



Maydanoz bakteriyel yaprak leke hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. *apii*) ile biyolojik mücadelede antagonist bakterilerin kullanım olanaklarının araştırılması

Investigation on the possible use of antagonistic bacteria in biological control of parsley bacterial leaf spot disease (*Pseudomonas syringae* pv. *apii*)

Resul VARHAN¹ , İ. Adem BOZKURT¹ 

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Antakya-Hatay, Türkiye.

MAKALE BİLGİSİ / ARTICLE INFO

Makale tarihçesi / Article history:

DOI: [10.37908/mkutbd.917150](https://doi.org/10.37908/mkutbd.917150)

Geliş tarihi / Received: 16.04.2021

Kabul tarihi / Accepted: 24.08.2021

Keywords:

Parsley, bacterial leaf spot, *Pseudomonas syringae* pv. *apii*, biological control, *Bacillus simplex*.

✉ Corresponding author: İ. Adem BOZKURT

✉: iabozkurt@mku.edu.tr

Ö Z E T / A B S T R A C T

Aims: The aim of this study was to determine the potentials of biological control efficacies of epiphytic bacteria isolated from parsley roots against parsley bacterial leaf spot disease agent *Pseudomonas syringae* pv. *apii* (Psa) in in vitro and in vivo conditions.

Methods and Results: 48 candidate bacterial isolates were isolated from the root areas of healthy parsley plants. The diagnosis of bacterial isolates was made with MALDI-TOF. In addition to the antagonistic effects of 40 isolated and diagnosed bacterial isolates against the disease agent in vitro conditions, antagonistic and plant growth-promoting mechanisms such as siderophore, indole acetic acid (IAA), protease, ammonia production and phosphorus dissolution potentials were determined.

In in vivo efficacy trials, bacterial isolates prevented disease development by 16-58 % in plants that were applied in different ways (seed coating, seed coating + leaf spraying and leaf spraying applications) and the most effective isolate was determined to be *Bacillus simplex* PANT91. When different applications are compared, it is determined that seed coating + leaf applications were found generally more effective than other applications in terms of preventing disease outflow.

Conclusions: In this study, it was determined that biological control with antagonist bacteria may be effective against parsley bacterial spot disease (Psa).

Significance and Impact of the Study: Since there is no known effective chemical control against the disease and antibiotic use is prohibited in many countries, It is inevitable to investigate alternative biological control methods against this disease. It is believed that these isolates can be effective against parsley bacterial spot disease and can be used as a biological control agent.

Atıf / Citation: Varhan, R, Bozkurt, İA (2021) Maydanoz bakteriyel yaprak leke hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. *apii*) ile biyolojik mücadelede antagonist bakterilerin kullanım olanaklarının araştırılması. *MKU. Tar. Bil. Derg.* 26(3) : 649-660. DOI: 10.37908/mkutbd.917150

GİRİŞ

Dünya genelinde 455 cins ve yaklaşık 3000'den fazla türü bulunan Apiaceae (Umbellifera) (Hickey ve King, 1997; Kızılaslan-Hançer, 2017) familyasında yer alan maydanoz (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. Ex. A. W. Hill) sağlık,

beslenme ve ekonomi açısından yaprağı yenen sebzeler arasında önemli bir yere sahiptir. Ekonomik anlamda ticari maydanoz üretimi gün geçtikçe artmaktadır. Anavatanı tam olarak bilinmemekle beraber Akdeniz Bölgesi olabileceği kabul edilmektedir (Ceylan, 1987). Türkiye'de 2019 yılında maydanoz üretimi 75.562 dekar

alandaki 92.954 ton olarak gerçekleşmiş olup, bu alanın 36.898 (% 48.83) dekarı ve üretimin 50.544 (% 54.38) tonu Hatay ilinde gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2020).

Akdeniz Bölgesi ve özellikle Hatay ili için önemli bir sebze olan maydanoz bitkisinde verim ve kaliteyi olumsuz etkileyen birçok hastalık etmeni bulunmaktadır. Maydanoz köklerinde çürüklüğe neden olan *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary, *Rhizoctonia solani* Kühn, *Fusarium* spp, çökertene neden olan *Pythium* spp. ve *Rhizoctonia* spp, ve yeşil aksamda hastalık oluşturan *Alternaria radicina* Meier, Drech., and Eddy, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Cercospora* spp. *Septoria petroselini* Desm ve *Plasmopara petroselini* önemli fungal hastalıklardır (Raid ve Roberts, 2004; Kurt ve Tok, 2006; Soylu ve ark., 2010; Kurt ve ark., 2017).

Maydanozlarda bakteriyel hastalıklar olarak ise *Pseudomonas syringae* pv. *apii* (Psa) ve *Pseudomonas syringae* pv. *coriandricola* bildirilmektedir (Minchinton ve ark., 2006; Bull ve ark. 2011; Xu ve ark. 2013). Ülkemizde Maydanoz Bakteriyel Leke Hastalığına neden olan patojenin *Pseudomonas syringae* pv. *apii* olduğu ilk kez Bozkurt ve ark., (2016) tarafından bildirilmiştir. Her iki patojende maydanoz dışında Apiacea familyasından kişniş ve kerevizde de hastalık oluşturmaktadır (Pernezny ve ark., 1997; Cazorla ve ark., 2005; Cerkauskas, 2009; Bull ve ark., 2011; Gupta ve ark., 2013). Patojen ile enfekteli bitkilerde belirtiler genellikle benzer olup hastalığın ilk dönemlerinde enfeksiyon noktasında küçük, suyla ıslatılmış gibi ve yaprağın her iki tarafından görülebilen yaprak lekeleri şeklindedir. Bu lekeler genellikle yaprak damarları ile sınırlı olup hastalık ilerledikçe düzensiz, köşeli lekeler dönüşmekte ve lekelerin etrafında sarı bir hale meydana gelmektedir. Bu lekeler enfeksiyon ilerledikçe kurumakta ve hastalığın şiddetine göre maydanoz yapraklarının büyük bir kısmını veya tamamını kurutmaktadır (Bozkurt et al., 2016) (Şekil 1).

Hastalığın mücadelesinde genel olarak; enfekteli alanlardan temin edilen tohumların üretim materyali olarak kullanılmaması, tarla içerisinde oluşabilecek aşırı nemi azaltabilmek için yabancı ot kontrolü yapılması ve sık ekimden kaçınılması, ekim öncesi tohumların 50°C'de 25 dakika bekletilerek tohum yüzeyindeki inokulum yoğunluğunun azaltılması, aşırı azotlu gübreleme yapılmaması, yaprak yüzeyinde uzun süre ıslaklık oluşturmayacak şekilde sulama yapılması gibi kültürel ve fiziksel mücadele yöntemleri önerilmektedir (Minchinton et al., 2006; Bozkurt ve Horuz, 2019). Hastalığın mücadelesinde önerilen herhangi bir kimyasal bulunmamaktadır.

Hastalık etmenine karşı bilinen etkili bir kimyasal mücadele olmaması ve antibiyotik kullanımının birçok

ülkede yasak olması sebebiyle alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılması kaçınılmazdır.



Şekil 1. Psa ile enfekteli maydanoz yapraklarında meydana gelen hastalık belirtileri (ok).

Figure 1. Disease symptoms on parsley leaves infected with Psa (arrow).

