ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Sümer HORUZ

KARPUZDA BAKTERİYEL MEYVE LEKESİ HASTALIĞI ETMENİ *Acidovorax citrulli*'NİN TANISI, MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE BAKTERİYEL ANTAGONİSTLERLE BİYOLOJİK MÜCADELESİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA, 2014

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KARPUZDA BAKTERİYEL MEYVE LEKESİ HASTALIĞI ETMENİ *Acidovorax citrulli*'NİN TANISI, MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE BAKTERİYEL ANTAGONİSTLERLE BİYOLOJİK MÜCADELESİ

Sümer HORUZ

DOKTORA TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu Tez 22/12/2014 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/~~Oyçokluğu~~ ile Kabul Edilmiştir.

…….	…….....	……...
Prof. Dr. Yeşim AYSAN	Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN	Prof. Dr. Soner SOYLU
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

…….	……..
Doç. Dr. Mustafa MİRİK	Yrd. Doç. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU
ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: ZF2012D16

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

KARPUZDA BAKTERİYEL MEYVE LEKESİ HASTALIĞI ETMENİ *Acidovorax citrulli*'NİN TANISI, MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE BAKTERİYEL ANTAGONİSTLERLE BİYOLOJİK MÜCADELESİ

Sümer HORUZ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Yıl :2014, Sayfa: 203
Jüri : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN
: Prof. Dr. Soner SOYLU
: Doç. Dr. Mustafa MİRİK
: Yrd. Doç. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU

Acidovorax citrulli'nin neden olduğu bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesi hastalığı karpuzun en önemli sorunlarından biridir. Bu çalışmada 2009-2012 yılları arasında Doğu Akdeniz Bölgesi'ndeki önemli karpuz ve kavun üretim alanlarından izole edilen 108 adet *Acidovorax citrulli* izolatının biyokimyasal ve moleküler testlerle tanısı, izolatlar arası genetik akrabalığı ise AFLP-PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Çalışma sonucunda tipik hastalıklı bitkilerden elde edilen 108 adet izolat biyokimyasal ve moleküler testlere göre *Acidovorax citrulli* olarak tanılanmıştır. Yapılan moleküler analiz sonuçlarına göre ülkemizdeki izolatların iki farklı inokulum kaynağından geldiği belirlenmiştir. Farklı ülkelerden elde edilen izolatlarla ülkemizdeki izolatların aynı kökenli olduğu, hastalığın bu sebepten dolayı tohum ticaretiyle yayılmış olabileceği moleküler yöntemlerle kanıtlanmıştır.

Çalışmada hastalığın biyolojik mücadele olanakları antagonist bakterilerin kullanılmasıyla araştırılmıştır. Bitki ve topraktan elde edilen 322 aday antagonist bakteri izolatı arasından 54 adedi *in vitro* ikili kültür testlerinde patojen gelişimini baskılamıştır. Bu izolatlar içerisinden seçilen 14 antagonist tohum uygulaması olarak uygulandığında hastalık çıkışını % 10-94, hastalık şiddetini ise % 10-96 oranında engellemiştir. Sera koşullarında test edilen üç antagonist (Antg-12, Antg-97 ve Antg-101) hastalık oluşumunu % 20-49, tarla koşullarında ise % 7-27 oranında baskılamıştır. Biyolojik mücadele elemanlarının en iyi uygulama şeklinin yeşil aksam üzerine püskürtme yerine tohuma uygulama şeklinde olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Karpuz, *Acidovorax citrulli,* antagonist, AFLP

ABSTRACT

PhD THESIS

IDENTIFICATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF BACTERIAL FRUIT BLOTCH DISEASE AGENT *Acidovorax citrulli* AND BIOLOGICAL CONTROL OF DISEASE BY ANTAGONISTIC BACTERIA

Sümer HORUZ

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Year :2014, Pages: 203
Jury : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN
: Prof. Dr. Soner SOYLU
: Assoc. Prof. Dr. Mustafa MİRİK
: Asst. Prof. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU

Watermelon seedling blight and fruit blotch disease, caused by *Acidovorax citrulli,* is one of the most significant diseases of watermelon. In this study, 108 bacterial isolates were collected between 2009 to 2012 years in major watermelon and melon producing areas in the Eastern Mediterranean Region and identified by biochemical and molecular methods. Genetic relations between isolates were determined by using AFLP-PCR method. 108 bacterial isolates obtained from diseased plants were identified as *Acidovorax citrulli* according to biochemical and molecular tests. Molecular analyses of bacterial isolates revealed that Turkish isolates come from two different inoculum sources, thus it's likely that the inoculum sources might have been spreaded through seed trading.

In this study, biological control of the disease was also investigated by using antagonistic bacteria. Among the 322 putative bacterial isolates, 54 antagonistic bacteria were suppressed the disease agent i*n vitro* dual culture tests. 14 antagonist bacterial isolates were chosen and applied as seed treatments. Three isolates suppressed disease incidence by 10-94% and disease severity by 10-96% *in vivo* conditions. Three bacterial isolates were further tested in greenhouse and field conditions. Antagonist bacterial isolates (Antg-12, Antg-97 ve Antg-101) were suppressed disease development by 20-49 % in greenhouse conditions, by 7-27% in field conditions. We recommend that biological control agents should be applied as seed treatment rather than foliar spraying for biological control of the disease.

Key words: Watermelon, *Acidovorax citrulli,* antagonist, AFLP

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımda beni yönlendiren, doktora tez konusu olarak 'Karpuzlarda bakteriyel meyve lekesi hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli*'nin tanısı, izolatlar arası genetik akrabalığı ve biyolojik mücadelesinde antagonistlerin rolü' konulu araştırma konusunu veren, bilgisi, sabrı ve yönlendirici fikirleriyle her zaman yol gösteren danışman hocam sayın Prof. Dr. Yeşim AYSAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Bana tezimde yol gösteren ve çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen, fikirleriyle katkıda bulunan Tez İzleme Komitesi üyeleri Sayın Doç Dr. Mustafa MİRİK ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU'na çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında bilgisini esirgemeyen, fikirleriyle yönlendiren ve her konuda yardımcı olan Sayın hocam Prof. Dr. Hikmet SAYGILI'ya içten teşekkürlerimi sunarım.

Doktora süresince bölüm olanaklarından faydalanmamı sağlayan Bitki Koruma Bölüm Başkanlığı'na ve tüm hocalarıma, maddi destek sağlayan TÜBİTAK Başkanlığı'na (Proje No: 113O829) ve Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No:ZF2012D16) teşekkür ederim.

Doktora çalışmamda laboratuvar olanaklarını sunan Hollanda'da bulunan Naktuinbouw kurumuna ve burada danışmanlığımı yürüten Sayın Dr. Harrie Koenraadt ve Sayın Dr. Hedwich Tenuissen'e yapıcı ve bilgilendirici katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarım süresince laboratuvarda ve tarla çalışmalarında yardım eden lisans öğrencilerime, Dr. Raziye ÇETİNKAYA-YILDIZ'a, Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR'a ve Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Karpuz tohumlarının temini konusunda yardımcı olan Dr. Hatice SELÇUK'a ve fide temini için ise Atlas Fide'ye teşekkür ederim.

Sadece tez süresince değil hayatımın her anında desteklerini esirgemeyen ve daima yanımda olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR III
İÇİNDEKİLER ..... ….IV
ÇİZELGELER DİZİNİ VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ X
1.GİRİŞ 1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 19
2.1. *Acidovorax citrulli*'nin izolasyonu ve tanısıyla ilgili çalışmalar 20
2.2. Etmenin genetik akrabalığının belirlenmesi çalışmaları 28
2.3. Hastalığın biyolojik mücadelesiyle ilgili çalışmalar 30
3. MATERYAL VE METOD 35
3.1. Materyal 35
3.2. Metod 37
3.2.1. Hastalık belirtisi gösteren karpuz ve kavun bitkilerinin toplanması 37
3.2.2. Karpuz ve kavun bitkilerinden bakteriyel etmenin izolasyonu 38
3.2.3. Elde edilen izolatların klasik testlerle tanısı 39
3.2.4. Elde edilen izolatların serolojik test ile tanısı 43
3.2.5. Elde edilen izolatların moleküler testlerle tanısı 45
3.2.6. İzolatlar arası genetik akrabalığın belirlenmesi 48
3.2.7. Karpuz fide yanıklığı ve meyve lekesi hastalığının biyolojik mücadelesine yönelik çalışmalar 60
3.2.7.1. Çiçek, yaprak ve topraktan aday antagonist izolasyonu 61
3.2.7.2. Bakteriyel antagonistlerin *in vitro*'da antagonistik etkilerinin belirlenmesi 62
3.2.7.3. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalığına etkisi 64
3.2.7.4. Antagonistlerin cam sera koşullarında yeşil aksam uygulaması olarak karpuz bakteriyel meyve lekesi

