T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

FARKLI NİTRİFİKASYON İNHİBİTÖRLERİNİN DOMATESTE BAKTERİYEL SOLGUNLUK (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) HASTALIĞINA ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Aysu Tuğçe GÜL

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ

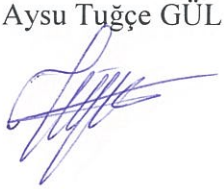
Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FYL-2019- 9243 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Mayıs 2020
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Aysu Tuğçe GÜL



"Farklı Nitrifikasyon İnhibitörlerinin Domateste Bakteriyel Solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) Hastalığına Etkisi " adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi' ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan
Aysu Tuğçe GÜL

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ

Bitki Koruma ABD Başkanı
Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL

Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ danışmanlığında **Aysu Tuğçe GÜL** tarafından hazırlanan **"Farklı Nitrifikasyon İnhibitörlerinin Domateste Bakteriyel Solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) Hastalığına Etkisi"** adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Bitki Koruma** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Gün / Ay / Yıl

JÜRİ:

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ .....

Üye : Unvan İsim SOYİSİM .....

Üye : Unvan İsim SOYİSİM .....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ……...… tarih ve ……..……sayılı kararı ile onaylanmıştır.

……. /……../ ……

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konumu belirleyip, bu konuda çalışmalar yapmamı sağlayan, çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ' a teşekkür ederim. Bugünlere gelmemde emeği olan, bilgi ve birikimlerini sevgiyle aktaran, fikirleriyle yol gösteren tüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Çalışma ortamını sağlayıp laboratuvar olanaklarını sunan, araştırma olanakları sağlayan Erciyes Üniversitesi' ne ve değerli hocalarına, maddi desteğinden dolayı Erciyes Üniversitesi BAP birimine teşekkür ederim. Bana hayatım boyunca her türlü yardımı ve fedakârlığı sağlayan, sevgi ve emeklerini esirgemeyen canım anne-babama ve kardeşime; her zaman yanımda olan, desteğini her an hissettiğim benim için çok değerli eşime sonsuz teşekkürler.

Aysu Tuğçe GÜL

Mayıs 2020, KAYSERİ

FARKLI NİTRİFİKASYON İNHİBİTÖRLERİNİN DOMATESTE BAKTERİYEL SOLGUNLUK (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) HASTALIĞINA ETKİSİ

Aysu Tuğçe GÜL

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Mayıs 2020
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ

ÖZET

Domateste bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı ekonomik boyutta bitki gelişimini ve verimini sınırlandıran önemli bir hastalıktır. Hastalığa dayanıklı ticari çeşit bulunmaması ve kimyasal mücadelenin yetersiz olması nedeniyle mücadelesi oldukça zordur. Saksı denemeleri şeklinde yürütülen bu tez çalışmasında karşılaştırma olarak azot inhibitörsüz normal amonyum sülfat ile yavaş salınım özelliğine sahip disiyandiamid (DCD) ve 3, 5 dimetilpirazolyum gliseroborat (DMPB) azot inhibitörlü amonyum sülfat gübrelerinin domates bakteriyel solgunluk hastalığına, bitki boyuna, gövde çapına, bitkideki klorofil miktarına ve bitki kuru ağırlığına etkisi araştırılmıştır. Denemede gübrelerin 100, 250 ve 500 ppm dozları bitkilere sulama suyu şeklinde birer hafta arayla üç kez uygulanmış ve uygulanan gübrelerin etkinliği, pozitif kontrol grubundaki bitkilerle kıyaslanarak belirlenmiştir. Birinci denemede gübreler hastalık gelişimini % 42-78 oranları arasında, ikinci denemede ise % 44-82 etki arasında engellemiştir. Her iki denemede inhibitörlü ve inhibitörsüz gübrelerin 500 ppm dozları hastalığı baskılamada en etkili uygulamalar olmuştur. Azot inhibitörsüz ve inhibitörlü gübreler bitkinin kuru ağırlığında % 7-111, bitki boyunda % 42, gövde çapında % 10 ve klorofil miktarında ise % 26'ya varan oranlarda artışa yol açarak başarılı uygulamalar olmuştur. Bu çalışma azot inhibitörlü gübrelerin bakteriyel solgunluk hastalığı üzerine etkisini ortaya koyan ilk çalışmadır. Domates bakteriyel solgunluk hastalığı ile entegre mücadele programlarına inhibitörlü gübrelerin de eklenmesi faydalı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Azot, solgunluk, domates, hastalık, gübre, mücadele

EFFICACY OF NITRIFICATION INHIBITORS ON TOMATO BACTERIAL WILT (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)

Aysu Tuğçe GÜL

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
Master Thesis, May 2020
Supervisor: Assistant Professor Dr. Sümer HORUZ

ABSTRACT

Tomato bacterial canker and wilt is a destructive disease causing economic losses and affecting plant growth and yield. Due to the lack of disease resistant cultivars and non-effective chemicals, management of the disease is quite tricky. In this study, the efficacy of non-nitrogenous classical ammonium sulphate as compare treatment, Dicyandiamide (DCD) and 3,5-Dimethylpyrazol glyceborate (DMPB) nitrification inhibitors included ammonium sulphate fertilizers tested with two pot treatments on tomato bacterial wilt development, plant height, plant diameter, chlorophyll amount and dry weight. Fertilizers were applied three times with one week intervals at the 100, 250 and 500 ppm doses as irrigation water and the efficacy of treatments compared with control plants. The disease development inhibited from 42 to 78% and from 44 to 82% in the first and second trials, respectively. In both treatments, 500 ppm dose of all applied fertilizers was highly decreased the lesion development in plants. All treatments increased plant dry weight among 7-111%, plant height and diameter up to 42% and 10%, amount of chlorophyll was enhanced up to 26%. This study reported the effect of nitrification inhibitors on tomato bacterial wilt for the first time. It is recommended to include fertilizers with nitrification inhibitors in integrated disease management of tomato bacterial wilt disease programmes.

Key Words: Nitrogen, wilt, tomato, disease, fertilizer, control

İÇİNDEKİLER

FARKLI NİTRİFİKASYON İNHİBİTÖRLERİNİN DOMATESTE BAKTERİYEL SOLGUNLUK (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) HASTALIĞINA ETKİSİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK iii
KABUL VE ONAY iv
TEŞEKKÜR v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
İÇİNDEKİLER viii
KISALTMALAR xi
TABLOLAR LİSTESİ xii
ŞEKİLLER LİSTESİ xiii

GİRİŞ 1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal 13

2.1.1 Patojen Bakteri İzolatları 13
2.1.2 Besi Yerleri..... 14
2.1.3 Çalışma Alanı..... 14
2.1.4 Domates Fideleri..... 15
2.1.5 Kullanılan Alet ve Ekipmanlar 15
2.1.6 Toprak ve Saksı Özellikleri 15
2.1.7 Kullanılan Gübreler ve Dozları 15
2.2. Yöntem 16
2.2.1 Bakteri İzolatlarının Kültürde Geliştirilmesi 16
2.2.2 Patojenite Testi 16
2.2.3 Hastalıklı Bitkilerden Patojen Bakteri Re-İzolasyonu 16
2.2.4 Etmenin Tanı Testleri 17
2.2.4.1 KOH Testi ile Gram Reaksiyonu 17
2.2.4.2 Akşam Sefası (*Mirabilis jalapa*)'nda Aşırı Duyarlılık Testi ... 17
2.2.5 Moleküler Testler 18
2.2.5.1 DNA İzolasyonu 18
2.2.5.2 PCR Analizi..... 19
2.2.6. İnhibitörlü ve İnhibitörsüz Gübrelerin Domates Fidelerine Uygulanması 20
2.2.7. Bitkilerin Patojen Bakteriyle Bulaştırılması..... 21
2.2.8. Gübrelerin Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığına Etkisi 21
2.2.9. Denemelerin Değerlendirilmesi..... 22
2.2.10. Gübrelerin Bitki Boyuna Etkisi 23
2.2.11. Gübrelerin Bitki Klorofili Üzerindeki Etkisi..... 23
2.2.12. Gübrelerin Bitki Gövde Çapına Etkisi..... 23
2.2.13. Gübrelerin Bitki Biyokütlesine Etkisi 23

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Domates Bitkilerinde Patojenite Testi..... 25

3.2. Akşam Sefası (*Mirabilis jalapa*) Bitkisinde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu 27
3.3. Tanıyı Destekleyici PCR Analizi.....28
3.4. Gübrelerin Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığına Etkisi 28
3.5. Gübrelerin Domateste Bitki Boyuna Etkisi 34
3.6. Gübrelerin Domateste Klorofil Miktarına Etkisi.....35
3.7. Gübrelerin Domates Gövde Çapına Etkisi 36
3.8. Gübrelerin Bitki Kuru Ağırlığı Üzerine Etkisi 37

4. BÖLÜM
TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Tartışma 39
4.2 Sonuç ve Öneriler.....45

KAYNAKÇA 47
ÖZGEÇMİŞ.....56

KISALTMALAR

Cm	: Santimetre
Cmm	: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*
DCD	: disiyandiamid
DMPB	: 3, 5 dimetilpirazolyum gliseroborat
DNA	: Deoksiribonükleik asit
g	: Gram
ha	: Hektar
King B	: King’s medium B
KOH	: Potasyum hidroksit
ml	: Mililitre
N	: Azot
nm	: Nanometre
PCR	: Polymerase chain reaction
pH	: Hidrojen iyonu konsantrasyonu
ppm	: Milyonda bir kısım
TUKEY	: Honestly Significant Difference
µl	: Mikrolitre
ºC	: Santigrat derece
%	: Yüzde
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Hasta domates bitkilerinden elde edilen izolatların kodu, izolasyon yılı ve yerleri……...14
Tablo 2.2. PCR analizinde kullanılan reaksiyon karışımının içerik ve miktarları…..…19
Tablo 2.3. PCR işlemi için kullanılan program…….……20
Tablo 2.4. Denemelerde uygulanan gübreler ve uygulama zaman aralıkları……..20
Tablo 3.1. Gübrelerin domateste bakteriyel solgunluk hastalığına etkisi (Birinci saksı denemesi)…….……29
Tablo 3.2. Gübrelerin domateste bakteriyel solgunluk hastalığına etkisi (İkinci saksı denemesi)…….……....33
Tablo 3.3. Gübrelerin domateste bakteriyel solgunluk hastalığına etkisi (Birinci ve ikinci saksı denemesi)…….....33
Tablo 3.4. Gübrelerin bitki boyuna etkisi (Birinci ve ikinci saksı denemesi)…….…34
Tablo 3.5. Gübrelerin domateste klorofil miktarına etkisi (Birinci ve ikinci saksı denemesi)…….…35
Tablo 3.6. Gübrelerin domateste gövde çapına etkisi (Birinci ve ikinci saksı denemesi)…….37
Tablo 3.7. Gübrelerin domates kuru ağırlığına etkisi (Birinci ve ikinci saksı denemesi)…….38
.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Toprakta amonyumun nitrata dönüşmesi aşamaları……...6
Şekil 2.1.a. Domates bitkisinde tek taraflı sararma…….13
Şekil 2.1.b. Domates bitkisinde gövdede çatlama…….…..13
Şekil 2.2. Birinci saksı denemesinden genel bir görünüm…….….22
Şekil 2.3.a. Klorofil miktarının ölçülmesi……..….24
Şekil 2.3.b. Gövde çapının ölçülmesi…….....24
Şekil 3.1. Bitkide genel solgunluk ve yanıklık (ME Cmm 6)…….25
Şekil 3.2. Domates gövdesinde çatlama (HT 2a Cmm)……..26
Şekil 3.3. İletim demetinde kahverengileşme (Demre Cmm 1a)……26
Şekil 3.4. Cmm petride koloni gelişimi……..….27
Şekil 3.5. Mirabilis jalapa bitkisinde aşırı duyarlılık reaksiyonu……...27
Şekil 3.6. Agaroz jelde 614 bp bant oluşumu (M: Marker, 1: ME Cmm 1, 2: ME Cmm 6, 3: Mersin Cmm2, 4: Demre Cmm 1a, 5: Demre Cmm 2a, 6: HT 2a Cmm, 7: MT 1a Cmm, 8: ÖT 2b Cmm, NK: Negatif kontrol)…….…….....28
Şekil 3.7. Pozitif kontrol bitkilerinde iletim demetinde hastalık seyri……30
Şekil 3.8. DCD inhibitörlü amonyum sülfat (500 ppm) iletim demetinde sararma…….…..…..30
Şekil 3.9. İnhibitörsüz amonyum sülfat 250 ve 500 ppm doz uygulanmış bitkilerde hastalık gelişimi……...31
Şekil 3.10.a. DCD inhibitörlü (100 ppm) solgunluk ……..31
Şekil 3.10.b. DCD inhibitörlü (100 ppm) iletim demetinde renklenme……..31
Şekil 3.11.a. Pozitif kontrol bitkide renk değişimi……..32
Şekil 3.11.b. DMPB inhibitörlü gübre (500 ppm) uygulanan bitkide renk değişimi…..32

GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicum* L.*) Solanaceae* familyasına ait sebzeler içinde önemli bir türdür. Tropik bölgelerde çok yıllık olarak, diğer bölgelerde ise tek yıllık bitki şeklinde yetiştirilmektedir. Domatesin Ana vatanı Güney Amerika ülkesi olan Peru'dur (Frusciante vd., 2000, Yılmaz, 2001). Adaptasyon yeteneğinin yüksek oluşu, açıkta yapılan tarımın yanı sıra örtü altı yetiştiriciliğinin de yapılması ve farklı işleme endüstrilerinde kullanılması gibi özellikleriyle kuzey ile güney yarım küreden Ekvator'a kadar pek çok yerde üretilmekte ve tüketilmektedir. En çok yetiştirildiği ve en fazla tüketiminin olduğu bölgelerden biri Türkiye'nin de bulunduğu Akdeniz Havzası'dır. Akdeniz Havzası'nda kişi başına düşen yıllık domates tüketim miktarı 60-70 kg'dır (Peralta ve Spooner, 2007). Türkiye'de kişi başına domatesin yıllık tüketimi yaklaşık olarak 115 kg'dır (Yanmaz vd., 2015). Yüksek miktarda A, C, E vitaminleri ve potasyum gibi pek çok mineral maddesi ile bitkisel lif zenginliği, likopen, flavonoidler ve beta karoten gibi fenolik bileşikleri içermesi ile pek çok hastalıktaki koruyucu özellikleri domatesi sağlık yönünden değerli kılmaktadır (Abak, 2016). Ayrıca taze olarak tüketildiği gibi salça, domates kurusu, konserve, domates suyu, ketçap vb. pek çok ürüne işlenebilmektedir (Oruç Büyükbay vd., 2009).

Dünyada en çok yetiştirilen sebzeler arasında domates de yer almaktadır. En çok domates üretimi yapılan ilk beş ülke sırasıyla; Çin, Hindistan, Türkiye, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Mısır'dır. Türkiye 12 milyon 750 bin ton domates üretim miktarıyla Dünya'daki domates üretiminde üçüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2017). Ayrıca ihracatı yapılan sebzeler içerisinde domates birinci sırada olup en çok ihraç edilen sebzedir (FAO, 2017).

İnsan besini olarak üretilip-tüketilen, tarım alanlarında ve gıda endüstrisi gibi yerlerde kullanılan ve önemi büyük olan domateste; bakteriyel, fungal ve viral kökenli pek çok

hastalık etmeni büyük derecelerde verim kayıplarına sebep olabilir (Karaca ve Saygılı, 1982). Önemli verim kayıplarına neden olan birçok bakteriyel hastalık mevcuttur ve bu bakteriyel hastalıklardan biri de bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığıdır. Domateste bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığına *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* [(Smith) Davis et al.] (*Cmm*) isimli etmen sebep olmaktadır ve domateste büyük verim kayıplarına yol açmaktadır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* etmeni; Clavibacter cinsi, Microbacteriaceae familyası, Thallobacteria sınıfı, Firmicutes bölümü ve Prokaryota aleminde bulunmaktadır (Agrios, 2005). Söz konusu etmen ilk önce *Bacterium michiganense* ardından sırasıyla *Phytomonas michiganensis, Pseudomonas michiganensis* ve *Mycobacterium michiganensis* olarak adlandırılmıştır. Etmen 50 yıl kadar da *Corynebacterium michiganense* şeklinde isimlendirilmiştir. Bu süreç sonunda hastalığa neden olan patojenin hücre duvarıyla ilgili yapılan araştırmalar sonucunda günümüzde de halen güncelliğini koruyan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bilimsel ismi kullanılmaktadır (Gleason vd., 1993).

Bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı ilk kez 1909 yılında ABD' nin Michigan eyaletinde rapor edilmiş, günümüzde ise dünya çapında yayılış göstermektedir (Jones vd., 2014). Bu hastalık, sofralık ve sanayilik domates yetiştirilen dünyanın birçok bölgesinde ciddi bir tehdit olarak kabul edilir (Nandi vd., 2018). Kanser salgınları yalnızca sporadik yani ara sıra olarak oluşur, yıkıcı olabilir ve %100 e kadar verim kaybıyla sonuçlanabilir. Bakteriyel kanser seralarda da domateslerin en önemli hastalıklarından biri olarak düşünülür. Hem direk tohumlar hem de fidelikte yetiştirilen bitkiler etkilenebilir ve patojen budama ve koltuk alma işlemleri süresince yayılabilir (Jones vd., 2014). Verim kayıpları, konukçu enfeksiyonu için yıl, yer, çeşit ve fenolojik aşamaya göre değişir; Örneğin Kanada'da Ontario'da ticari alanlarda % 84'e varan verim kayıpları, yapay olarak bulaştırılmış domateslerde ise verim kayıpları % 46 ile % 93 arasında değişmiştir (Poysa, 1993). Fransa'da % 20-30 (Rat vd., 1991) ve ABD'nin Illinois eyaletinde % 46'lık verim kayıpları kaydedilmiştir (Chang vd., 1992). Michigan'da bakteriyel kanser, tek bir yıl içinde domates yetiştiricilerine 300.000 dolar kadar bir maliyet kaybına neden olmuştur (Hausbeck vd., 2000). Ciddi verim ve ekonomik kayıpların bir sonucu olarak, *Cmm*, Avrupa Birliği'nde ve diğer birçok ülkede karantinaya tabi bir organizmadır (De Leon vd., 2008). Ülkemizde ise ilk kez İç

Anadolu Bölgesi'nde, daha sonra Güney Doğu Anadolu, Marmara ile Ege Bölgelerinde bulunmuştur. Bu bölgelerdeki saptamalardan sonra diğer bölgelerde de varlığı çeşitli araştırıcılar tarafından saptanmıştır (Saygılı vd., 2019).

