement with spesific bacterial strains. Plant and Soil, 255, 555-569.

Bora, T. ve Özaktan, H., 1998. Bitki Hastalıkları İle Biyolojik Savaş. Prizma Matbaası, 95 s, İzmir.

Braun-Kiewnick, A., Jacobsen, B. J. and Sands, D. C., 1997. Possible biocontrol mechanisms in the *Pseudomonas syringae-Pantoea agglomerans* interaction. Phytopathology, 87, 11.

Braun-Kiewnick, A., Jacobsen, B. J. and Sands, D.C., 2000. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, the causal agent of basal kernel blight of barley, by antagonistic *Pantoea agglomerans*. Phytopathology, 90, 368-375.

Brown, N.A., 1918. Some bacterial diseases on lettuce. Journal of Agricultural Research, 13, 367-388.

Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E., 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th ed., Williams and Wilkins Company, 1269, Baltimore.

Bull, C.T. and Koike, S.T., 2005. Evaluating the efficiacy of commercial products for management of bacterial leaf spot lettuce on lettuce. Plant Health Progress, november, 1-7.

Byrne, J. M., Dianese, A. C., Ji, P., Campbell, H. L., Cupples, D. A., Louws, F. J., Miller, S. A., Jones, J. B. and Wilson, M., 2005. Biological control of bacterial spot of tomato under field conditions at several locations in North America. Biological Control. 32, 408-418.

Canbolat, M., Bilen, S., Çakmakçı, R., Şahin, F. And Aydın, A., 2006. Effect of plant growth promoting rhizobacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. Biology and Fertility of Soils, 42, 350-357.

Cartieaux, F., Contesto, C., Gallou, A., Desbrosses, G., Kopka, J., Taconnat, L., Renou, J.P. and Touraine, B., 2008. Stimultaneous interaction of Arabidiopsis thaliana with Bradiyrhizobium sp. strain ORS278 and Pseudomunas syringae pv. tomato DC3000 leads to complex transcriptome changes. Molecular Plant-Microbe Interactions, 21(2), 244-259.

Chakraborthy, U., Chakraborthy, B. and Basnet, M., 2006. Plant growth promotion and induction of resistance in *Camellia sinensis* by *Bacillus megaterium.* Journal of Basic Microbiology., 46(3), 186-195.

Chou, J. C., Mulbry, W. W. and Cohen, J. D., 2003. N-carbobenzyloxy-D-aspartic acid as a competitive inhibitor of indole-3-acetyl-L-aspartic acid hydrolase of *Enterobacter agglomerans*. Plant Growth Regulation, 37, 241-248.

Chung, S., Kong, H., Buyer, J. S., Lakshman, D.K., Lydon, J., Kim, S.D. and Roberts, D.P., 2008. Isolation and partial characterization of *Bacillus subtilis* ME-488 for supression of soilborne pathogens of cucumber and pepper. Applied Microbiology and Biotechnology., 80, 115-123.

Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C. and Barka, E. A., 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects, Applied and Environmental Microbiology, 71 (9), 4951-4959.

Costa, E., Teixido, N., Usall, J., Atares, E. and Vinas, I., 2001. Production of the biocontrol agent *Pantoea aglomerans* strain CPA-2 using commercial products and by-products. http://link.springer.de/link/service/journals/00253/contents/…/s002530100666ch100.htm.

Cuppels, D., Sahin, F. and Miller, S.A., 1999. Management of Bacterial Spot of Tomato and Pepper Using A Plant Resistance Activator in Combination with Microbial Biocontrol Agents, Phytopathology 89, 19.

Çakmakci, R., Kantar, F. ve Sahin, F., 2001. Effect of N_2-fixing Bacterial Inoculations on Yield of Sugar Beet and Barley, Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 164**,** 527–531.

Çakmakçı, R., 2002**.** Azot Fiksasyonu ve Fosfat Çözücü Bakteri Aşılamalarının Şeker Pancarı Verim ve Kalitesine Etkisi. II. Şeker Pancarı Üret. Semp., Verim, Kalit. Yük., 257-270.

Çakmakçı, R., 2005. Bitki gelişimini teşvik eden rizobakterilerin tarımda kullanımı. Atatürk Üniviversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 36(1), 97-107.