hastalığına etkisi 67
3.2.7.5. Cam sera koşullarında farklı antagonist uygulamalarının karpuz meyve verimi üzerine etkisi 71
3.2.7.6. Tarla koşullarında farklı antagonistlerin yeşil aksam uygulaması olarak karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi..... 71
3.2.7.7. Tarla koşullarında antagonist uygulamalarının karpuz meyve verimi üzerine etkisi 73
4. BULGULAR 75
4.1. Hastalık belirtisi gösteren karpuz ve kavun bitkilerinin toplanması 75
4.2. Karpuz ve kavun bitkilerinden bakteriyel etmenin izolasyonu 80
4.3. Elde edilen izolatların klasik testlerle tanısı 86
4.4. Elde edilen izolatların serolojik test ile tanısı 88
4.5. Elde edilen izolatların moleküler testlerle tanısı 91
4.6. İzolatlar arası genetik akrabalığın belirlenmesi..... 92
4.7. Karpuz fide yanıklığı ve meyve lekesi hastalığının biyolojik mücadelesine yönelik çalışmalar..... 102
4.7.1. Çiçek, yaprak ve topraktan aday antagonist izolasyonu..... 102
4.7.2. Bakteriyel antagonistlerin i*n vitro*'da antagonistik etkilerinin belirlenmesi 114
4.7.3. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalığına etkisi 120
4.7.3.1. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalık çıkışına etkisi..... 121
4.7.3.2. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddetine etkisi..... 129
4.7.4. Antagonistlerin cam sera koşullarında yeşil aksam uygulaması olarak karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi..... 133
4.7.4.1. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalık çıkışına etkisi..... 134
4.7.4.2. Antagonist uygulamalarının cam sera koşullarında karpuz

meyve verimi üzerine etkisi 139
4.7.5. Tarla koşullarında antagonistlerin yeşil aksam uygulaması olarak karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi..... 140
4.7.6. Tarla koşullarında farklı antagonist uygulamalarının karpuz meyve verimi üzerine etkisi 146
5. TARTIŞMA 149
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 157
KAYNAKLAR 161
ÖZGEÇMİŞ 177
EKLER..... 179

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 1.1. Dünyada karpuz üretimi yapan ülkeler, üretim miktarları ve oranları 3

Çizelge 1.2. Bölgelere göre Türkiye'de karpuz üretim miktarı ve üretim oranı 3

Çizelge 1.3. Türkiye'de illere göre karpuz üretim miktarı 4

Çizelge 1.4. Karpuzda görülen önemli fungal hastalıklar 6

Çizelge 3.1. ELISA testinde kullanılan *Acidovorax citrulli* izolatları 43

Çizelge 3.2. AFLP PCR testinde kullanılan izolatlar 49

Çizelge 4.1. Toplanan hasta karpuz ve kavun bitkileri hakkında bilgiler 69

Çizelge 4.2. Elde edilen toplam *Acidovorax citrulli* izolatları 71

Çizelge 4.3. *Acidovorax citrulli* re-izolatlarının klasik testlerle tanı sonuçları 88

Çizelge 4.4. Re-izolatların DAS-ELISA absorbans değerleri 89

Çizelge 4.5. ELISA testinde farklı sürelerde kaydedilen absorbans değerleri 90

Çizelge 4.6. İki inokulum kaynağında yer alan *Acidovorax citrulli* izolatları ve benzerlik gösterdikleri ülkeler 98

Çizelge 4.7. Çiçek, yaprak ve topraktan izole edilen aday antagonistler ve özellikleri 103

Çizelge 4.8. Adana, Osmaniye ve Hatay illerinden elde edilen aday antagonist izolat sayısı 114

Çizelge 4.9. Antagonistlerin *in vitro* koşullarda patojen ($1.44x10^6$ hücre/ml) gelişimini engelleme oranları 115

Çizelge 4.10. .Farklı popülasyon yoğunluğundaki *Acidovorax citrulli*'nin gelişimini *in vitro*'da engelleyen antagonistlerin sayısı 117

Çizelge 4.11. .Farklı popülasyon yoğunluğundaki *Acidovorax citrulli*'yi baskılayan antagonistler 118

Çizelge 4.12. Biyolojik mücadele çalışmaları için seçilen 14 adet antagonist bakteri ve özellikleri 120

Çizelge 4.13. Farklı antagonistlerin bakteriyel fide yanıklığı hastalık çıkışına etkisi (Birinci deneme) 123

Çizelge 4.14. Farklı antagonistlerin bakteriyel fide yanıklığı hastalık çıkışına etkisi (İkinci deneme) 126
Çizelge 4.15. Tohum uygulaması olarak farklı antagonistlerin karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalık çıkışına etkisi (Birinci ve İkinci deneme) 127
Çizelge 4.16. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddetine etkisi (Birinci deneme) 130
Çizelge 4.17. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddetine etkisi (İkinci deneme) 132
Çizelge 4.18. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddetine etkisi (Birinci ve İkinci deneme) 133
Çizelge 4.19. Cam sera koşullarında antagonistlerin yeşil aksam uygulaması olarak karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi (Birinci Deneme) 136
Çizelge 4.20. Cam sera koşullarında antagonistlerin yeşil aksam uygulaması olarak karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi (İkinci Deneme) 138
Çizelge 4.21. Cam sera koşullarında antagonistlerin karpuz meyve verimine etkisi (Birinci deneme) 140
Çizelge 4.22. Tarla koşullarında antagonistlerin yeşil aksam uygulaması olarak karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi (Birinci deneme) 142
Çizelge 4.23. Tarla koşullarında antagonistlerin yeşil aksam uygulaması olarak karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi (İkinci deneme) 145
Çizelge 4.24. Antagonist uygulamalarının tarla koşullarında karpuz meyve verimine etkisi (Birinci Deneme) 147
Çizelge 4.25. Antagonist uygulamalarının tarla koşullarında karpuz meyve verimine etkisi (İkinci Deneme) 147

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 3.1. Tohum denemelerinde kullanılan 0-7 skalası 66
Şekil 3.2. Yeşil aksam denemelerinde kullanılan 0-9 skalası 70
Şekil 4.1. Karpuz yapraklarında yağ emmiş görünümde ve düzensiz kahverengi lekeler 76
Şekil 4.2. Meyve kabuğunda su emmiş zeytin yeşili renk ve kabukta çatlamalar 77
Şekil 4.3. Karpuz meyvesinde çatlaklardan dışarı çıkan beyaz köpükler 77
Şekil 4.4. Kavun yapraklarında kızılımsı kahverengi lekeler ve meyvelerde içe çökük, kahverengi lekeler ve çatlamalar 78
Şekil 4.5. Kotiledon yaprakların arka tarafında su emmiş lekeler ve gerçek yapraklarda kahverengi yanıklıkların olduğu fideler 78
Şekil 4.6. Patojenite testinde karpuz meyvelerinde köpürme ve kavun meyvelerinde kahverengileşme ve enjeksiyon yerinden köpük çıkışı 87
Şekil 4.7. Genel besi yeri King B (solda), yarı seçici besi yeri olan P-278 ve mEBB besi yerlerinde koloni gelişimi 88
Şekil 4.8. PCR ürünlerinin % 1.5 agaroz jelde oluşturduğu bantlar 91
Şekil 4.9. Taqman Real-Time PCR testine göre re-izolatların oluşturduğu amplifikasyonlar 92
Şekil 4.10. AFLP-PCR testine göre *Acidovorax citrulli* izolatlarının genetik farklılıkları 100
Şekil 4.11. AFLP-PCR testine göre Türkiye'den elde edilen 55 adet *Acidovorax citrulli* izolatlarının genetik farklılıkları 101
Şekil 4.12. Petride Antg-12 kodlu antagonistin oluşturduğu engelleme zonu, Antg-101 kodlu antagonistin oluşturduğu inhibisyon zonu 115
Şekil 4.13. Pozitif kontrolde kotiledonlarda su emmiş lekeler ve yanıklık 128
Şekil 4.14. Antg-12 uygulanmış tohumlardan gelişen fidelerden görünüm 128

Şekil 4.15. Farklı antagonistlerin yeşil aksamda karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı gelişimine haftalık olarak etkisi (Birinci Cam Sera Denemesi) 137
Şekil 4.16. Farklı antagonistlerin yeşil aksamda karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı gelişimine haftalık olarak etkisi (İkinci Cam Sera Denemesi) 139
Şekil 4.17. Antagonistlerin yeşil aksamda karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı gelişimine haftalık olarak etkisi (Birinci Tarla Denemesi) .. 143
Şekil 4.18. İlk değerlendirmede pozitif kontrol bitkilerinde yapraklarda hastalık gelişimi (solda), Antg-12 uygulanmış bitkilerde hastalık gelişimi..... 143
Şekil 4.19. Antagonistlerin yeşil aksamda karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı gelişimine haftalık olarak etkisi (İkinci Tarla Denemesi) ... 144

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
DAS-ELISA	: Double Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
DNA	: Deoksiribonükleik asit
g-DNA	: Genomik DNA
g	: Gram
HR	: Aşırı duyarlılık reaksiyonu
KOH	: Potasyum hidroksit
NaCI	: Sodyum klorür
NBRIP	: National Botanical Research Institute's phosphate growth medium
ºC	: Santigrat derece
PCR	: Polymerase chain reaction
YDCA	: Yeast extract kalsiyum karbonat agar
AFLP	: Amplified Fragment Length Polimorfizm
NYDA	: Nutrient yeast dekstroz agar
mEBB	: Modifiye edilmiş ethanol bromcresol purple brilliant blue
NaOCI	: Sodyum hipoklorit
Antg	: Antagonist

1. GİRİŞ

Karpuz [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum ve Nakai], *Plantae* alemi, *Magnoliophyta* (kapalı tohumlular) bölümü, *Magnoliopsida* (iki çenekliler) sınıfı, *Cucurbitales* takımı, *Cucurbitaceae* familyası, *Citrullus* cinsine dahil olan tek yıllık bir bitkidir.

