



Toprakтан izole edilen antagonist bakterilerin *Xanthomonas arboricola pv. juglandis L.* e karşı biyolojik mücadelede kullanımının araştırılması

Muhammed BAYKUS¹ , Irem ALTIN^{2*} 

¹Araştırma Merkezi, Düzce Üniversitesi, Düzce, Türkiye

²Bitki Koruma Bölümü, Ziraat Fakültesi, Düzce Üniversitesi, Düzce, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Makale Geçmişi:
Geliş: 27.06.2024
Kabul: 30.10.2024
Çevrimiçi mevcut: 18.12.2024

Anahtar Kelimeler:
Ceviz
Biyolojik mücadele
Toprak
Xanthomonas arboricola pv. juglandis L.

ÖZET

Bu çalışmada, Düzce ilinin farklı ilçelerinde toprak örnekleri alınmış ve *Xanthomonas arboricola pv. juglandis L.*'e karşı *in-vitro* da biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılmak üzere antagonist aktivite gösteren bakteriler taranmıştır. İzole edilen 10 adet aday antagonist bakteri morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine yönelik farklı tanımlama testlerine tabi tutulmuştur. Antagonistik etkiye sahip olabileceği düşünülen bakteri izolatları saflaştırıldıktan sonra ikili kültür ortamında oluşturdukları inhibisyon zonları 3 tekerrürlü olacak şekilde ölçülmüştür. 10 adet izolatın farklı oranlarda (0,1- 2,1cm) engelleme zonları oluşturdukları tespit edilmiştir. İnhibisyon zonu oluşturmada en etkili izolat 2,1cm ile C1 olurken, G3-1 ve Cal2-1 izolatlarının inhibisyon zonu oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Ancak Cal2-1 izolatı her ne kadar kültür ortamında gelişemese de ortama floresan madde salgılamıştır. Elde edilen sonuçlar *Xanthomonas arboricola pv. juglandis L.* ile mücadelede antagonist bakterilerin biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılabilirliğini göstermiştir. Çalışmada kullanılan izolatların tanımlanması ve *in-vivo* etkinliklerinin belirlenmesine yönelik daha çok çalışma yapılmalıdır.

Investigation of the possibilities of using antagonist bacteria isolated from soil in biological control against *Xanthomonas arboricola pv. juglandis L.*

ARTICLE INFO

Article history:
Received: 27.06.2024
Accepted: 30.10.2024
Available online: 18.12.2024

Keywords:
Walnut
Biological control
Soil
Xanthomonas arboricola pv. juglandis L.

ABSTRACT

Soil samples were taken from different districts of Düzce province and bacteria that could be used as biological control agents against *Xanthomonas arboricola pv juglandis* were screened. The 10 isolated antagonist bacteria were subjected to different identification tests for their morphological and biochemical properties. After the bacterial isolates, which were thought to have an antagonistic effect, were purified, the inhibition zones they formed in the double culture medium were measured in 3 replicates. It was determined that 10 isolates formed inhibition zones at different rates (0.1-2.1 cm). While the most effective isolate in creating an inhibition zone was C1 with 2.1cm, it was observed that G3-1 and Cal2-1 isolates could not create an inhibition zone. Although the Cal2-1 isolate could not grow in the culture medium, it secreted a fluorescent substance into the medium. The results showed that the isolated bacteria could be used in biological control with *Xanthomonas arboricola pv juglandis*. More studies should be done to identify the isolates used and determine their *in-vivo* activities.