Bitkiye etmenin giriş şekline göre hastalığın oluşturacağı belirtiler de farklılık oluşturabilir. Enfeksiyon tohumdan meydana gelirse ya da açılmış yaralar ile iletim demetine giriş yaparsa sistemik enfeksiyonlar görülür. Hidatod ve benzeri doğal açıklık ya da tüylerin kırılması gibi açılmış yara yoluyla bitkiye giriş yapmışsa da lokalize enfeksiyonlardan bahsedilir. Sistemik enfeksiyonlarda solgunluk ilk belirti olarak gözlenir, bitki yaşlı ise hastalık ilerlemesi yavaş olur. Renk değişimi ya da tek taraflı olan solgunluk en tipik belirtisidir. Fide döneminde oluşan sistemik enfeksiyonda fide hızlı bir şekilde çöker, solar ve ölüm gerçekleşir. Olgun bitkilerde ise enfekteli gövdede iletim demeti sarımtırak bir renge dönüşür, ilerleyen dönemlerde renk kahverengimsi olur ve çatlamalar meydana gelir. Etmen öncelikle ksilemden girerek yanında bulunan parankima hücreleri ve floeme doğru yayılım gösterdiği için petiollerde ve bitki gövdesinde açık sarımsı kahverengi nekrozlar şeklinde belirti oluşturur. Oluşan nekrozlar zamanla koyulaşır ve bitki gövdesinde çatlaklar oluşturarak genişleyebilir. Korteks ile bitkinin öz kısmındaki koyu kahverengi lekeler daha büyük nekrozlara dönüşür. Solmuş olan bitkilerde iletim demetleri tıkandığı için sonraki dönemlerde yapraklara su ve besin gidemez, bundan dolayı yanıklıklar ile kavrulmuş bitki görüntüsü oluşur (Gleason vd.,1993).

Lokalize enfeksiyonlarda yaprak lekeleri ve nekrozlar şeklinde belirtiler başlar (Çetinkaya-Yıldız ve Aysan, 2008). İlk simptomlar yaprakçıklarda kenar nekrozlarıdır, yanmış faz olarak adlandırılan bu görünümde önce alt yaprakçıkların kenarları kurur, bazen sarı ince bir dokuyla yeşil olan kısımdan ayrılır. Bu nekrotik bölgeler zaman içinde büyür, yapraklar ile tüm gövdenin büzüşmesine sebep olur. Zaman içinde iletim demetine de geçerek sistemik enfeksiyon oluşturabilir. Bu gibi simptomların meydana gelmesi çevreye, bitki yaşına ve çeşidin duyarlılığına göre değişebilir (Saygılı vd., 2019).

Meyvelerde ise kuş gözü belirtileri olarak adlandırılan meyve simptomları 3-6 mm çapında, kremsi beyaz halelerle çevrelenmiş taba rengi veya kahverengi merkezlere

sahiptir (Jones vd., 2014). Kuş gözü belirtisi nemli kalan ve yağmurlama sulama yapılan alanlarda daha çok görülür (Sherf ve Macnab, 1986).

Etmen *Solanaceae* familyasına ait olan domates, patlıcan ve biber gibi türlerde hastalık oluşturmasına rağmen, ekonomik anlamdaki zararını domateste yapar, ayrıca bu familyaya ait bazı yabancı otlar (*Solanum nigrum, S.triflorum* gibi) da konukçuları arasında yer alır (Sen vd., 2015).

Enfekte tohum ve hastalıklı bitki artıkları, hastalık oluşumu için primer inokulum kaynağıdır (Quesada-Ocampo vd., 2012) ve tohum, uzun mesafelere taşındığından birincil inokulum kaynağıdır. Tohumdan fideye iletim yoluyla patojen girişi % 0.25-85 arasında değişebilir (Strider, 1969). Tohum başına beş bakteri hücresi kadar düşük popülasyon yoğunlukları bile fidelerde hastalık oluşumuna neden olabilir (Lelis vd., 2014). Tohumda % 0.01'lik bir bulaşma oranı bile uygun koşullarda ciddi bir enfeksiyon başlatma potansiyeline sahiptir (Chang vd., 1991). Üretim alanı içerisinde *Cmm'*nin sekonder enfeksiyon oluşturması temelde budama ve koltuk alma işlemleri, hastalıklı ve sağlıklı bitkiler arasındaki temas, yağmur suyu, sıçrayan su damlaları ve gübreleme sırasında besin solüsyonlarının verilmesi gibi kültürel uygulamalarda ortaya çıkar (Sen vd., 2015).

İnokulum kaynakları bulaşık olan tohumlar başta olmak üzere bitki artıkları, bulaşık odunsu parçalar, enfekteli olan bitkiler ve yabancı otlardır. Patojen toprağın yüzey kısmında kalan bitki artıklarında daha uzun sürelerde yaşar. Kışı bulaşık olan bitki artıklarında geçiren epifitik patojen bakteriler primer inokulum kaynağı olarak görev yapar. Patojenik *Cmm* toprakta 2.5-5.0 yıl, kompostta iki yıl ve topraktaki bitki artıklarında 10 ay yaşamını sürdürür (Jones vd., 2014).

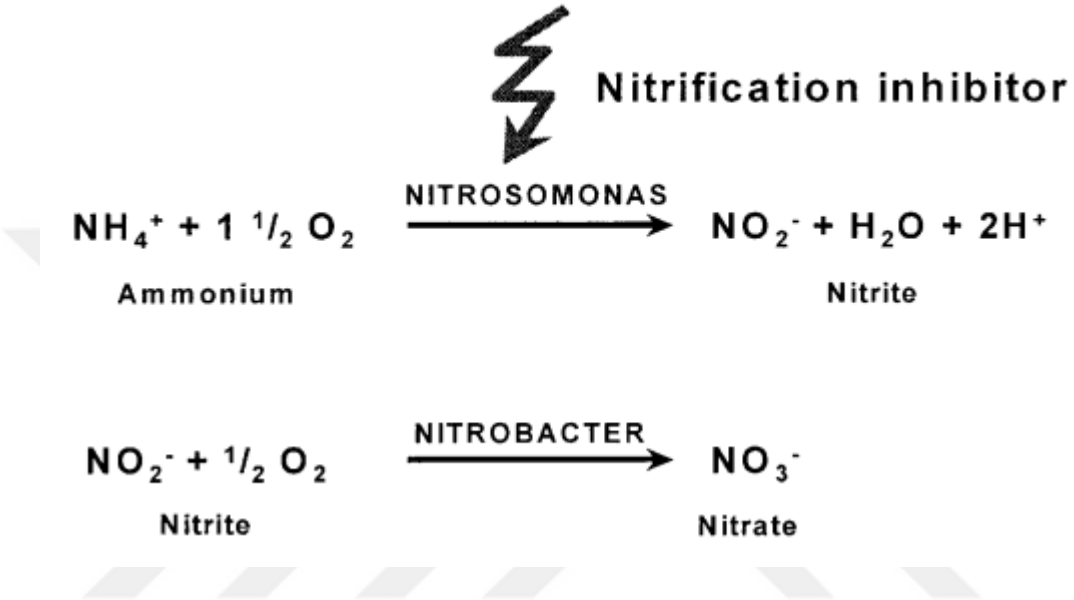
Hastalığa dayanıklı ticari bir çeşit bulunmamaktadır. Yabani domates genotipleri olan *S. pimpinellifolium (L.) Mill, S. habrochaites, S. arcanum* ve *S. chilense* türlerinde hastalığa dayanıklılık genleri olduğu bildirilmiştir. Ancak bu hastalığa dayanıklılık birden fazla gen ile kontrol edilmektedir (Sen vd., 2015).

Hastalık yönetim stratejileri dört kategoride gruplanır: Bulaşmayı önleme, eradikasyon, yayılımın önüne geçme ve mücadele şeklindedir. Bulaşmayı önlemek için ilk adım olarak tohum ve fidelerin etmenle enfekteli olmaması önem arz etmektedir. Bunun için tohum üretimi yapılan tarlalarda sık kontrollerin yapılması, fideliklerde hastalık kontrolünün dikkatli yapılması gerekir. Domates tohumu, bitki lotlarında patojenin sebep olduğu enfeksiyonu önleme amaçlı kullanılan suyun ve alet-ekipmanın dezenfeksiyonu, tohum temizliği ve insan faaliyetlerini kontrol etmek, sanitasyon önlemleri yani bulaşık bitkilerin ve artıklarının ortamdan hemen uzaklaştırılması, ürün rotasyonu hastalığı yönetmede başvurulan önlemlerdir. Ayrıca *Solanaceae* familyasına ait yabancı otlar domates üretim alanlarından ve yakınından elenmelidir (Jones vd., 2014). Tohum ve yeşil aksama bitki uçucu yağ ve ekstraklarının uygulanması (Kotan vd., 2014; Karabüyük ve Aysan, 2019), Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakterilerle dayanıklılığı uyarma (Çetinkaya Yıldız, 2007) gibi mücadele yöntemleri de alternatif olarak değerlendirilebilir.

Hastalık etmeni sistemik enfeksiyon yaptığında mücadelesi imkansızdır. Fideliklerde ve seralarda bakırlı bileşikler erken dönemde koruyucu olarak kullanılmaktadır (Jones vd., 2014). Bakırlı bileşiklerin hastalık şiddetini azalttığı bilinmektedir; ancak, hastalığı tatmin edici bir şekilde kontrol edememektedir (De Leon vd., 2008).

Tüm bu mücadele yöntemlerinin dışında kültürel önlemler içerisinde bitki beslemenin dengeli yapılması da önemli rol oynar (Bergmann, 1992). Yetiştirilen bitkinin yeterli ve sağlıklı beslenmesi ile hastalık-zararlı enfeksiyonu arasında önemli bir ilişki vardır. Beslenme eksikliği ya da dengesizliği olan bitkilerde zararlı veya patojenlerin sebep olduğu hasarlar yüksek olmaktadır (Karaman, 2012). Yeterince beslenen bitkilerde hastalığa dayanıklılık seviyesi de artmaktadır. Kısaca bitki ne kadar iyi beslenip, gelişirse hastalıklara dayanımı da o kadar artar (Bergmann, 1992). Mücadele yöntemleri içinde kontrole yönelik yapılan bu besin elementi uygulamalarının oranı, uygulamanın şekli ile dozu, hangi formunun kullanılması gerektiği gibi faktörler çok önemlidir. (Karaman, 2012). Kaliteli ve sağlıklı bitki üretiminde büyük payı olan gübrelemede en çok kullanılan gübreler içerisinde azotlu gübreler yer almaktadır (Maynard vd., 1976). Azotun bitkiler üzerinde fizyolojik ve kimyasal olaylarda hayati rolü vardır (Karaman, 2012). Bitkiler azot ihtiyacını karşılamada azotlu gübreleri amonyum, amin ve nitrat

formları şeklinde alabilirler, amin ve amonyum formlarındaki azotu *Nitrosomonas*, *Nitrococus* bakterileriyle nitrite (NO_2^-), sonrada *Nitrosolobus* ve *Nitrobacter* bakterileri de nitrata (NO_3^-) çevirmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Toprakta amonyumun nitrata dönüşmesi aşamaları

Volatilizasyon (Katı veya sıvı bir maddenin buharlaşması ya da gaz haline dönüşmesi), denitrifikasyon (Bazı anaerobik bakterilerin havadan azot alarak nitratları nitrite ve nitriti de moleküler azota dönüştürmesi) ve yıkanma gibi birçok farklı sebeplerden dolayı azot kayıpları oluşmaktadır (Gök, 2019). Bu kayıpları minimum düzeye indirmek için azot korumalı gübrelerin kullanılması çok önemlidir. Azot korumalı gübreler içerisinde nitrojen inhibitörlü gübreler amonyumun nitrata dönüşmesini sağlayan nitrifikasyon bakterilerinin çalışmasını engelleyip toprak koşuluna bağlı olarak 4-8 hafta boyunca azotun amonyum formda kalmasını sağlar. Bu özellikleriyle yavaş salınımlı gübreler olarak da ifade edilirler. Azot nitrifikasyon inhibitörlerinin kullanımının en önemli avantajları (1) inhibitörsüz azotlu gürelere kıyasla amonyumun nitrata dönüşümünde önemli oranda azalmasını (Scheffer ve Bartels, 1998), (2) azotlu sera

gazlarının emisyonunda azalma olmasını (Weiske vd., 2001), (3) azot kayıplarında azalış ve bitkinin azottan daha fazla yararlanmasını (Prasad ve Power, 1995) ve (4) çiftçilerin uygulayacağı gübre miktarının ve sayısının azalmasını (Munzert, 1984) sağlaması olarak sıralanabilir. Protein metabolizmalarında yer alan amonyumlar giberellin, sitokinin gibi hormonların sentezinde de etkilidirler (Pasda vd., 2001). Ek olarak, amonyum sülfat $(NH_4)_2SO_4$] gübresinin domateste kalite parametreleri üzerine etkisi ile ilgili yapılan çalışma neticesinde amonyum sülfatlı gübrelemede domatesin fosfor (P) içeriklerinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Topçuoğlu vd., 1998). Azotlu gübrelerin etkinliklerini arttıran ve nitrifikasyon bakterilerinin aktivitesini geciktiren pek çok inhibitör geliştirilmiştir (Trenkel, 2010). Bunlar: Nitrapyrin (2-chloro-6-(trichloromethyl-pyridine)), ATC (4-amino-1,2,4-6-triazole-HCl), DMPP (3,4-dimethylpyrazole phosphate) ve DCD (disiyandiamid) inhibitörleridir. Bunlara ek olarak ülkemizde geliştirilmiş DMPB (3,5 dimetilpirazolyum gliseroborat) nitrifikasyon intibitörü de piyasada kullanılmaktadır (Şahan vd., 2017).

Bu yüksek lisans tez çalışmasının amacı, domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına karşı farklı nitrifikasyon inhibitörlü ve inhibitörsüz gübrelerin hastalık gelişimi üzerine etkisini iki kez tekrarlanan saksı denemeleriyle ortaya koymaktır. Bu amaçla inhibitörsüz amonyum sülfat, DMPB ve DCD inhibitörlü amonyum sülfat gübrelerinin üç farklı dozu domates bitkilerine üç kez uygulanmış ve iletim demetindeki hastalık seyrine, bitki boyuna, bitkideki klorofil miktarına, gövde çapı kalınlığına ve bitki biyomasına etkileri değerlendirilmiştir.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

Domates hem sağlık açısından faydalı hem de birçok kullanım alanın olması gibi avantajları ile Dünya'da ve ülkemizde üretim ve tüketim miktarı fazla olan bir sebzedir. Domateste verimi etkileyen pek çok bakteriyel hastalıklar yer almaktadır. Bunların başında domateste bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı gelmektedir. Bu hastalık ekonomik zararını domateste yapmaktadır. Yapraklarda nekrotik bölgeler oluşturur ve zaman içinde yapraklar ile tüm gövdenin büzüşmesine sebep olur. İletim demetinde ilerleyerek sistemik enfeksiyonlar oluşturabilir ve bunların sonucunda oldukça önemli verim kayıplarına sebep olur. Erken dönemlerde fidelerin ölmesine neden olur. Ayrıca meyvede kuşgözü isimli belirtileri ile meyvenin pazar değerini düşürür.

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* etmeninin sebep olduğu bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı domates bitkisinin üretimini sınırlamaktadır. Hastalıkla mücadelede genellikle koruyucu önlemler ön plandadır. Çünkü geç dönemlerde hastalıkla etkin bir mücadele yapılamamaktadır. Hastalığa karşı gübrelemenin etkisinin incelenmesi diğer mücadele yöntemlerine alternatif oluşturabilir. Yapılan araştırmalar neticesinde bitki besleme ve gübrelemenin, bitkilerde oluşan hastalıklar üzerinde artış veya azalış gibi etkileri olduğu tespit edilmiştir. Bitki beslemenin hastalık gelişimi üzerine etkisi ile ilgili yapılmış çalışmalar aşağıda detaylı anlatılmıştır.

Berry vd. (1988), azot ve kalsiyum beslenmesinin domateste bakteriyel solgunluk ve kanser (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) hastalığının gelişimi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışmaları sonucunda hastalık gelişiminin, sıfır kalsiyum ve düşük (30 ppm) azot içeren tüm tedavilerde en hızlı olduğunu tespit etmişlerdir. Besin çözeltisinde 100 ppm veya daha yüksek kalsiyum uygulandığında,

hastalığa duyarlı Moneymaker çeşidinde ve hastalığa dirençli Plovdiv 8/12 çeşidinde hastalık şiddetinin azaldığını belirlemişledir. Daha yüksek azot seviyelerinin (450 ppm), orta azot seviyelerine (240 ppm) kıyasla hastalıkta önemli bir artış sağlamadığını ayrıca kalsiyum ve azot beslenmesi ile hastalık şiddeti arasında anlamlı bir etkileşim olmadığını gözlemlemişlerdir.

Huber ve Graham (1999), yaptıkları çalışmada inorganik azot formlarının bitkilerdeki çeşitli fungal hastalıklar üzerine etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak mısırlarda farklı patojenlerin sebep olduğu kök çürüklüğü (*Phytium*, *Phymatotrichum* sp.) ve sap çürüklüğü (*Diplodia* sp.) hastalığı ile domateslerde solgunluk (*Verticillum* sp.) hastalığı varlığında bitkiler azotlu gübre ile gübrelendiklerinde azot nitrat formunda iken hastalıkların şiddetlendiği, amonyum formunda ise hastalık oranının ise azaldığını belirlemişlerdir.

Hoffland vd. (2000), domates bitkisinin bazı hastalık etmenlerine duyarlılığı üzerine azot konsantrasyonunun etkilerini ortaya koydukları araştırma neticesinde *Pseudomanas syringae* pv. *tomato* ve *Oidium lycopersicum* etmenlerine duyarlılığın azot konsantrasyonunun artışıyla doğru orantıda artış gösterdiği sonucunu bulmuşlardır.

Türkmen vd. (2002), domateste tuzlu ortamda yetiştirilen fidelerde kalsiyum uygulamasının fide çıkışı ve gelişimine etkilerini incelemişlerdir. Elde ettikleri verilere göre, kalsiyumun dozları artıkça domates kök ve sürgün yaş ağırlığında artış sağlandığını belirlemişlerdir. Ayrıca bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğunu tespit etmişlerdir.