Bitki patojeni bakteriyel ve fungal hastalık etmenleri ile farklı ülkelerde olduğu kadar ülkemizde bitki uçucu yağ ve ana bileşenlerin kullanılması, kompost uygulamaları, bitki aktivatörlerinin kullanılmaları, nanoteknolojik antibakteriyel bileşiklerin geliştirilmesi şeklindeki yaklaşımlar gibi kimyasallara alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılmasına son yıllarda ağırlık verilmiştir (Kara ve ark., 2020; Bozkurt ve ark., 2020; Şahin ve ark., 2021). Bitki bakteriyel hastalıklarla kimyasallara alternatif mücadele yöntemlerinden birisi de faydalı mikroorganizmaların kullanıldığı biyolojik mücadeledir. Biyolojik mücadele etmeni (BME) olarak en yaygın kullanılan mikroorganizmalardan biri olan bakteriler, bitkilerde buldukları ve kolonize oldukları yerlere göre endofit ve epifit olarak iki şekilde isimlendirilmektedirler (Bozkurt ve Soylu, 2019; Duman ve Soylu, 2019). Epifit bakteriler bitkilerin çiçek, yaprak, meyve ve sürgün gibi toprak üstü ve kök gibi toprak altı kısımlarında kolonize olabilen ve bitkilere herhangi bir zararı olmayan bakteriler olarak tanımlanabilmektedir (Hallmann ve ark., 1998). Endofit bakterilerin farklı birçok tanımı olmakla beraber yaygın olarak; bitki dokularında kolonize olabilen ve herhangi bir simptome ve bitkide zarara neden olmayan bakteriler olarak tanımlanmaktadır (Holliday, 1989; Schulz ve Boyle, 2006; Sülü ve ark., 2016).

Bu çalışma ile Maydanoz Bakteriyel Yaprak Leke Hastalığının sağlıklı maydanoz köklerinden izole edilen biyolojik mücadele etmeni (BME) bakteriler ile biyolojik mücadele olanakları *in vitro* ve *in vivo* koşullarda

araştırılmıştır. Literatür taramalarında bu hastalığa karşı daha önceden yapılmış herhangi bir biyolojik mücadele çalışmasına rastlanılmamış olup, bu çalışma bir ilk niteliğindedir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışmada, test bitkisi olarak D'Giant Italiana maydanoz çeşidi kullanılmıştır. Test patojeni olarak Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü bakteriyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan Maydanoz Bakteriyel Yaprak Leke Hastalığı etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *apii* PM-16 (Bozkurt ve ark., 2016) izolatı kullanılmıştır.

Sağlıklı maydanoz köklerinden aday antagonist bakterilerin izolasyonu ve tanısı

Survey çalışmaları Hatay ili ve ilçelerinde maydanoz üretimi yapılan alanlarda gerçekleştirilmiştir. Bakteriler sağlıklı maydanoz bitkilerinin köklerinden izole edilmiştir. Alınan kök örneklerinden 10 gr tartılarak 90 ml 0.05 mM MgCl₂ tampon çözeltisi içerisinde 30 dk. çalkalayıcıda tutulduktan sonra süspansiyondan 100 µl alınarak King B (KB) besiyeri içeren petrilere bagetle yayılıp 24±2 °C'ye ayarlı inkübatörlere yerleştirilmiştir. İnkübasyondan 48 saat sonra petride gelişen koloniler saflaştırılarak UV ışık altında (366 nm) floresans pigment oluşturmalarına ve potasyum hidroksit (KOH) testi ile gram reaksiyonlarına göre gruplandırılmıştır. Saflaştırılan bakteriler Nutrient Gliserol Agar (NGA) besiyerine ekilerek +4 °C'de saklanmıştır. Bakteri izolatlarının tanısı Matris ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry) (MALDITOF-MS) ile Duman ve Soylu (2019) tarafından bildirilen yöntemle göre yapılmıştır.

Aday antagonist bakteri ile tütünde aşırı duyarlılık (HR) ve patatete yumuşak çürüklük testi

Tütünde aşırı duyarlılık testi ve patates dilimlerinde yumuşak çürüklük testi aday antagonist bakteri izolatlarının bitki patojeni olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır. HR testinde NA besiyerinde 24-48 saat geliştirilen aday antagonist bakteri kültürlerinden 10⁸ hücre ml⁻¹ (OD=0.13) yoğunlukta hazırlanan süspansiyonlar steril enjektör yardımıyla tütün yaprağının damar aralarına enjekte edilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Psa* izolatı negatif kontrol olarak ise yapraklara steril saf su inoküle edilmiştir. İnkübasyondan 2 gün sonra inokulasyon noktasında doku çökmelerine ve nekrotik alanlara neden olan izolatlar HR (+) olarak kabul edilmiştir.

Yumuşak çürüklük testi için tütün HR negatif çıkan aday BME bakteri izolatları ile patates dilimlerinde yumuşak çürüklük testleri yapılmıştır. Patatesler dezenfekte edilmek amacıyla %3'lük NaOCl'de 1 dk. bekletilmiş, kabukları soyulduktan sonra %70 alkol ile dezenfekte edilmiş ve alevde steril edilmiş bıçak ile ikiye ayırdıktan sonra 1 cm. eninde dilimlenmiştir. İçinde steril ıslak filtre kağıdı bulunan steril petrilere patates dilimleri yerleştirilmiştir. Steril kürdan yardımıyla patates dilimleri üzerine bakteri izolatları inoküle edilmiştir (Şekil 3). Bakteri izolatları ile bulaştırılmış patates dilimlerinin bulunduğu petrilere 25±1°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan 1 gün sonra bakteri izolatlarının inoküle edildiği noktada yumuşama görülmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Pozitif kontrol bakterisi olarak Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü bakteriyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda tanılanmış olan *Pectobacterium caratovororum* subs. *caratovororum* (*Pcc*) izolatı kullanılmıştır.

Antagonist bakterilerin In vitro biyokontrol ve bitki gelişimini teşvik etme mekanizmalarının belirlenmesine yönelik çalışmalar

Antibiyosis testi

Aday antagonist bakteri izolatlarının 24 saatlik kültüründen KB besiyeri içeren 9 cm çaplı petrilere birbirinden eşit uzaklıkta olmak üzere, 4 noktaya ekim yapılmıştır ve 25±1 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen bakteri kolonileri üzerine 24 saatlik *Psa* kültüründen hazırlanan patojen süspansiyonu (10⁸ hücre ml⁻¹) pülverize edilmiştir. Petrilere 25±1 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve 48 saat sonunda KB besiyerinde patojen gelişiminin engellenmesi sonucu oluşan engelleme bölgelerinin çapının bakteri kolonisinin çapına bölünmesi ile A-indeks değerleri hesaplanmıştır (Ullah ve ark., 2017). A-index = engelleme bölgesi çapı (mm) / bakteri koloni çapı (mm)

Siderofor üretiminin belirlenmesi

Hem bitki gelişimini teşvik edici etki hem de biyokontrol aktivitesi için önemli bir belirleyici olan siderofor üretimi Blue-CAS Agar besiyerinde Schwyn ve Neilands, 1997'ye göre belirlenmiştir. Siderofor etkinin varlığını belirlemek için 2 günlük taze kültürden steril kürdan yardımıyla test edilecek bakteriden alınan inokulum, CAS agar ortamı bulunan 9 cm. çaplı petrilere birbirinden eşit uzaklıkta 3 noktaya ekim yapılmış ve petrilere 25±1°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Antagonist bakteriler tarafından siderofor üretimine bağlı olarak oluşan sarı-turuncu zonlar ve bakteri kolonisinin çapları ölçülmüştür.