Çakmakçı, R., Dönmez, M. F. and Erdoğan, Ü., 2007a. The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on barley, seedling growth, nutrient uptake, some soil properties and bacterial counts. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 31, 189-199.

Çakmakçı, R., Erat, M., Erdoğan Ü. and Dönmez, M. F., 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.

Çakmakçi, R., Dönmez, F., Aydın, A., Şahin, F., 2006. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions Soil Biology & Biochemistry, 38 (6), 1482-1487.

Çakmakçi, R., Kantar, F., Algur, Ö.F., 1999. Sugar beet and barley yield in relation to *Bacillus polymyxa* and *Bacillus megaterium* var. phosphaticum inoculation. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 162, 437-442

Dadaşoğlu, F., 2007. Sera ve Tarla Zararlılarına Karşı Etkili Biyoajan Bakteri Strainlerinin İzolasyonu ve Tanısı. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 92 s, Erzurum.

Davies, J., 1994. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. Science, 264, 375-382

De Freitas, J. R., 2000. Yield and N assimilation of winter wheat (*Triticum aestivum* L., var Norstar) inoculated with rhizobacteria. Pedobiologia 44, 97-104.

Delaney, T.P., Uknes, S., Vernooiji, B., Friedrich, L.,Weymann, K., Negrotto, D., Gaffney, T., Gut-Rella, M., Kessman, H., Ward, E. and Ryals, J., 1994. A central role of salicylic acid plant disease resistance. Science, 226, 1247-1249.

Dey, R., Pal, K. K., Bhatt, D. M., Chauhan, S. M., 2004. Growth promotion and yield

enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.)by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Microbiological Research 159, 371-394.

Dikbaş, N., Kotan, R. ve Dadaşoğlu, F., 2009. İçme sularından izole edilen bakterilerin tanısı ve yağ asidi metil esterleri ile antibiyotik duyarlılıkları arasındaki ilişkinin belirlenmesi. Gıda, 34(4), 225-230.

Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y., Vanderleyden, J., 2002. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. Biology and Fertility of Soils 36, 284-297.

Elena, K., Alivizatos, A.S. and Varveri, C., 2008. New plant pathogens reported in Greece, 1990-2007. Hellenic Plant Protection Journal, 1(1), 1-25.

Esitken, A., Karlidag, H., Ercisli, S., Turan, M. ve Sahin, F., 2003. The effect of spraying a growth promoting bacterium on the yield, growth and nutrient element composition of leaves of apricot (*Prunus Armeniaca* L. Cv. Hacihaliloglu). Austuralian Journal of Agricultural Research, 54, 377–380.

Fahy, P. C. and Hayward, A. C., 1983. Media and methods for isolation and diagnostic tests. plant bacterial disease. Academic Press, 337-378, Sydney.

García de Salamone, I. E., Hynes, R. K., Nelson, L. M., 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. Canadian Journal of Microbiology, 47, 404-411.

Gavini, F., Mergaert, J., Beji, A., Mielcarek, C., Izard, D., Kersters, K. and De Ley, J., 1989. Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglornerans* comb. nov. and Description of *Pantoea dispersa* sp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology, 39(3), 337-345.

Giddens, S. R., Houliston, G. J. and Mahanty, H. K., 2003. The influence of antibiotic production and pre-emptive colonization on the population dynamics *of Pantoea agglomerans* (*Erwinia herbicola*) Eh1087 and *Erwinia amylovora* in planta. Enviromental Microbiology, 5(10), 1016-1021.

Gitaitis, R. D., 1997. First report of a leaf blight, seed stalk rot and bulb decay of onion by *Pantoea ananas* in Georgia. Plant Disease, D-1997-0731-02N.

Glick, B.R., Karaturovíc, D.M., Newell, P.C., 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. Canadian Journal of Microbiology, 41, 533-536.

Gunasinghe, R. N., Ikiriwattw, C. J. and Karunaratne, A. M., 2004. The use of *Pantoea agglomerans* and Flavobacterium sp to control banana pathogens. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 79(6), 1002-1006.

Guo, J. H., Qi, H. Y., Guo, Y. H., Ge, H. L., Gong, L. Y., Zhang, L. X. and Sun, P. H., 2003. Biocontrol of tomato wilt by plant growth promoting rhizobacteria. Biological Control, 29, 66-72.