Baysal vd. (2003), domates fidelerinde görülen bakteriyel kanser hastalığına neden olan etmene karşı Acibenzolar-S-methyl (Bion) adlı bitki aktivatörüyle gerçekleştirdikleri çalışmalarında domates fidelerindeki bazı savunma mekanizmalarını etkileyip dayanıklılığı teşvikini rapor etmişlerdir. Domates fidelerinde aktivatörle muamele edilmiş bitkilerde hastalığın şiddetinde % 76 oranında azalma olduğunu tespit etmişlerdir.

Çetinkaya Yıldız ve Aysan (2005), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* etmenine karşı domates fidelerinde bitki aktivatörlerinin (Turf Set, ISR-2000 ve Crop-Set) etkisine baktıkları çalışmada, bunların uygulandığı bitkilerde % 27 ile %73 oranları arasında hastalığın engellendiği ve bitki boyunda % 7-18 oranında artış sağladığını bildirmişlerdir.

Prabhu vd. (2007), yaptıkları araştırmalar neticesinde *Alternaria solani, Fusarium oxysporium* f. sp. *lycopersici* ve *Septoria* spp., isimli etmenlerin sebep olduğu fungal hastalıklara karşı fosfor gübrelemesinin domates bitkisinin dayanıklılığını aktifleştirip, hastalığı azalttığını belirlemişlerdir. Ayrıca hastalıkla mücadele kapsamında fosfor uygulamalarında çok duyarlı çeşit kullanıldığında daha az duyarlı çeşitlere kıyasla daha fazla hastalığın görüldüğünü yani daha az hassas olan türlerde daha az hastalık görüldüğünü öne sürmüşlerdir.

Çakmak ve Aysan (2009), çalışmalarında *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* etmenine karşı bitki aktivatörleri ile PGPR' lerin etkilerini artırmak amacıyla çinko gübrelemesini ekleyip sonuçlarını gözlemlemişlerdir. Araştırma sonucunda çinko gübrelemesi ilave ettiklerinde, % 37 oranında PGPR'lerin etkinliğinin arttığı ve bitki aktivatörü ISR-2000 uygulandığında etkinliğin % 26 oranında artırdığını tespit etmişlerdir.

Soykan ve Aysan (2011), bazı bitki aktivatörleri ile organik ve inorganik gübrelerin domateste *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* etmenine olan etkisini araştırdığı çalışmada yedi adet organik/inorganik gübreler ile bitki aktivatörlerinin (Auxigro, EM1, Herbagreen, ISR-2000, Messenger, Protamin Cu, Regalia) etkinliğini incelemiştir. Bu preparatları yapraktan, kökten ve hem yaprak hem de kökten olarak üç farklı şekilde bitkiye uygulamıştır. Seradaki çalışmalarında saksılardaki bitkilere beş preparat (ISR-2000, Messenger, Auxigro, Herbagreen ve Regalia), açık alandaki tarla çalışmasında ise sadece ISR-2000 uygulandığında hastalığa karşı etkili olduğunu tespit etmiştir. Bitki aktivatörü ve organik-inorganik gübrelerin hem kökten hem de yeşil aksamdan kombinasyon olarak uygulandığında hastalıkla mücadelede daha etkili olduğunu bulmuştur. Sonuç olarak, domateste bakteriyel kanser ve solgunluk

hastalığına karşı entegre mücadele programına bitki aktivatörleri ve organik- inorganik gübrelerin de alınabileceğini bildirmiştir.

Yang vd. (2010), bazı duyarlı arpa çeşitlerinde başak yanıklığı isimli hastalıkta azot etkisini inceledikleri araştırmada *Fusarium graminearum'*la enfekteli olan arpalara 15 ile 100 kg N/ha oranında azot uygulaması yapmışlardır ve bunun sonucunda hastalığın düşük olan azot oranlarında arttığını bildirmişlerdir.

Yang vd. (2016), topraktaki nitrojen dönüşümleri ve bitki verimliliği üzerine iki nitrifikasyon inhibitörünün (disiyandiamid(DCD) ve 3,4-dimetipirazol fosfat(DMPP)) etkinliğinin meta-analiz çalışmasını yapmışlardır. DCD ve DMPP 'nin dünya genelindeki tarım alanlarında toprak azot (N) dönüşümlerini düzenlemede eşit derecede etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Ancak DCD'nin bitki verimliliğini artırmadaki performansının DMPP'den daha iyi olduğunu vurgulamışlardır. Belirli bir alanda sürekli uygulama altında DCD ve DMPP'nin verimliliğini incelemek gerektiğini de belirtmişlerdir.

Belal (2017), domateste *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*' in sebep olduğu bakteriyel solgunluğa karşı bitkinin dayanıklılığının arttırılmasıyla ilgili çalışmasında tarım ilaçlarına alternatif olarak, Kitosan (Ki), Potasyum Silikat (Psi) ve Potasyum Mono Fosfat (PMF)'ın farklı dozlarının etkilerini tespit etmiştir. Dayanıklılığın en yüksek PMF10 (10 mM) uygulamasında olduğunu bulmuştur ve kontrol bitkilerine kıyasla (kontrolde hastalık oranı % 41.4) hastalık oranının % 0.7 olduğunu gözlemlemiştir. Kontrol grubuna göre PMF10 (10 mM) uygulamasında, peroksidaz, katalaz aktivitesi ve membran stabilite indeksi değerlerinde yükselme gösterdiğini ve bu durumun bitki direncinde artma ve hastalık oranında azalma meydana gelmesiyle açıklanabileceğini ifade etmiştir.

Yiğenoğlu ve Işık (2018), domateste bakteriyel solgunluk hastalığına sebep olan *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*'in biyolojik mücadelesinde *Spirulina platensis*'in etkisini incelemişlerdir. *S. platensis*'in hastalığa, bitkinin kuru ağırlığı ile yapraktaki toplam klorofil miktarına etkilerini belirlemişlerdir. Ön deneme ile toprağa *Spirulina sp.* eklenip, *Cmm*'in neden olduğu domateste bakteriyel solgunluk hastalığının

% 28.12 oranında baskılandığını tespit etmişlerdir. Birinci ve ikinci denemede toprağa *S. platensis* eklenmesiyle hastalık çıkışının büyük oranda engellendiğini gözlemlemişlerdir. Toprağa *S. platensis* gübrelemesiyle hastalığı baskılayıp, kuru madde oranında ve yapraktaki klorofil miktarında artış sağladıklarını vurgulamışlardır.

Gaffaroğlu vd. (2019), yürüttükleri çalışmada farklı bitki besleme programlarının domates gövde çürüklüğü hastalığına (*Pectobacterium carotovorum*) olan etkisini incelemişlerdir. Farklı bitki besleme uygulamalarından, domates gövde çürüklüğü hastalığı üzerinde %13.8 ile en düşük oranda etkiyi makro besin elementleriyle yaptıkları uygulamada elde etmişlerdir. En yüksek etkiyi ise %38.6 oranıyla makro besin elementleri+fosfor uygulamasıyla sağlamışlardır. Ayrıca bitki besleme programlarıyla bitkilerdeki hastalıkları baskılama çalışmalarında toprak ile bitkinin türü ve iklim şartlarının da sonuçlara etki edebileceğini vurgulamışlardır.

Gök (2019), patates bitkisinde, DMPB nitrifikasyon inhibitörünün, verim ile kaliteye etkisini araştırmıştır. Yürüttüğü tez çalışmasında DMPB inhibitörlü iki ayrı azotlu gübreyi (N36, UAS) ve bu gübrelerin farklı dozlarını incelemiştir. Patates yumru sayısında azotlu gübrelerin pozitif bir etki sağladığını, yumru verimini de önemli düzeyde etkilediğini belirtmiştir. Patatesin ana sap sayısını da gözlemleyip, incelemeleri sonucunda uyguladığı azotlu gübrelerin dozlarının artmasıyla ana sap sayısında da artış sağladığını bildirmiştir.

Uçar (2019), silajlık mısırın kalite ve verimi üzerine farklı inhibitörlü azot gübrelerin etkilerini incelemiştir. İki yıllık verileri baz alarak yılların ortalamasına baktığında Amonyum sülfat (AS) uygulamasında 1825 kg\da, DCD inhibitörlü AS uygulamasında 1838 kg\da, DMPB inhibitörlü AS uygulamasında1858 kg\da, DMPP inhibitörlü AS uygulamasında 1900 kg\da kuru ot verimi sağladığı belirtmiştir. Uyguladığı inhibitörlü gübrelerin mısırda silaj kalitesi ve kuru ot veriminde, istatistiki olarak etkili olmadığını vurgulamıştır.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Patojen Bakteri İzolatları

Çalışmada daha önce laboratuvara getirilen bitkide tek taraflı solgunluk ve sararma (Şekil 2.1.a), iletim demetinde sararma ve kahverengileşme, gövdede çatlama (Şekil 2.1.b) ve sekonder kök oluşumu gibi belirtiler gösteren hasta domates bitkilerinden gerçekleştirilen izolasyon sonucu elde edilen *Cmm* izolatları kullanılmıştır. Ayrıca Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yeşim Aysan'dan tanısı yapılmış iki adet patojen *Cmm* izolatı (ME *Cmm* 1 ve ME *Cmm* 6) temin edilmiştir (Tablo 2.1).



Şekil 2.1. Domates bitkisinde tek taraflı sararma (a) ve gövdede çatlama (b)

Tablo 2.1. Hasta domates bitkilerinden elde edilen izolatların kodu, izolasyon yılı ve yerleri

KODU	**YIL**	**YER**
ME *Cmm* 1	2015	Erdemli/Mersin
ME *Cmm* 6	2015	Erdemli/Mersin
Mersin *Cmm* 2	2017	Büyük Sorgun/Mersin
Demre *Cmm* 1a	2017	Demre/Antalya
Demre *Cmm* 2a	2017	Demre/Antalya
HT 2a *Cmm*	2018	Antalya
MT 1a *Cmm*	2018	Silifke/Mersin
ÖT 2b *Cmm*	2018	Silifke/Mersin

2.1.2. Besi Yerleri

Besi yerleri olarak King B (KB) (20 g proteose peptone, 10 ml gliserin, 1.5 g K_2HPO_4, 1.5 g $MgSO_4.7H_2O$, 15 g agar, 1000 ml Saf su, pH:7.2) ve Yeast Dekstroz Kalsiyum Karbonat Agar (YDCA) (10 g yeast extract, 20 g dektrose, 20 g $CaCO_3$, 18 g agar, 1000 ml saf su) kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987). Hazırlanan KB besi yeri 1.2 atmosfer basıncında 121 °C'de 20 dakika otoklavda sterilize edilmiş ve 50 °C'ye soğutulduktan sonra petrilere dökülerek kullanılıncaya kadar buzdolabında +4 °C'de saklanmıştır. Diğer bir besi yeri olan YDCA cam tüplere (16 cm boy, 16 cm ağız çapı) 10 ml olarak bölüştürülmüş ve ardından sterilize edilmiştir. Steril edilen YDCA besi yeri içeren tüpler tüp karıştırıcısında iyice karıştırıldıktan sonra yatay şekilde 2 cm yükseklikteki tahta plakalar üzerinde 24 saat donmaya bırakılmış ve ardından +4 °C buzdolabında kullanılıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

2.1.3. Çalışma Alanı

Tez çalışması Erciyes Üniversitesi**,** Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Laboratuvarı ve bölüme ait ısıtmasız naylon örtülü serada birinci saksı denemesi ve ısıtmasız iklim odasında ise ikinci saksı denemesi yürütülmüştür.

2. 1. 4. Domates Fideleri

Saksı çalışmalarında, birinci denemede Falcon F1 oturak domates çeşidi, ikinci denemede ise Yükselköy F1 sırık domates çeşidi kullanılmıştır.

2. 1. 5. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Yürütülen çalışmada Ziraat Fakültesi Araştırma Birimi farklı laboratuvarlarında bulunan sıcak su banyosu (Memmert), hassas terazi (Sartorius), otoklav (Hirayama), tüp karıştırıcısı (Ika), manyetik ısıtıcılı karıştırıcı (Sartorius), pH metre (Mettler Toledo), etüv (Nüve), inkübatör (Nüve), spektrofotometre (WTW), dairesel çalkalayıcı (Sartorius), steril kabin (Nüve), buzdolabı (Thermo), santrifüj (Eppendorf), thermalcycler (Bio-Rad), elektroforez jel tankı ve görüntüleme cihazı (Bio-Rad) kullanılmıştır.

2. 1. 6. Toprak ve Saksı Özellikleri

Çalışmadaki saksı denemelerinde, saksı olarak 23×21 cm boyutundaki saksılar ve her saksıda 2300 gr kum+kil+torf (eşit oranlarda) karışımı kullanılmıştır.

2. 1. 7. Kullanılan Gübreler ve Dozları

Araştırmada kullanılan azot inhibitörsüz ve inhibitörlü gübreler aşağıda sıralanmıştır.

a) Amonyum sülfat: İçeriğinde % 21 oranında azot (N) bulunan inhibitörsüz beyaz renkli klasik amonyum sülfat (AS) gübresi kullanılmıştır. Amonyum Sülfat gübresi açık sarı, gri, açık kahverengi ve çoğunlukla beyaz renkli olan kristal veya granül yapıda bir gübre çeşididir. Bünyesinde bulunan kükürt sayesinde bitkilerin kükürt ihtiyaçlarını karşılar. Amonyum Sülfat ÜRE gübresine göre suda daha az çözünür. Genellikle beyaz renkli ve ince taneli oluşundan dolayı halk arasında şeker gübre olarak da adlandırılır.

b) DCD inhibitörlü amonyum sülfat: Profert firmasına ait Spectro Turn 21 ticari isimli gübre kullanılmıştır. İçeriğinde toplam % 21 oranında azot (N) bulunur. Bu içeriğin % 20,04'ü Amonyum Azotu (NH4-N) ve % 0,6'sı da Disiyandium Azotu (DCD) şeklindedir. Açık alanda yetiştirilen sebzelerde her uygulama için 15-20 kg/da, sera sebzelerinde 20-25 kg/da miktarında üç kez uygulanması tavsiye edilmektedir. Amonyum sülfatın içindeki azotun aşırı nitrifikasyonunu önler. Bir vejetasyon boyunca bir seferde toprağın ihtiyacı olan azotun tek seferde verilmesine imkân sağlar.

Amonyum sülfatın içeriğinde bulunan kükürtten dolayı toprak pH'ının düşmesine de dolaylı olarak yardımcı olur. Aşırı yıkanma ve nitrifikasyon olmadığından toplamda kullanılacak azotlu gübre kullanımının azalmasını ve uygulanan azotun toprakta kalma süresinin(70-110 gün) artmasını sağlar.

c) DMPB inhibitörlü amonyum sülfat: Doğatech firmasına ait Stable N-21 ticari isimli gübre kullanılmıştır. İçeriğinde % 20,75 Amonyum Azotu (NH4-N), % 0,25 Amonyum İnhibitörü (DMPB) ve suda çözünür % 60'lık kükürt trioksit (SO_3) bulunur. Açık alanda yetiştirilen sebzelerde toplamda 40-50 kg/da, sera sebzelerinde 50-60 kg/da miktarındaki gübrenin vejetasyon dönemi boyunca üç kez uygulanması tavsiye edilmektedir. Bileşiminde bulunan DMPB azot inhibitörü sayesinde toprak sıcaklığı ve pH'a bağlı olarak amonyum azotunun nitrifikasyonunu 4-8 hafta geciktirerek azotun (N) gaz ve yıkanma şeklinde kayıplarını engelleyen özel bir gübredir.

2.2. Yöntem

2. 2. 1. Bakteri İzolatlarının Kültürde Geliştirilmesi

Stok halinde -20 C'deki buzdolabında gliserol içerisinde saklanmış olan bakteri izolatları King B besi yerine üç çizgi yöntemiyle çizilerek 3-4 gün içerisinde geliştirilmiştir. Ardından sarı renkte, parlak ve mukoid renkte gelişen kolonilerin saflaştırmaları yapılarak patojenitede kullanılmıştır.

2. 2. 2. Patojenite Testi

Taze olarak geliştirilen her bir bakteri izolatından bir öze alınarak 9 ml steril saf su içerisinde süspanse edilmiştir. Her bir süspansiyon spektrofotometrede 600 nm' de 0.2 absorbans değerine ayarlanmıştır. Her süspansiyondan steril bir enjeksiyonluk iğne ile 100µl alınmış, ve önceden saksılara şaşırtılmış olan 4-5 gerçek yapraklı hastalığa duyarlı olduğu bilinen H-2274 domates çeşidinin gövdesine tek bir noktadan enjekte edilerek patojenite testi yapılmıştır. Bitkiler Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümüne ait bitki yetiştirme kabinlerinde 28 ºC'de % 70 nemde Nisan-Haziran 2019 ayları arasında belirti gözlenene kadar bekletilmiştir.

2. 2. 3. Hastalıklı Bitkilerden Patojen Bakteri Re-İzolasyonu

Bitkilerde solgunluk, gövdede çatlama ve kanser gözlenen hastalıklı bitki örneklerinin gövdesi temiz bir bıçak yardımıyla iletim demeti boyunca kesilip, sarı veya kahverengi renk değişikliği gözlenen hasta kısımlardan doku örnekleri alınmıştır. % 70 alkolle alınan parçaların yüzey dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra steril havanda ezilip ardından 2-3 ml steril saf su ile homojen bir süspansiyon elde edilmiştir. Tek kullanımlık 10 µl uçlu plastik öze ile bir öze dolusu olacak şekilde hazırlanmış olan süspansiyondan alınıp steril 100 mm çapına sahip petrilerdeki King B besi yerine üç çizgi yöntemiyle ekimleri yapılmıştır. Petriler inkübatörde 25°C'de 3-5 gün gibi bir süre inkübe edilerek bakterilerin gelişimi sağlanmıştır. Gelişen sarı renkteki bakteri kolonileri saflaştırılmış ve eğik bir şekilde hazırlanan YDC agar besi yerlerine aşılanarak +4°C 'de ve gliserol içerisinde (%40 gliserol+nutrient broth) -20 °C'de buzdolabında re-izolatlar muhafaza edilmiştir.

2. 2. 4. Etmenin Tanı Testleri

Bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığının tanılanmasında klasik ve moleküler yöntemler kullanılmıştır.