Meydana gelen zon çapları ve bakteri kolonisi çapları her izolat için siderofor çözünürlük indeksi (S-indeks) formülüne göre hesaplanarak ölçülmüştür (Ullah ve ark., 2017). Deneme 2 kez tekrarlanmıştır. S-index = sarı turuncu alanın çapı (mm) / bakteri koloni çapı (mm)

Fosfor çözme potansiyellerinin belirlenmesi

Aday bakteri izolatlarının fosfatı çözme etkinliği, trikalsiyum fosfat içeren Pikovskaya Agar (PVK) besi yeri içeren petrilere belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2012). Pikovskaya (PVK) agar içeren petrilere aday bakteri izolatları nokta ekim ile inokule edilmiş ve 25±1 °C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası bakteri kolonilerini etrafında fosforun çözülmesine bağlı olarak oluşan şeffaf zonun ve bakteri kolonisinin çapları ölçülerek F-indeks değerleri hesaplanmıştır (Ullah ve ark., 2017). F-index: erime bölgesinin çapı (mm) / bakteri koloni çapı (mm)

Indol Asetik Asit (IAA) üretiminin belirlenmesi

Aday bakteri izolatlarının IAA üretme potansiyelleri L-tryptophan'ının varlığında Salkowski yöntemi kullanılmak suretiyle belirlenmiştir (Glickman ve Dessaux., 1995). IAA üretimi spektrofotometrik olarak UV-vis spektrofotometre (Perkin Elmer, Lamda 25, USA) ile belirlenmiştir. Örnekler 535 nm dalga boyunda okunarak absorbans değerleri saptanmıştır. Elde edilen absorbans değerleri saf IAA (Merck, Darmstadt, Germany) çözeltisi ile hazırlanan IAA konsantrasyon standart eğrisiyle karşılaştırılmak suretiyle (Aktan ve Soylu, 2020) aday bakteri izolatlarının IAA üretim miktarları µg/ml olarak belirlenmiştir.

Proteaz enzimi üretimi

Aday antagonist bakteri izolatlarının proteaz enzimi üretme potansiyelleri, içerisinde %2 yağı alınmış süt tozu (Skimmed Milk Powder, Merck, Darmstadt, Germany) bulunan LB (SMLBA) besi yerinde Perneel ve ark., (2007) tarafından bildirilen yöntemle göre belirlenmiştir. SMLBA besi yerinde protez üretimine bağlı olarak bakteri kolonileri etrafında oluşan şeffaf bölgelerin ve bakteri kolonilerinin çapı ölçülerek Pro-indeks değerleri hesaplanmıştır (Ullah ve ark., 2017). Pro-index: erime bölgesinin çapı (mm) / bakteri koloni çapı (mm)

Aday antagonist bakteri izolatlarının in vivo saksı testleri ile biyokontrol etkinliklerinin belirlenmesi

Saksı testlerinde aday antagonist bakteriler patosisteme a) Tohum uygulaması, b) Yaprak uygulaması c) Tohum+Yaprak uygulaması şeklinde uygulanmıştır. Deneme Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde bulunan gündüz

ortalama 26.5±2°C ve gece 21±2°C sıcaklığa ve yaklaşık %70-80 bağıl neme sahip ait cam serada yürütülmüştür. Denemede her izolat için 5 saksı kullanılmış ve deneme 2 kez yinelenmiştir.

KB besiyerinde gelişen 2 günlük antagonist bakteriler 5 ml %1'lik Carboxy Methyl Cellulose (CMC) ile süspansiyon edilmiştir. Bu süspansiyon içerisine tohum uygulaması ve tohum+yaprak uygulamasına tabi olan maydanoz tohumları aktarılıp (her uygulama için 50 tohum / 5 ml CMC) 120 rpm'de 30 dk. çalkalanarak tohumların bakteri ile kaplanması sağlanmıştır (Callan ve ark., 1997). Muamele edilmiş tohumların saksılara ekimi yapılmıştır. Tohumların çimlenmesinden yaklaşık 2 hafta sonra (3-5 gecek yapraklı dönemde) yaprak ve yaprak+tohum uygulamasına tabi olan maydanoz bitkilerine KB besi yerinde geliştirilen 2 günlük antagonist bakteriler (10⁸ hücre ml⁻¹) tüm yeşil aksamını kaplayacak şekilde pülverize edilmiştir. İnokulasyondan 1 gün sonra tohum uygulaması, yaprak uygulaması ve tohum+yaprak uygulamasına tabi olan maydanoz bitkilerinin KB besi yerinde geliştirilen 2 günlük patojen bakteri (10⁸ hücre ml⁻¹) yine aynı şekilde pülverize edilmiştir. Kontrol (+) uygulamasında hiçbir muamele görmemiş tohumlardan elde edilen bitkilere patojen bakteri (10⁸ hücre ml⁻¹) pülverize edilmiştir. Oluşan hastalık belirtileri patojen inokulasyonundan 14 gün sonra 0-4 skalasına göre değerlendirilmiş ve Tawsend Heuberger* formülü ile % hastalık şiddeti belirlenmiştir.

0-4 skalası

- 0 - Yapraklarda nekrotik leke yok
- 1 - Yapraklarda 1-2 nekrotik leke
- 2 - Yapraklarda 3-5 nekrotik leke
- 3 - Yapraklarda 5 ve üzeri nekrotik leke
- 4 - Yapraklarda birleşik nekrotik leke

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

Deneme deseni ve istatistik analizler

Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş olup, istatistik analizler SPSS istatistik programı (SPSS Statistics 17.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve izolatlar arasındaki farklılık Duncan Çoklu Karşılaştırma testi ile belirlenmiştir (P≤0.05).

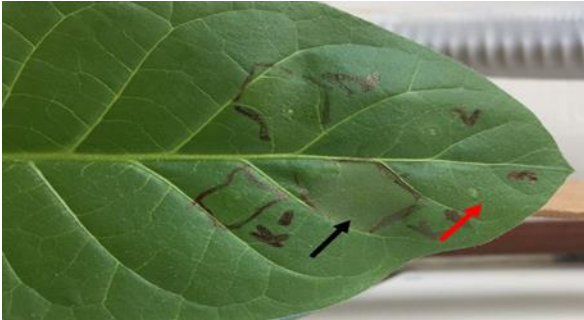
BULGULAR ve TARTIŞMA

Aday antagonist bakterilerin izolasyonu ve tanısı

İzolasyon çalışmalarında morfolojik olarak birbirinden farklı olabileceği düşünülen 40 adet bakteri izole edilerek saflaştırılmıştır. İzole edilerek saflaştırılan bakteri izolatlarının tanısı MALDI-TOF ile yapılmıştır. Tanı sonuçlarına göre cins düzeyinde ilk sırayı 12 izolatla *Pseudomonas* alırken, bunu 8 izolatla *Arthrobacter*, 7 izolatla *Bacillus*, 3 izolatla *Lactobacillus*, 2 izolatla *Microbacterium* ve 1'er izolatla *Acinetobacter*, *Aeromicrobium*, *Mycobacterium*, *Sphingobacterium*, *Sinomonas*, *Escheria*, *Pantoea* ve *Stenotrophomonas* cinslerine dahil izolatlar izlenmiştir.

Tütünde aşırı duyarlılık (HR) ve patates yumuşak çürüklük testi

Tütün yapraklarında aşırı duyarlılık tepkimesinin belirlenmesi testinde pozitif kontrolde tipik HR belirtileri meydana gelirken negatif kontrol ve antagonist aday izolatların inokule edildiği alanlarda herhangi bir belirti meydana gelmemiştir (Şekil 2).

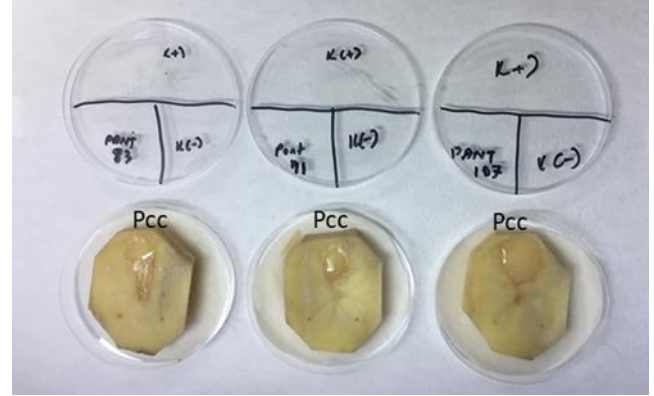


Şekil 2. Tütün HR testi sonucu meydana gelen HR pozitif (siyah ok) ve HR negatif (kırmızı ok) reaksiyonlar.
Figure 2. HR positive (black arrow) and HR negative (red arrow) reactions that occur as a result of the tobacco HR test.