1.Giriş

Sert kabuklu meyveler arasında yer alan cevizin (*Juglans regia L.*) ticareti kabuklu ve kabuksuz olarak yapılmaktadır. Yaprakları, gövdesi, kökleri ve meyvesi çeşitli alanlarda kullanılan cevizin yüksek oranlarda yağ içermesi onu ilaç ve kozmetik sanayide sıkça

tercih edilen bir ürün yapmıştır. FAO 2019 yılı verilerine göre ceviz sert kabuklu meyveler içerisinde dünyada alan olarak %9,3'lük pay ile ilk üç içerisinde yer almakta olup, üretim miktarı bakımından ise %25,8'lik pay ile birinci sırada yer alır. Dünyanın en büyük ceviz üreticisi olan Çin'in 2019 yılında ceviz üretimi %5,7 artış göstererek 2,5 milyon tona ulaşmıştır. Çin'den hemen sonra 592 bin ton ceviz üretimi ile ikinciliği ABD alır. Türkiye ise %5,0'lık pay ile ceviz üretiminde dördüncü sırada yer almaktadır. Ceviz üretim alanlarının %48,4'ü Çin, %11,3'ü ABD, %9,5'ini Türkiye oluşturmaktadır. 2020 yılında Türkiye'de ceviz üretim alanları 2019 yılına göre %13,8 oranında artarak 142 bin ha alanda gerçekleşmiştir. Ülkemizde ceviz üretim alanları incelendiğinde en fazla üretim alanı 110 bin dekar ile Denizli ilindedir. Denizli'yi 94 bin dekarla Manisa, 84 bin dekarla Bursa izlemektedir. En fazla meyve veren ağaca sahip il ise 643 bin adet ile Denizli ilidir. Denizli'yi 611 bin adetle Çorum, 582 bin adet Kahramanmaraş izlemektedir. Ülkemizde ceviz dış ticaretinde rekabet gücünün düşük olması, üretimin yurt içi tüketime yönelik olması, dünya piyasalarına kaliteli ceviz üretiminde yetersiz kalması, pazarlama karmasına göre faaliyet gösterecek birliklerin etkin olmaması gibi nedenlerle ithalatçı ülke konumunda olduğu görülmektedir ve ülkemizde yapılan ceviz üretimi ne yazık ki ülkemizin ceviz ihtiyacını karşılayamamaktadır (Anonim, FAO, 2019).

Ceviz üretiminde büyük zararlara yol açan etkenler incelendiğinde ana hastalıklar konumunda olan bakteriyel kökenli Ceviz Bakteriyel Yanıklığı (*Xanthomonas arboricola* pv *juglandis*) ve fungal kökenli Ceviz Antranknozu (*Gnomonia leptostyla*) liste başında yer alır. Bunun yanında ikincil zararlara veya doğrudan zarar neden olan *Armillaria sp.*, *Phytophthora sp.*, Külleme (*Phyllactinia guttata* ve *Erysiphe* (sect. *Microsphaera*) *sp.*) ve *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* gibi hastalıklarda gözlemlenebilir. Genel olarak çiçeklerin dökülmesi, genç sürgünlerin kurumması, yapraklarda nekrotik lekeler ve şekil bozuklukları gibi zararlara neden olurlar.

Xanthomonas arboricola pv. *juglandis* L. ülkemizde ceviz üretiminde ciddi ürün kayıplarına yol açan önemli bir bakteriyel hastalıktır ve etmenin tek konukçusu cevizdir. Hastalık başta Avustralya olmak üzere Yeni Zelanda, Kuzey ve Güney Amerika, Çin, Rusya, Irak, İran, Güney Afrika, Arjantin ve cevizin yetiştirildiği birçok Avrupa ülkesinde görülmektedir. Ülkemizde bilimsel bir kayıt olmamasına rağmen Karaca 1966 yılında Karadeniz Bölgesi'nde bu hastalığın belirtilerini gördüğünü belirtmiştir (Karaca, 1974). Özaktan ve arkadaşları tarafından yürütülen bir proje kapsamında 2007 yılında hastalık etmeni bakteri izole edilmiş ve kesin tanısı yapılmıştır (Özaktan ve ark, 2007). Özellikle Marmara Bölgesi'nde kapama ceviz bahçelerinin olduğu alanlarda hastalığın oldukça yıkıcı zararlara yol açtığı gözlemlenmiştir. Etkilenen ceviz bahçelerinde %50'nin üzerinde ürün kayıplarının olduğu bilinmektedir (Maragrega ve ark, 2007).