2. 2. 4. 1. KOH Testi ile Gram Reaksiyonu

Potasyum hidroksit (KOH) ile bakterilerin gram reaksiyonunu belirlemek için taze %3'lük KOH çözeltisi 10 ml saf su içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan KOH çözeltisinden bir-iki damla bir lam üzerine damlatılmıştır. Geliştirilen taze bakteri kolonilerinden öze ile alınarak KOH damlası içerisinde 10-15 saniye karıştırılmıştır. Öze yukarı doğru hafif hareketlerle kaldırıldığında KOH çözeltisi viskoz bir hal alması ve iplik gibi uzaması pozitif, sulu bir yapı oluşması ve yukarı doğru viskoz uzama olmaması negatif reaksiyon olarak kabul edilmiştir. Karşılaştırma amaçlı kontrol olarak bir adet Gr- özellikte *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ve bir adet Gr+ özelliğe sahip *Cmm* izolatı kullanılmıştır.

2. 2. 4. 2. Akşam Sefası (*Mirabilis jalapa*)' nda Aşırı Duyarlılık Testi

Petrilerde gelişen bakteri kolonilerinden bir öze dolusu alınıp içerisinde 9 ml steril saf su bulunan tüplerde süspanse edilmiştir. Her birinden steril enjektörle alınan süspansiyon *M. jalapa* F1 bitkisinin yaprak damar arasına inokule edilmiştir. *M. jalapa*

yapraklarında bir gün sonra oluşan su emmiş kuru alanlar aşırı duyarlılık reaksiyonu olarak kabul edilmiştir.

2. 2. 5. Moleküler Testler

2. 2. 5. 1. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için Qiagen marka Dneasy bakteri DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Dna izolasyonu aşamaları üretici firmanın tavsiye ettiği şekilde yapılmıştır. Buna göre izlenen yollar aşağıda sıralanmıştır.

-Petride taze geliştirilen sarı renkteki tek koloniler alınarak 4 ml'lik nutrient broth içerisine konulmuş ve bir gece boyunca 250 rpm hızında, 25°C'de çalkalanmıştır. Gelişen bakteri süspansiyonundan 1 ml alınmış ve 1.5 ml hacimli santrifüj tüplerine aktarılmıştır.

-Tüpler beş dakika süreyle 5000 rpm hızında santrifüj edildikten sonra üstteki sıvı kısım dökülmüş ve bakteri DNA'sının olduğu dibe çöken pellet kısmına 1 ml'lik saf su eklenmiştir. Tekrar aynı şekilde santrifüj yapılıp yine sıvı kısmı atılmıştır.

-İkinci kez santrifüj edilen DNA pelletine enzimatik lysis buffer (Enzimatik lysis buffer: 8 pH değerinde 20 mM Tris-Cl + 2mM sodyum EDTA + %1.2 Triton-X-100) ilave edilip, iyice karıştırılmıştır. Enzimatik lysis buffer kullanılmadan önce içine 20 mg/ml lizozim ilave edilmiştir.

-Elde edilen örnekler en az 30 dakika 37 °C sıcaklıkta inkübe edilmiştir ve bu süreçte 56°C olacak şekilde su banyosu da ayarlanmıştır. İnkübasyon sonrasında tüpler alınıp sırasıyla 25µl Proteinaz K ile 200µl ethanol içermeyen Buffer AL ilave edilmiş ve yine tüpler karıştırılmıştır. Tüpler önceden ayarlanmış olan su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir.

-Bu işlemler tamamlandıktan sonra örneklere 200 µl ethanol (% 96-100) ilave edilip, vorteksleme işlemi yapılmıştır. Tüm sıvı kısım 2 ml collection tüp olan DNeasy mini spin column tüplerine aktarılmıştır.

-Tüpler 16000 rpm hızında 1 dakika santrifüj edilmiştir. Alttaki toplama tüpler atılmış, üstteki DNeasy mini spin column tüpleri yeni toplama tüplerine aktarılmıştır.

-Örneklere 500 µl Buffer AW1 ilave edilerek 1 dakika 16000 rpm hızda yeniden santrifüj edilmiştir. Ardından aynı şekilde alttaki (collection) tüp atılıp, üstteki tüpler (DNeasy mimi spin column) yeni toplama tüplerine aktarılmıştır.

-Tüplere 500 µl Buffer AW2 ilave edilip 16000 rpm hızda 3 dakika santrifüj edilmiştir. Bu aşamadan sonra DNeasy mini spin column tüpleri 1.5 ml hacimli mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır. Her bir örneğe 200µl AE Elution Buffer eklenerek 15000 rpm hızda 1 dakika santrifüj edilmiştir.
-Üstteki DNeasy mini spin column tüpleri atılarak altta bakteri DNA'sı elde edilmiştir ve -20°C' de muhafaza edilmiştir.

2. 2. 5. 2. PCR Analizi

Moleküler test çalışması için PCR Master Mix (Promega, M7502), de-iyonize su, primerler ve bakteri DNA'sı kullanılmıştır. Moleküler tanı testi Dreier vd. (1995)'in bildirdiği yöntem kullanılarak yapılmıştır. Araştırıcılar tarafından bulunan patojene spesifik CMM5 (5'-GCGAATAAGCCCATATCAA-3') ve CMM6 (5'-CGTCAGGAGGTTCGCTAATA-3') primerleri kullanılarak moleküler tanı gerçekleştirilmiştir. PCR çalışması için hazırlanan reaksiyon karışımı ve miktarları Tablo 2.2.'de verilmiştir. Reaksiyon karışımı 25 µl olacak şekilde hazırlanmıştır.

Tablo 2.2. PCR analizinde kullanılan reaksiyon karışımının içerik ve miktarları

Reaksiyon karışımının içerikleri	**Miktarları (µl)**
PCR Master Mix	12.5
Primer *Cmm*5 (10 pmol)	1.0
Primer *Cmm*6 (10 pmol)	1.0
ddH_2O	8.5
Genomik DNA	2.0
Toplam	25.0

Önce DNA hariç tüm içerikler tek bir eppendorf tüpte hazırlanmıştır. Ardından PCR tüplerine 23 µl olarak bölüştürülmüştür. Her bir bakteri DNA'sından üzerinde numarası belirtilen PCR tüpüne 2 µl konularak düşük hızda karıştırılmıştır. Hazırlanan örnekler Thermalcycler cihazına yerleştirilmiş ve belirlenen PCR programı kurularak DNA'nın çoğalması sağlanmıştır. Thermalcycler cihazında kullanılan program Tablo 2.3'te verilmiştir.

Tablo 2. 3. PCR işlemi için kullanılan program

Program adımları	**Sıcaklık (°C)**	**Süre (dakika)**	**Döngü sayısı**
İlk denatürasyon	94	5	1
Denatürasyon	94	1	30
Primer Bağlanması	47	1.5	30
Uzama	72	1	30
Son Uzama	72	5	1
Bekleme	4	∞	

Jel görüntüleme: PCR ürünleri % 1,5' lik agaroz jelde görüntülenmiştir. Bant büyüklüğünü kontrol etmek için 100 bp'lik moleküler işaretleyici (ThermoFisher, SM 0371) kullanılmıştır. 614 bp büyüklüğündeki bant oluşumları pozitif olarak değerlendirilmiştir.

2. 2. 6. İnhibitörlü ve İnhibitörsüz Gübrelerin Domates Fidelerine Uygulanması

Çalışmada kullanılan inhibitörlü ve inhibitörsüz gübrelerden 117 gr tartılmış ve iki litre suda eritilmişlerdir. Daha sonra 100 ppm dozu için 10 ml, 250 ppm için 25 ml ve 500 ppm için 50 ml gübre, üzeri etiketlenmiş saksılardaki şaşırtılmış fidelere sulama suyu şeklinde üç uygulama olarak verilmiştir. Her gübre için ayrı ayrı aynı işlemler uygulanmıştır (Tablo 2.4). Gübreler fideler şaşırtıldıktan 1, 7 ve 14 gün sonra olacak şekilde belirtilen oranlarda verilmiştir. Pozitif ve negatif kontrol bitkileri sadece su ile sulanmıştır.

Tablo 2. 4. Denemelerde uygulanan gübreler ve uygulama zaman aralıkları

Gübreler	**1.uygulama**	**2. uygulama**	**3. uygulama**
A. sülfat 100 ppm	*1gün sonra	7 gün sonra	14 gün sonra
A. sülfat 250 ppm	1gün sonra	7 gün sonra	14 gün sonra
A. sülfat 500 ppm	1gün sonra	7 gün sonra	14 gün sonra
DMPB 100 ppm	1gün sonra	7 gün sonra	14 gün sonra
DMPB 250 ppm	1gün sonra	7 gün sonra	14 gün sonra

DMPB 500 ppm	1gün sonra	7 gün sonra	14 gün sonra
DCD 100 ppm	1gün sonra	7 gün sonra	14 gün sonra
DCD 250 ppm	1gün sonra	7 gün sonra	14 gün sonra
DCD 500 ppm	1gün sonra	7 gün sonra	14 gün sonra
Negatif Kontrol	Sulama suyu	Sulama suyu	Sulama suyu
Pozitif Kontrol	Sulama suyu	Sulama suyu	Sulama suyu

***** Uygulamalar şaşırtmadan 1, 7 ve 14 gün sonra yapılmıştır.

2. 2. 7. Bitkilerin Patojen Bakteriyle Bulaştırılması

Taze olarak KB besi yerinde geliştirilen virülensliği en yüksek ME CMM 6 1r kodlu bakteri izolatından steril saf su ile süspansiyon hazırlanmıştır. Bu süspansiyon spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0.2 absorbans değerine ayarlanmıştır. Ardından bu süspansiyon içerisindeki bakteri yoğunluğu petri sayım yöntemine göre $3x10^8$ hücre/ml olarak belirlenmiştir. Süspansiyon 1/10 oranında seyreltilmiştir. Saksıda şaşırtılmış ve gübre uygulanmış bitkilere 3×10^7 hücre/ml yoğunluğundaki *Cmm* izolatından bitkilerin gövdelerine steril enjektörlerle tek bir noktadan 100 µl oranında inokulasyon gerçekleştirilmiştir. Patojen bakteri birinci denemede domatesler şaşırtıldıktan iki hafta sonra yani 25 Haziran 2020 tarihinde, ikinci denemede ise şaşırtmadan bir gün sonra uygulanmıştır. Pozitif kontrol grubundaki bitkilere sadece patojen inokule edilmiştir. Negatif kontrol grubundakilere ise sadece saf su enjekte edilmiştir. Pozitif ve negatif kontrol grubundaki bitkilere hiçbir gübre uygulaması yapılmamıştır.

2. 2. 8. Gübrelerin Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığına Etkisi

İnhibitörlü ve inhibitörsüz gübrelerin domateste bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığına olan etkisini çalışılırken Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü' ne ait ısıtmasız serada iki kez saksı denemesi kurulmuştur (Şekil 2.2). Çalışmada farklı gübreler ve dozlarının hastalık üzerine etkisini belirlemek amacıyla dokuz uygulama (Amonyum sülfat 100 ppm, A. sülfat 250 ppm, A. sülfat 500 ppm, DCD 100 ppm, DCD 250 ppm, DCD 500 ppm, DMBP 100 ppm, DMBP 250 ppm, DMBP 500 ppm), pozitif ve negatif kontrol grupları olmak üzere toplamda 11 uygulama ile deneme kurulmuştur. Her uygulama için 10 adet domates fidesi kullanılarak deneme hazırlanmıştır. Birinci deneme 10 Haziran- 20 Ağustos 2019 tarihleri arasında, ikinci

saksı denemesi ise 22 Ağustos- 14 Ekim tarihleri arasında yürütülmüştür. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre üç tekrarlı ve her tekrarda üç bitki değerlendirilecek şekilde kurulmuştur.



Şekil 2.2. Birinci saksı denemesinden genel bir görünüm

2. 2. 9. Denemelerin Değerlendirilmesi

Bitkiler günlük olarak incelenip, pozitif kontrol grubundaki bitkilerde solgunluk, sararma gibi hastalığa ait belirtiler gözlenince tüm bitkilerin gövde çapı ve klorofil oranları ölçülmüştür. Ardından bitkiler toprak yüzeyinden hemen üst kısmından temiz bir bıçak yardımıyla kesilmiş, bitki boyları ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Pozitif kontrol

ve gübre uygulanmış bitkilerin gövdeleri boyuna kesilerek iletim demetindeki sararma, kahverengileşme renk değişimlerine bakılarak enfeksiyon boyu metre ile ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Elde edilen bu ölçümler neticesinde lezyon boyu bitki boyuna oranlanarak % hastalık (% hastalık= (lezyon boyu/bitki boyu)*100) hesaplanmıştır (Klement vd., 1990). Gübrelerin etkinliği, pozitif kontrol grubundaki bitkilerin hastalık düzeylerinin gübre uygulaması yapılanların hastalık düzeylerine oranıyla % Abbot formülüyle (kontrol-uygulama/kontrol*100) hesaplanmıştır. Bulunan değerlerin açı değerleri alınarak SPSS istatistik programında Tukey HSD çoklu karşılaştırma testiyle ($p \leq 0.05$ önem düzeyine göre) uygulamaların arasındaki istatistiksel farklar tek yönlü ANOVA varyans analiziyle hesaplanmıştır. Sonuca göre tüm gruplar harflendirilmiş ve elde edilen sonuçların yorumu yapılmıştır.

2. 2. 10. Gübrelerin Bitki Boyuna Etkisi

Bitkiler toprak yüzeyinden hemen üst kısmından temiz bir bıçak yardımıyla kesilmiş, bitki boyları ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Uygulamaların etkinliği % Abbott formülüyle hesaplanmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar SPSS istatistik programında Tukey HSD çoklu karşılaştırma testine göre yapılıp, $p \leq 0.05$ önem düzeyine göre hesaplanmıştır.

2. 2. 11. Gübrelerin Bitki Klorofili Üzerine Etkisi

Domates bitkisinin orta kısımlarındaki üç yaprağının klorofil okumaları yapılıp ortalama değerleri kayıt altına alınmıştır (Şekil 2.3.a). Bu veriler kullanılarak % Abbott formülüyle pozitif kontroldeki bitkilerin klorofil verilerinin, gübreleme işlemi yapılmış olan bitkilerin klorofil verilerine oranlanması yapılarak SPSS istatistik programında Tukey çoklu karşılaştırma testiyle ($p \leq 0.05$ önem düzeyine göre) tek yönlü varyans analizi yapılmıştır.

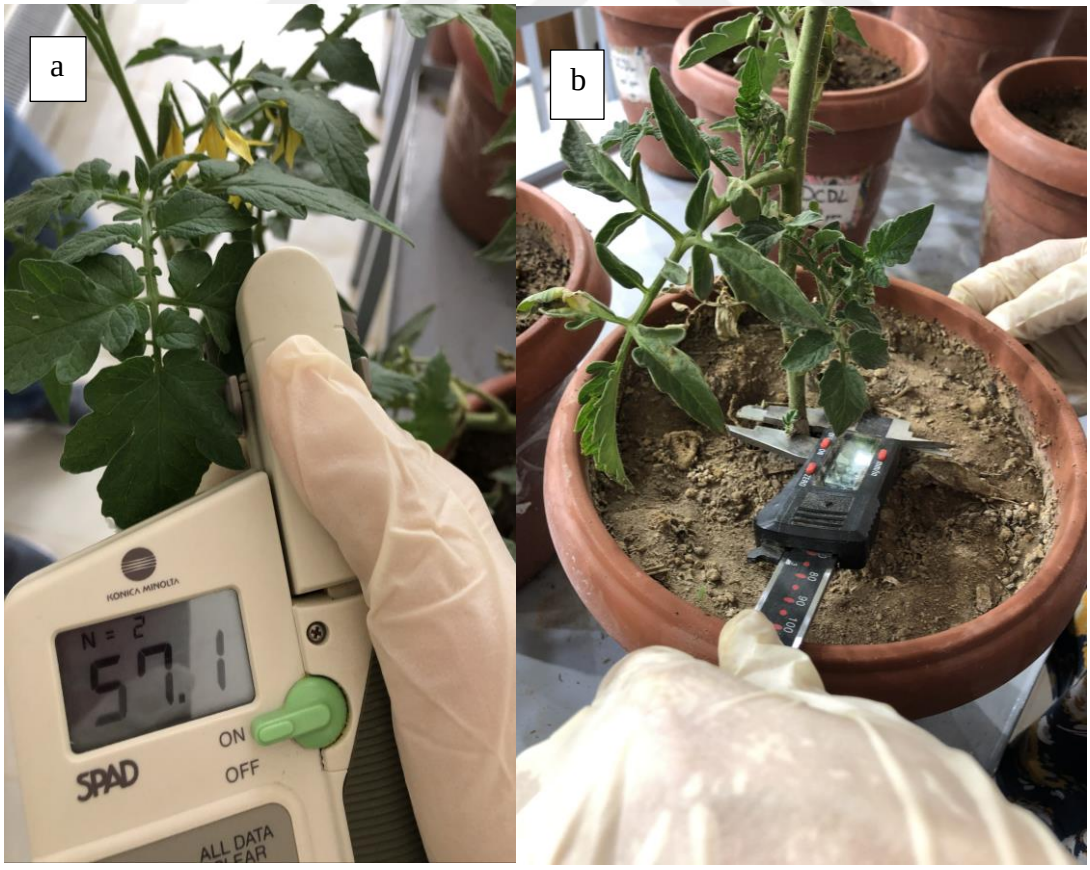
2. 2. 12. Gübrelerin Bitki Gövde Çapına Etkisi

Kumpas ile bitki gövdesi toprağın yaklaşık olarak 2-3 cm üstünden ölçülmüştür (Şekil 2.3.b). Elde edilen veriler % Abbot formülüyle hesaplanmıştır. Uygulamaların bitki gövde çapına etkisi arasındaki farklılıklar SPSS istatistik programında Tukey HSD çoklu karşılaştırma testine göre $p \leq 0.05$ önem düzeyine göre hesaplanmıştır.

2. 2. 13. Gübrelerin Bitki Biyokütlesine Etkisi

Değerlendirmesi yapılan bitkilerin hassas terazilerde tartımı yapılıp yaş ağırlıkları hesaplanmıştır. Bitkiler daha sonra kese kağıtlarına konulup keselerin ağız kısımları kapatılmıştır. Kurumaları için içerisinde bitki bulunan kese kağıtlarının üzeri etiketlenip etüvde 70°C' de ağırlıkları sabit kalana kadar (3-7 gün) kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan bitkilerin hassas terazide tekrar tartımı yapılıp, kuru ağırlıkları elde edilmiş ve veriler kaydedilmiştir. Uygulamaların bitki kuru ağırlığına etkisi % Abbott formülüyle ortaya konmuştur. Uygulamalar arasındaki farklılıklar SPSS istatistik programında Tukey HSD çoklu karşılaştırma testine göre yapılıp, $p \leq 0.05$ önem düzeyine göre hesaplanmıştır.