Afrika, Asya ve Akdeniz'in sıcak bölgelerinde yetişen ve *Cucurbitaceae* familyasına giren *Citrullus* cinsi 4 tür olup, bu türler diploid (2n=22) kromozom sayısına sahiptirler (Whitaker ve Davis, 1962; Jeffrey, 1975; Robinson ve Decker-Walters, 1997). Adı geçen türlerden *C. lanatus* günümüzde ticari olarak yetiştiriciliği yapılan ve karpuz olarak tüketilen türüdür. Diğer türler ise, *C. colocynthis* (L.) Schrad., *C. eccirrhosus* Cogn.ve *C. rehmii* De Winter'dir (Robinson ve Deckers-Walters, 1997). *C. lanatus* ve *C. rehmii* tek yıllık türler iken, *C. colocynthis* ve *C. eccirrhosus* çok yıllık türlerdir (Jarret ve Newman, 2000). "Acı elma" ve "acı kabak" olarak bilinen *C. colocynthis*, Kuzey ve Batı Afrika'ya özgü, kuraklığa dayanıklı, çok yıllık yabani bir tür olup, Güneybatı Asya ve Akdeniz'in kumsal bölgelerinde de yetişmektedir (Zamir ve ark., 1984; Burkill, 1985; Jarret ve ark., 1997; Robinson ve Decker-Walters, 1997). Çok yıllık *C. ecirrhosus* ve tek yıllık *C. rehmii* Namibya çöllerinde yetişen endemik türlerdir (Levi ve ark., 2005; Dane ve Liu, 2007). Tüm *Citrullus* türlerinin gen merkezi Afrika'dır (Robinson ve Deckers-Walters, 1997). Whitaker ve Davis (1962), Hindistan'ın ikincil bir gen merkezi olduğunu savunmuşlardır.

Karpuz tarımının Orta Doğu ve Afrika'da uzun bir geçmişi olmasının yanında, 4000 yıldan beri Mısır'da oldukça önemli bir sebzedir. 10. yüzyılda Çin ve Rusya'da yetiştirilmeye başlanan karpuz, 16. yüzyılda ise İspanyollar sayesinde Amerika'ya taşınmış ve yerli Amerikalılar arasında popüler hale gelmiştir (Robinson ve Deckers-Walters, 1997).

Solmaz (2010)'un bildirdiğine göre, tüm dünyada yetiştiriciliği yapılan karpuzlar, *Citrullus lanatus* var. *lanatus* alt türüne aittir. Karpuz daha çok tatlı olan meyveleri nedeniyle yetiştirilmektedir. Ülkemizde karpuz yaz aylarının sembolüdür ve

taze meyve olarak tüketilir. Ayrıca karpuz meyve salatalarında, meyve suyunda, reçel, sakız ve şekerleme yapımında da kullanılmaktadır. İri olan tohumları çerezlik, kabukları ise hayvan yemi olarak tüketilmektedir.

Çoğu monoik (erkek ve dişi organın aynı bitki üzerinde, fakat farklı çiçeklerde bulunması) özellikte iken, çok azı andromonoik (çift eşeyli) özellik göstermektedir. Meyveler yuvarlak ya da silindirik olabilirken; 1.4 kg' dan 45 kg'a kadar değişen ağırlıklarda olabilmektedir. Kabuk rengi beyaz, sarı ya da yeşil, sert, çizgili ve alacalıdır. Kabuk kalın ya da ince olabilirken, kolay kırılabilir ve esnek yapıdadır. Kabuk altı etli kısım meyve olgunlaştıkça beyaz, sarı, turuncu, pembe ya da kırmızı renk almaktadır. Meyve eti ince ya da daha kalın yapılı, ipliksi şekilde lifleri vardır. Meyve eti içerisinde genellikle beyaz, koyu kahverengi ya da siyah renkte olabilen tohum bulunur. Asya'da bu tohumlar öğütülerek tüketilmektedir. Tohumsuz karpuz çeşitleri de bulunmaktadır ve zaman içinde üretim miktarları giderek artış göstermiştir (McCreight, 1996).

Karpuz meyvelerinde yağ yoktur ve sodyum içeriği de azdır. Kırmızı renkte meyve eti olan karpuzlarda domatesten % 60'tan fazla oranda likopen bulunmaktadır. Likopen insan beslenmesinde özellikle kalp krizi riski ve kanser mücadelesinde önemli bir maddedir (Guner ve Wehner, 2004). Meyvelerin % 95'inde su bulunur. Meyveler A vitamini açısından zengindir. Kabakgillerde kök, gövde, meyve ya da yapraklarda üretilen cucurbitacin meyveye acı tat verir ve oldukça toksik bir maddedir. Tüketilen karpuz meyvelerinde bu toksin çok düşük oranlarda bulunurken, yabani kabakgil türlerinde yüksek oranlarda bulunur (McCreight, 1996).

Dünyadaki karpuz üretim miktarları bakımından FAO'nun 2012 verileri incelendiğinde, Çizelge 1.1'de görüldüğü gibi, dünyada 3.47 milyon hektarlık geniş bir alanda 105.4 milyon ton üretim hacmiyle domatesten sonra en fazla üretilen ikinci sebze türü karpuzdur. Dünyadaki önemli karpuz üreticisi ülkelerden Çin, 70 milyon ton üretimle birinci sırada yer alırken, Türkiye 165 000 hektarlık alanda 4 milyon ton üretimle ikinci sırada yer almaktadır. Çin dünya üretiminin % 66.4 gibi büyük bir oranını gerçekleştirmekte iken, ülkemiz bu üretimin yalnızca % 3.8'lik kısmını karşılamaktadır. İran ile Türkiye arasında yıllara göre üretim miktarları değişmekte olup,

İran dünya üretiminin % 3.6'sını gerçekleştirmektedir. Dünyada karpuz üretiminde önemli diğer ülkeler, 2.1 milyon ton ile Brezilya dördüncü ve 1.9 milyon ton üretimle Mısır beşinci sırada yer almaktadır (Anonymous, 2014a).

Çizelge 1.1. Dünyada karpuz üretimi yapan ülkeler, üretim miktarları (ton) ve oranları (%), (FAO, 2012)

Sıra	**Ülkeler**	**Üretim Miktarı (Ton)**	**Üretim Oranları (%)**
1	Çin	70.000.000	66.4
2	**Türkiye**	4.044.184	3.8
3	İran	3.800.000	3.6
4	Brezilya	2.079.547	2.0
5	Mısır	1.874.710	1.8
	Dünyada toplam üretim	105.372.341	

Çizelge 1.2'ye göre 2013 yılında TÜİK verilerine göre yaklaşık olarak 3.89 milyon ton karpuz üretimi gerçekleştirilmiştir. Ülkemizde karpuz üretimi yaklaşık 1.38 milyon ton üretimle en fazla Akdeniz Bölgesi'nde gerçekleştirilmiştir. Genel üretimin % 35.5'i bu bölgeden karşılanmıştır. Akdeniz Bölgesi'ni % 18 üretim payıyla Güneydoğu Anadolu, % 16 ile Ege ve % 14 ile Marmara Bölgesi takip etmiştir.

Çizelge 1.2. Bölgelere göre Türkiye'de karpuz üretim miktarı (ton) ve üretim oranı (%) (TÜİK, 2013)

Bölgeler	**Üretim Miktarı (ton)**	**Üretim Oranı (%)**
Akdeniz	1.379.571	35.5
Güneydoğu Anadolu	684.719	17.6
Ege	615.161	15.8
Marmara	531.680	13.7
Diğer	676.193	17.4

Çizelge 1.3'te Türkiye'de TÜİK'in 2013 yılı verilerine göre karpuz üretiminin en fazla gerçekleştirildiği 10 ilimiz ve üretim miktarları sıralanmıştır. Ülkemizde karpuz üretimi en fazla Adana, Antalya, İzmir, Diyarbakır, Şanlıurfa, Manisa, Mersin, Mardin,

Bursa ve Balıkesir illerinde gerçekleştirilmiştir. Ülkemizde karpuz üretiminin % 20'si Adana il ve ilçelerinde yapılmaktadır (Anonymous, 2014b).

Çizelge 1.3. Türkiye'de illere göre karpuz üretim miktarı (ton) (TUİK, 2013)

Sıra	**İller**	**Üretim miktarı (ton)**
1	Adana	775.219
2	Antalya	365.841
3	İzmir	199.598
4	Diyarbakır	196.190
5	Şanlıurfa	134.208
6	Manisa	124.265
7	Mersin	122.310
8	Mardin	113.624
9	Bursa	111.037
10	Balıkesir	108.278
	Toplam Üretim	3.887.324

Dünyada karpuz yetiştiriciliği sıcak ve ılıman iklime sahip çok sayıda ülkede yaygın olarak yapılmaktadır. Soğuklardan çok etkilenen karpuzun yetişme devresinde don tehlikesi olmamalıdır. Oldukça uzun ve sıcak bir gelişme devresine ihtiyacı vardır. Tohum ekiminde toprak sıcaklığı 12°C'nin üzerinde olmalıdır. Nem oranı fazla olan topraklarda hastalıklar görülebilmektedir. Karpuz yetiştirmek için en elverişli topraklar akarsu kenarlarındaki milli topraklarla derin, geçirgen, su tutma kapasitesi düşük, kumlu-tınlı veya tınlı-kumlu topraklar seçilmelidir. Karpuz pek çok kültür bitkisine göre aside karşı dayanıklıdır. En elverişli toprak pH'sı 5.0-6.5 olan topraklarda iyi yetişmektedir. Drenajın yetersiz olduğu ve taban suyu seviyesinin 1 metrenin altında bulunduğu yerlerde başarılı bir yetiştiricilik sağlanamaz (Anonymous, 2012).