Cevizde çiçek, sürgün, meyve ve yaprak gibi çoğu aksamda zarar oluşturan bakteri başlangıçta yaprak dokuları (parankima, yaprak damarları ve yaprak sapı) içine yerleşir. İlk zamanlarda parankimada görülen küçük kahverengi- siyah lekeler zamanla gelişerek yaprak damarları ile sınırlandırılmış 2-3 mm'lik köşeli lekeler dönüşür. Lekeler çoğalarak yaprağın tüm yüzeyini kaplar ve fotosentetik yüzey kaybına neden olur. Yapraklarda şekil bozukluğu ve deformasyonlar gözlemlenir. Meyve oluşumunun ilk aşamalarında çiçek ve meyve hastalığa karşı oldukça hassastır. Yüzeyde küçük siyah yağ

yeşili lekeler gözlemlenebilir. Bu safhalarda yaşanan enfeksiyonlar sonucu yüksek oranlarda meyve dökümü yaşanır. Yeşil meyve kabuğu üzerinde gözlemlenen siyah lekeler zamanla artarak çürüklükler meydana getirir. Kabukta bulunan lekeler ilerleyen aşamalarda cevizin içine doğru ilerleyerek cevizin renginde değişimlere ve tadında acılaşmalara neden olur. Ağaç üzerinde bulunan tüm erkek ve dişi çiçekler hastalığa karşı hassas yapılar olduklarından tamamen kuruyup kararır. Erken ilkbaharda yaşanan donlarda hastalığın sürgün ve yeşil tomurcuklarda oluşturduğu yanıklık hastalığının tipik bir belirtisidir. Fidanların henüz tam olarak gelişmeyen savunma yapılarını kolayca aşabilen patojen bu savunmasız dönemden faydalanarak şiddetli enfeksiyonlara ve ölümlere neden olur. Ağaçların bütün dönemlerinde hastalık oluşturabilme kabiliyeti ile patojen tüm dönemlerde zarar oluşturabilir. Özellikle fide dönemleri, meyvelerin ilk oluştuğu safhalar ve çiçek açma dönemleri gibi daha hassas dönemlerde patojenin oluşturduğu zarar daha fazladır. Çiçeklenme döneminde çiçeklerin kararıp kurummasına, yeni oluşan meyvelerde lekeler oluşturarak çürüklüklere, meyvede renk değişimi ve tadında acılaşma gibi zararlara neden olur. Tüm bu zararların sonucunda yüksek oranlarda meyve dökümü ve verim kaybı yaşanır. Ayrıca patojenin neden olduğu Bakteriyel Ceviz Yanıklığı Hastalığının, Marmara Bölgesi'nde uygun hava koşullarında şiddetli epidemiyi yapabildiği bildirilmiştir (Özaktan ve ark, 2007).

Ekonomik değeri yüksek olan ceviz üretiminde bu denli büyük ürün kayıplarına yol açan *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* ile mutlaka zirai mücadele etmek gerekir. Hastalık etmeni kışı uyuyan gözlerde geçirmesinden dolayı yapılacak mücadele uygulamaları daha sınırlıdır. Etmenin mücadelesinde daha çok bakırlı preparatlar, hastalıklı dalların ve sürgünlerin kesilip uzaklaştırılması ve hastalığa karşı dayanıklı çeşitlerin kullanılması önerilmektedir. Kimyasal mücadelede kullanılan pestisitlerin neden olduğu kalıntı, dayanıklılık ve doğal kaynaklarının kirlenmesi göz önüne alındığında uzun yıllar kullanımı geri dönüşü olmayan sorunlara yol açmaktadır. Özellikle kullanılan geniş spektrumlu pestisitler ortadan kaldırılmak istenen patojenin yanısıra pek çok faydalı mikroorganizmayı yok etmektedir. Bilindiği kadarıyla kullanılan pestisitlerin genellikle %0,1'i hedef mikroorganizmaya ulaşır ve geri kalan kısmı toprak ve su gibi önemli kaynakların kirlenmesine yol açar (Sande vd., 2011 ve Mahmoud vd., 2016). Tüm bu zararlar göz önüne alındığında *Xaj* ile mücadelede alternatif yöntemler bulmak çok önemlidir. Bu aşamada kültürel ve biyolojik mücadelenin önemi artmaktadır.