Pektolitik enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan patates dilimlerinde yumuşak çürüklük testinde değerlendirmeler inokulasyondan 1 gün sonra yapılmıştır. İnokulasyon noktasında meydana gelen yumuşama pozitif olarak kabul edilmiştir. Test sonucunda *Pcc* inokule edilen pozitif kontrolde yumuşama meydana gelirken antagonist aday bakterilerin inokule edildiği alanlarda ve negatif kontrol uygulamasında yumuşama meydana gelmemiştir (Şekil 3).

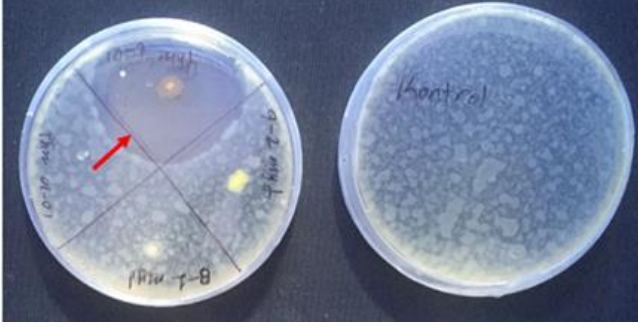
Aday antagonist bakteri izolatlarının antibiyosis testi ile ön eleme çalışmaları

Antagonistik etkinin belirlenmesinde 11 bakteriyel izolat antagonistik etki göstermez iken, 29 izolat ise patojen gelişimini engellemede farklı oranlarda antagonistik etki göstermiştir.



Şekil 3. Yumuşak çürüklük testinde pozitif kontrol (K+), aday antagonist bakteriler ve negatif kontrol (K-) uygulamalarında meydana gelen belirtiler.
Figure 3. Positive control (K+), candidate antagonist bacteria and negative control (K-) symptoms in potato soft rot test.

Antibiyosis testinde en yüksek A-indeks değeri *Pseudomonas thivervalensis* PANT107 (5.08) izolatında belirlenmiş olup bunu *Pseudomonas brassicacearum* PANT83 (4.17) ve *Bacillus simplex* PANT91 (2.94) izolatı izlemiştir (Şekil 4, Çizelge 1). İstatistik analiz sonuçları değerlendirildiğinde ise *Pseudomonas thivervalensis* PANT107 ve *Pseudomonas brassicacearum* PANT83 izoları diğer tüm uygulamalardan farklı grupta yer almıştır fakat bu iki izolat arasında duncan çoklu testine göre $p=0.05$ aralığında fark olmadığı belirlenmiştir. Bir diğer izolat olan *Bacillus simplex* PANT91 izolatı ise *Pseudomonas kiloensis* PANT63 (1.67), *Bacillus simplex* PANT64 (1.63), *Pseudomonas brassicacearum* PANT710 (2.05) ve *Pseudomonas brassicacearum* PANT87 (1.78) izolatları ile Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre $p=0.05$ aralığında aynı grupta yer almış olup, istatistiki olarak aralarında bir fark belirlenmemiştir.



Şekil 4. Antagonist bakteri izolatlarının patojen gelişimini engellemesi sonucu oluşan engelleme bölgeleri (ok).

Figure 4. Inhibition zones formed as a result of antagonist bacteria isolates inhibiting the growth of pathogenic bacteria (arrow).

Pseudomonas thivervalensis ve *Pseudomonas brassicacearum* ilk defa Arabidopsis ve kanola bitkilerinin rizosferinden izole edilmişlerdir (Achouak ve ark., 2000). Yapılan bazı çalışmalarda *P. thivervalensis* ve *P. brassicacearum* gibi bazı *Pseudomonas* türlerinin pyoluteorin ürettiği belirlenmiştir. Pyoluteorin doğal bir antibiyotik olup antimikrobiyal ve herbisidal etki gösterebilmektedir (Ramette ve ark., 2011). Bakteriyel hastalıklara olan etkiye bakıldığında ise *Pseudomonas brassicacearum* J12 izolatının domateslerde bakteriyel solgunluk etmeni *Ralstonia solanacearum*'un gelişimini etkili bir şekilde inhibe ettiği ve sera denemelerinde hastalık gelişimini %45 oranında baskıladığı saptanmıştır (Zhou ve ark., 2012).

Bir diğer etkili izolat olan *Bacillus simplex* ise birçok fungal ve bakteriyel bitki patojenine karşı etkili olup biyolojik mücadele çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir bakteri türüdür (Krzyzanowska ve ark., 2012; Campos ve ark., 2010; Schwartz ve ark., 2013; Soylu ve ark., 2020; Atay ve ark., 2020; Kara ve ark., 2020). Yakın zamanda yapılan Elma Kök Uru Hastalığı etmeni *Rhizobium radiobacter*'e karşı epifit ve endofit bakteri izolatlarının antagonistik potansiyellerinin araştırıldığı bir diğer çalışmamızda *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Serratia* ve *Bacillus* cinslerine dahil farklı türlere ait 12 izolat, ikili kültür testlerinin yapıldığı besi ortamı üzerinde patojene karşı ortalama 5.0-27.3 mm çapında arasında değişen engelleme zonları oluşturmuştur (Bozkurt ve Soylu, 2019).

Siderofor üretiminin belirlenmesi

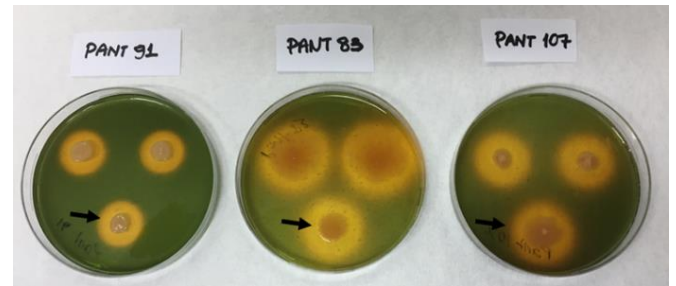
Düşük molekül ağırlıklı bir element olan siderofor özellikle demirin sınırlı olduğu alanlarda birçok mikroorganizma ve bitki tarafından üretilmektedir (Schwyn and Neilands, 1987). Mikroorganizmalar tarafından üretilen sideroforlar bitkilerin demir alımını

arttırarak bitki gelişimini teşvik ettiği için dolaylı olarak veya antimikrobiyal özelliklerinden dolayı ise doğrudan hastalıklarla mücadelede etkili olabilmektedir. Ayrıca demirin az olduğu alanlarda antagonist bakterilerin siderofor üretimi ile patojen mikroorganizmalar ile rekabete girmesi, doğrudan patojeni engellemese de dolaylı olarak patojen popülasyonunun azalmasına neden olabilmektedir.

CAS agar ortamına nokta ekim yapılan bakteri kolonilerinin etrafında oluşan sarı veya turuncu alanlar (Şekil 5) siderofor pozitif olarak kabul edilmiştir.

Siderofor üretim testinde en yüksek indeks değeri *Pseudomonas thivervalensis* PANT107 (2.86) izolatında belirlenirken bunu sırası ile antagonistik etkinlik sonuçlarına benzer *Bacillus simplex* PANT91 (2.31) ve *Pseudomonas brassicacearum* PANT83 (2.07) izolatları izlemiştir (Çizelge 1).

İstatistik analiz sonuçlarına göre *Arthrobacter ilicis* PANT59, *Stenotrophomonas* sp PANT82, *Microbacterium phyllosphaerae* PANT92 ve *Bacillus megaterium* PANT101 izolatları düşük oranlarda siderofor üretmekle beraber hiç siderofor üretmeyen *Pseudomonas thivervalensis* PANT88 izolatı ile aynı grupta yer almış olup istatistik olarak önemsiz bulunmuştur.