Ülkemizde erkencilik sağlaması amacıyla karpuz örtü altında alçak tünellerde yetiştirilmekte ve ilk hasat Mersin ili Tarsus ilçesi Kulak Köyü'nde Mayıs ayı başlarında yapılmaktadır. Ardından Adana ili Karataş ilçesi Tuzla Beldesi'nde kumlu topraklarda yetiştirilen karpuzlar hasada gelmektedir. Erken dönem hasadından sonra Adana'nın çeşitli ilçelerinden (Merkez, Ceyhan, Karataş, Yumurtalık) ve Osmaniye ili Kadirli

ilçesinde yetiştirilen karpuzlar hasat edilmektedir. Bölgemizde en geç hasada gelen karpuzlar Adana'nın Karaisalı ilçesinde üretilmektedir.

Ülkemizde üretilen karpuzun büyük çoğunluğu iç piyasada tüketilmektedir. FAO'nun 2011 verilerine göre üretimin % 10'u olan 37.251 ton gibi çok az bir kısmı yurt dışına ihraç edilmiştir. Türkiye ise yurt dışından 17.565 ton karpuz ithal etmiştir. İthalat daha iç piyasada karpuzun hasada henüz gelmediği nisan ayı ve mayıs başlarında gerçekleşmektedir.

Dünyada ve özellikle bölgemizde geniş bir yetiştiricilik alanına sahip olan karpuz, vejetasyon periyodu boyunca pek çok hastalık, zararlı ve yabancı ottan etkilenmektedir. Bu durum karpuzun kalite ve kantitesini etkileyerek ekonomik anlamda öneminin azalmasına, pazar değerinin düşmesine, yetiştiriciliğinin de kısıtlanmasına yol açabilmektedir.

Çizelge 1.4'te karpuzda görülen önemli fungal hastalıklar sıralanmıştır. Geleneksel karpuz üretiminde karpuz üretimini kısıtlayan en önemli fungal hastalık *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*'un neden olduğu Fusarium solgunluğudur. Hastalık etmeni toprak kökenlidir. Bu hastalıkla mücadelede en etkili yöntem aynı alana 4-5 yıl kabakgil ürünlerinden hiçbirini yetiştirmeyerek ürün münavebesi yapmaktır (Martyn, 1996). Son yıllarda bu hastalığa dayanıklı yabani kabak türlerinin varlığı saptanmıştır. Dayanıklı anaçlar üzerine karpuz çeşitleri aşılanarak hastalıkla mücadele sağlanmakta ve aynı tarlada her yıl karpuz tarımı yapılabilmektedir. Aşılı fide üretimi ilk kez 1920'li yılların sonuna doğru Japonya ve Kore'de denenmiş olup, günümüzde Japonya, Kore ve diğer Asya ile Avrupa ülkelerinde uygulanmaktadır. Aşılı fide üretimi ilk domateste başlamış, daha sonra karpuz ve diğer sebzelerde kullanılmaya başlanmıştır (Oda, 1995). Kabak anacı üzerine aşılı karpuz fidesi kullanımı bitkinin Fusarium solgunluğuna dayanımını arttırmasının yanı sıra, bitkinin tuza, düşük ve yüksek sıcaklıklara karşı dayanımını arttırmakta, topraktan makro ve mikro besin elementi (özellikle demir) alınımını arttırarak verim artışına yol açmaktadır (Yetişir, 2001). Aşılı karpuzlarda kök sistemi güçlenmekte, topraktan su ve besin maddelerinin kolay alınımı sağlanmaktadır (RunQiu ve ark., 2003).

Çizelge 1.4. Karpuzda görülen önemli fungal hastalıklar

HASTALIK ADI	ETMEN
1-Fusarium solgunluğu	*Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*
2-Kök boğazı yanıklığı	*Phytophthora capsici*
3-Solgunluk ve kök çürüklüğü	*Fusarium spp. Pythium spp., Rhizoctonia spp.*
4-Alternaria yaprak yanıklığı	*Alternaria cucumerina*
5-Yalancı mildiyö	*Pseudoperonospora cubensis*
6-Külleme	*Erysiphe cichoracearum, Sphaerotheca fuliginea*
7-Antraknoz	*Colletotrichum lagenarium, Cladosporium cucumerinum*
8-Siyah çürüklük	*Didymella bryoniae*
9-Cercospora yaprak lekesi	*Cercospora citrullina*
10-Myrothecium yaprak lekesi	*Myrothecium roridum*
11-Beyaz çürüklük	*Sclerotinia sclerotiorum*
12-Kurşuni küf	*Botrytis cinerea*
13-Diplodia sap dibi çürüklüğü	*Lasiodiplodia theobromae*

Karpuz üretimini tehdit eden önemli viral hastalıklar papaya ringspot virus (PRSV), watermelon mosaic virus II (WMV-1), cucumber mosaic virus (CMV), zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) ve squash mosaic virus (SMV)'tür.

Fungal ve viral hastalıkların dışında karpuzda en önemli bakteriyel hastalıklar olarak *Erwinia tracheiphila*'nın neden olduğu bakteriyel solgunluk, *Pectobacterium* spp.'un neden olduğu yumuşak çürüklük, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'ın neden olduğu köşeli yaprak lekesi, *Pseudomonas viridiflava*'nın neden olduğu bakteriyel leke ve yanıklık, *Pseudomonas aptata*'nın neden olduğu bakteriyel yanıklık, *Xanthomonas cucurbitae*'nin neden olduğu kabak bakteriyel yaprak lekesi ve *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesi hastalıkları önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Zitter ve ark., 1996).

Bu hastalıklar içerisinde, karpuzun ekonomik anlamda en önemli hastalığı *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesi hastalığıdır. *A. citrulli* Acidovorax genusu içerisinde bulunan en önemli patojendir. Etmen Mullin ve Schenck (1963) tarafından Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nin

Florida eyaletinin güneyinde karpuz tarlalarında yaprak lekesine neden olan bakteri olarak ilk kez bildirilmiştir. Bakterinin yapay inokulasyonla kabak, hıyar, domates, patates, bezelye, fasulye ve pancar bitkilerinde hastalık oluşturduğu saptanmıştır. Araştırıcılar, bakteriyi tanılama çalışmalarının devam ettiğini de bildirmişlerdir. Bunu takiben, yine ABD'nin Georgia eyaletinde Türkiye'den ithal edilen introdüksiyon materyaline ait iki farklı tohum partisinin (174103 ve 174104) fidelerinde yaprak lekesine yol açan bakteriyel etmen Webb ve Goth (1965) tarafından rapor edilmiştir. Araştırıcılar patates dekstroz agar (PDA) ve beef extract agar besiyerlerinde beyaz koloni oluşturan bakteriyi izole etmişler, hastalığın tohum kökenli olabileceğini ve tohumda 7 yıla kadar yaşayabileceğini bildirmişler, fakat etmeni tür düzeyinde tanılayamamışlardır. Ardından ABD'nin Florida eyaletinde bir araştırma çiftliğinde yetiştirilen karpuzlarda meyve lekesi belirtileri saptanmıştır (Crall ve Schenck, 1969). Walcott (2008)'in bildirdiğine göre benzer meyve lekeleri Avustralya'nın Queensland bölgesinde Vock (1978) tarafından rapor edilmiş ve bakteri bir *Pseudomonas* sp. olarak tanılanmıştır. Schaad ve ark., (1978) Georgia eyaletinden elde edilen bakterileri tür düzeyinde tanılamış ve patojen ilk kez *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. c*itrulli* olarak isimlendirilmiştir. Ayrıca Schaad ve ark., (1978), Webb ve Goth (1965) tarafından tür düzeyinde tanılanamayan etmenin izole ettikleri etmenle benzer olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca patojenin tohumda yaşadığı ve tohumla taşındığı da Sowell ve Schaad (1979) tarafından kanıtlanmıştır. *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu bakteriyel meyve lekesi hastalığı ilk kez 1987 yılında Büyük Okyanusun batısında, Filipinler'in doğusunda yer alan ABD'ye bağlı bir adalar ülkesi olan Mariana Adaları'nın Guam ve Tinian bölgelerinde karpuz üretim tarlalarında büyük bir epidemi yapmıştır (Wall ve Santos, 1988). Meyvelerde çürümelerin yoğun olduğu belirlenmiş ve hastalıklı meyvelerden izole edilen bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. c*itrulli* olarak tanılanmıştır (Wall ve ark., 1990). Bu durum karpuz bakteriyel fide yanıklığı ile meyve lekesi hastalığına aynı patojenin neden olduğunu da ilk kez ortaya koymuştur (Wall ve Santos, 1988; Wall, 1989). Daha sonra etmenin adı *Pseudomonas avenae* subsp. *citrulli* (Schaad ve ark., 1978; Hu ve ark., 1991; Somodi ve ark., 1991)

olarak değiştirilmiştir (Willems ve ark., 1992). Nükleik asit hibridizasyonu, tüm hücre proteini analizleri ve karbon kaynaklarının kullanımı profillerinin ortaya konmasından sonra etmen, *A. avenae* subsp. *citrulli* olarak Willems ve ark., (1992) tarafından yeniden isimlendirilmiş, son taksonomide Schaad ve ark., (2009) etmenin adını *Acidovorax citrulli* olarak değiştirmişlerdir.