Doğada karşılaştığımız sorunların çözümleri yine doğada yer almaktadır. Var olan sorunun çözümünü çok uzaklarda aramak yerine, asıl sorunun var olduğu yere odaklanmak çözüm bulmak için daha iyi bir yol olacaktır. Patojen ve antagonist mikroorganizmalar arasındaki ilişki bu durumun en güzel örneğidir (Bora ve Özaktan, 1998). Biyolojik mücadele esasen doğada bulunan zararlı popülasyonların yine doğada aynı ortamda bulunan doğal düşmanları ile kontrol altına alınabileceğini savunur ve bunu yaparken aynı ekosistem içerisinde bulunan tüm canlıların faydasını gözetir. Biyolojik mücadelenin tarihine şöyle bir bakacak olursak ilk uygulamaların Entomoloji bilim dalında yapıldığını görmüş oluruz. Bunun nedeni zararlı ve yararlı böceklerin etkileşimlerini görme kolaylığıdır. Fitopatolojide ise biyolojik mücadelenin dikkat

çekmeye başlaması 1920'li yıllara dayanmaktadır. Yeşil gübre kullanımına başlanması ile patates uyuz hastalığı etmeni *Streptomyces scabies*'in baskılanması biyolojik mücadelede önemli bir başlangıç olmuştur. Yeşil gübre kullanımı sonucu ortamdaki mikroorganizma sayısından yaşanan artış ile patojenler çeşitli mikroorganizmalar tarafından baskılanmıştır. Patojen ve antagonist mikroorganizmalar arasındaki ilişkinin laboratuvar koşullarında araştırılmaya başlanması yaklaşık olarak 1940'lı yılları bulmuştur. *In-vitro* olarak başlayan çalışmalar imkanlar ve şartlar geliştikçe *in-vivo*'da saksı denemeleri ile devam etmiştir. Fitopatolojide her ne kadar bazı araştırmacılar bu konuyu 'bitmeyen senfoni' olarak değerlendirirler de günümüzde aktif olarak kullanılan biyopreparatların etkinliği biyolojik mücadelenin tarımsal mücadelede ne kadar etkili olabileceğinin kanıtını oluşturmuştur (Özaktan H. ve ark, 2010).

Ekolojik denge açısından daha doğa dostu bir mücadele yöntemi olan biyolojik mücadelenin geliştirilmesi ve kullanılacak ajanların alternatiflerinin çoğaltılması *Xaj* ile mücadelede oldukça önemlidir.