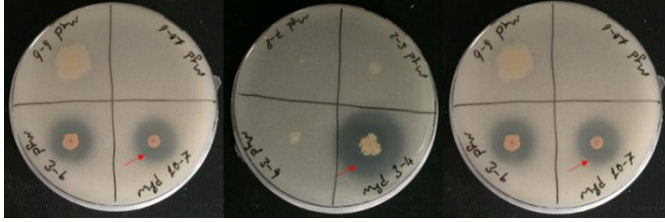
Şekil 5. CAS blue agar ortamında bakteri izolatlarının siderofor üretimleri sonucu oluşan sarı turuncu alanlar (ok).

Figure 5. Yellow-orange areas (arrow) formed as a result of siderophore production of bacterial isolates in CAS blue agar medium.

Fosfor çözme potansiyellerinin belirlenmesi

Fosfor çözünürlük testinde 17 bakteri izolatı etkisiz bulunmuş olup, 12 izolat ise 1.03-4.44 arasında değişen oranlarda fosfor çözme etkisi göstermiştir. En yüksek fosfor çözme indeksi *Pseudomonas kilonensis* PANT63 (4.44) nolu bakteri izolatında saptanırken bunu sırası ile *Pseudomonas thivervalensis* PANT107 (3.66), *Pseudomonas brassicacearum* PANT710 (3.55), *Pseudomonas jessenii* PANT34 (3.04) ve diğer izolatlar izlemiştir (Şekil 6, Çizelge 1). Bitkilerin sağlıklı bir şekilde büyüyüp gelişmesi için gerekli olan major elementlerden

bir tanesi de fosfordur. Toprağa karışan fosfor kısa zamanda toprak parçacıklarının temas yüzeyleri ile reaksiyona girerek daha az çözünür ve daha az yararlı bileşikler haline dönüşür (Karaman, 2012). Topraktaki çözünebilir fosfor konsantrasyonu 1 ppm veya daha az orandadır (Özyılmaz ve Benlioğlu, 2012). Toprakta bitki kökleriyle simbiyotik olarak yaşayan antagonist bakteriler, çözünemez durumundaki bu fosfor bileşiklerini çözerek bitkilerin yararlanabilecek forma dönüştürürler.



Şekil 6 Bakteri izolatlarının fosforu çözmeleri sonucu oluşan erime bölgeleri (ok).

Figure 6. Clearing zones formed as a result of bacterial isolates dissolving phosphorus (arrow).

İndol asetik asit üretiminin belirlenmesi

IAA üretiminin belirlenmesi testlerinde en yüksek IAA üretimi *Arthrobacter oxydans* PANT53 (27.73 µg/ml) izolatında saptanırken, bunu sırası ile *Pseudomonas brassicacearum* PANT83 (20.40µg/ml) ve *Bacillus simplex* PANT91 (19.88 µg/ml) izolatları izlemiştir (Çizelge 1).

Bitkilerin büyüme ve gelişmesini düzenleyen en önemli faktörlerden bir tanesi de hormonlardır. Bu hormonların en bilineni de İndol-3-asetik asittir (IAA). IAA bitkide kök

gelişimi, kök yüzey alanının genişlemesi, bitki besin elementlerin bitkiye alınması, hücre bölünmesi gibi birçok etkinliği bulunmaktadır (İmriz ve ark., 2014). Yapılan birçok çalışmada (Samuel ve Muthukkaroppan, 2011; İmriz ve ark., 2014) farklı türlere ait PGPR izolatlarının IAA ürettiği tespit edilmiştir.

Genel olarak toprak kökenli olup *Artemisia* sp, *Chenopodium* sp, *Solanum nigrum*, su sümbülü gibi yabancı otlardan, ceviz ve meşe gibi ağaçlardan izole edilen *Arthrobacter* cinsi bakterilerin yüksek düzeyde IAA ürettiği ve buğday, soya ve pirinç birçok bitkide bitki gelişimini arttırdığı yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir (Soleimani ve ark. 2018, Xu ve ark., 2018; Li ve ark., 2018; Soylu ve ark., 2018; Khan ve ark., 2019). Yapılan bu çalışmada da en yüksek IAA üretiminin *Arthrobacter oxydans* PANT53 izolatında saptanması *Arthrobacter* cinsine ait farklı türlerle yapılmış olan çalışmalar ile paralellik göstermektedir (Duman ve Soylu, 2019).

Proteaz üretiminin belirlenmesi

Proteaz testinde 8 izolat değişen oranlarda proteaz üretirken 21 izolatta ise proteaz üretimine rastlanmamıştır. En yüksek proteaz üretimi *Pseudomonas brassicacearum* PANT83 (2.51) izolatında belirlenirken bunu sırası ile *Bacillus simplex* PANT64 (2.12) *Pseudomonas jessenii* PANT34 (2.04) *Pseudomonas thivervalensis* PANT107 (2.00) ve diğerleri izlemiştir (Çizelge 1). Proteazlar, doğada bitkisel, hayvansal ve mikrobiyal kalıntıların dekompozisyonunda önemli rol oynamaktadırlar ve böylece besin döngüsünü sağlamakta ve ayrıca bitkilerin besinleri alabilmelerini sağlamaktadırlar (Anonim, 2019).

Çizelge 1. Aday antagonis bakteri izolatlarının *in vitro* biyokontrol etki mekanizmaları ve indeks değerleri

Table 1. *In vitro* biocontrol mechanisms and index values of candidate antagonist bacteria isolates

İzolat	Bakteri Tür İsimleri	A-İndeks	S-İndeks	F-İndeks	Pro-İndeks	IAA
PANT15	<i>Pseudomonas flavescens</i>	1.21 ^{ab*}	1.41 ^{bcd}	0,00 ^a	0.00 ^a	11.41 ^{d-h}
PANT21	<i>Acinetobacter pittii</i>	0.79 ^{ab}	1.23 ^{bcd}	0,00 ^a	0.00 ^a	3.26 ^{ab}
PANT24	<i>Microbacterium lacticum</i>	0.84 ^{ab}	1.17 ^{bcd}	0,00 ^a	0.00 ^a	1.71 ^{ab}
PANT34	<i>Pseudomonas jessenii</i>	0.80 ^{ab}	1.81 ^{b-e}	3,04 ^{de}	2.04 ^d	12.41 ^{e-i}
PANT39	<i>Mycobacterium avium</i>	1.18 ^{ab}	1.28 ^{bcd}	2,00 ^c	1.57 ^c	9.74 ^{de}
PANT44	** <i>S. multivorum</i>	1.31 ^{ab}	1.10 ^{bc}	0,00 ^a	0.00 ^a	14.61 ^{g-j}
PANT46	<i>Sinomonas atrocyanea</i>	1.39 ^{ab}	1.11 ^{bc}	0,00 ^a	0.00 ^a	5.02 ^{bc}
PANT52	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	1.46 ^{ab}	1.64 ^{bcd}	0,00 ^a	0.00 ^a	7.92 ^{cd}
PANT53	<i>Arthrobacter oxydans</i>	1.14 ^{ab}	2.02 ^{cde}	0,00 ^a	0.00 ^a	27.73 ^m
PANT59	<i>Arthrobacter ilicis</i>	1.33 ^{ab}	1.01 ^{abc}	1,35 ^{bc}	0.00 ^a	9.34 ^{de}
PANT510	*** <i>A. polychromogenes</i>	1.34 ^{ab}	1.34 ^{bcd}	1,53 ^{bc}	0.00 ^a	10.44 ^{def}
PANT63	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	1.67 ^{bc}	1.59 ^{bcd}	4,44 ^f	0.73 ^b	0.41 ^a
PANT64	<i>Bacillus simplex</i>	1.63 ^{bc}	1.31 ^{bcd}	1,03 ^b	2.12 ^{de}	14.60 ^{g-j}
PANT66	<i>Escherichia vulneris</i>	1.39 ^{ab}	1.92 ^{b-e}	1,12 ^b	0.00 ^a	15.56 ^{ijk}