Acidovorax citrulli, gram negatif özellikte, çubuk şeklinde, 0.5×1.7 µm boyutunda, çoğunlukla tek, nadiren iki veya üç kamçılı, hareketli flagelluma sahiptir. Etmen aerobik, 41ºC'de gelişim gösteren, fakat 4ºC'de gelişmeyen bir bakteridir. King B besi yerinde 48 saat sonra yuvarlak, pürüzsüz, krem renkte, floresan olmayan özellikte koloniler oluşturur. Etmen, oksidaz pozitif, arginin dehidrolaz testi negatif, tütün yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonu gösteren özellikte bir bitki patojeni bakteridir (Schaad ve ark., 1978; Lelliot ve Stead, 1987; Schaad ve ark., 2001; Walcott, 2005).

Mariana Adalarındaki ilk epidemiden 20 yıl sonra ABD'nin Florida (Hopkins, 1989; Somodi ve ark., 1991), Indiana (Latin ve Rane, 1990) ve Güney Karolina (Somodi ve ark., 1991) eyaletlerinde de şiddetli epidemiler olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca ABD'de Delaware (Evans ve Mulrooney, 1991), Oklahoma (Jacobs ve ark., 1992), Teksas (Black ve ark., 1994)'ta da epidemiler ortaya çıkmış ve EPPO'nun da verilerine göre bu hastalığın ABD'nin orta, kuzey ve güneyinde 17 eyalette (Alabama, Arkansas, Kaliforniya, Delaware, Florida, Georgia, Güney Carolina, Iowa, Illinois, Indiana, Kuzey Carolina, Maryland, Mississippi, Missouri, Oklahama, Oregon, Teksas) varlığı bilinmektedir (Latin ve Rane, 1990; Latin ve Hopkins, 1995; Hamm ve Spink, 1997; Langston ve ark., 1999; Babadoost ve Pataky, 2002; Kumagai ve ark., 2014). Ayrıca, bu hastalık Brezilya (Assis ve ark., 1999), Japonya (Takashi ve ark., 2000), Avustralya (Martin ve Horlock, 2002), Kosta Rika (Munoz ve Monterroso, 2002), Nikaragua (Munoz ve Manterroso, 2002), İsrail (Burdman ve ark., 2004), Tayland (Walcott ve ark., 2004), Çin Halk Cumhuriyeti (Ren ve ark., 2006), Kore (Seo ve ark., 2006), İran (Harighi, 2007), Tayvan (Tzeng ve Hsu, 2007), Macaristan (Palkovics ve ark., 2008), Nijerya (Amadi ve ark., 2009) ve Yunanistan (Holeva ve ark., 2009)'da varlığı rapor

edilmiştir. İtalya bu hastalığın sınırlı yerde var olduğunu ve bu alanların karantinaya alınarak temizlendiğini bildirmiştir (Anonymus, 2014c).

Ülkemizde ise hastalık ilk defa 1996 yılında Edirne ilinin Enez ilçesinde ortaya çıkmış ve üretim alanı yakılarak yok edilmiştir (Demir, 1996). 2005 yılında ise Mirik ve ark., (2006) tarafından Doğu Akdeniz Bölgesinde karpuz üretim alanlarında tespit edilmiştir. Çukurova Bölgesi'nde 2009 ve 2010 yıllarında Adana (Karataş, Yüreğir ve Merkez ilçeler) ile Osmaniye (Kadirli ilçesi) illerine bağlı köylerde büyük epidemiler yaşanmıştır. Epidemi oluşan alanlardan Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü ve Biyolojik Mücadele Araştırma İstasyonu'na getirilen hasta meyve örneklerinden bakteriyel etmen izole edilmiş ve bu hastalığa neden olan bakterinin *Acidovorax citrulli* olduğu belirlenmiştir. Adana İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü tarafından hastalıkla bulaşık alanlarda surveyler gerçekleştirilmiştir. Yapılan tespit çalışmalarında Adana ve Osmaniye illerine bağlı karpuz üretim alanlarında 4763 dekarlık alan bakanlık tarafından karantinaya alınarak derin sürüm yaptırılmış ve bu alanlarda dört yıl boyunca kabakgil üretimi yasaklanmıştır (Aysan ve ark., 2011). Karantina listemizde bulunan bu hastalık nedeniyle bakanlık personelleri tarafından karpuz üretim alanlarında her yıl surveyler yapılarak hastalığın durumu takip edilmektedir. Karpuz tarlalarının yanı sıra, hastalık fideliklerde de büyük sorun oluşturmuş, binlerce fide imha edilmek zorunda kalınmıştır (Aysan ve ark., 2011). Çukurova Bölgesi'nde yaşanan bu epidemi nedeniyle hem fide üreticisi firmalar hem de karpuz üreticisi çiftçiler büyük ekonomik kayıplar yaşamıştır. Horuz ve Aysan (2012) 2009-2011 yılları arasında Adana, Mersin ve Osmaniye'de bulunan karpuz tarlaları ve fideliklerde yaptıkları surveylerde *Acidovorax citrulli*'yi Starburst, Zeugma, Crisby, Blade çeşit karpuzlardan izole ettiklerini bildirmişlerdir. Karpuz alanlarında yaşanan epidemilerin dışında Horuz ve ark., (2011) bölgede yetiştirilen yerel bir kavun (*Cucumis melo* pv. Surmeli) çeşidinin de hastalıkla bulaşık olduğunu bildirmiş ve kavunun ülkemizde *Acidovorax citrulli*'nin yeni bir konukçusu olduğu ilk kez rapor edilmiştir (Horuz ve ark., 2014).

Hastalık belirtileri iklim koşullarına bağlı olarak, ilk önce fidelerde, tohumun çimlenmesinden 5-8 gün sonra gözlenir. Fidelerin kotiledon yapraklarının alt yüzeyinde su emmiş lekeler şeklinde ortaya çıkar. Sabahın erken saatlerindeki yüksek nemden kaynaklanan su birikimi de *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu belirtilere benzemektedir. Aradaki fark, *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu lekeler yağlı görünümdedir ve nemli olmayan koşullarda kalıcıdır. Yağlı görünümündeki lekeler öğleden sonra da görülebilir. Su emmiş lekeler ayrık lekeler şeklinde başlar, daha sonra bu lekeler birleşir ve kotiledonun orta damarı boyunca ilerler. Lekeler gerçek yaprakların gövdeleri boyunca ilerleyebilir, şiddetli durumlarda fidelerin çökmesine ve çökerten biçiminde ölümlere neden olabilir. Su emmiş lekeler en son kurur ve kotiledon yaprakların damarları boyunca uzun, kırmızımsı kahverenginden koyu renge kadar değişen renkte lezyonlar oluşur. Bu lekeler tüm kabakgillerde tipiktir ve şiddetli epidemilerde kotiledon, hipokotil ve gövdede oluşan lekeler birleşerek fidelerde ölümlere neden olur (Walcott, 2008). Gerçek yapraklarda da ilk belirtiler su emmiş lekeler şeklindedir. Lekeler daha sonra yaprak damarları boyunca kırmızımsı kahverenginden koyuya kadar değişen renklerde görülür. Lekeler birleştikçe ayırt edilemez hale gelir ve diğer fungal kökenli yaprak leke hastalıklarının (antraknoz ve didymella) belirtileri ile karıştırılabilir. Kantalop kavunu yapraklarında, yaprak damarları boyunca bronz renkten kırmızımsı kahverengine kadar değişen renkte lekeler ile yaprakların ucundan geriye doğru uzanan V şeklinde lekeler gözlenir. Kabak yapraklarında da yaprak damarları boyunca uzanan bronz lekeler gözlenir, ancak geniş klorozlar da görülebilir. Yapraklarda oluşan belirtiler çoğu zaman etmene özgü şekilde değildir. Çoğu zaman gerçek yapraklarda belirtiler gözlenmezken, patojen yaprakta epifitik olarak kalabilir ve hastalık belirtileri meyve döneminde gözlenir. Bu şekilde yaprakta bulunan etmen, meyvelerin güneşten korunmak amacıyla yapraklarla örtülmesi aşamasında meyveye geçiş yapar. Meyveye geçişler daha çok çiçeklenme ve erken dönemlerde gerçekleşir. Bitkide gövde, petiol ve kökler hastalanmaz (Walcott, 2005). Kavun meyvelerinde *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu belirtiler kavun çeşitlerine göre değişkenlik gösterir. Boyuna çizgili meyvelerde düzensiz yeşil lekeler şeklinde

başlar, meyve olgunlaştıkça, bu lekeler meyve kabuğunda önce küçük, daha sonra belirginleşen içe çökük lekeler oluşturur. Kabuk yüzeyi ağ görünümünde çizgileri olan kokulu kavunlarda meyve etindeki su emmiş lekeler çizgiler arasında oluşur. Lekeler meyve kabuğunda ilerlemez ancak küçük belirsiz çukurlar oluşturur. Bu şekilde kabuktaki patojen meyve etine doğru ilerleyerek meyve etinde çürümelere neden olur (Walcott, 2008).