Literatür incelendiğinde yapılan birçok çalışmada biyolojik mücadelenin *Xaj*'a karşı etkinliği kanıtlanmıştır. Örneğin Yörük ve Mirik 2018 yılında yaptıkları bir çalışmada ceviz yapraklarından izole ettikleri aday antagonist bakterilerin *Xaj*'a karşı bakteriyel büyümeyi baskılayabilme yetenekleri ve antagonistik potansiyelleri araştırmışlardır. İzole edilen 109 adet bakteri izolatu ile *in-vitro* koşullarda ikili kültür denemesi yapılmıştır. Test sonucunda saptanan verilere göre 80 adet izolatu farklı boyutlarda (5-30mm) inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir (Yörük ve Mirik, 2018). Özaktan 2012 yılında yaptığı bir çalışmada sağlıklı ceviz ağaçlarının filoplanından izole ettiği 35 aday antagonist bakterinin *Xaj*'a karşı *in-vitro* da biyolojik kontrol aktivitelerini araştırmıştır. Kullandığı antagonistik izolatların yaklaşık %60'ı patojeni %44 ila %77 oranında baskılamıştır. Çalışmanın devamında kurduğu bir *in-vivo* denemede ceviz fideleri kullanmış ve gözlemlerine dayanarak 4 antagonist izolatu patojeni önemli oranda (%41-%82) baskıladığını belirtmiştir. WH77/1, WH68 ve WH48/1A izolatları fide testinde en etkili izolatlar olup, birbirini izleyen iki yılda sırasıyla %55, %42 ve %82 hastalık azalması sağladı gözlemlenmiştir. Bu izolatlar, biyokimyasal ve fizyolojik testler temelinde geçici olarak *Pseudomonas fluorescens* olarak tanımlamıştır. *P. vagans* izolatu C9/1 ajanı, yapraklardaki bakteriyel yanıklığın şiddetini %71 oranında azaltmıştır. Ceviz yapraklarına yapılan Prohexadione-Ca (Pro-Ca) uygulamaları sonucu yanıklık semptomlarını %66 oranında azalttığı gözlemlenmiştir (Özaktan ve ark, 2012). Başka bir çalışmada ise Fu ve ark, 2021 yılında *Xaj*'a karşı biyolojik mücadele ajanlarını araştırmak için 87 bitkiden 152 adet endofit bakteri izole etmişlerdir. Sırasıyla *Amaranthus tricolor*, *Bambusa multiplex*, *Canna indica* ve *Osmanthus fragrans* bitkilerinden 4 antagonist bakteri izole etmişlerdir bunlar ATE17, BME17, CIE17 ve OFE17'dir. İzolatların kültür ortamında *Xaj*'a karşı oluşturdukları inhibisyon zonları sırasıyla 1.5, 1.6, 1.3 ve 1.6 cm'dir. Başarılı buldukları izolatlar üzerinde yaptıkları tanımlama testleri sonucu izolatların *Bacillus spp.* olarak tanımlamışlardır ve aralarından iki izolatu (BME17-OFE17) çok sayıda bitki patojeni fungus ve bakteri üzerinde gelişmeyi baskılayıcı potansiyele sahip olduklarını belirtmişlerdir (Fu ve ark, 2021). Kültür ortamında oldukça etkili inhibisyon zonu oluşturan bakteriyel izolatların

doğal koşullarda da aynı etkinliğe sahip olup olmadığını teyit etmek için yapılacak *in-vivo* denemeler, Xaj ile biyolojik mücadelede kullanılacak alternatif mikroorganizmaların bulunması adına çok önemlidir.

2. Materyal ve Metot

Çalışmada Düzce Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü laboratuvarlarına ait *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* izolatu, otoklav, inkübatör, etüv, hassas terazi, manyetik karıştırıcı, steril kabin, effendorf, rock, öze, mikro pipet, mikrodalga, buzdolabı ve Düzce ilinin farklı ilçelerinden alınan (Çilimli, Gümüşova, Akçakoca, Kaynaşlı ve Merkez) toprak örnekleri kullanılmıştır. Toprak örneklerinden izole edilen antagonist bakterilerin saflaştırma işlemleri için King B (Litrede 20 g proteose pepton, 10 ml gliserin 1.5 g K₂HPO₄, 1.5 g MgSO₄.- 7H₂O ve 15 g agar) (King ve ark., 1954), SBC, ROSE ve ISP-2 gibi farklı besi yerleri kullanılmıştır. İzolatların +4 derecede uzun süreli muhafazası için LB besi yeri kullanılmıştır. Sağlıklı bitki köklerinden alınan toprak örnekleri polietilen torbalar içine doldurularak laboratuvara getirilmiştir. Her toprak örneğinden 10 g tartılarak 90 ml nutrient broth (NB) içerisinde 2-3 saat süreyle 150 rpm hızla orbital çalkalayıcıda çalkalanmıştır (Şekil 1.a). Her süspansiyondan 1 ml alınarak içerisinde 9 ml NB bulunan bulunan tüplere aktarılmıştır. Bu şekilde her bir örnekten ayrı ayrı seyreltme serileri oluşturulmuştur. Son üç seyreltme serisinden 100 er µl alınarak 3 tekerrürlü olacak şekilde NSA içeren petrilere steril baget ile yayılmıştır. Petrilere 48 saat 26 °C de inkübe edilmiş ve farklı koloni morfolojisine sahip bakteriler saflaştırılmıştır (Şekil 1.b).