Denemeler değerlendirildikten sonra her uygulamadan hasta bitki örnekleri alınarak izolasyonlar yapılmış ve hastalığa neden olan etmenin *Cmm* olduğu tanı testleriyle ortaya konmuştur.



Şekil 2.3. Klorofil miktarının (a) ve gövde çapının (b) ölçülmesi

3. BÖLÜM

BULGULAR

3. 1. Domates Bitkilerinde Patojenite Testi

Domates bitkilerinin gövdesine tek noktadan inokule edilen sekiz adet bakteriyel izolat bitkilerde genel solgunluk ve kuruma (Şekil 3.1), gövdede çatlama (Şekil 3.2) ve iletim demetinde kahverengileşmeye (Şekil 3.3) neden olmuştur. Hastalıklı bitkilerden yapılan re-izolasyonlarda petride gelişen sarı renkli mukoid tipte (Şekil 3.4) tek kolonilerden 32 adet re-izolat elde edilmiştir. Elde edilen re-izolatlar gram pozitif özelliktedir.



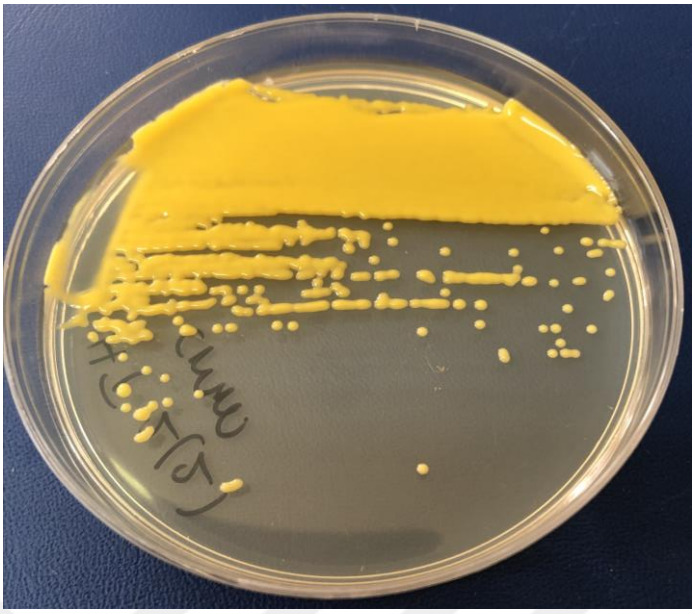
Şekil 3.1. Bitkide genel solgunluk ve yanıklık (ME *Cmm* 6)



Şekil 3.2. Domates gövdesinde çatlama (HT 2a *Cmm*)



Şekil 3.3. İletim demetinde kahverengileşme (Demre *Cmm* 1a)



Şekil 3.4. *Cmm* petride koloni gelişimi

3.2. Akşam Sefası (*Mirabilis jalapa*) Bitkisinde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

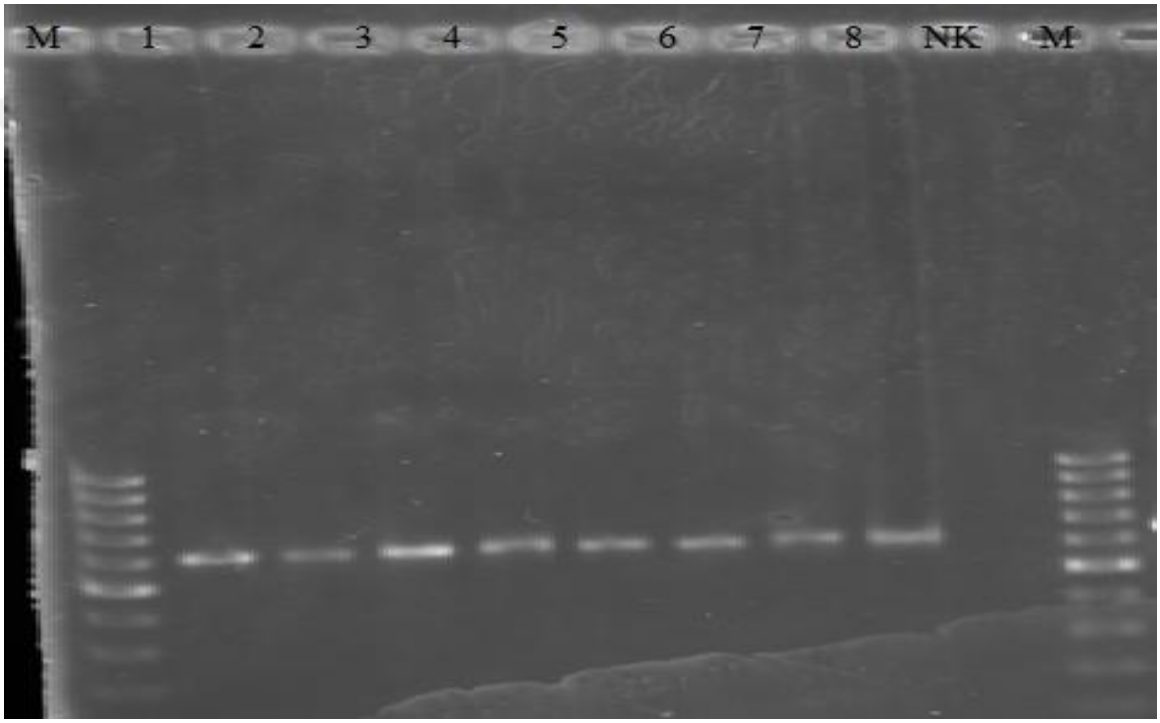
Patojenite testi sonucu elde edilen re-izolatlardan sekiz adedi akşam sefası bitkisinin yapraklarının iki damar arasına steril enjektör ile inokule edilmiş ve inokulasyon yerinde 24 saat sonra su emmiş ve hafif çöküк alanlar oluşmuştur. Bu durum pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.5). Sadece saf su enjekte edilen alanda herhangi bir çökme ya da su emmiş alan oluşmamıştır ve bu sonuç negatif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.5. *Mirabilis jalapa* bitkisinde aşırı duyarlılık reaksiyonu

3. 3. Tanıyı Destekleyici PCR Analizi

DNA izolasyonu ile *Cmm* izotlatlarından elde edilen saflaştırılmış genomik DNA'lar ve etmene spesifik primerlerle PCR çalışması yapılmıştır. Sekiz adet *Cmm* DNA' sı thermalcycler cihazında çoğaltılmış ve görüntüleme için % 1,5' lik agaroz jelde iki saat süreyle 80 voltta yürütülmüştür. İzolatların tamamı 614 bp büyüklüğünde bant oluşturmuş ve *Cmm* olarak tanılanmışlardır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Agaroz jelde 614 bp bant oluşumu (M: Marker, 1: ME *Cmm* 1, 2: ME *Cmm* 6, 3: Mersin *Cmm*2, 4: Demre *Cmm* 1a, 5: Demre Cmm 2a, 6: HT 2a *Cmm*, 7: MT 1a *Cmm*, 8: ÖT 2b *Cmm*, NK: Negatif kontrol)

3. 4. Gübrelerin Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığına Etkisi

Birinci Saksı Denemesi: Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümüne ait ısıtmasız serada 10 Haziran- 20 Ağustos 2019 tarihleri arasında yürütülen ilk denemede, inhibitörlü ve inhibitörsüz gübrelerin *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'in sebep olduğu domates bakteriyel solgunluk hastalık gelişimini Tablo 3.1.'de görüldüğü gibi % 42-78 oranında engellemiştir. Pozitif kontrolde ortalama hastalık oranı % 51.24 iken (Şekil 3.7),

inhibitörsüz amonyum sülfat uygulanmış bitkilerde ortalama hastalık oranı % 11.41-26.87 (şekil 3.9), DMPB inhibitörlü gübre uygulanmış bitkilerde % 14.85-29.67 ve DCD inhibitörlü gübre uygulanmış bitkilerde ise % 11.43-25.85 arasında kaydedilmiştir (Şekil 3.10). Gübrelerin etkinlikleri incelendiğinde inhibitörsüz amonyum sülfatın 100, 250 ve 500 ppm dozlarında etki sırasıyla % 47.56, % 48.67 ve % 77.73 olmuştur. DMPB inhibitörlü gübrenin farklı dozlarının hastalık gelişimine etkisi 100 ppm dozda % 42.09, 250 ppm'de % 44.78 ve 500 ppm dozunda % 71.01 etki bulunmuştur. DCD inhibitörlü gübre uygulanmış bitkilerde hastalığın engellenme oranları % 49.55, % 55.23 ve % 77.70 olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.8). Her üç gübre uygulamasının 500 ppm uygulanmış dozlarında etki istatistiki olarak pozitif kontrolden farklı grupta yer almış ve en başarılı uygulamalar oldukları saptanmıştır. Negatif kontrol grubundaki bitkilerde hastalık belirtisi gözlenmemiştir.

Tablo 3.1. Gübrelerin domateste bakteriyel solgunluk hastalığına etkisi (Birinci saksı denemesi)

Uygulamalar	Hastalık Oranı %			Ortalama Hastalık %	Etki %
	1. tekrar	2. tekrar	3. tekrar		
Pozitif kontrol	33.10	38.68	81.94	51.24^{a*}	-
**A. sülfat 100	34.95	22.82	22.84	26.87^{ab}	47.56
A. sülfat 250	45.37	16.22	17.27	26.3^{ab}	48.67
A. sülfat 500	**9.79**	**14.90**	**9.54**	**11.41^{bc}**	**77.73**
***DMPB 100	27.03	28.12	33.83	29.67^{ab}	42.09
DMPB 250	19.08	43.04	22.73	28.29^{ab}	44.78
DMPB 500	**11**	**14.51**	**19.01**	**14.85^{b}**	**71.01**
***DCD 100	20.98	24.61	31.94	25.85^{ab}	49.55
DCD 250	25.47	20.44	22.89	22.94^{ab}	55.23
DCD 500	**13.17**	**10.40**	**10.70**	**11.43^{b}**	**77.69**

*Tukey testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0.05'e göre önemsizdir.

**Azot inhibitörsüz gübre ve dozları

***Azot inhibitörlü gübreler ve dozları



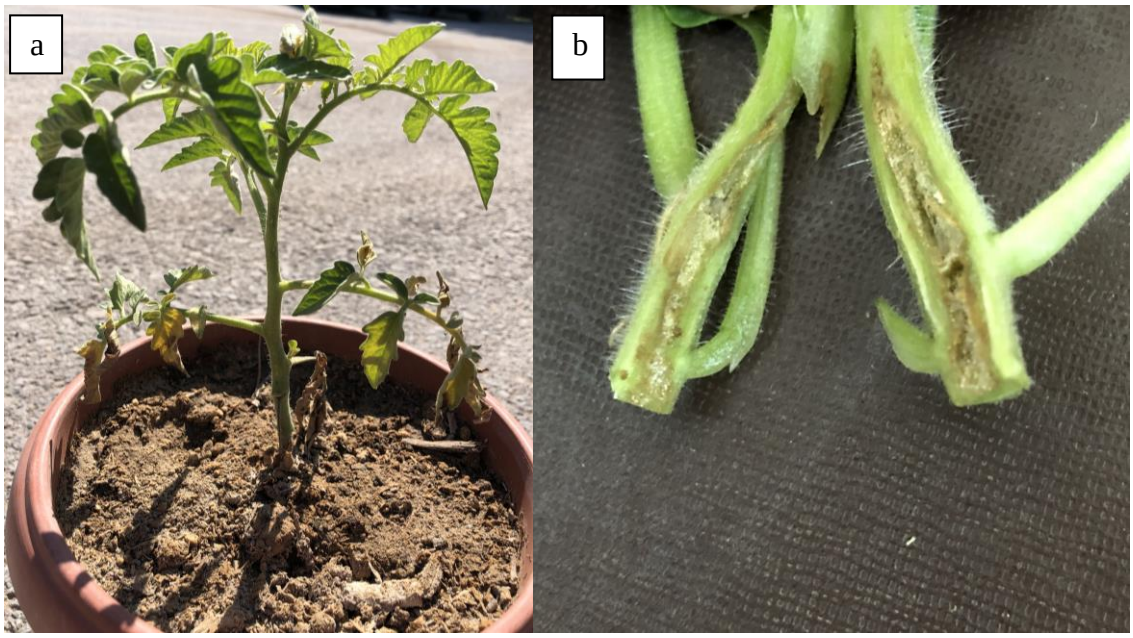
Şekil 3.7. Pozitif kontrol bitkilerinde iletim demetinde hastalık seyri



Şekil 3.8. DCD inhibitörlü amonyum sülfat (500 ppm) iletim demetinde sararma



Şekil 3.9. İnhibitörsüz amonyum sülfat 250 ve 500 ppm doz uygulanmış bitkilerde hastalık gelişimi



Şekil 3.10. DCD inhibitörlü (100 ppm) solgunluk (a) iletim demetinde renklenme (b)

İkinci Saksı Denemesi: Deneme ısıtmasız serada 22 Ağustos – 14 Ekim 2019 tarihleri arasında yürütülmüştür. Ugulanan gübreler domates bakteriyel solgunluk hastalık ilerleyişini % 44.36-82.16 oranında engellemiştir. Pozitif kontrolde ortalama hastalık oranı % 47.99 (Şekil 3.11), inhibitörsüz amonyum sülfat uygulanmış bitkilerde ortalama hastalık oranı % 10.24-26.70, DMPB inhibitörlü gübre uygulanmış bitkilerde % 12.27-20.89 (Şekil 3.11) ve DCD inhibitörlü gübre uygulanmış bitkilerde ise ortalama hastalık oranı % 8.56-26.19 olarak ölçülmüştür. Uygulamaların hastalığın iletim demetindeki seyri üzerine etkinlikleri incelendiğinde inhibitörsüz amonyum sülfatın 100, 250 ve 500 ppm dozlarında etki sırasıyla % 44.36, % 78.24 ve % 78.66 olmuştur. DMPB inhibitörlü gübrenin farklı dozlarının hastalık gelişimine etkisi 100 ppm dozda % 56.47, 250 ppm'de % 71.04 ve 500 ppm dozunda etki % 74.43 olarak bulunmuştur. DCD inhibitörlü gübre uygulanmış bitkilerde hastalığın baskılanma oranları sırasıyla % 45.43, % 81.68 ve % 82.16 olarak hesaplanmıştır. Her üç gübre uygulamasının 250 ve 500 ppm uygulanmış dozlarında etki pozitif kontrolden farklı grupta yer almış ve en başarılı uygulamalar oldukları saptanmıştır (Tablo 3.2).



Şekil 3.11. Pozitif kontrol (a) ve DMPB inhibitörlü gübre (500 ppm) uygulanan bitkide renk değişimi (b)

Tablo 3.2. Gübrelerin domateste bakteriyel solgunluk hastalığına etkisi (İkinci saksı denemesi)

Uygulamalar	Hastalık Oranı %			Ortalama Hastalık %	Etki %
	1. tekrar	2. tekrar	3. tekrar		
Pozitif kontrol	39.40	46	58.57	47.99^{a*}	-
A. sülfat 100	18.09	44.29	17.70	26.70^{ab}	44.36
A. sülfat 250	**11.76**	**8.68**	**10.88**	**10.44^{b}**	**78.24**
A. sülfat 500	**8.76**	**12.03**	**9.92**	**10.24^{b}**	**78.66**
DMPB 100	22.03	11.34	29.29	20.89^{ab}	56.47
DMPB 250	**16.05**	**9.22**	**16.41**	**13.90^{b}**	**71.04**
DMPB 500	**6.34**	**13.65**	**16.81**	**12.27^{b}**	**74.43**
DCD 100	30.19	20.77	27.59	26.19^{ab}	45.42
DCD 250	**9.18**	**8.27**	**23.46**	**8.79^{b}**	**81.68**
DCD 500	**5.94**	**5.38**	**14.36**	**8.56^{bc}**	**82.16**

*Tukey testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0.05'e göre önemsizdir.

Her iki deneme verileri değerlendirildiğinde inhibitörsüz ve inhibitörlü gübrelerin 500 ppm dozları domates bakteriyel solgunluk hastalığını % 70'nin üzerinde engellemiştir. Gübrelerin 250 ppm dozları hastalığı birinci denemede % 44-55, ikinci denemede % 71-82 arasında azaltmıştır. Uygulamaların 100 ppm dozları ise hastalığı % 42-57 aralığında baskılamıştır (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Gübrelerin domateste bakteriyel solgunluk hastalığına etkisi (Birinci ve ikinci saksı denemesi)

	1. Saksı Denemesi		**2. Saksı Denemesi**	
Uygulamalar	**Hastalık %**	**% Etki**	**Hastalık %**	**% Etki**
Pozitif kontrol	51.24^{a*}	-	47.99^{a}	-
Amonyum sülfat 100	26.87^{ab}	47.56	26.70^{ab}	44.36
Amonyum sülfat 250	26.3^{ab}	48.67	**10.44^{b}**	**78.24**
Amonyum sülfat 500	**11.41^{bc}**	**77.73**	**10.24^{b}**	**78.66**
DMPB 100	29.67^{ab}	42.09	20.89^{ab}	56.47

DMPB 250	28.29^{ab}	44.78	**13.90^{b}**	**71.04**
DMPB 500	**14.85^{b}**	**71.01**	**12.27^{b}**	**74.43**
DCD 100	25.85^{ab}	49.55	26.19^{ab}	45.42
DCD 250	22.94^{ab}	55.23	**8.79^{b}**	**81.68**
DCD 500	**11.43^{b}**	**77.69**	**8.56^{bc}**	**82.16**

*Tukey testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0.05'e göre önemsizdir.

3.5. Gübrelerin Domateste Bitki Boyuna Etkisi

Denemeler değerlendirilirken tüm bitkiler toprak yüzeyinden hemen üstünden kesilmiş ve bitki boyları metreyle ölçülerek santimetre cinsinden ölçülen değerler not alınmıştır. Birinci saksı denemesinde gübre uygulanmayan negatif ve pozitif kontrol bitkilerinde bitki boyları ortalama 59.11 ve 60.44 cm olmuştur. Hastalığın bitkide var olması bitki boyunda önemli bir değişime yol açmamıştır. Gübre uygulanmış olan bitkilerde ise bitki boyları ortalama 73.44-86.22 cm ölçülmüştür. Gübre uygulamaları bitki boyunda %21.51-42.65 arasında artışa neden olmuştur. Tüm uygulamalar kontrol ile karşılaştırıldığında inhibitörsüz amonyum sülfatın tüm dozları kontrolden farklı grupta yer almıştır (Tablo 3.4).