1990 yılının sonlarına kadar patojenin karpuzda hastalık oluşturduğu çeşitli araştırıcılar tarafından rapor edilmiştir (Webb ve Goth, 1965; Wall ve Santos, 1988; Latin ve Rane, 1990; Somodi ve ark., 1991; Jacobs ve ark., 1992; Black ve ark., 1994; Hamm ve Spink, 1997). Ancak kabakgil familyasına bağlı tüm bitkiler etmenin konukçusudur. Karpuz dışında *Acidovorax citrulli* kabak, balkabağı, anaç olarak kullanılan kabak, kavun ve hıyarda da rapor edilmiştir (Schaad ve ark., 1978; Sowell, 1981; De Oliveira ve Moura, 1994; Isakeit ve ark., 1997; Isakeit ve ark., 1998; Langston ve ark., 1999; Martin ve ark., 1999; O'Brien ve Martin, 1999; Zhao ve ark., 2001; Martin ve Horlock, 2002; Tian ve ark., 2013). Etmen İsrail'de hastalıklı patlıcan fidelerinden ve domates tohumlarından izole edilmiş, suni olarak bulaştırılmış kabakgil bitkilerinde hastalık belirtisi oluşturmuştur (Assouline ve ark., 1997; Nascimento ve ark., 2004). Ayrıca İran'da Harighi (2007) tarafından karaçalı bitkisinde (*Paliurus spina-christi*) ve Tayvan'da tırmanıcı karabiber bitkisi (*Piper betle*)'nde yaprak yanıklığı oluşturduğu bildirilmiştir (Deng ve ark., 2010).

Hastalık için ilk inokulum kaynağı bulaşık tohumlardır. Hastalık etmeni bakteri uygun koşullarda depolandığında tohumda otuz yıl kadar yaşamını devam ettirir (Block ve Shepherd, 2008). Bu yüzden hastalıklı tohumlar bulaşmalar açısından önemlidir (Rane ve Latin, 1992; Latin ve Hopkins, 1995; Hopkins ve Thompson, 2002b). Fideliklerde bu hastalıklı tohumlar ekildiğinde hastalık oluşumu için uygun koşullarda (seralarda yağmurlama sulama ile oluşan nem ve sıcaklık) ilk çıkan kotiledon yapraklarda su emmiş lekeler ve daha sonra da bakteriyel fide yanıklığı belirtileri gözlenir (Sowell ve Schaad, 1979; Rane ve Latin, 1992; Frankle ve ark., 1993; Hopkins, 1994; Latin ve Hopkins, 1995; Johnson ve Walcott; 2013). Patojen bakteri buradan

yağmurlama sulamayla tüm fideliğe yayılır ve sekonder bulaşmalar oluşur (Walcott ve ark., 2003). Böyle bir durumda % 100'e ulaşan fide ölümleri gözlenebilir (Latin ve Hopkins, 1995; Burdman ve ark., 2005; Walcott, 2008). Hastalık belirtisi olmasa bile, epifitik durumdaki patojen uygun koşullarda şiddetli epidemilere neden olabilmektedir. Bu nedenle, tohum partilerinde en ufak bulaşma bile *Acidovorax citrulli* gelişimi için oldukça önemlidir (Latin ve Rane, 1995; Walcott, 2005). Fideliklerde diğer kabakgil türleri de karpuz ile aynı yerde yetiştirilmektedir. Hastalıkla bulaşık fidelerden bu türlerin fidelerine kolaylıkla bulaşabilmektedir (Hopkins ve Thompson, 2002b). Bu nedenle sekonder bulaşmaları önlemek için fideliklerde kabakgil türlerinin birbirinden uzak yetiştirilmesine özen gösterilmesi gerekmektedir.

Fideliklerde bulaşan bakteri daha sonra tarlaya şaşırtılan fidelerle birlikte tarlaya taşınır. Bu tür durumlarda etmen fidelerde simptom oluşturmadan bulunabilir ve araziye şaşırtılan hastalıklı fide oranına bağlı olarak, hastalığın yoğunluğu tarlada değişiklik gösterir (Walcott, 2008). İklim koşulları hastalık için uygun olduğunda, birkaç hasta bitkiden tarladaki diğer bitkilerin tümüne hastalık bulaşabilir. Erken dönemde bir enfeksiyon gerçekleşirse ürün kaybı % 100'e kadar ulaşabilir (Mirik ve Aysan, 2008). Tarla koşullarındaki yüksek nem ve sıcaklık *Acidovorax citrulli* gelişimi için oldukça önemlidir. *Acidovorax citrulli* sulama suyu ve yağmur suyuyla yayılır ve yapraklarda leke ve yanıklık belirtileri oluşur. Yapraklardaki bu belirtiler çoğu zaman ayırt edilemeyebilir (Frankle ve ark., 1993). Etmen bitkide yapraklara stomalardan ve yaralardan giriş yapar ve hastalıklı dokunun hücreler arası boşluklarında kalır (Walcott, 2008). Etmenin sistemik taşındığına dair henüz bir kanıt yoktur (Rane ve Latin, 1992). Etmen çiçeklenmeden 2-3 hafta sonra stomalardan meyve yüzeyine geçer ve meyve enfeksiyonunu başlatır. Stomalar bu aşamadan sonra kapanır ve mumla kaplanarak daha sonra oluşacak bulaşmalardan koruma sağlar. Bu nedenle, olgunlaşmış meyvede yara olmadıkça patojenle bulaşma gerçekleşmez (Frankle ve ark., 1993; Walcott, 2005).

Meyvelerin ilk gelişim dönemlerinde hastalık belirtileri ya göze çarpmaz ya da yoktur. Karpuz meyvelerinin üzerinde hasattan önce küçük (1 mm'den az genişlikte), zeytin yeşili renkte, su emmiş ve yağlımsı görünümde düzensiz lekeler oluşur.

Enfeksiyonun erken dönemlerinde, bu lekeler serttir ve meyve etine çok nadir bulaşır. Bu lekeler ya kabuk yüzeyinde kalır ya da uygun koşullar devam ettikçe meyve etine ilerler. Bu belirtiler sıcaklığın da yüksek olduğu hasattan hemen önceki zamanda bir anda ortaya çıkar. Yüzeydeki lekeler genişleyerek 5-8 gün içerisinde meyvelerin üst yüzeyini tamamen kaplar. Meyveler olgunlaştıkça kabuk yüzeyindeki bu lekeler kahverengileşir ve çatlamalar gözlenir. Bu çatlaklardan amber sarısı renkte veya köpürmeler şeklinde bakteriyel akıntı oluşur (Walcott, 2008). Daha ileri aşamalarda, meyve içinde sulu çürüklük oluşur ve bu şekildeki meyve saprofitlerin saldırısına uğrar. Bu aşamada meyvelerde çürümeden dolayı şiddetli bir ağır koku olduğu da görülür (Frankle ve ark., 1993; Walcott, 2008). Bu şekilde meyve kabuğundan meyve etine ulaşan bakteri meyve içerisindeki tohuma da bulaşır. Hastalıklı meyvedeki tohumlar toprağa karışarak inokulum kaynağı haline gelir. Etmen kışı toprakta, bitki artıklarında ve zamansız gelişen kabakgil bitkilerinde geçirebilmektedir. Bakteri sezon boyunca sekonder inokulum kaynağı olarak bu kısımlarda kalabilmektedir (Latin ve Hopkins, 1995; Isakeit ve ark., 1998). Ancak hastalık epidemiyolojisinde sekonder inokulum kaynaklarının önemi çevre koşullarına ve yetiştirme şartlarına bağlıdır. Tarla koşullarında yüksek nem ve yağışlı geçen dönemler epidemi oluşmasıyla tamamen ilişkilidir (Walcott, 2008).

Patojen, tohum kabuğuna ve embriyoya yerleşebilmesine rağmen, hastalığın sistemik olarak bitkide iletim demetleri boyunca ilerlemediğini söyleyen çalışmalar (Rane ve Latin, 1992; Latin, 1996) olmasına karşın, *Acidovorax citrulli*'nin kavunda belirti oluşturmadan ksilemde bulunabildiğini Bahar ve ark., (2009) göstermiştir. Ayrıca Alves ve ark., (2010) kavunun çiçek, yaprak ve gövdesinde *Acidovorax citrulli*'nin kolonize olduğunu saptamış, hastalığın epidemiyolojisini anlamada bu verilerin önemli olduğunu vurgulamışlardır. Araştırıcılar patojen bakterinin ekstraksiyon işlemi esnasında, tohumda hilumun yanında bulunan tohum kabuğundaki açıklıklardan tohumları enfekte ettiğini (Rane ve Latin, 1992) veya tohumların meyveden tohum çıkarılması işlemi sırasında patojenle bulaşabileceğini bildirmişlerdir (Lovic ve Hopkins, 2003). 2000'li yıllardan sonra yapılan çalışmalarda Walcott ve ark., (2003) çiçek

enfeksiyonlarının tohumun bulaşması üzerine etkisini araştırmışlardır. *Acidovorax citrulli* uygulanmış dişi karpuz çiçeklerinden oluşan meyvelerde hastalık belirtisinin görülmediğini ancak bu meyvelerden alınan tohumların hastalıkla bulaşık olduğunu saptamışlardır. Bu çalışma karpuz çiçeklerinin *Acidovorax citrulli*'nin meyveye ve tohuma bulaşmasında önemli bir potansiyel yer olduğunu ortaya koymuştur. *Acidovorax citrulli* dişi çiçekte stigmaya yerleşerek burada hızlı bir şekilde çoğalır. Stigmaya bulaştıktan yedi gün sonra patojen dişicik borusundan geçerek ovaryuma ulaşır (Lessl ve ark., 2007) ve bu şekilde enfekte olan tohumlar fidelerde hastalık görülmesine neden olur (Walcott, 2008). Bir başka çalışmada arıların hastalıkla bulaşık bitkilerden patojeni diğer bitkilerin çiçeklerine taşıdığı ve sezon sonunda hastalık belirtisi göstermeyen meyvelerden alınan tohumların % 25'inde *Acidovorax citrulli* bulaşıklığı olduğu saptanmış ve arıların etmenin tarla içerisinde yayılmasında vektör olabileceğini bildirmişlerdir (Fessehaie ve ark., 2005). Hastalık etmeninin tohum kabuğu ya da embriyoya ne şekilde bulaştığı uzun yıllar soru işareti olarak kalmıştır. Son yıllarda araştırıcılar stigmaya bulaşan bakterinin tohumun embriyosuna yerleştiğini, perikarpı infekte eden bakterinin ise tohum kabuğunda bulunduğunu ilk kez ortaya koymuşlardır (Dutta ve ark., 2012a; Dutta ve ark., 2012b; Dutta ve ark., 2012c).