Şekil 1.(a) Toprak örnekleri.



Şekil 1.(b) Saflaştırma işlemi

Elde edilen izolatların çeşitli özelliklerini saptamak için bir dizi test uygulanmıştır. İzolatların patojen olabilmeye risklerine karşılık tütünde hipersensitif reaksiyon testi yapılmıştır. Koloni morfolojilerine göre antagonist olabileceği düşünülen izolatların hipersensitif reaksiyonu (HR) gözlemlenmek için tütün (*Nicotiana tabacum* cv. *Samsun N*) bitkisinin yapraklarının alt yüzeyine damar aralarına aday antagonist bakterilerin 10⁸ cfu/ml yoğunluğundaki süspansiyonu infiltre edilmiştir. 24-36 saat içerisinde bakteri infiltre edilen alanlarda nekrotik bir görünüm oluşturmayan izolatlar HR negatif olarak kabul edilmiş ve aday antagonist bakteri olarak değerlendirilmiştir (Şekil 2) (Klement ve

Goodman, 1967). 24-36 saat sonunda tütün bitkisi yaprakları üzerinde nekrotik alanlar oluşturan izolatlar HR pozitif olarak değerlendirilmiş ve bu izolatların biyolojik mücadelede kullanım olanakları araştırılmamıştır. Çalışmada pozitif kontrol olarak *Pseudomonas cichorii* kültürü kullanılmıştır. HR negatif olan izolatlar daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere YDCA besi yerinde inkübe edilip +4 °C de buzdolabında muhafaza edilmiştir. İzolatların gram reaksiyonlarını belirlemek amacıyla Potasyum Hidroksit Testi (KOH) yapılmıştır. Taze hazırlanan %3'lük potasyum hidroksit solüsyonundan lam üzerine bir damla damlatıldıktan sonra 24-48 saatlik *X. arboricola* pv. *juglandis* izolatlarından steril özeye alınan bakteri, solüsyona dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. 15-20 saniye sonra özenin yukarı kaldırılmasıyla viskoz bir yapının oluşması bakterilerin Gram negatif olduğu sonucunu göstermiştir (Sands, 1990). Pozitif kontrol olarak *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* kültürü kullanılmıştır. Daha sonra izolatların katalaz reaksiyonlarını gözlemek için lam üzerine 30 µl %3'lük H₂O₂ çözeltisi damlatılmıştır. Bakteri izolatlarının öze yardımıyla H₂O₂ çözeltisi ile karıştırılması sonucu gaz çıkışı olup olmadığı gözlenmiştir. Gaz çıkışı olması pozitif reaksiyon, olmaması ise negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Klement ve ark., 1990). Bu test için *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.