Gutiérrez-Mañero, F. J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouachi, J., Tadeo, F. R., Talon, M., 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. Physiologia Plantarum, 111, 206- 211.

Hale, C. and Mitchell, R., 2002. The peptide antibiotic produced by *Pantoea agglomerans* Eh252 is a microcin. Proceedıngs Of The 9 th Internatıonal Workshop On Fire Blight, New Zeland.

Han, D. Y., Coplin, D. Y., Bauer, W. D. and Hoitink, P. A. J., 2000. Techniques a rapid bioassay for screening rhizosphere microorganisms for their ability to induce systemic resistance. Phytophatology, 90(4), 327-332.

Han, J., Sun, L., Dong, X., Cai, Z., Sun, X., Yang, H., Wang, Y. and Song, W., 2005. Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain Delftia tsuruhatensis HR4 broth as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. Systematic and Applied Microbiology, 28, 66-76.

Hendelsman, J. and Stabb, E.V., 1996. Biocontrol of soilborne plant pahhogenes. The Plant Cell, 8, 1855-1869

Hoda, H., Mohamed, E. O. and Noha, M. S., 2005. Biological control of bacterial spot of tomato caused by *Xanthomonas canpestris* pv. *vesicatoria* by *Rahnella aqualitis*. Microbiological Research, 160, 343-352.

Huang, H. C., Erickson, R. S. and Hsieh, T. F., 2007. Control of bacterial wilt of bean (*Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*) by seed treatment with *Rhizobium leguminosarum*. Crop Protection, 25, 1055-1061.

Jeon, J. S., Lee, S. S., Kim, H. Y., Ahn, T. S. and Song, H. G.., 2003. Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. Journal of Microbiology, 41, 271- 276.

Ji, P., Campbell, H. L., Kloepper, J. W., Jone, J. B., Suslov,T. V. and Wilson, M., 2006. Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth promoting rhizobacteria. Biological Control, 36, 558-367.

Kamal, A. M. and Hoda, H., 2008. Integration of *Pseudomonas flourescens* and acibenzolar-S-methyl to control bacterial spot disease of tomato. Crop Protection, 27, 1118-1124.

Kim, K. Y., Jordan, D. and McDonald, G. A., 1998. *Enterobacter agglomerans* phosphate solubilizing bacteria and microbial activity in soil: effect of carbon sources. Soil Biology and Biochemistry, 30, (8-9), 995-1003.

Klement, Z., Farkas, G. L. and Lovrekovich, L., 1964. Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. Phytopathology, 54, 474-477.

Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D. C., 1990. Methods in phytopathology. Akademiai Kiado, 153-180, Budapest.

Kokalis-Burelle, N., 2003. Effects of transplant type, plant growth-promoting rhizobacteria, and soil treatment on growth and yield of strawberry in Florida. Plant Soil, 256, 273-280.

Kotan, R., Sahin, F., Demirci, E., Ozbek, A., Eken, C. and Miller, S.A., 1999. Evaluation of Antagonistic Bacteria for Biological Control of *Fusarium* Dry Rot of Potato. Phytopathology, 89, 41.

Kotan, R. 2002. Doğu Anadolu Bölgesinde Yetiştirilen Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarından İzole Edilen Patojenik ve Saprofit Bakteriyel Organizmaların Klasik ve Moleküler Metodlar ile Tanısı ve Biyolojik Mücadele İmkanlarının Araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 217 s, Erzurum.

Kotan, R**.** ve Karagöz, K. 2008. Yumuşak çekirdekli meyvelerden izole edilen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strainlerin streptomycin sülfata karşı duyarlılıkları ile yağ asidi metil esterleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 3(2), 60-67.

Kotan, R. ve Şahin, F., 2002. Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede bakteriyel organizmaların kullanılması. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Der., 33(1), 111-119.

Kotan, R., 1998. Biber ve domatesteki bakteriyel leke hastalığı (Xanthomonas campestris pv. vesicatoria (Doidge) Dye.)' nın biyolojik ve kimyasal kontrolü. Yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, 38 s, Erzurum.

Kotan. R**.,** Sahin, F. and Ala, A., 2005. Identification and pathogenicity of bacteria isolated from pome fruits trees in eastern Anatolia region of Turkey. Journal of Plant Diseases and Protection, 113 (1), 8-13.