1970'li yıllardan sonra ticari tohum üretiminde, üretimin etkinliğini ve meyve kalitesini arttıran uygulamalar kullanılır hale gelmiştir (Walcott, 2008). Bu amaçla kabakgil üretiminde hibrit olarak diploid ve triploid (çekirdeksiz) tohum üretimi, Fusarium solgunluğuna dayanıklılık sağlaması amacıyla fideliklerde aşılı fide kullanımına başlanması son dönemlerde en çok tercih edilen üretim şekilleri haline gelmiştir. Hibrit tohum üretiminde doğal melezleme yerine özellikleri istenen iki hattın melezlenmesi sağlanır. Bu işlem zaman alıcı olmasının yanı sıra işgücü gerektiren bir durumdur. Ticari tohum firmaları düşük maliyetli işgücü ile üretim ve *Acidovorax citrulli* bulaşmalarının önüne geçmek için Asya, Orta ve Güney Amerika gibi kurak ve yarı kurak bölgelerde tohumlarını üretmeye başlamıştır. Son yirmi yıldır tüm karpuz ve kavun tohumlukları Çin'de üretilmektedir. Kabakgil tohumlarında toleransı sıfır olan bu bakteri Çin'de kabakgil tohumu üretilen tarlalarda saptanmıştır (Ren ve ark., 2004; Ren

ve ark., 2006; Zhao ve ark., 2006; Xu ve ark., 2008). Tohumluk üretim alanları inspektörler tarafından fide dikim ve hasat zamanında kontrol edilerek hastalık görülmeyen tarlalardan tohumluk alınmaktadır. Ancak *Acidovorax citrulli* belirti görülmeyen meyvelerin tohumlarında bulunabildiğinden bu uygulama geçersiz hale gelmiştir (Hopkins ve ark., 1996; Walcott ve ark., 2003). Bu durumun hastalıkla bulaşık alanlardan patojenin tohumluk üretilen alanlara ve buradan da tüm dünyaya yayılmasına yol açtığı düşünülmektedir. Dünya tohum sektörü de bu şekilde etkilenmiştir (Feng ve ark., 2013).

Hastalığın orjini, yani karpuz yetiştirilen alanlara bakterinin nereden ve nasıl yayıldığı halen bilinmemektedir. 1965 yılında Amerika'dan izole edilen *Acidovorax citrulli* ATCC 29625 kodlu type izolat (Schaad ve ark., 1978) ile 1988 yılında Mariana Adaları'ndan ve sonraki yıllarda ABD'nin farklı eyaletlerinde epidemilere neden olan *Acidovorax citrulli* izolatları arasında farklılık olduğu, ATCC 29625 kodlu izolatın tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu göstermezken (Schaad ve ark., 1978), daha sonra elde edilen izolatların tütünde aşırı duyarlılık oluşturduğu bildirilmiştir (Somodi ve ark., 1991). O'Brien ve Martin (1999) bu durumu Avustralya'da kuzey ve güneyden elde ettiği izolatların biyokimyasal özelliklerindeki farklılıktan kaynaklandığını ortaya koymuştur. İzolatlar arası farklılık ayrıca pulse field jel elektroforez ile DNA görüntüleme, yağ asidi metil ester analizi, single karbon susbstrate kullanımı ve patojenite testleriyle de açığa çıkarılmıştır (Walcott ve ark., 2000; Walcott ve ark., 2004). Walcott ve ark., (2004) karpuz dışındaki kabakgillerden izole edilen *Acidovorax citrulli* izolatları ile karpuzdan elde edilen izolatların genotipik olarak iki ayrı grup olduğunu belirlemiştir. Burdman ve ark., (2005) İsrail'de 2000-2003 yılları arasında karpuz ve kavundan izole ettiği *Acidovorax citrulli* izolatlarının pulse field gel elektroforez ve rep-PCR tekniklerini kullanarak DNA profillerini ortaya çıkarmış ve Walcott ve ark., (2004)'nın bildirdiği iki grubun İsrail izolatlarında da varlığı ortaya konmuştur. Feng ve ark., (2009) ve Yan ve ark., (2013) bu tekniklerden farklı olarak multilokus sequence typing (MLST) tekniğini kullanarak yaptıkları DNA görüntülemede Çin'den ve farklı ülkelerden kavun ve karpuzdan izole edilen bazı *Acidovorax citrulli*

izolatlarının yakın akraba olduğunu açığa çıkarmıştır. Günümüze kadar yapılan bu çalışmalar dünyada iki farklı inokulum kaynağı olabileceğini göstermiştir.

Hastalık etmeni tüm kabakgil türlerini hastalandırırken, karpuz ve kavun hastalığa en duyarlı türlerdir. Günümüzde hastalığa dayanıklı hiçbir ticari kabakgil çeşidi bulunmamaktadır (Bahar ve ark., 2009; Bahar ve Burdman, 2010). Geçmiş yıllarda Garrisonian çeşit karpuzların dayanıklılık geni içerdiği (Goth ve Webb, 1981), Congo çeşidinin hastalığa dayanıklı olduğu söylense de (Sowell ve Schaad, 1979), Hopkins ve ark., (1993) bu bulguların tamamen tersi olduğunu, Congo çeşidinin hastalığa duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, koyu renk kabuklu karpuz çeşitlerinin açık renk kabuklu çeşitlere göre hastalığa daha az duyarlı olduğunu ortaya koymuşlardır. Zimbabve ve Zambiya'dan elde edilen yerel iki çeşidin hastalığa karşı dayanıklılık genleri içerdiği, bu özelliğin kabakgil çeşitlerine aktarılması için çalışmaların gerektiği de bildirilmiştir (Hopkins ve Thompson, 2002a).

Ticari tohum üretiminde tohumluklar belirli bölgelerde ve lokasyonlarda üretilerek üretim zinciri içerisine alınırlar. Ardından fideliklerde fide haline getirilmek üzere kullanılır ve üreticinin kullanımına ve en son olarak tüketicilerin sofralarına ulaşırlar. Bu zincir içerisinde *Acidovorax citrulli* inokulumunun bulaşmasında pek çok faktör etkilidir. Hastalıkla entegre mücadele için hastalık epidemiyolojisinin çok iyi bilinmesi gerekmektedir. Tüm bakteriyel hastalıklarda olduğu gibi *Acidovorax citrulli* ile mücadelede ilk adım hastalıksız tohum kullanımıdır. Bu amaçla tohumluk üretiminin seçileceği alanlar oldukça önem arz etmektedir. Tohumluk üretim alanlarında önceden bir *Acidovorax citrulli* bulaşıklığı olmamasına özen gösterilmelidir. Bunun yanı sıra, tohum üretim yeri seçiminde iklim koşulları, ucuz işgücü, üretim, hasat ve işlemeye uygunluk gibi faktörler de göz önünde bulundurulmaktadır (Lovic ve Hopkins, 2003). Latin ve ark., (1995) fideliklerde kullanılan tepsilerde patojenin 63 güne kadar yaşayabildiğini, % 0.5 NaOCI ile temizlenmiş tepsilerde ise bakterinin bulunmadığını saptamışlardır. Fideliklerde yağmurlama sulama ile patojen kolaylıkla diğer bitkilere sıçramaktadır. Bu nedenle su sıçramaması için alttan sulama sistemlerinin kullanılması hastalığın yayılmasını engelleyecektir (Walcott, 2008).