Şekil 2. Tütün bitkisinde HR testi

Yapılan morfolojik tanı testlerden sonra antagonist bakteri izolatlarının patojen bakteriye karşı antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için NSA besi yeri içeren petrilere kullanılmıştır. Öncelikle NSA besi yeri içeren ortamda patojen bakteri 24 °C'de 1-2 gün süre ile geliştirilmiştir. Potansiyel antagonist aday bakteriler de Nutrient Agar (NA) içeren petrilere ekilerek 24 °C'de inkübasyona bırakılarak 24 saatlik taze kültürleri elde edilmiştir. Gelişen taze bakteri kültürleri steril öze ile alınarak sdH₂O ile süspanse edilmiş ve bakteriyel hücre konsantrasyonu 1x10⁸ cfu/ml'ye ayarlanmıştır. Konsantrasyonları ayarlanan antagonist bakterilerden 20 µl pipet yardımı ile alınarak içerisinde NSA besi yeri bulunan petrilere nokta şeklinde üç kez olacak şekilde bırakılmıştır. Üç nokta bakteri inokulasyonu yapılan petrilere patojen bakterinin 10⁶ cfu/ml konsantrasyonundan püskürtülmüştür. Petriler 24-36 saat süre ile 24 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda aday antagonist bakterilerin oluşturduğu engelleme bölgesinin çapı ölçülmüştür. Her bakteri 3 tekerrür olarak test edilmiş ve elde edilen değerler yardımıyla antagonist bakterilerin oluşturduğu etkileri belirlenmiştir (Tekiner ve ark., 20).

3. Bulgular ve Tartışma

Çalışma sonucunda elde edilen veriler incelendiğinde izole edilen bakterilerin antagonistik etki gösterdiği gözlemlenmiş ve *Xaj* ile biyolojik mücadelede kullanılabilme potansiyeline sahip oldukları düşünülmektedir (Tablo 1).

Tablo 1. İzolatların tanı testleri tablosu

İzolat No	İzolasyon Tarihi	İzole Edildiği Materyal	Örneğin Lokasyonu	Gram Reaksiyon	Katalaz Testi	Hipersensitif Reaksiyon
G2-5	11/10/2022	Toprak	Düzce	Negatif	Pozitif	Negatif
G2-2	11/10/2022	Toprak	Düzce	Negatif	Pozitif	Negatif
G2-4	11/10/2022	Toprak	Düzce	Negatif	Pozitif	Negatif
G2-3	11/10/2022	Toprak	Düzce	Negatif	Pozitif	Negatif
M1-3	11/10/2022	Toprak	Düzce	Negatif	Pozitif	Negatif
G4-2	11/10/2022	Toprak	Düzce	Negatif	Pozitif	Negatif
G3-1	11/10/2022	Toprak	Düzce	Negatif	Pozitif	Negatif
G4-1	11/10/2022	Toprak	Düzce	Negatif	Pozitif	Negatif
C1	11/10/2022	Toprak	Düzce	Negatif	Pozitif	Negatif
Cal2-1	11/10/2022	Toprak	Düzce	Negatif	Pozitif	Negatif

Laboratuvarda yapılan *in-vitro* çalışmada kullanılan bakteri izolatları arasında en geniş inhibisyon zonu oluşturarak patojeni baskılamada en iyi sonuç veren izolat C1 (2,1cm) nolu izolat olmuştur. Bunun yanında kimi izolatlarda kültür ortamında antagonist bakterilerin hiç gelişmediği (Örneğin; G3-1, Cal2-1 gibi) gözlemlenmiştir. Diğer izolatlar da ise 0,1 ve 2,1 cm değerleri arasında değişen inhibisyon zonlar oluşmuştur (Tablo 2). İzolatlar arasında diğerlerinden farklı olarak Cal2-1 izolatı kültür ortamına floresan madde salgılamıştır. Literatürde yapılan benzer çalışmalar incelendiğinde alınan sonuçların bu çalışmadaki sonuçlar eşleştiği görülebilir. 2018 yılında yapılan bir çalışmada izole edilen 109 izolatın yaklaşık 80 tanesi 3,4-30mm arasında engelleme zonu oluşturmuştur (Yörük ve Mirik, 2018). Bu çalışmada ise ölçülen en büyük inhibisyon zonu 2,1cm olarak tespit edilmiştir. 2021 yılında yürütülen bir çalışmada ise 152 bakteri taradıktan sonra 4 farklı bitkiden, 4 antagonist bakteri elde edilmiştir. Bunlar ATE17, BME17, CIE17, OFE17. Sırasıyla oluştukları inhibisyon zonları ise 1.5, 1.6, 1.3, 1.6'cm olarak tespit edilmiştir (Fu ve ark, 2021).