Çizelge 1 (devamı). Aday antagonis bakteri izolatlarının *in vitro* biyokontrol etki mekanizmaları ve indeks değerleri
 Table 1 (continued). *In vitro* biocontrol mechanisms and index values of candidate antagonist bacteria isolates

İzolat	Bakteri Türü	İndeks 1	İndeks 2	İndeks 3	İndeks 4	İndeks 5
PANT72	<i>Lactobacillus gasserii</i>	1.00 ^{ab}	1.89 ^{b-e}	0,00 ^a	0.00 ^a	18.56 ^{kl}
PANT75	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.79 ^{ab}	1.49 ^{bcd}	0,00 ^a	0.00 ^a	11.43 ^{d-h}
PANT78	**** <i>P. brassicacearum</i>	1.24 ^{ab}	1.67 ^{bcd}	0,00 ^a	0.00 ^a	15.39 ^{h-k}
PANT710	**** <i>P. brassicacearum</i>	2.05 ^{bc}	1.67 ^{bcd}	3,55 ^{de}	1.51 ^c	13.43 ^{e-j}
PANT82	<i>Stenotrophomonas sp</i>	1.34 ^{ab}	0.81 ^{ab}	0,00 ^a	0.00 ^a	10.67 ^{d-g}
PANT83	**** <i>P. brassicacearum</i>	4.17 ^d	2.07 ^{cde}	2,83 ^d	2.51 ^e	20.40 ^l
PANT87	**** <i>P. brassicacearum</i>	1.78 ^{bc}	1.18 ^{bcd}	0,00 ^a	0.00 ^a	10.98 ^{d-g}
PANT88	**** <i>P. thivervalensis</i>	1.34 ^{ab}	0.00 ^a	0,00 ^a	0.00 ^a	4.37 ^{bc}
PANT91	<i>Bacillus simplex</i>	2.94 ^c	2.31 ^{de}	0,00 ^a	1.74 ^{cd}	19.88 ^l
PANT92	***** <i>M. phyllosphaerae</i>	1.60 ^b	0.92 ^{abc}	0,00 ^a	0.00 ^a	4.30 ^{bc}
PANT99	<i>Bacillus megaterium</i>	1.30 ^{ab}	1.40 ^{bcd}	1,12 ^b	0.00 ^a	14.40 ^{f-j}
PANT101	<i>Bacillus megaterium</i>	1.44 ^{ab}	0.88 ^{abc}	0,00 ^a	0.00 ^a	7.36 ^{cd}
PANT102	<i>Bacillus simplex</i>	1.47 ^{ab}	1.41 ^{bcd}	0,00 ^a	0.00 ^a	10.01 ^{de}
PANT106	<i>Bacillus megaterium</i>	1.32 ^{ab}	1.24 ^{bcd}	1,31 ^{bc}	0.00 ^a	9.38 ^{de}
PANT107	**** <i>P. thivervalensis</i>	5.08 ^d	2.86 ^e	3,66 ^e	2.00 ^d	17.04 ^{kl}
	Kontrol	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a

* Her sütunda yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı harfler, izolatlar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu göstermektedir.

S:Spingobacterium, *A:Arthrobacter, ****P:Pseudomonas, *****M:Microbacterium

Aday antagonist bakterilerin *in vivo* saksı testleri ile biyokontrol özelliklerinin belirlenmesi

In vivo saksı testlerinde öncelikli olarak *in vitro* antibiyosis testlerinde daha sonra ise diğer testlerde etkili olarak saptanan *Pseudomonas brassicacearum* PANT 83, *Bacillus simplex* PANT91 ve *Pseudomonas thivervalensis* PANT107 izolatları kullanılmıştır. Patogen

inokulasyonundan 14 gün sonra yapraklarda oluşan belirtiler 0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir. Tüm muamelelerde meydana gelen hastalık şiddeti oranları % olarak belirlenmiş, antagonist bakterilerin pozitif kontrole göre hastalığı engelleme oranları (% etki) ayrıca belirlenmiştir (Çizelge 2.).

Çizelge 2. *In vivo* saksı testlerinde farklı antagonist bakteri uygulamalarının hastalık şiddeti üzerine etkileri
 Table 2. Effects of different antagonist bacteria applications on disease severity in *in vivo* pot tests

İzolat	Tohum		Tohum + Yaprak		Yaprak	
	%h.ş*	%etki	%h.ş	%etki	%h.ş	%etki
PANT83	5.10 ^{a**}	47.19	4.55 ^a	56.51	5.20 ^a	46.15
PANT91	4.10 ^a	57.54	4.05 ^a	58.56	4.25 ^a	55.99
PANT107	5.40 ^a	43.26	5.31 ^a	44.08	8.05 ^b	16.64
K(+)	9.66 ^b	-----	9.66 ^b	-----	9.66 ^b	-----

*Hastalık Şiddeti

**Her sütunda yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı harfler, izolatlar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu göstermektedir.

Çizelge 2 incelendiğinde, aday antagonist bakteri izolatları ve patojen bakteri uygulanan bitkilerde hastalık şiddeti %4.05-8.05 oranlarında tespit edilirken yalnız patojen inokule edilen bitkilerde hastalık şiddeti %9,66 olarak belirlenmiştir. Uygulamalarda meydana gelen hastalık şiddetlerine göre yapılan istatistik analizlerde *Pseudomonas thivervalensis* PANT107 yaprak uygulaması pozitif kontrolle aynı grupta yer alırken diğer tüm uygulamalar pozitif kontrolden farklı bulunmuş ve ayrı grupta yer almıştır. Hastalığın engelleme oranlarına

bakıldığında *Bacillus simplex* PANT91 izolatı tohum, tohum+yaprak ve yaprak uygulamalarında hastalık gelişimini %57.54, %58.56 ve %55.99, *Pseudomonas brassicacearum* PANT83 izolatı %47.19, %56.51 ve %46.15, *Pseudomonas thivervalensis* PANT107 izolatı ise %43.26, %44.08 ve %16.64 oranlarında engellemiştir. üç farklı uygulama karşılaştırıldığında ise genel olarak tohum+yaprak uygulamasının diğer uygulamalara göre daha etkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 7). Çalışmada elde edilen tüm sonuçlar birlikte

değerlendirildiğinde özellikle *in vitro* antibiyosis ve diğer testlerin çoğunda etkili olarak saptanan *Pseudomonas brassicacearum* PANT83, *Bacillus simplex* PANT91 ve *Pseudomonas thivervalensis* PANT107 numaralı 3 aday bakteri izolatu *in vivo* saksı testlerinde kullanılmıştır. Bakteri izolatları patosisteme tohum, tohum+yaprak ve yaprak olarak 3 şekilde uygulanmıştır. Tüm izolatların her 3 uygulamada da hastalık gelişimini %16-58 oranında engellediği saptanmıştır. Tohum, tohum+yaprak ve yaprak uygulamaları karşılaştırıldığında genel olarak tohum+yaprak uygulamalarının diğer uygulamalara göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Hastalığın engelleme



Şekil 7. Saksı denemeleri sonucunda farklı bakteri ve K (+) uygulamasında meydana gelen hastalık belirtileri.

Figure 7. Disease symptoms occurring in pot trials with different bacteria and K (+) applications.

oranına bakıldığında tohum, tohum+yaprak ve yaprak uygulamalarında en iyi oranı *Bacillus simplex* PANT91 izolatu olduğu saptanmış, bunu sırasıyla *Pseudomonas brassicacearum* PANT83 ve *Pseudomonas thivervalensis* PANT107 izolatu izlemiştir.

Son yıllarda kimyasalların aşırı kullanımı sonucu toprak ve çevre kirliliği artmakta ve tarım alanları hızla azalmaktadır. Sürdürülebilir tarım için çevreyi ve toprağı kirleten kimyasalların kullanımı azaltılmalı ve kontrol altına alınmalıdır.

Yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar maydanoz bakteriyel leke hastalığı etmenine (*Psa*) karşı mücadelede antagonist bakteriler ile biyolojik mücadelenin etkili olabileceği tespit edilmiştir.