İkinci saksı denemesinde negatif ve pozitif kontrol bitkilerinde bitki boyları ortalama 43.89 ve 47.56 cm ölçülmüştür. Gübre uygulanmış olan bitkilerde bitkiler ortalama 40.00-54.00 cm boya ulaşmıştır. Gübre uygulamaları bitki boyunda % 0.23-13.54 arasında artışa neden olmuştur. Bazı uygulamalar bitki boyunda artışa yol açmamıştır. Tüm uygulamalar kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak fark olmadığı görülmüştür (Tablo 3.4).

Tablo 3. 4. Gübrelerin bitki boyuna etkisi (Birinci ve ikinci saksı denemesi)

	1. Saksı Denemesi		**2. Saksı Denemesi**	
Uygulamalar	**Ortalama**	**% Artış**	**Ortalama**	**% Artış**
Negatif kontrol	59.11^{a*}	-	43.89^{bc}	-
Pozitif kontrol	60.44^{a}	-	47.56^{abc}	-
Amonyum sülfat 100	**84.67^{b}**	**40,08**	52.56^{c}	10,5

Amonyum sülfat 250	**86.22^{b}**	**42,65**	50.56^{bc}	6,31
Amonyum sülfat 500	**83.22^{b}**	**37,69**	47.67^{abc}	0,23
DMPB 100	79.11^{ab}	30,89	52.00^{c}	9,33
DMPB 250	81.00^{ab}	34,02	54.00^{c}	13,54
DMPB 500	78.11^{ab}	29,23	47.00^{abc}	-1,18
DCD 100	76.22^{ab}	26,11	52.22^{c}	9,80
DCD 250	73.44^{ab}	21,51	41.33^{ab}	-6,31
DCD 500	75.89^{ab}	25,56	40.00^{a}	-15,90

*Tukey testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0.05'e göre önemsizdir.

3.6. Gübrelerin Domateste Klorofil Miktarına Etkisi

Yapılan gübre uygulamalarının bitkide klorofil miktarına etkisi incelendiğinde Tablo 3.5'te görüldüğü üzere, ortalama klorofil miktarları birinci saksı denemesinde 37.83-44.83 ölçülmüş, ikinci saksı denemesinde ise ortalama 50.00-63.30 olarak kaydedilmiştir. Birinci saksı denemesinde inhibitörsüz Amonyum sülfatın 500 ppm dozu klorofil miktarını % 3.84, DCD inhibitörlü gübrenin 500 ppm dozu %7.76 ve DMPB inhibitörlü gübrenin 500 ppm dozu uygulanmış bitkilerde klorofil miktarında % 1.12 oranında artış olmuştur. İkinci saksı denemesinde inhibitörsüz Amonyum sülfatın 100 ppm dozu % 22.3, 250 ppm dozu % 25 ve 500ppm dozu % 22.2 oranında klorofil miktarında artış yaratmıştır.İnhibitörlü gübrelerden DMPB'nin 100, 250, 500 ppm dozları sırasıyla % 25.8, % 26.6, % 17.8 oranlarında ve DCD'nin 100, 250, 500 ppm dozları uygulanmış bitkilerde % 12.9, % 18 ve % 11.2 oranlarında klorofil miktarında artış sağlamıştır. Ancak, birinci saksı denemesinde uygulanan gübrelerin hiçbirinde istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. İkinci saksı denemesinde uygulamalardan DCD inhibitörlü gübrenin 100 ve 500 ppm doz uygulanmış bitkileri hariç kontrolden farklı grupta yer alarak istatistiki olarak etkili oldukları saptanmıştır.

Tablo 3.5. Gübrelerin domateste klorofil miktarına etkisi (Birinci ve ikinci saksı denemesi)

	1. Saksı Denemesi		**2. Saksı Denemesi**	
Uygulamalar	**Ortalama**	**% Etki**	**Ortalama**	**% Etki**
Negatif kontrol	37.83^{a*}	-	54.3^{bc}	-

Pozitif kontrol	41.6[a]	-	50[c]	-
Amonyum sülfat 100	41.43[a]	-0.40	61.16[ab]	22.33
Amonyum sülfat 250	39.26[a]	-5.62	62.5[ab]	25
Amonyum sülfat 500	43.2[a]	3.84	61.1[ab]	22.2
DMPB 100	39.9[a]	-4.08	62.87[ab]	25.75
DMPB 250	38.98[a]	-6.29	63.3[a]	26.6
DMPB 500	42.07[a]	1.12	58.87[ab]	17.75
DCD 100	40.46[a]	-2.74	56.45[abc]	12.91
DCD 250	41.15[a]	-1.08	59.01[ab]	18.02
DCD 500	44.83[a]	7.76	55.58[abc]	11.17

*Tukey testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0.05'e göre önemsizdir.

3.7. Gübrelerin Domates Gövde Çapına Etkisi

Birinci saksı denemesinde bitki gövde çapı ortalama en düşük 10.76 mm ile DCD inhibitörlü gübrenin 100 ppm dozunda ölçülürken, en yüksek 12.79 mm çap ölçümü ile aynı gübrenin 250 ppm dozunda elde edilmiştir. Hiçbir gübre uygulanmamış ve patojen bulunmayan domates bitkilerinde gövde çapı ortalama 8.82 mm olarak ölçülmüştür. Patojen uygulanmış ancak gübre uygulanmamış domates bitkilerinde gövde çapı ortalama 11.64 mm olmuştur. İnhibitörlü ve inhibitörsüz gübreler bitki gövde çapını % 0.67-9.94 oranları arasında arttırmıştır. Buna karşın inhibitörsüz amonyum sülfatın 250 ppm dozu ve DCD inhibitörlü gübrenin 100 ppm dozları bitki gövde çapını kontrolle kıyaslandığında arttıramamıştır. İstatistiksel olarak da uygulamalar arasında fark olmadığı saptanmıştır (Tablo 3.6).

İkinci saksı denemesinde patojen inokule edilmiş domates bitkilerinin gövde çapı ortalama 8.11 mm olmuştur. İnhibitörlü ve inhibitörsüz gübre uygulanmış bitkilerde gövde çapı 7.68-8.92 mm olarak ölçülmüştür. İstatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olmadığı saptanmıştır. DMPB inhibitörlü gübrenin 250 ppm dozu bitki gövde çapını % 10, DCD inhibitörlü gübrenin 100 ppm dozu % 9.68, inhibitörsüz amonyum sülfat gübresinin 500 ve 100 ppm dozları domates bitki gövde çaplarını % 8.55 ve % 4.12 oranlarında arttırmıştır (Tablo 3.6).

Tablo 3. 6. Gübrelerin domates gövde çapına etkisi (Birinci ve ikinci saksı denemesi)

	1. Saksı Denemesi		2. Saksı Denemesi	
Uygulamalar	**Ortalama**	**% Etki**	**Ortalama**	**% Etki**
Negatif kontrol	8.82[c]	-	7.69[a*]	-
Pozitif kontrol	11.64[ab]	-	8.11[a]	-
Amonyum sülfat 100	12.04[ab]	3.43	8.44[a]	4.12
Amonyum sülfat 250	11.23[ab]	-3.52	7.92[a]	-2.36
Amonyum sülfat 500	11.72[ab]	0.67	8.80[a]	8.55
DMPB 100	12.20[ab]	4.83	7.95[a]	-1.94
DMPB 250	11.76[ab]	1.03	8.92[a]	10,0
DMPB 500	11.74[ab]	0.91	7.92[a]	-2.36
DCD 100	10.76[b]	-7.51	8.9[a]	9.68
DCD 250	12.79[a]	9.94	7.72[a]	-4.79
DCD 500	11.99[ab]	3.03	7.68[a]	-5.32

*Tukey testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0.05'e göre önemsizdir.

3.8. Gübrelerin Bitki Kuru Ağırlığı Üzerine Etkisi

Tablo 3.7' de görüldüğü gibi birinci saksı denemesinde uygulanan inhibitörsüz ve inhibitörlü gübreler bitkide kuru ağırlık miktarında % 68.18-111.86 oranları arasında artışa yol açmıştır. İnhibitörsüz amonyum sülfatın 100 ppm dozu uygulandığında bitki kuru ağırlığında % 111.86 oranında en fazla artış sağlanmıştır. DMPB inhibitörlü gübrenin 100, 250 ve 500 ppm dozları bitkideki kuru ağırlığı sırasıyla % 98.66, % 79.35 ve % 99.22 oranlarında arttırmıştır. Bitki kuru ağırlığındaki en az artış DCD inhibitörlü gübrenin 250 ve 500 ppm dozlarında görülmüştür. Bu iki uygulama dışındaki diğer gübre uygulamaları istatistiksel olarak kontrolden farklı grupta yer almış ve başarılı olarak kabul edilmişlerdir.

İkinci saksı denemesi sonuçları incelendiğinde sırasıyla inhibitörsüz amonyum sülfatın 100 ppm dozu % 62.30, DMPB inhibitörlü gübrenin 250 ppm dozu % 73.51 ve yine DMPB inhibitörlü gübrenin 100 ppm dozu % 64.17 kuru ağırlıkta en fazla artış sağlayan uygulamalar olmuştur. DCD inhibitörlü gübrenin 250 ve 500 ppm dozları bitki kuru ağırlığında artış sağlamamıştır.

Tablo 3. 7. Gübrelerin domates kuru ağırlığına etkisi (Birinci ve ikinci saksı denemesi)

	1. Saksı Denemesi		**2. Saksı Denemesi**	
Uygulamalar	**Ortalama**	**% Etki**	**Ortalama**	**% Etki**
Negatif kontrol	12.04^{de}	-	5.33^{c}	-
Pozitif kontrol	14.24^{cd}	-	5.89^{c}	-
Amonyum sülfat 100	**30.17^{a*}**	**111.86**	**9.56^{ab}**	**62.30**
Amonyum sülfat 250	**25.61^{ab}**	**79.84**	7.78^{abc}	32.08
Amonyum sülfat 500	**26.25^{ab}**	**84.33**	7.44^{abc}	26.31
DMPB 100	**28.29^{a}**	**98.66**	**9.67^{a}**	**64.17**
DMPB 250	**25.54^{ab}**	**79.35**	**10.22^{a}**	**73.51**
DMPB 500	**28.37^{a}**	**99.22**	6.33^{bc}	7.47
DCD 100	**25.6^{ab}**	**79.77**	7.33^{abc}	24.44
DCD 250	24.05^{abc}	68.89	5.56^{c}	-5.60
DCD 500	23.95^{abc}	68.18	4.89^{c}	-16.97

*Tukey testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0.05'e göre önemsizdir.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1.Tartışma

Bakteriyel etmen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' in neden olduğu domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı domates üretimini ve verimi büyük oranda sınırlandıran en önemli sistemik hastalıktır. Etmen başlangıçta özellikle alt yapraklarda görülebilen tek taraflı solgunluk ve sararma şeklinde başlamakta, ardından tüm bitkide genel solgunluk ve yanıklığa, iletim demetinde nekrozlara yol açarak bitkinin su ve besin alımını engellemektedir. Bu belirtilerin yanı sıra yapraklarda damar arasında sararma ve bunu takip eden yanıklığa, gövdede çatlama ve kanser belirtisine ve meyvelerde kuş gözü şeklinde lekelenmelere de yol açarak domatesin ekonomik değerinin düşmesine neden olmaktadır. Hastalığa dayanıklılık birden fazla gen ile kontrol edildiğinden dayanıklı ticari çeşit henüz bulunmamaktadır. Bu nedenle hastalığın mücadelesinde temiz tohumluk kullanmak, hijyen ve sanitasyon önlemlerine özen göstermek, bitkiler ıslakken temastan kaçınmak, bitkiyi hastalığa karşı dayanıklı kılacak uygulamalar yapmak büyük önem arz etmektedir. Bakterinin özellikle bitki içerisinde iletim demetleri yoluyla hareket etmesinden dolayı hastalığa etkili bir kimyasal mücadele bulunmamaktadır. Buna karşın direk bitkiye, toprağa ya da tohuma yapılan bazı kimyasal ve fiziksel uygulamalar inokulumun azalmasına yardımcı olmuştur (Divsalar vd., 2014; Kasselaki vd., 2011; Tireng Karut vd., 2019; Werner vd., 2002). Son yıllarda bu hastalığın mücadelesinde bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler, antagonistler ve fajlar (Çetinkaya Yıldız, 2007; Kasselaki vd., 2011; Utkhede ve Koch, 2004; Wittman vd., 2016), bitkisel yağlar ve ekstraktlar (Karabüyük ve Aysan, 2019; Kotan vd., 2014) ve algler (Yiğenoğlu, 2015) denenmiş ve oldukça etkili oldukları belirlenmiştir. Ayrıca bitki dayanıklılığını uyaran çeşitli aktivatörler

(Soykan, 2010; Soylu vd., 2003), Çinko beslemesi (Çakmak ve Aysan, 2009) ile bitki dayanıklılığının arttırılması ile hastalığın şiddetinde azalmalar tespit edilmiştir. Tarımsal üretimde bitkide çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal olayların gerçekleşmesinde çeşitli elementler rol oynar. Bu elementler veya bileşenler bitki tarafından daha çok topraktan alınmaktadır. Toprakta bu elementlerin yeterli seviyelerde olması gereklidir. Azotun bitki gelişimi ve buna bağlı olarak verim artışı ve ürün kalitesi üzerinde doğrudan olumlu etkisinin olmasının yanı sıra, hidrosferdeki (yer altı suyundaki NO_3 miktarı) ve atmosferdeki (sera gazı) azot miktarı da çevre üzerinde olumsuz etkide bulunmaktadır. Azot bitki tarafından amonyum (NH_4^+) ve nitrat (NO_3^-) formlarında alınmaktadır. Verilen amonyum topraktaki oksijen ile (O_2) tepkimeye girerek nitrite ve ordan nitrata dönüşerek toprakta kalmaktadır. Bitki tarafından alınan azot miktarında farklılıklar vardır ve azotun hastalıklar üzerine olumlu ve olumsuz etkileri de çok fazladır. Ancak azotun hastalıklar üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar çok değişkenlik göstermektedir ve bu farklılıkların temel nedeni hala tam anlamıyla anlaşılamamıştır (Gupta vd., 2017). Örneğin azotun çeşitli hastalıklara karşı dayanıklılığı uyardığı ve artan dozlarda hastalık şiddetinin azaldığını ifade eden çalışmalar mevcutken (Blachinski vd., 1996; Devadas vd., 2014; Hoffland vd., 1999), aksine doz arttıkça hastalığa duyarlılığın arttığını ortaya koyan çalışmalar da bulunmaktadır (Hoffland vd., 2000; Dos Santos vd., 2009). Bu farklılıklar bitki tarafndan alınan azotun formu ya da patojenin obligat ya da fakültatif olması ile alakalı olabileceği bildirilmiştir (Büschbell ve Hoffmann, 1992; Celar, 2003). Bu durumla alakalı Sun vd. (2020), tarafından yazılan derlemede 1944-2019 yılları arasında azotlu gübrelemenin bitki hastalıkları üzerine etkisini araştıran çalışmalarda amonyum formunda alınan azotta hastalık azaldığını gösteren dokuz çalışma yapılmış, nitrat formunda ise sekiz çalışma tespit edilmiştir.

Bitkiye verilen gübrelerin %50-70'lik kısmını azot oluşturmaktadır (Wiesler, 1998). Böylesi yüksek oranda verilen azotun etkinliğini arttırmak amacıyla uygulanan azotun sensörlerle ölçülmesi (Wollring vd., 1998), azota az ihtiyaç duyan çeşitlerin yetiştirilmesi (Spanakakis ve Viedt, 1990) gibi çeşitli araştırma ve çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların dışında 1950'li yılların sonunda topraktan azot yıkanmasını ve kayıpları engelleyerek bitkinin topraktaki azottan daha uzun süre faydalanmasını sağlamak amacıyla uygulanan azota nitrifikasyon inhibitörü eklenmesi gündeme

gelmiştir (Goring, 1962; Prasad ve Power1995; Trenkel, 1997). Tarım sektöründe en fazla tercih edilen iki inhibitörden biri olan DCD Avrupa'da ve pyradin inhibitörü Amerika'da kabul görmüştür. Son dönemlerde yeni bir inhibitör olarak DMPP Entec ticari ismiyle toz formülasyonda piyasaya sürülmüştür. Türkiye'de ilk nitrifikasyon inhibitörlü gübre Doğa-Tech firması tarafından DMPB inhibitörü olarak Stable N 21 ticari ismiyle marketlerde yerini almıştır. Tarımda farklı nitrifikasyon inhibitörlü azotlu gübrelerin daha çok bitki verimi ve kalite parametreleri üzerine etkilerini araştıran pek çok çalışma mevcuttur (Gök, 2019; Pasda vd., 2001; Panakova vd., 2016; Uçar, 2019). Özellikle bu gübrelerin buğday ve mısırda bitki verimini ve azot kullanım etkinliğini arttırdığı (Raza vd., 2019), silajlık mısırda yeşil ve kuru ot verimini arttırdığı (Karagöz, 2018), mısır tane verimi, protein ve nişasta oranında artış sağladığını (Dong vd., 2016; Lozek ve Slamka, 2016) ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır.

Bitkilerde çeşitli hastalıklarla mücadelede azotlu gübrelemenin önemini vurgulayan çeşitli çalışmalar mevcut iken (Atim vd., 2013; Techy de Almeida Garrett vd., 2019; Hoffman vd., 1999), azot nitrifikasyon inhibitörlü gübrelerin bitkide hastalık gelişimi ve engellenmesi üzerine ne düzeyde etkide bulunduğu ile ilgili bilimsel çalışmaya rastlanmamıştır. Bu amaçla, Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'ne ait ısıtmasız seralarda iki kez tekrarlanan saksı denemeleri şeklinde yürütülen yüksek lisans tez çalışması kapsamında, farklı nitrifikasyon inhibitörlü ve inhibitörsüz azotlu gübrelerin domateste bakteriyel solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) hastalık gelişimine, bitki boyuna, bitki gövde çapına, bitkideki klorofil miktarına ve bitki kuru ağırlığına etkisi araştırılmıştır.