Kovacs, N., 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. Nature, London, 170,173.

Küsek, M., Mirik, M. and Aysan, Y., 2005. Marul tohumlarında *Xanthomonas campestris* pv. *vitians*'ın aranması ve mücadelesi üzerine çalışmalar. Türkiye 2. Tohumculuk Kongresi, Adana.

Lelliot, R. A. and Stead, D. E., 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Black Well Scientific Puplication, 157, Oxford.

Leong, J., 1986. Siderefor: Their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. Annual Review of Phytophatology, 24, 187-209.

Logan, N. A. and Berkeley, R. C. W., 1984. Identification of *Bacillus* strains using the API system. Journal of General Microbiology, 130, 1871- 1882.

Mena-Violante, H.G. and Olalde-Portugal, V., 2007. Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. Scientia Horticulturae, 113, 103-106.

Metha, S. and Nautiyal, S., 2001. An effdicient method for qualitative screening of phospate-solubilizing bacteria. Current Microbiology, 43, 51-56.

Miller, I., and Berger, T., 1985. Bacteria identification by gas chromatography of whole cell fatty acids. Hewlett-Packard Gas Chromatography Application Note, Hewlett-Packard Co., Alto, CA., 228-238.

Miller, J. M., James, W., Biddle, W., Virginia, K., Quenzer, K. and James, C. Mc., 1993. Evaluation of biolog for identification of members of the family Micrococcaceae. Journal of Clinical Microbiology, 36, 3170-3173.

Mirik, M., Aysan, Y. and Çınar, Ö., 2008. Biological control of bacterial spot disease of pepper with *Bacillus* Strains. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32, 369-379.

Mirik, M., Aysan, Y., Çetinkaya, R., Şahin, F. and Kotan, R., 2004. An outbreak of bacterial leaf spot disease, caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *vitians*, on lettuce in the mediterranean region of Turkey. 3 rd Balkan Symposium on Vegatables and Potatoes, Bursa.

Montesinos, E. and Vilardell, P., 2001. Effect of bactericides, phosphonates and nutrient amendments on blast of dormant flower buds of pear; a field evolution for disease control, European Journal of Plant Pathology, 107, 787-794.

Naiman, A.D., Latronico, A. and Salamone, I.E.A., 2009. Inoculation of wheat with Azospirillum brasilense and *Pseudomonas flourescens*: impact on the production and culturable rhizosphere microflora. European Journal of Soil Biology, 45, 44-51.

Nikaido, H., 1994. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active afflux. Science, 264, 382-388.

O' Donnel, A. G., Norris, J. R., Berkeley, R. C. W., Claus, D., Kaneko, T., Logan, N. A. and Nozaki, R., 1980. Characterization of *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, and *Bacillus amyloliquefaciens* by pyrolysis gas-liquid chromatography, deoxyribonucleic,-deoxyribonucleic acid hybridization, biochemical tests and API systems. International Journal of Systematic Bacteriology, 30(2), 448-459.

Ohata, K., Tsuchiya, Y. and Shirata, A., 1979. Difference in kinds of pathogenic bacteria causing head rot of lettuce different cropping types. Ann. Phtythopathol. Soc. Jpn., 45, 333-338.

Oldaç, Ş., Ülke, G. ve Mirik, M., 2002. Domates bakteriyel leke hastalığına (*Xanthomonas campestris* pv. v*esicatoria*). Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, Erzurum.

Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M. and Sahin, F., 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. Scienta Horticulture, 111, 38–43.

Ozaktan, H. and Bora, T., 2004. Biological control of fire blight in pear orchards with a formulation of *Pantoea agglomerans* strain Eh 24. Brazilian Journal of Microbiology, 35(3), 224-229.

Pal, S. S., 1998. Interaction of an acid tolerant strain of phosphate solubilizing bacteria with a few acid tolerant crops. Plant Soil, 198, 169-177.

Paul, D. and Nair, S., 2008. Stress adaptations in a Plant Growth Promoting Rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. Journal of Basic Microbiology, 48, 378-384.