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, maydanoz köklerinden izole

edilen epifit bakterilerin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda Maydanoz Bakteriyel Yaprak Leke Hastalığı etmeni *Pseudomonas syringae* pv *apii* (*Psa*)' ye karşı biyolojik mücadele potansiyellerinin belirlenmesidir.

Yöntem ve Bulgular: Sağlıklı maydanoz bitkilerinin kök bölgelerinden 48 adet aday antagonist bakteri izolatu izole edilmiştir. Bakteri izolatlarının tanısı MALDI-TOF ile yapılmıştır. İzole edilen ve tanısı yapılan 40 bakteri izolatinin *in vitro* koşullarda hastalık etmenine karşı antagonist etkilerinin yanı sıra siderofor, indol asetik asit (IAA), proteaz, amonyak üretimi ve fosfor çözme potansiyelleri gibi etki mekanizmaları belirlenmiştir. Antagonistik etkinin belirlendiği antibiyosis testinde en yüksek indeks değeri *Pseudomonas thivervalensis* PANT107 (5.08) izolatu belirlenmiş olup bunu *Pseudomonas brassicacearum* PANT83 (4.17) ve *Bacillus simplex* PANT91 (2.94) izolatu izlemiştir.

In vivo etkinlik denemelerinde bakteri izolatları farklı (tohum kaplama, tohum kaplama+yaprak püskürtme ve yaprak püskürtme uygulamaları) şekillerde uygulandıkları bitkilerde hastalık gelişimini % 16-58 oranında engellemiş olup, en etkili izolatu *Bacillus simplex* PANT91 olduğu belirlenmiştir. Uygulamalar karşılaştırıldığında genel olarak tohum+yaprak uygulamalarının hastalık çıkışını engelleme açısından diğer uygulamalara göre daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Genel Yorum: Yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar Maydanoz Bakteriyel Leke Hastalığı etmenine (*Psa*) karşı mücadelede antagonist bakteriler ile biyolojik mücadelenin etkili olabileceği tespit edilmiştir

Çalışmanın Önemi ve Etkisi: Hastalık etmenine karşı bilinen etkili bir kimyasal mücadelesi olmaması ve antibiyotik kullanımının birçok ülkede yasak olması sebebiyle alternatif biyolojik mücadele yöntemleri araştırılması kaçınılmazdır. Yapılacak çalışmalar sonucunda bu izolatların maydanoz bakteriyel leke hastalığına karşı etkili olabileceği ve biyolojik mücadele elemanı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Maydanoz, bakteriyel yaprak lekesi, *Pseudomonas syringae* pv *apii*, biyolojik mücadele, *Bacillus simplex*.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından finansal olarak desteklenmiştir (Proje Numarası: MKU BAP-17.YL.023).

ÇIKAR ÇATIŞMA BEYANI

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması

olmadığını beyan ederler.

ARAŞTIRMACILARIN KATKI ORANI BEYANI

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Anonim (2019) <https://www.foodelphi.com/tag/proteaz/> (Erişim Tarihi: 15 Ocak 2019).
- Anonim (2020) <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Erişim Tarihi: 8 Şubat 2020).
- Achouak W, Sutra L, Heulin T, Meyer JM, Fromin N, Degraeva S, Christen R, Gardan L (2000) *Pseudomonas brassicacearum* sp. nov. and *Pseudomonas thivervalensis* sp. Nov., two root-associated bacteria isolated from *Brassica napu* and *Arapidopsis thaliana*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 50: 9-18.
- Aktan ZC, Soylu S (2020) Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarından endofit ve epifit bakteri türlerinin izolasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının karakterizasyonu. KSU Tarım ve Doğa Derg. 23: 641-654.
- Atay M, Kara M, Uysal A, Soylu S, Kurt Ş, Soylu EM (2020) In vitro antifungal activities of endophytic bacterial isolates against postharvest heart rot disease agent *Alternaria alternata* in pomegranate fruits. Acta Horticulturae 1289: 309-314.
- Bozkurt İA (2009) Fasulye bakteriyel yanıklık hastalığına (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) karşı antagonist bakterilerle mücadele olanakları. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Ens., Bitki Koruma ABD, 152 s.
- Bozkurt İA, Horuz S, Aysan Y, Soylu S (2016) First report of bacterial leaf spot of parsley caused by *Pseudomonas syringae* pv. *apii* in Turkey. Journal of Phytopathology 3: 207-211.
- Bozkurt İA, Soylu S (2019) Elma kök uru hastalığı etmeni *Rhizobium radiobacter*'e karşı epifit ve endofit bakteri izolatlarının antagonistik potansiyellerinin belirlenmesi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi 16: 348-361.
- Bozkurt İA, Soylu S, Kara M, Soylu EM (2020) Chemical composition and antibacterial activity of essential oils isolated from medicinal plants against gall forming plant pathogenic bacterial disease agents. KSU Tarım ve Doğa Derg. 23: 1474-1482.
- Bull CT, Clarke CR, Cai R, Vinatzer BA, Jardini TM, Koike ST (2011) Multilocus sequence typing of *Pseudomonas syringae* Sensu Lato confirms previously described genomospecies and permits rapid identification of *P. syringae* pv. *coriandricola* and *P. syringae* pv. *apii* causing bacterial leaf spot on parsley. Phytopathology 101: 847-858.
- Callan NW, Mathre DE, Miller JB, Vavrina CS (1997) Biological seed treatments: Factors involved in efficacy. Hort-Science 32: 179-183.
- Campos VP, de Pinho S.C, Freire ES (2010) Volatiles produced by interacting microorganisms potentially useful for the control of plant pathogens. Ciênc. Agrotec. Lavras Review. 34(3): 525-535.
- Cazorla FM, Vazoquez MA, Rosales J, Arrebola E, Navarro J, Perez-Garcia A, de Vicente A (2005) First report of bacterial leaf spot (*Pseudomonas syringae* pv. *coriandricola*) of coriander in Spain. J. Phytopathology 153: 181-184.
- Cerkauskas RF (2009) Bacterial leaf spot of cilantro (*Coriandrum sativum*) in Ontario. Can. J. Plant. Pathol. 31: 16-21.
- Ceylan A (1987) Tıbbi Bitkiler II. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi yayınları. No:169, cilt:II, 429s, İzmir.
- Chung BS, Aslam Z, Kim SW, Kim GG, Kang HS, Ahn JW, Ryun Y (2008) A bacteria endophyte, *Pseudomonas brassicacearum* YC5480, isolated from root of *Artemisia* sp. producing antifungal and phytotoxic compound. Plant Pathol. J. 24(4): 461-468.
- Duman K, Soylu S (2019) Characterization of plant growth-promoting traits and antagonistic potentials of endophytic bacteria from bean plants against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. Bitki Koruma Bülteni 59:59-69.
- Glickman E, Dessaux Y (1995) A critical evaluation of the specificity of Salkowski reagent for indole compounds produced by phytopathogenic bacteria. Applied and Environmental Microbiology 61: 793-796.
- Gupta M, Bharat N, Chauhan A, Vikram A (2013) First report of bacterial leaf spot of coriander caused by *Pseudomonas syringae* pv. *coriandricola* in India. Plant Dis. 97(3): 418.
- Hallmann J, Quadt HA, Rodriguez R, Kloepper JW (1998) Interactions between *Meloidogyne incognita* and endophytic bacteria in cotton and cucumber. Soil Biology and Biochemistry 30: 925-937.
- Hickey M, King C (1997) Common Families of Flowering Plants. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Holliday P (1989) A dictionary of plant pathology. Cambridge University Press, No: 2: Cambridge.
- İmriz G, Özdemir F, Topal İ, Ercan B, Taş MN, Yakışır E, Okur O (2014) Bitkisel üretimde bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (PGPR)'ler ve etki mekanizmaları. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi 12(2): 1-19.