Bu tez çalışmasında kullanılan iki farklı inhibitörlü ve inhibitörsüz amonyum sülfat gübreleri, domateste bakteriyel solgunluk hastalığını baskılamada başarılı bulunmuştur. Yürütülen birinci saksı denemesinde inhibitörsüz Amonyum sülfat % 47-77, DCD inhibitörlü gübreler % 49-77 ve DMPB inhibitörlü gübreler % 42-71 arasında hastalık gelişimini azaltmıştır. İkinci saksı denemesinde ise inhibitörsüz Amonyum sülfat % 44-78, DCD inhibitörlü gübreler % 45-82 ve DMPB inhibitörlü gübreler % 56-74 arasında hastalığı engellemiş ve birinci saksı deneme sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir. Yine dozlar karşılaştırıldığında inhibitörsüz ve inhibitörlü gübrelerin normal önerilen 250 ppm dozunun iki katı olan 500 ppm dozu uygulandığında hastalık oranında azalmanın

birinci denemede % 71-77, ikinci denemede ise % 74-82 olduğu tespit edilmiştir. Bu durum domateste bakteriyel solgunluk hastalığı ile mücadelede normal önerilen dozun arttırılmasıyla hastalık gelişimi arasında bir etkileşim olduğunu ve doz arttıkça iletim demetinde hastalık ilerleyişinin daha az olduğunu ortaya koymuştur. Denemeler saksıda yürütüldüğünden üç kez uygulanan azot toprakta kalmış ve bitki bundan faydalanabilmiştir. Bu nedenle artan dozda hastalık gelişimi de azalmıştır. Benzer şekilde Atim vd. (2013), potasyum, kalsiyum ve azot uygulamalarının farklı dozlarının muzda bakteriyel solgunluk hastalığına (*Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*) etkisini incelemişlerdir. Normal önerilen dozların altındaki farklı dozlar ile önerilen dozun iki katı oranındaki dozları uyguladıklarında doz arttıkça hastalık oranının fark edilir oranda azaldığını ve buna bağlı olarak ilk hastalık belirtilerinin görülmesi için geçmesi gereken sürenin de arttığını tespit etmişlerdir. Huber ve Graham (1999), bitkilere uygulanan inorganik azot formlarının domateste *Verticillum* solgunluk hastalığında artan oranda nitrat doz uygulamalarının hastalığı tetiklediğini, artan doz amonyumun ise hastalık gelişimini yavaşlattığını ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamızın aksine Zimerman Lax vd. (2016), kavun bakteriyel meyve lekesi (*Acidovorax citrulli*) hastalığına azotlu gübrelemenin etkisini incelemiş ve nitrat formulasyonunun amonyuma göre hastalığı daha fazla azalttığını saptamışlardır. Bu durum Celar (2003), tarafından patojenin durumu, konukçu bitkinin azot ihtiyacına göre farklılık gösterebileceği vurgulanmıştır.

Yapılan çalışmada farklı nitrifikasyon inhibitörlü ve inhibitörsüz azotlu gübreler bitki gövde çapını birinci saksı denemesinde % 0.67-9.94 oranları arasında, ikinci saksı denemesinde ise % 4.12-10.00 arasında arttırmıştır. Ancak istatistiki olarak fark görülmemiştir. Aynı şekilde Uçar (2019), silajlık mısıra farklı nitrifikasyon inhibitörlü azotlu gübreleri 2016 ve 2017 yıllarında denemiş, en yüksek gövde çapını DCD inhibitörlü azotlu gübre uygulanmış bitkilerde gözlemlerken, bunu DMPB ve DMPP inhibitörlü azotlu gübre uygulamaları takip etmiştir. Çalışma ile farklı inhibitörlü azotlu gübre uygulanmış bitkilerin gövde çapının inhibitörsüz azotlu gübre uygulanmış bitkilerden daha kalın olduğunu tespit etmiştir. Techy de Almeida Garrett vd. (2019) ökaliptüste Mycosphaerella yaprak yanıklığı hastalığında azotlu gübrelemenin (NH_4NO_3) hastalık şiddetine etkisini incelemişlerdir. Doz artışı kök ve kök boğazı kalınlığı ile bitki boyunu arttırırken, hastalık şiddetini azaltmıştır. Çalışmamızı

destekleyen sonuçları farklı azotlu gübrelerin ve kalsiyum dozlarının domatesteki verimi nasıl etkilediğini inceleyen Gelmez ve Müftüoğlu (2018) elde etmişlerdir. Araştırıcılar çalışmaları neticesinde birlikte yapılan azot ve kalsiyum uygulamaların domates bitkisinin gövde çapında istatistiki olarak bir fark yaratmamıştır. Domatese 100 g kalsiyum/m^2 verilip ardından da kalsiyum nitrat gübrelemesi yapıldığında domates bitkisinde 2,3 cm ile en dar gövde çapı elde edilirken, en geniş gövde çapı 3,4 cm ile 100 g kalsiyum/$m^{2'}$ un ardından amonyum nitrat gübrelemesi yapılan domates bitkilerinde ölçülmüştür.

Azotlu gübrelerin etki hızları değişkenlik gösterir. Bitkilere yapılan gübre uygulamaları verimin yanısıra bitki boylarında da çoğu zaman artışa yol açmaktadır. Birinci denemede bitki boyunda % 21-42 artış gözlenirken, ikinci denemede ilk denemeye kıyasla bitki boyunda beklenen artış gözlenmemiştir. Bunun nedeni olarak ilk denemede kullanılan çeşidin tarla yetiştiriciliğine uygun olması, ikinci denemede kullanılan çeşidin ise sırık olarak sera yetiştiriciliğine uygun olması söylenebilir. Birinci denemede Falcon F1 çeşidinin çok dallı ve kapalı yapıda, adaptasyon kabiliyetinin yüksek olması ve toprak seçiciliğinin olmamasından dolayı yatay olarak saksıda daha hızlı gelişebilmiştir. İkinci saksı denemesinde kullanılan Yüksel köy F1 çeşidi ise sırık olarak serada yetiştirmeye uygun, boğum arası kısa, ilkbahar ve sonbahar ekimine uygun bir çeşittir. Ayrıca birinci denemede bitkiler 10 Haziran-20 Ağustos 2020 arasında yaklaşık 70 gün boyunca gelişirken, ikinci denemede bu süre sadece 45 gün kadar olabilmiştir. Kullanılan çeşit farklılığı, deneme süresinin farklılığı ve deneme süresince seyreden hava sıcaklığı ve nemin farklılık göstermesinden ötürü gübrelerin bitki boyuna etkisinin farklılık göstermiş olabileceği düşünülmektedir. Çetinkaya Yıldız ve Aysan (2005), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı domates fidelerinde bitki aktivatörlerini (Turf Set, ISR-2000 ve Crop-Set) uyguladıkları çalışmada bitki boyunda % 7-18 oranında artış gözlemlemişlerdir. Buna karşın, Gaffaroğlu (2018) tamamladığı yüksek lisans tez çalışmasında domates gövde çürüklüğü hastalığına karşı uyguladığı gübrelerin bitki boyunda değişken sonuçlara yol açtığını belirtmiştir.

Bitki biyomasında birinci saksı denemesinde % 68-111 arasında, ikinci saksı denemesinde ise % 7-73 arasında artış tespit edilmiş, istatistiki olarak bu artış farklılık göstermiştir. Ancak doz arttıkça bitki kuru ağırlığında artış azalmıştır. İkinci saksı

denemesinde uygulanan gübrelerin bitki kuru ağırlığına etkisi değişkenlik göstermiştir. Bitki kuru ağırlığında artış farklı araştırıcılar tarafından da tespit edilmiştir. Uçar (2019), 2016 ve 2017 yıllarında iki yıl üst üste tarlada silajlık mısır yetiştirmiş ve mısırlara uyguladığı farklı nitrifikasyon inhibitörlü azotlu gübreler kuru ot verimini inhibitörsüz amonyum sülfata göre daha fazla arttırmıştır. Soykan (2010), yeşil aksama uyguladığı gübrelerin bitki kuru ağırlığında artışa yol açtığını bildirmiştir. Jiang vd. (2016), düşük, orta ve yüksek doz boron uygulamasının yanısıra mikro ve makro elementler uygulayarak domateslerde bakteriyel solgunluk (*Ralstonia solanacearum*) hastalık şiddetinin boron dozu arttıkça daha az seyrettiğini belirlemiştir. Aynı şekilde bitki boyu, gövde çapı ve yaprak kalınlığında artış gözlemlerken, bizim çalışmamızın aksine bitki biyomasında istatistiki fark görmemiştir.

Bitki besleme ve gübreleme bitkide yaşamsal öneme sahip fizyolojik ve biyokimyasal olayların gerçekleşmesi için gereklidir. Bitkide gerçekleşen en önemli olaylardan biri fotosentezdir. Bitkinin fotosentez yapabilmesi için klorofile, bitkide klorofil sentezi için çeşitli besin elementlerine gereksinim vardır. Yapılan bazı uygulamalar bitkide klorofil miktarında artışa yol açmaktadır. Örneğin Yiğenoğlu (2015) tez çalışmasında, domates bitkisine uyguladığı *Spirulina platensis*'in bitkide klorofil miktarında artışa yol açtığını saptamış ve istatistiki fark saptamıştır. Silva Júnior vd. (2018) kahve bitkisinde Phoma yaprak lekesi hastalığının mücadelesinde yapraktan uygulanan çeşitli mikro ve makro elementlerin hastalığa ve klorofil oranına etkisini beş hafta takip etmiş, kontrole göre her ikisinde de artış gösterdiğini saptamıştır. Çalışkan vd. (2007), farklı organik üretim sistemlerinin domatesteki etkilerini inceledikleri çalışmalarında domates yapraklarının klorofil içeriklerini karşılaştırdıklarında yeşil gübreleme+ çiftlik gübresi+ ticari organik preparatlar uyguladıkları tarla parsellerinde en yüksek değerleri elde etmişlerdir. Güler (2004), tavuk gübresi ve inorganik gübrenin domateste yapraklarındaki klorofil miktarlarını da incelemiştir. Tavuk ve inorganik gübre uygulamalarının domates yapraklarındaki klorofil içeriği üzerine etkilerinin birbirine yakın olduğunu ve aralarında önemli bir fark olmadığını bildirmiştir. Tamamlanan bu tez çalışmasında da klorofil artışında birinci denemede önemli fark görülmezken, ikinci denemede klorofil miktarında % 26'ya kadar artış görülmüş ve kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında istatistiki fark saptanmıştır. İki deneme arasındaki bu farklılık kullanılan çeşit farkı, ikinci denemede patojenin bitki içerisinde daha çok ilerleyebilmesi için gerekli

sıcaklığın daha düşük olmasına, patojenin bitki içerisinde kısıtlı ilerleyişine ve azotun ikinci denemede bitkiler tarafından daha hızlı alınıp klorofil sentezinde kullanılmış olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

4.2. Sonuç ve Öneriler

Domateste bakteriyel solgunluk hastalığı tedbirler alınmazsa önemli düzeyde ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Bu hastalıkla mücadelede sadece erken dönemde yapılan koruyucu önlem niteliğindeki bakırlı preparatlar dışında ruhsatlı bir kimyasal bulunmamaktadır. Ayrıca kimyasalların çevreye verdiği zarar da göz önüne alınınca alternatif mücadele yöntemleri önemli bir yer almaktadır. Bu çalışmada, domates fidelerine inhibitörsüz amonyum sülfat, DCD ve DMPB inhibitörlü amonyum sülfat gübreleri 100, 250 ve 500 ppm dozlarında üç kez uygulandıklarında domates bakteriyel solgunluk hastalığını her üç doz % 42-82 arasında azaltmıştır. İnhibitörlü gübreler ile inhibitörsüz amonyum sülfat karşılaştırıldığında, her üç gübre uygulamasının 500 ppm dozları hastalığı % 70 ve üzerinde engellemiştir. Hem inhibitörlü hem de inhibitörsüz gübreler her iki denemede de hastalığı baskılamada benzer sonuçlar vermiştir. Ayrıca uygulanan gübreler bitkinin kuru ağırlığında % 7-111, bitki boyunda % 42, gövde çapında % 10 ve klorofil miktarında ise % 26'ya varan oranlarda artışa yol açarak başarılı uygulamalar olmuştur.

Çalışma saksı denemeleri şeklinde yürütüldüğünden, bu hastalığa karşı kullanılabilecek en uygun gübre dozu belirlenememiştir. Elde edilen bulgular da dikkate alınarak çiftçiye önerilen 250 ppm dozun hastalığı azaltmada etkili olduğu ancak yetersiz kaldığı belirlenmiştir. Tavsiye edilen 250 ppm dozu ile 500 ppm dozları arasındaki diğer doz aralıklarının da özellikle tarla ya da serada çiftçi koşullarında bu hastalığa karşı denenmesi ve hastalığa en etkili dozun belirlenmesi gerekmektedir.

Azotun bitkide çeşitli bakteriyel ve fungal hastalıklara etkisini araştıran pek çok çalışma bulunmaktadır. Azot gübrelemesi bitki gelişimi, verim ve kalite üzerine doğrudan etkisi olan bir elementtir. Bu nedenle azotun yarayışlılığını arttırmak, bitkilerin hastalık ve zararlılara dayanımını tetiklemek için çeşitli formlarda uygulanmaktadır. Bu uygulama şekillerinden biri olan inhibitörlü amonyum sülfat gübrelemesi azot yıkanmasının fazla

olduğu alanlarda özellikle yavaş salınım özelliklerinden ötürü inhibitörsüz amonyum sülfat gübresine alternatif olarak domates bakteriyel solgunluk hastalığı ile mücadelede tercih edilebilir. İnhibitörlü gübrelerin bakteriyel solgunluk hastalığına etkisi ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur. Azot inhibitörlü gübrelerin kültür bitkilerindeki diğer hastalıklara da etkisinin çalışılması önerilmektedir.

Sonuç olarak, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in neden olduğu domateste bakteriyel solgunluk hastalığının entegre mücadelesinde sertifikalı, hastalıksız tohum/fide kullanımına özen gösterilmeli, varsa dayanıklı/tolerant çeşit tercih edilmeli, üretim alanında sanitasyon önlemlerine dikkat edilmeli, lokal enfeksiyon ve üretim alanında bulaşmaları azaltmak için bakırlı preparatlar kullanılmalı, klasik amonyum sülfat gübrelemesinin yanısıra farklı azot inhibitörlü gübreler hastalıkla entegre mücadele programı içine alınmalıdır. Hastalığa karşı dayanıklı ticari çeşit geliştirme ile ilgili ıslah çalışmalarına da daha fazla ağırlık verilmelidir.

KAYNAKÇA

Abak, K., 2016. Türkiye'de domatesin dünü, bugünü ve yarını. **Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi (Erciyas, M., Bağcı, AS Edits.), 17**: 8-13.

Agrios, G. N., 2005. Plant Pathology 5th Edition: Elsevier Academic Press. Burlington, USA, 952pp.

Atim, M., Beed, F., Tusiime, G., Tripathi, L., van Asten, P., 2013. High potassium, calcium, and nitrogen application reduce susceptibility to banana Xanthomonas wilt caused by *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*. **Plant Disease**, 97(1): 123-130.

Baysal, O., Soylu, E. M., Soylu, S., 2003. Induction ofdefence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensisssp. michiganensis*. **Plant Pathology, 52**: 747-753.

Belal, H., 2017. Domates Bitkilerine Potasyum Mono-Fosfat, Potasyum Silikat ve Kitosan Uygulamalarının, Domates Bakteriyel Solgunluk ve Kanser Hastalığına Karşı Dayanıklılıklarının Arttırılmasındaki Etkilerinin Araştırılması. Akdeniz Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, , Antalya, 126s.

Bergmann, W. 1992. Nutritional disorders of plants: Development. **Journal of Plant Nutrition Soil Science, 166**: 377.

Berry, S. Z., Madumadu, G. G., Uddin, M. R., 1988. Effect of calcium and nitrogen nutrition on bacterial canker disease of tomato. **Plant and Soil, 112**(1): 113-120.

Blachinski, D., Shtienberg, D., Dinoor, A., Kafkafi, U., Sujkowski, L. S., Zitter, T. A., Fry, W. E., 1996. Influence of foliar application of nitrogen and potassium onAlternaria diseases in potato, tomato and cotton. **Phytoparasitica, 24**(4): 281.

Büschbell, T., Hoffmann, G. M., 1992. The effects of different nitrogen regimes on the epidemiological development of pathogens on winter wheat and their control. **Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 99**(4): 381-403.

Celar, F., 2003. Competition for ammonium and nitrate forms of nitrogen between some phytopathogenic and antagonistic soil fungi. **Biological Control, 28**(1): 19-24.

Chang, R. J., Ries, S. M., Pataky, J. K., 1991. Dissemination of *Clavibacter michiganensissubsp. michiganensis* by practices used to produce tomato transplants. **Phytopathology, 81**: 1276-1281.

Chang, R. J., Ries, S. M., Pataky, J. K., 1992. Effects of temperature, plant-age, inoculum concentration, and cultivar on the incubation period and severity of bacterial canker of tomato. **Plant Disease, 76**: 1150-1155.

Çakmak, Ö., Aysan, Y., 2009. Farklı düzeylerde çinko uygulanan domates bitkilerinde bakteriyel solgunluk hastalığı üzerine bitki gelişimini artıran kök bakterilerinin etkisinin araştırılması, 333. *Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi*, 15-18 Temmuz 2009, Van, 380.

Çalışkan, S., Yetişir, H., Çalışkan, M. E., Arslan, M., 2007. Farklı organik üretim sistemlerinin domates bitkisinin büyüme ve verimi üzerine etkileri, 293-296. *Türkiye 5. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, 4-7 Eylül 2007, Erzurum.

Çetinkaya Yıldız, R., Aysan, Y., 2005. Bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni(*Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*) ile bulaşık domates fidelerinde bitki aktivatörlerinin etkinliğinin belirlenmesi,359. *Türkiye 2. Tohumculuk Kongresi*, 9-11 Kasım 2005, Adana, 395.

Çetinkaya Yıldız R., 2007. Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalık Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)' nin Tanılanması Ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler İle Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 173 s.

Çetinkaya Yıldız R., Aysan Y., 2008. Domates bakteriyel solgunluk hastalığı, pp. 49-52. *In*: Bitki Bakteri Hastalıkları (Edt. Saygılı H. , Şahin F., Aysan Y.) Meta Basım, İzmir.