Perez, E., Sulbaran, M., Ball, M. M. and Yarzabal, L. A., 2007. Isolation and characterization of mineral phospatr-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the South-eastern Venezuelan region. Soil Biology and Biochemistry, 39, 2905-2914.

Pernezny, K., Nagata, R., Havranek, N. and Sanchez, J., 2008. Comparsion of two culture media for determination of the copper resistence of *Xanthomonas* strains and their usefulness for prediction of control with copper bactricides. Crop Protection, 27, 256-262.

Pinotti, L. M., Silva, R. G., Giordano, R. C. and Giordano, R. L. C., 2002. Inoculum studies in production of penicillin G acylase by *Bacillus megaterium* ATCC 14945. Applied Biochemistry and Biotechnology, 98, 679-686.

Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam V. and Samiyappan, R., 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. Crop Protection, 20(1), 1-11.

Raza, W., Yang, W. and Shen, Q-R., 2008. *Paenıbacıllus Polymyxa*: antıbıotıcs,hydrolytıc enzymes and hazard assessment. Journal of Plant Pathology, 90(3), 419-430.

Remus, R., Ruppel, S., Jacob, H. J., Hecht-Buchholz, C. and Merbach, W., 2000. Colonization behaviour of two enterobacterial strains on cereals. Biology and Fertility of Soil., 30, 550-557.

Robinson, P.E., Jones, J.B. and Pernezny, K., 2006. Bacterial leaf spot of lettuce: Relationship of temperature to infection and potential host range of *Xanthomonas campestris* pv. *vitians*. Plant Disease, 90(4), 465-470.

Sahin, F. and Miller, S. A., 1997. Identification of the Bacterial Leaf Spot Of Lettuce , *Xanthomonas camperstris* pv. *vitians*, in Ohiao, and Assestment of Cultivar Reisistence and seed Treatment. Plant Disease, 81, 1143-1446.

Sahin, F. and Miller, S. A., 1998. Two new hosts of *Xanthomonas campestris* pv. *vitians*. Plant Disease, 82, 262.

Sahin, F., 1997. Detection ,İdentification and Characterization of Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* by Traditional and Molecular Methods Resistance in *Capsicum* Species *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Pepper Race 6. Doctoral Thesis, Ohio State University, 175 p, Ohio.

Sahin, F., 2000. First report of bacterial spot of lettuce caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* in Turkey. Plant Disease, 84(4), 490.

Sahin, F., Abbasi, P. A., Lewis Ivey, M. L., Zhang, J. And Miller, S. A., 2003. Diversity among strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* from lettuce. Phytopayhology, 93 (1), 64-70.

Sahin, F., Kotan, R., Demirci, E. and Miller, S. A., 2000. Effects of Actigard and Some Antagonists in Biological Control of Bacterial Spot Disease on Tomato and Pepper, Ataturk Univ. J. Faculty Agric., 31, 11–16.

Saygılı, H., 1995. Fitobakteriyoloji. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 203 s, Bornova-İZMİR.

Saygılı, H., Şahin, F. ve Aysan, Y., 2008. Bitki Bakteri Hastalıkları. Meta Basım Mabaacılık Hizmetleri, 317 s, İstanbul

Sergeeva, E., Hirkala, D. L. M. and Nelson, L. M., 2007. Production of indole-3-acetic, aromatic amino acid transferase activities and plat growth promotion by *Pantoea agglomerans* rhizophere isolates. Plant Soil, 297, 1-13.

Shaharoona, B., Naveed, M., Arshad, M. and Zahir, Z.A., 2008. Fertilizer- dependent efficiency of *Pseudomonas* for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L.). Appl. Microbiol. Biotechnol., 79, 147-155.

Sherf, A.F. and Macnab, A.A., 1986. Vegetable disease and their control, A Wiley Interscience Publication, 398, Newyork.

Smith, F. W., Mudge, S. R., Rae, A. L. and Glassop, D., 2003. Phospate transport in plant. Plant and Soil, 248, 71-83.

Spratt, B.G., 1994. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. Science, 264, 388-392.

Stefani, E., Raio, A., Bazzi, C. and Zoina, A., 1994. Identification and grouping of Xanthomonas campestris pv. vitians using SDS-PAGE. Phytophatologia Mediterranea, 33, 99-104.