Tablo 2. İnhibisyon zonu ölçümleri

İzolat no	Zon Çapı 1(cm)	Zon Çapı 2(cm)	Zon Çapı 3(cm)	Ortalama Zon Çapı
G2-5	0,1	0,1	0,1	0,1
G2-2	0,6	0,3	0,4	0,4
G2-4	0,5	0,4	0,1	0,3
G2-3	0,2	0,1	0,1	0,1
M1-3	0,2	0,4	0,6	0,4
G4-2	0,5	0,4	0,5	0,4
G3-1	-	-	-	-
G4-1	0,2	0,6	0,2	0,3
Cal2-1	-	-	-	-
C1-1	0,1	0,1	2,1	0,7

Yapılan bu çalışma ve önceki çalışmalar incelendiğinde sonuçların paralellik gösterdiği görülmektedir. Bu nedenle *Xaj*'a karşı yapılacak mücadelede alternatif yollar ararken antagonist bakterilerin kullanımı hastalığı baskılamada etkili olacaktır.

4. Sonuçlar

Çalışma kapsamında *Xaj* ile biyolojik mücadelede kullanılan antagonistlerin patojeni tamamen baskılayacak kadar etkili sonuçlar vermesi, umut veren mücadele yöntemlerinin olabileceğini ve bu konu üzerinde daha çok çalışma yapılması gerektiğini göstermiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Kaynaklar

Anonim. (2023). 2023 - Temmuz Tarım Ürünleri Piyasa Raporları

Anonim. (2020). Ceviz projesi. <https://www.cevizprojesi.com/hastalik-ve-zararlilar-ile-mucadele/74/23/>

Anonim. (2023). Cevizin ekonomik değeri. <https://www.gunesfidancilik.com/cevizin-ekonomik-degeri.html>

Anonim. (2023). <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/210013601.pdf>

Demirpek, U., & Sakarya, S. (2023). Antimikrobiyal duyarlılık testleri, ağar dilüsyon yöntemi.

Ertimurtas, D. (2019). Ceviz bakteriyel yanıklığı ve uç nekrozu ban hastalığı etmenlerinin tanısı, karakterizasyonu ve mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi (Doktora tezi, Zirai Mücadele ve Araştırma Enstitüsü, Bornova). TAGEM / BSAD/E/19/A2/P/ 1343.

Fu, B., Lei Yu, Bokai Wang and Cao Zheng (2021). Screening of antagonistic bacteria form endophytes against walnut blight pathogen *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(3), 1384-1392.

Özaktan, H., Aysan, Y., Yıldız, F., & Kinay, P. (2010). Fitopatolojide biyolojik mücadele. *Türk Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1), 61-78.

Özaktan, H. (2021). Batı Anadolu'da ceviz bakteriyel yanıklığı etmeni *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*'in tanısı ve entegre mücadele olanakları üzerine bir araştırma (Doktora tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü). Yüksek Öğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

Polat, Alper. (2022). Tarımda Pestisitler: Dünya'da ve Türkiye'de Kullanımları-Pesticides in Agriculture: Pesticide's Use in the World and in Turkey. 31-51. Uygun, N., Ulusoy, M., & Satar, S. (2010). Biyolojik mücadele. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1), 1-14.

Yörük, M., & Mirik, M. (2018). Bakteriyel yanıklık etmeni *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*'e karşı antagonist bakteriyel izolatların in vitro koşullarda biyokontrol etkinliklerinin belirlenmesi (Yüksek lisans tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü). Yüksek Öğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.

To cite: Baykus, M., & Altin, I. 2024. Investigation of the possibilities of using antagonist bacteria isolated from soil in biological control against *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* L., *Journal of Agriculture Faculty of Düzce University*, 2(2):73-80.

Alıntı için Baykus, M., & Altin, I. 2024. Toprakтан izole edilen antagonist bakterilerin *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* L.' e karşı biyolojik mücadelede kullanımının araştırılması, *Düzce Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(2): 73-80.