- Kara, M, Soylu S, Kurt Ş, Soylu EM, Uysal A (2020) Determination of antagonistic traits of bacterial isolates obtained from apricot against green fruit rot disease agent *Sclerotinia sclerotiorum*. Acta Horticulturae 1290: 135-142.
- Kara M, Soylu S, Türkmen M, Kaya DA (2020) Determination and antifungal activities of laurel and fennel essential oils against fungal disease agents of cypress seedlings. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi 17: 264-275.
- Karaman MR (2012) Bitki besleme belemenin temel ilkeleri bitki besleme. 1066s, Ankara.
- Khan MA, Ullah I, Waqas M, Hamayun M, Khan AL, Asaf S, Kang SM, Kim KM, Jan R, Lee IJ (2019) Halo-tolerant rhizospheric *Arthrobacter woluwensis* AK1 mitigates salt stress and induces physio-hormonal changes and expression of GmST1 and GmLAX3 in soybean. Symbiosis 77(1): 9-21.
- Kızılaslan HÇ (2017) Apiaceae familyası meyve anatomisindeki "Vitta" terimi ve yerleşimleri. Avrasya Terim Dergisi 5(2): 19-24.
- Krzyzanowska DM, Potrykus M, Golanowska M, Polonis K, Gwizdek-Wisniewska A, Lojkowska E, Jafra S (2012) Rhizosphere bacteria as potential biocontrol agents against soft rot caused by various *Pectobacterium* and *Dickeya* spp. strains. Journal of Plant Pathology 94(2): 367-378.
- Kumar P, Dubey RC, Maheshwari DK (2012) *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. Microbiological Research 167: 493-499.
- Kurt S, Tok FM (2006) Influence of inoculum concentration, leaf age, temperature and duration of leaf wetness on *Septoria* blight of parsley. Crop Production 25(6): 556-551.
- Kurt S, Uysal A, Kara M, Soylu S, Soylu EM (2017) First report of stem rot disease of parsley caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in Turkey. Journal of Plant Pathology 99(1): 301.
- Li M, Guo R, Yu F, Chen X, Zhao H, Li H, Wu J (2018) Indole-3-Acetic acid biosynthesis pathways in the plant-beneficial bacterium *Arthrobacter pascens* Z221. Int. J. Mol. Sci. 19(2): 443.
- Loper JE, Gross H (2007) Genomic analysis of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. European Journal of Plant Pathology 119: 265-278.
- Minchinton E, Auer D, Martin H, Tesoriero L (2006) Bacterial leaf spot. Guide to common diseases and disorders of parsley. 9.
- Özyılmaz Ö, Benlioğlu K (2012) Fosfat çözen bakterilerin pamuk bitkisinin gelişimine ve *Verticillium* solgunluğuna etkileri. Türk. Biyo. Müc. Derg. 3(1): 47-62.
- Pavlovic M, Konrad R, Iwobi AN, Sing A, Busch U, Huber I (2012) A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. FEMS Microbiology Letters 328: 46-53.
- Perneel M, Heyrman J, Adiobo A, De Maeyer K, Raaijmakers LM, De Vos P, Höfte M (2007) Characterization of CMR5c and CMR12a, novel fluorescent *Pseudomonas* strains from the cocoyam rhizosphere with biocontrol activity. Journal of Applied Microbiology 103(4): 1007-20.
- Pernezny K, Raid RN, Jones JB (1997) Bacterial leaf spot of cilantro in Florida. Diseases Notes 81(2): 232.
- Raid R, Roberts P (2004) Plant diseases management guide. 3: 43.
- Ramette A, Frapolli M, Fischer-Le Saux M, Gruffaz C, Meyer JM, Défago G, Sutra L, Moënné-Loccoz Y (2011) *Pseudomonas protegens* sp. nov. widespread plant protecting bacteria producing the biocontrol compounds 2,4 diacetylphloroglucinol and pyoluteorin. Systematic and Applied Microbiology 34(3): 180-188.
- Ross IL, Alami Y, Harvey PR, Achouak W, Ryder MH (2000) Genetic diversity and biological control activity of novel species of closely related pseudomonads isolated from wheat field soils in south australia. Applied and Environmental Microbiology 66(4): 1609-1616.
- Samuel S, Muthukkaruppan, SM (2011) Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and fungi associated with rice, mangrove and effluent contaminated soil. Current Botany 2(3): 22-25.
- Schulz B, Boyle C (2006) What are endophytes? (Schulz, B., Boyle, C., & N., T., Editör). In: Microbial Root Endophytes. Springer-Verlag, No: 1-13, Berlin.
- Schwartz AR, Ortiz I, Maymon M, Herbold CW, Fuiishige NN, Vijanderan JA, Vilella W, Hanamoto K, Diener A, Sanders ER, DeMason DA, Hirsch AM (2013) *Bacillus simplex*-A little known pgpr with anti-fungal activity-alter pea legume root architecture and nodule morphology when coinoculated with *Rhizobium leguminosarum* by *viciae*. Argonomy 3(4): 595-620.
- Schwyn B, Neilands J.B (1997) Universal chemical assay for detection and determination of siderophores. Anal. Biochem. 160: 46-56.
- Soylu S, Soylu EM, Kurt S (2010) Downy mildew outbreak on parsley caused by *Plasmopara petroselinii* in Turkey. Plant Pathology 59(4): 799.
- Soylu S, Kara M, Üremiş İ, Kurt Ş, Soylu EM, Uysal A

- (2018) Determination of plant growth promoting traits of bacterial endophytes isolated and identified from invasive plant water Hyacinth *Eichhornia crassipes* in Orontes river of Turkey. 1st International Mediterranean Symposium, 01-03 November 2018, Mersin/Turkey. Volume 4: 65-78.
- Soylu EM, Soylu S, Kara M, Kurt Ş (2020) Sebzelelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. KSU Tarım ve Doğa Dergisi 23: 7-18.
- Soleimani R, Alikhani HA; Towfighi H, Pourbabaei AA, Khavazi K (2018) Indole-3-acetic acid and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase-producing bacteria alleviate sodium stress and promote wheat growth. Iranian Journal of Science and Technology Transaction A-Science 42(A3): 1037-1048.
- Sülü SM, Bozkurt İA, Soylu S (2016) Bitki büyüme düzenleyici ve biyolojik mücadele etmeni olarak bakteriyel endofitler. MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 21: 103-111.
- Şahin B, Soylu S, Kara M, Türkmen M, Aydın R, Çetin H (2021) Superior antibacterial activity against seed-borne plant bacterial disease agents and enhanced physical properties of novel green synthesized nanostructured ZnO using *Thymbra spicata* plant extract. Ceramics International 47: 341-350.
- Ullah A, Musthag H, Fahad S, Shah A, Chaudhary HJ (2017) Plant growth promoting potential of bacterial endophytes in novel association with *Olea ferruginea* and *Withania coagulans*. Microbiology 86(1): 119-127.
- Wilson M, Campbell HL, Ji P, Jones JB, Cuppels DA (2002). Biological control of bacterial speck of tomato under field conditions at several locations in North America. Phytopathology 92: 1284-1292.
- Xu X, Miller SA (2013) First report of bacterial spot of parsley caused by *Pseudomonas syringae* pv. *coriandricola* in Ohio. Plant Dis. 97(7): 988.
- Xu XH, Xu M, Zhao QM, Xia Y, Chen C, Shen ZG (2018) Complete genome sequence of cd(II)-resistant *Arthrobacter* sp PGP41, a Plant Growth-Promoting Bacterium with potential in microbe-assisted phytoremediation. Current Microbiology 75(9): 1231-1239.
- Zhou TT, Chen D, Li CY, Sun Q, Liu F, Shen Q, Shen B (2012) Isolation and characterization of *Pseudomonas brassicacearum* J12 as an antagonist against *Ralstonia solanacearum* an identification of its antimicrobial components. Microbiological Research 167(7): 388-394.