Stromberg, K.D., Kinkel, L.L. and Leonard, K.J., 2004. Quantifiying the effect of bacterial antagonists on the relationship between phyllosphere population sizes of *Xanthomonas translucens* pv. *translucens* and subsequent bacterial leaf streak severity on wheat seedlings. Biological Control, 29, 58-65.

Sudha, S.N., Jayakumar, R., Sekar, V., 1999. Introduction and expression of the *cry*1*Ac* gene of *Bacillus thuringiensis* in a cereal-associated bacterium, *Bacillus polymyxa*. Current Microbiology, 38, 163-167.

Şahin, F., 1999. Mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanısı (Microbial Identification System). Uygulamalı Moleküler Biyoloji Teknikleri Kursu.

Atatürk Üniversitesi Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, 66, Erzurum-Türkiye.

Şahin, F., Çakmakçı, R. and Kantar, F., 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N_2-fixing and phosphate solubilizing bacteria. Plant Soil 265, 123-129.

Thornley, M. J., 1960. The differentiation of *Pseudomonas* from other gram negative bacteria on the basis of arginin metabolism. Journal of Applied Bacteriology, 23,37-52.

Timmusk, S., Nicander, B., Granhall, U., Tillberg, E., 1999. Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. Soil Biology and Biochemistry, 31,1847-1852.

Tsekelova, E. A., Cherdyntseva, T. A., Botina, S. G. and Netrusov, A. I., 2007. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. Microbiological Research, 162, 69-76.

Verma, S. C., Ladha, J. K. and Tripathi, A. K., 2001. Evaluation of plant growth promoting and colonization and ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. Journal of Biotechnology, 91(2-3), 127-141.

Walley, F. L., and Germida J. J., 1997. Response of spring wheat (*Triticum aestivum*) to interactions between *Pseudomonas* species and *Glomus clarum* NT4. Biology and Fertility of Soils, 24, 365-371.

Wallis, F. M. and Joubert, J. J., 1972. Bacterial spot of lettuce in Natal. Afr. Agric. Sci. South Africa Phytophylactica, 4, 137-138.

Weid, I. V. D.,Paiva, E., Nobrega, A., Elas, J. D. V. and Seldin, L., 2000. Diversity of *Paenibacillus polymyxa* strains isolated from the rhizosphereof maize planted in Cerrado soil. Research in Microbiology, 151, 369-381.

Wright, S. A. I., Zumoff, C. H., Schneider, L. and Beer, S.V., 2001. *Pantoea agglomerans* strain EH318 produces two antibiotics that inhibit *Erwinia amylovora* in vitro. Applied and Enviromental Microbiology. 67(1), 284-292.

Yang, J., Kloepper, J. W. and Ryu, C.M., 2009. Rhizophere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends in Plant Science, 14(1), 1-4.

Yıldırım, E., 2000. Tarımsal Zararlılarla Mücadele Yöntemleri ve Kullanılan İlaçlar. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:219, 1 s, Erzurum.

Yıldız, R.Ç., 2007. Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni[*clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (smith) davis et. al.]'nin Tanılanması Ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler İle Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 191 s, Adana.

Young, C.C., Recha, P.D., Lai, W.A. and Arun, A.B., 2006. Encapsulation of plant growth-promoting bacteria in alginate beads enriched with humic acid. Biotechnology and Bioengineering, 95 (5), 76-83.

Zeller, W. and Wolf, B., 1996. Studies on biological control of fire blight. Acta Horticulture, 411, 341-345.

Zhuang, X., Chen, J., Shim, H. and Bai, Z., 2007. New advances in plant growth promoting rhizobacteria for bioremediation. Enviromental International, 33, 406-413.

ÖZGEÇMİŞ

1981 Yılında Erzurum'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Erzurum'da tamamladı. 2000 Yılında Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitkisel Üretim Bölümün'de üniversite eğitimine başladı. 2004 Yılında aynı fakültenin bitki koruma bölümünden mezun oldu. 2005 Aralık - 2006 mayıs tarihleri arasında vatani görevini tamamladı. 2007 yılında Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalın'da yüksek lisanas eğitimine başladı. Aynı yılın aralık ayında, Fen Bilimleri Enstitüsüne bağlı olarak Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümün'de araştırma görevlisi kadrosuna atandı. Halen aynı birimdeki görevine devam etmektedir.