De Leon, L., Siverio, F., Lopez, M. M., Rodriguez, A., 2008. Comparative efficiency of chemical compounds for in vitro and in vivo activity against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, the causal agent of tomato bacterial canker. **Crop Protection, 27**: 1277-1283.

Devadas, R., Simpfendorfer, S., Backhouse, D., Lamb, D. W., 2014. Effect of stripe rust on the yield response of wheat to nitrogen. **The Crop Journal, 2**(4): 201-206.

Divsalar, M., Shakeri, M. Khandan, A., 2014. Study on thermotherapy treatment effects on seed germination and vigor of tomato cultivars. **International Journal of Plant & Soil Science, 3**(6): 799–809.

Dong, Y. J., He, M. R., Wang, Z. L., Chen, W. F., Hou, J., Qiu, X. K., Zhang, J. W., 2016. Effects of new coated release fertilizer on the growth of maize. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 16**(3): 637-649.

Dos Santos, G. R., De Castro Neto, M. D., De Almeida, H. S., Ramos, L. N., Sarmento, R. A., Lima, S. D. O., Erasmo, E. A. L., 2009. Effect of nitrogen doses on disease severity and watermelon yield. **Horticultura Brasileira, 27**(3): 330-334.

Dreier, J., Bermpohl, A., Eichenlaub, R., 1995. Southern hybridization and PCR for specific detection of phytopathogenic *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*. **Phytopathology, 85**: 462-468.

FAO, 2019. FAO'nun 2017 verileri. (Web page: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize) (Date accessed: 27. 12. 2019).

Frusciante, L., Barone, A., Carputo, D., Ercolano, M. R., Rocca, F. D. Esposito, S., 2000. Evaluation and use of plant biodiversity for food and pharmaceuticals. **Fitoterapia, 71**: 66-72.

Gaffaroğlu, S., 2018. Farklı Bitki Besleme Programlarının Domates Gövde Çürüklüğü (*Pectobacterium carotovorum*) Hastalığına Etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Adana, 52 s.

Gaffaroğlu, S., Horuz, S., Aysan, Y., 2019. Farklı Bitki Besleme Programlarının Domates Gövde Çürüklüğü (*Pectobacterium carotovorum*) Hastalığına Etkisi. **Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 6**(2): 263-270.

Gelmez, C., Müftüoğlu, N. M., 2018. Farklı Kalsiyum Dozları ve Azotlu Gübrelerin Domateste Verim ve Verim Özellikleri Üzerine Etkisi. **Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4**(2): 134-148.

Gleason, M. L., Gitaitis, R. D., Ricker M. D., 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in eastern North America. **Plant Disease, 77**(11): 1069-1076.

Goring, C. A., 1962. Control of nitrification of ammonium fertilizers and urea by 2-chloro-6-(trichloromethyl) pyridine. **Soil Science, 93**(6): 431-439.

Gök, M. E., 2019. DMPB Nitrifikasyon İnhibitörünün Patates Bitkisinin Verim ve Kalitesi Üzerine Etkisi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 45 s.

Gupta N., Debnath S., Sharma S., Sharma P., Purohit J., 2017. Role of nutrients in controlling the plant diseases in sustainable agriculture. *In:* Agriculturally

important microbes for sustainable agriculture (Eds: Meena VS, Mishra PK, Bisht JK, Pattanayak A). Applications in crop production and protection. Singapore: Springer Nature. pp 217–262.

Güler, S., 2004. Tavuk Gübresi Ve İnorganik Gübre Uygulamasının Domateste Verim, Kalite Ve Yaprağın Besin Element İçeriği Üzerine Etkileri. **Derim, 21**(1): 21-29.

Hausbeck, M. K., Bell, J., Medina-Mora, C., Podolsky, R., Fulbright, D. W., 2000. Effect of bactericides on population sizes and spread of *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* on tomatoes in the greenhouse and on disease development and crop yield in the field. **Phytopathology, 90(1)**: 38-44.

Hoffland E, Van Beusichem M L., Jeger M J., 1999. Nitrogen availability and susceptibility of tomato leaves to *Botrytis cinerea*. **Plant Soil, 210**: 263–272.

Hoffland, E., Jeger, M. J., Van Beusichem, M. L., 2000. Effect of nitrogen supply rate on disease resistance in tomato depends on the pathogen. **Plant and Soil, 218(1-2):** 239-247.

Huber, D. M., Graham, R. D., 1999. The role of nutrition in crop resistance. **Mineral nutrition of crops: fundamental mechanisms and implications, 18**(12): 169.

Jiang, J.F., Wan, X., Li, J.G., Dong, Y.H., 2016. Effect of boron nutrition on resistance response of tomato against bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. **Journal of Plant Pathology, 98**(1): 117-122.

Jones, J. B., Zitter, T. A., Momol, T. M., Miller, S. A., 2014. Compendium of tomato diseases and pests . Saint Paul, MN: American Phytopathological Society, 58-60.

Karabüyük, F., Aysan, Y., 2019. Bazı bitki ekstraktlarının Pseudomonas syringae pv. tomato'nun neden olduğu domates bakteriyel benek hastalığına antibakteriyel etkisi. **Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 16**(2): 231-243.

Karaca, İ. Saygılı, H., 1982. Batı Anadolu'nun bazı illerinde domates ve biberde görülen bakteriyel hastalıkların oranı, etmenleri ve konukçu çeşitlerinin duyarlılığı üzerine araştırmalar, 182-192. *III. Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, 12-15 Ekim, Adana.

Karagöz, Ş.M., 2018. Farklı Azotlu Gübre Ve Dozlarının Silajlık Mısırın Verim Ve Kalite Özelliklerine Etkisi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 45 s.

Karaman, M. R., 2012. Kültür bitkilerinde beslenme ve hastalık-zararlı ilişkileri, 791-837. *In*: Bitki Besleme (Eds: Ş. Tüfenkçi, Y. Yanar, S. Şahin, D. Yanar). Gübretaş Rehber Kitaplar Dizisi: 2., Ankara.

Kasselaki, A.M., Goumas, D., Tamm, L., Fuchs, J., Cooper, J., Leifert, C., 2011. Effect of alternative strategies for the disinfection of tomato seed infected with bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis*). **Njas-Wageningen Journal of Life Sciences, 58** (3-4): 145-147.

Klement, Z., Mavridis, A., Rudolph, K., Vidaver, A., 1990. Inoculation of plant tissue. *In*:Methods in Phytobacteriology (Eds: Klement, Z., Rudolph, K., and Sands, D. C.). Akademiai Kiado, Budapest, Hungary.

Kotan, R., Cakir, A., Ozer, H., Kordali, S., Cakmakci, R., Dadasoglu, F., Dikbas, N., Aydin, T., Kazaz, C., 2014. Antibacterial effects of *Origanum onites* against phytopathogenic bacteria: Possible use of the extracts from protection of disease caused by some phytopathogenic bacteria. **Scientia Horticulturae, 172**: 210-220.

Lelis, F. V., Czajkowski, R., Souza,R., Ribeiro, D., Wolf, J., 2014. Studies on the colonization of axenically grown tomato plants by a GFP-tagged strain of *C. michiganensis* subsp. *michiganensis.* **European Journal of Plant Pathology 139**(1): 53-66.

Lelliot, R.A., and Stead, D.E., 1987. Diagnostic procedures for bacterial plant diseases. In Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants 58-59. Blackwell Scientific Publicati ons, 216.

Ložek, O., Slamka, P., 2016. Effect of nitrogen-sulphur nutrition and inhibitors of nitrification on the yield and quality of maize grain. **Acta fytotechnica et zootechnica, 19**(2): 45-50

Maynard, D. N., Barker, A. V., Minotti, P. L., Peck, N. H., 1976. Nitrate accumulation in vegetables. *In*: Advances in Agronomy (Vol. 28, pp. 71-118). Elsevier Academic Press.

Munzert M., 1984. Freilandversuche mit Alzon zu Kartoffeln. **VDLUFA-Schriftenr, 11**:231–238

Nandi, M., Macdonald, J., Liu, P., Weselowski, B., Yuan, Z. C., 2018. *Clavibacter michiganensis ssp. michiganensis:* bacterial canker of tomato, molecular interactions and disease management. **Molecular Plant Pathology, 19**(8): 2036-2050.

Oruç Büyükbay, E., Sayılı, M., Uzunöz, M., 2009. Tüketicilerin Sosyoekonomik Özellikleri ile Salça Tüketimleri Arasındaki İlişki: Tokat İli Örneği. **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 4** (1): 1-7.

Quesada-Ocampo, L. M., Landers, N. A., Lebeis, A. C., Fulbright, D. W., Hausbeck, M. K., 2012. Genetic structure of *C. michiganensis subsp. michiganensis* populations in Michigan commercial tomato fields. **Plant Disease, 96**(6): 788-796.

Panakova, Z., Slamka, P., Ložek, O., 2016. Effect of nitrification inhibitors on the content of available nitrogen forms in the soil under maize (*Zea mays* L.) growing. **Journal of Central European Agriculture, 17**(4): 1013-1032.

Pasda, G., Hähndel, R., Zerulla, W., 2001. Effect of fertilizers with the new nitrification inhibitor DMPP (3, 4-dimethylpyrazole phosphate) on yield and quality of agricultural and horticultural crops. **Biology and Fertility of Soils, 34**(2): 85-97.

Peralta, I. E., Spooner D. M., 2007. History, Origin and Early Cultivation of Tomato. *In*: Genetic improvement of Solanaceous Crops.(Eds: M.K. Razdan, A.K. Mattoo), Publishers, Enfield, NH, 1-27.

Poysa, V., 1993. Evaluation of tomato breeding lines resistant to bacterial canker. **Canadian Journal of Plant Pathology 15**(4): 301-304.

Prabhu, A.S., Fageria, N.K., Huber, D.M., Rodriques, F.A., 2007. Potassium and Plant Disease. *In*:. Mineral Nutrition and Plant Disease (Eds: L.E., Datnoff, W.H., Elmer, D.M., Huber,). St. Paul, M.N., pp. 57-78.

Prasad R., Power J. F., 1995. Nitrification inhibitors for agriculture, health and the environment. **Advances in Agronomy, 54**: 233–281

Rat, B., Poissonnier, J., Goisque, M.J. Burgaud, A., 1991. Le point sur lechancre bact erien . **Fruit et Légumes, 86**: 38–40.

Raza, S., Chen, Z., Ahmed, M., Afzal, M. R., Aziz, T., Zhou, J., 2019. Dicyandiamide application improved nitrogen use efficiency and decreased nitrogen losses in wheat-maize crop rotation in Loess Plateau. **Archives of Agronomy and Soil Science, 65**(4): 450-464.

Saygılı, H., Şahin, F., Aysan, Y., Soylu S., Mirik M., 2019. Bitki Bakteri Hastalıkları, Toprak Ofset Matbaacılık, Tekirdağ, 382 .

Scheffer B., Bartels R., 1998. Kann durch Einsatz stabilisierter N-Dünger der Nitrataustrag aus einem Sandboden verringert werden? **VDLUFA-Schriftenr Kongressband 49**:633–636

Sen, Y., Van der Wolf, J., Visser, R. G., van Heusden, S., 2015. Bacterial canker of tomato: current knowledge of detection, management, resistance, and interactions. **Plant Disease, 99**(1): 4-13.

Sherf, A. F., Macnab, A. A., 1986. Vegetable diseases and their control. A Wiley Interscience Publication, New York, 711p.

Silva Júnior, M. B. D., Pozza, E. A., Resende, M. L., Júnior, P. M., Costa, B. H., Carvalho, C. A., Botelho, D. M. D. S., 2018. Foliar fertilizers for the management of phoma leaf spot on coffee seedlings. **Journal of Phytopathology, 166**(10): 686-693.

Soykan Ö. ve Y. Aysan, 2011. Bazı bitki aktivatörleri ile organik ve inorganik gübrelerin domateste bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına etkisi, 317. *Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi*, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş, 496.

Soylu, S., Baysal, Ö. Soylu, E.M., 2003. Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-s-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato seedlings. **Plant Science 165**: 1069-1075.

Spanakakis A, Viedt A., 1990. Performance of winter wheat culti-vars under reduced nitrogen conditions. *In*: Genetic aspects of plant mineral nutrition (Eds: El Bassam N, Dambroth M, Loughman BC). Kluwer Acedemic Publishers, Dordrecht,Boston, London.

Strider, D. L., 1969. Bacterial canker of tomato caused by *Corynebacterium michiganense:* A literature review and bibliography. **N.C. Agric. Exp. Stn. Tech. Bull.**

Sun, Y., Wang, M., Mur, L. A. J., Shen, Q., Guo, S., 2020. Unravelling the Roles of Nitrogen Nutrition in Plant Disease Defences. **International Journal of Molecular Sciences, 21**(2): 572.

Şahan, S., Şahin, U., Başaran, M., Uzun, O., Güneş, A., 2017. Determination of 3, 5–dimethylpyrazolium glyceroborate nitrification inhibitor in nitrogen fertilizer samples: HPLC-DAD method development and validation for 3, 5–dimethylpyrazole. **Journal of Chromatography B, 1068**: 277-281.

Techy de Almeida Garrett, A., Lanssanova, L. R., Bueno de Camargo, M., Nogueira Dias, A., Oliveira Garcia, F. A. D., 2019. The use of nitrogen fertilisation for

suppressing Mycosphaerella in *Eucalyptus dunnii*. **Southern Forests: a Journal of Forest Science, 81**(4): 319-324.

Tireng Karut, Ş., Horuz, S., Aysan, Y., 2019. Domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in tohumda aranması ve tohum uygulamalarının patojen gelişimine etkisinin belirlenmesi. **Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 19**(3): 284-296.

Topçuoğlu B., Yalçın S.R., Tarakçıoğlu C., 1998. Damla sulama sistemiyle amonyum ve nitrat formunda azotla gübrelemenin örtü altında yetiştirilen domates bitkisinin verim ve kalitesi ile bazı bitki besin maddesi içerikleri üzerine etkisi. **Narenciye ve Seracılık Araştırma Enstitüsü Yayını, Derim, 15**(1): 20-29.

Trenkel, M. E., 1997. Controlled-release and stabilized fertilizer in agriculture. *In*: International Fertilizer Industry Association Conference Proceedings. International Fertilizer Industry Association: Paris, 29-40.

Trenkel, M. E., 2010. Slow-and controlled-release and stabilized fertilizers: an option for enhancing nutrient use efficiency in agriculture. IFA, International fertilizer industry association.

Türkmen, Ö., Şensoy, S., Erdal, İ., Kabay, T., 2002. Kalsiyum uygulamalarının tuzlu fide yetiştirme ortamlarında domateste çıkış ve fide gelişimi üzerine etkileri. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 12**(2): 53-57.

Uçar E., 2019. Farklı Nitrifikasyon İnhibitörlü Azotlu Gübrelerin Silajlık Mısırın (Zea mays indentata) Verim ve Kalite Özelliklerine Etkisi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 45s.

Utkhede, R., Koch, C., 2004. Biological treatments to control bacterial canker of greenhouse tomatoes. **Biocontrol, 49**(3): 305-313.

Weiske, A., Benckiser, G., Herbert, T., Ottow, J., 2001. Influence of the nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) in comparison to dicyandiamide (DCD) on nitrous oxide emissions, carbon dioxide fluxes and methane oxidation during 3 years of repeated application in field experiments. **Biology and Fertility of Soils, 34**(2): 109-117.

Werner, N.A., Fulbright, D.W., Podolsky, R., Bell, J. and Hausbeck, M.K., 2002 Limiting populations and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp.

michiganensis on seedling tomatoes in the greenhouse. **Plant Disease 86**(5): 535–542.

Wiesler F (1998) Comparative assessment of efficacy of various nitrogen fertilizers. **Journal of Crop Production, 1**(2): 81–114.

Wittmann, J., Brancato, C., Berendzen, K.W., Dreiseikelmann, B., 2016 Development of a tomato plant resistant to *Clavibacter michiganensis* using the endolysin gene of bacteriophage CMP1 as a transgene. **Plant Pathology, 65**(3): 496–502.

Wollring J., Reusch S., Karlsson C., 1998 Variable nitrogen application based on crop sensing. Fertilizer Society, York, UK, 423, 28 p.

Yang, F., Jensen, J. D., Spliid, N. H., Svensson, B., Jacobsen, S., Jørgensen, L. N., Finnie, C., 2010. Investigation of the effect of nitrogen on severity of *Fusarium* head blight in barley. **Journal of Proteomics, 73**(4): 743-752.

Yang, M., Fang, Y., Sun, D., Shi, Y., 2016. Efficiency of two nitrification inhibitors (dicyandiamide and 3, 4-dimethypyrazole phosphate) on soil nitrogen transformations and plant productivity: a meta-analysis. **Scientific Reports, 6:** 22075.

Yanmaz, R., Duman, İ., Yaralı, F., Demir, K., Sarıkamış, G., Sarı, N., Balkaya, A., Kaymak, H. Ç., Akan, S., Özalp, R., 2015. Sebze Üretiminde Değişimler ve Yeni Arayışlar, 579-605. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası VIII. Teknik Kongresi, 12 Ocak, Ankara, 709.

Yılmaz, E., 2001. The Chemistry of Fresh Tomato Flavor. **Turkish Journal of Agricultural and Forestry, 25**: 149-155.

Yiğenoğolu C. Y., 2015. Spirulina Platensis'in Domateste Bakteriyel Solgunluk Hastalığının Biyolojik Mücadelesinde Kullanım Olanakları. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 66 s.

Yiğenoğlu, C. Y., Işık, O., 2018. *Spirulina platensis*'in domateste bakteriyel solgunluk hastalığının biyolojik mücadelesinde kullanım olanakları. **Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 35**: 5

Zimerman-Lax, N., Shenker, M., Tamir-Ariel, D., Perl-Treves, R., Burdman, S., 2016. Effects of nitrogen nutrition on disease development caused by *Acidovorax citrulli* on melon foliage. **European Journal of Plant Pathology, 145**(1), 125-137.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Aysu Tuğçe GÜL
Uyruğu: Türkiye (T.C)
Doğum Tarihi: 11.08.1994
e-mail: aysutugce44@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Bitki Koruma	
Lisans	Dicle Üniversitesi, Bitki Koruma	2017
Lise	Sezai Karakoç Anadolu Lisesi	2013

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2016	D. bakır Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü	Stajer

YABANCI DİL

İngilizce

PROJELER

2209-A (TUBİTAK-BİDEB) Bazı bitki ekstraktlarının gül yaprakbiti, *Macrosiphum rosae (L.)* (Hemiptera: *Aphididae*)'ya etkisinin belirlenmesi.