Tohumluk üretim yerlerinin seçimi de hastalıkla mücadelede önemlidir (Walcott, 2008). Hastalık etmeninin tohum kaynaklı olduğu çok uzun zamandır bilinmesine rağmen (Webb ve Goth, 1965; Sowell ve Schaad, 1979), tohumdaki inokulumun hastalık epidemiyolojisindeki önemi 1990'lı yılların ortalarına doğru fark edilebilmiştir (Latin ve Rane, 1992; Latin ve Hopkins, 1995; Latin, 1996; Isakeit ve ark., 1998; Walcott ve ark., 2003). Bu nedenle tohum sağlık testleri üzerine çalışmalar hız kazanmış, hastalık epidemisinin olabilmesi için 30.000 tohum içerisinde bir tohumun bile bulaşık olmasının yeterli olabileceği bildirilmiştir (Walcott ve ark., 2003). Hastalıkla mücadelede çeşitli tohum uygulamalarının etkinliği farklı araştırıcılar tarafından araştırılmıştır (Rane ve Latin, 1992; Hopkins ve ark., 1996; Nomura ve Shirakawa, 2001; Hopkins ve ark., 2003; Zhao ve ark., 2003; Hopkins ve Thompson, 2006; Feng ve ark., 2007; Feng ve ark., 2009; Selçuk, 2014). Fakat halen hastalığa karşı kullanılabilecek etkili bir tohum uygulaması bulunmamaktadır. Günümüzde tohum uygulaması olarak antagonistlerin etkisinin araştırıldığı çok az çalışma bulunmaktadır. Fessehaie ve Walcott (2005) *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*'nın 99-2 kodlu izolatının hastalıkla bulaşık karpuz tohumlarında hastalık çıkışını iklim odası koşullarında % 96.5, serada ise % 100 oranında baskıladığını bildirmiştir. Ayrıca araştırıcılar *Bacillus* spp. türlerinin (Oliveira ve ark., 2006; Flavio ve ark., 2009), patojenik olmayan *Acidovorax citrulli* izolatının (Johnson ve ark., 2011) ve maya olan *Pichia anomala* 0732-1 izolatının (Wang ve ark., 2009) hastalıkla mücadelede biyolojik tohum uygulamaları olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Hastalığın kimyasal mücadelesinde etkili bir kimyasal bulunmamaktadır. Ancak koruyucu uygulama olarak fideliklerde ve tarlada üretimde Kocide benzeri bakır içerikli preparatlar kullanılmaktadır (Hopkins, 1991; Hopkins, 1995). Bakır içerikli fungisitler 7-10 gün aralıklarla uygulanmakta, fakat yağmur yağması durumunda uygulanan kimyasalların etkisi azalmaktadır. Ancak *Acidovorax citrulli*'nin bakıra dayanıklılık kazanma riski de bulunmaktadır (Walcott ve ark., 2004). Etkili bir hastalık kontrolü için tüm mücadele yöntemleri entegre halde kullanılmalıdır.

Bu doktora tezi kapsamında, 2009-2012 yılları arasında Adana, Osmaniye ve Mersin illerinde karpuz yetiştirilen tarlalarda ve ticari fideliklerde karpuz bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesi yönünden incelemelerde bulunulmuş ve üreticilerle görüşülmüştür. Ticari fidelik ve karpuz tarlalarından toplanan hasta karpuz ve kavun fide ve meyvelerinden yapılan izolasyonlarda 108 adet patojen bakteri izolatı elde edilmiştir. Elde edilen izolatların tanısı geleneksel yöntemler, patojenite testleri ve türe spesifik primerler kullanılarak PCR ile gerçekleştirilmiştir.

Bölgemizde ilk kez 2005 yılında saptanan ve daha sonra 2009-2010 yıllarında büyük epidemilere yol açan bu hastalığın ülkemize nereden gelmiş olabileceği ve esas inokulum kaynağı konusunda fikir yürütebilmek amacıyla 2009-2012 yılları arasında ülkemizden elde edilen *Acidovorax citrulli* izolatları ve 15 farklı ülkeden (Almanya, Amerika, Avustralya, Belçika, Brezilya, Çin, Danimarka, Fransa, Hollanda, Honduras, İsrail, Kosta Rika, Meksika, Peru ve Tayland) temin edilen 222 adet *Acidovorax citrulli* ve *Acidovorax* genusu içerisinde yer alan diğer türlerin genotipik yönden akrabalık durumları AFLP PCR yöntemiyle ortaya konmuştur. Çalışmanın bu kısmı Hollanda'da bulunan tohum sağlığı açısından akredite olmuş Naktuinbouw (Research & Development, 2370 AA, Roelofarendsveen, Hollanda) isimli kurumda Dr. Harrie Koenraadt ve Dr. Hedwich Tenuissen danışmanlığında yürütülmüştür.

Ayrıca hastalığın biyolojik mücadelesine yönelik karpuz ve kavun üretimi yapılan Adana, Mersin, Osmaniye ve Hatay illerindeki 37 farklı tarladan sağlıklı yaprak, çiçek ve toprak örnekleri alınmıştır. Bu kısımlardan yapılan izolasyonlarda 322 adet aday antagonist elde edilmiştir. Aday antagonistlerin patojeni baskılama özelliği *in vitro* petri denemeleriyle ortaya konmuştur. *In vitro* testlerde patojen gelişimini baskılayan 54 adet antagonist bakteri içerisinden istatistiki olarak farklı grupta yer alan, farklı tip ve özellikteki 12 adet bakteri izolatı seçilmiştir. Seçilen antagonistlerin bakteriyel fide yanıklığı hastalığına biyolojik tohum uygulaması olarak etkinliği iklim odası koşullarında araştırılmıştır. İklim odası denemelerinde başarılı bulunan antagonist bakterilerin patojen gelişimi üzerine etkileri de *in vivo* koşullarda iki farklı yılda yapılan cam sera ve tarla denemeleriyle ortaya konmuştur.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Karpuz bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesi hastalığı ülkemiz ve dünya için oldukça yeni ve önemli bir hastalıktır. Hastalığa neden olan etmenin biyolojisi ve hastalığın epidemiyolojisi hakkında yeterince araştırma bulunmamaktadır. Hastalığın Çukurova Bölgesindeki epidemiyolojisi hakkında Tarım Bakanlığı Adana Biyolojik Mücadele Araştırma İstasyonunda devam eden çalışmalar bulunmaktadır. Hastalık ilk kez 1965 yılında görülmesine rağmen en büyük epidemileri 1987-2007 yılları arasında karpuz üretimi yapılan dünyanın pek çok ülkesinde rapor edilmiştir. Yapılan araştırmalara bakıldığında 2000'li yıllara kadar araştırıcılar etmenin varlığını saptamaya yönelik çalışmalar yürütürken, 2000'li yıllardan günümüze kadar hastalık etmeninin moleküler tanısı, epidemiyolojisi, tohumlarda aranması, yaşam yerinin belirlenmesi, kısmen biyolojisi ve mücadelesi üzerine çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Ancak yapılan ıslah çalışmalarında henüz hastalığa dayanıklı çeşit geliştirilememiştir. Etmen tohumla taşındığından tohumdaki inokulumun yok edilmesine yönelik birtakım çalışmalar yürütülmüş, fakat bu çalışmalar sonucunda patojeni azaltmak veya yok etmek için etkili bir yöntem daha bulunamamıştır. Bu nedenle tohumdaki patojeni yok etmeye yönelik çalışmalar halen devam etmektedir. Hastalığın kimyasal mücadelesinde bakırlı preparatlar koruyucu olarak uygulanmakta, fakat yeterli başarı elde edilememektedir. Amerika'da Clemson Üniversitesi'nde görevli Keinath ve ark., (2012) tarafından bakırlı bir preparatla beş farklı etkili maddeye sahip fungisitin birlikte kullanımına yönelik bir ilaçlama programı hazırlanmıştır. Sezon boyunca başarılı bir mücadele için bu karışımların sekiz kez uygulanmasını önermişlerdir. Hastalığın, bitki besleme ile ilişkisi halen bilinmemektedir. Hastalıkla biyolojik mücadeleye yönelik bazı ümitvar çalışmalar yürütülmüş, fakat henüz ruhsatlandırılmış bir biyolojik mücadele preparatı da bulunmamaktadır.

Hastalık etmeninin genetik akrabalık durumu hakkında az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar karpuzdan ve diğer kabakgil bitkilerinden elde edilen izolatlar arasındaki genetik farklılığı ortaya koymaya yönelik çalışmalar olmuştur. Bu konuda da çalışmalar halen devam etmektedir.

Bu doktora tezi kapsamında hastalıkla ilgili yürütülen çalışmalar göz önüne alındığında, hastalıkla bulaşık karpuz ve kavun bitki materyallerinden etmenin izolasyonu ve tanısı, hastalık etmeninin genotipik açıdan akrabalık durumlarının belirlenmesi ve biyolojik mücadele çalışmalarında antagonistlerin önemi üzerine yapılmış çalışmalar burada özetlenmiştir.

2.1. *Acidovorax citrulli*'nin izolasyonu ve tanısıyla ilgili çalışmalar

Webb ve Goth (1965) ABD'nin Georgia eyaletinde Türkiye'den introdüksiyon materyali olarak temin edilen karpuz bitkilerinden gelişen fidelerin (PI 174103 ve PI 174104 lot numaralı) kotiledon ve gerçek yapraklarında nekrotik lekeler ve ilerleyen zamanlarda fide ölümlerinin olduğunu saptamışlardır. Bu örneklerden yaptıkları izolasyonda, beef extract ve patates dekstroz agar besiyerinde beyaz renkte koloni oluşturan bakteriyi izole etmişlerdir. İzole edilen bakterinin patojenitesinde karpuz fidelerine püskürtme yöntemini kullanmışlar ve kotiledon yapraklarda su emmiş, düzensiz, geniş, koyu gri ve siyah renkte nekrotik lekeler gözlemişlerdir. Bu kısımlardan yapılan re-izolasyonlarda beyaz renkteki bakteriyi elde etmişlerdir. Ayrıca Charleston Gray çeşit karpuz tohumlarını patojenle bulaştırmış ve tohumdan gelişen kotiledon yapraklarda su emmiş lekeler olduğunu ve bu patojenin tohum kökenli olduğunu ilk kez ortaya koymuşlardır.

Crall ve Schenck (1969) ABD'nin Florida eyaletindeki bir araştırma istasyonunda 1967 ve 1968 yıllarında karpuz meyvelerinde geniş, koyu yeşil, su emmiş lekeler ile genişleyen lekelerden bakteriyel akıntı oluştuğunu saptamış ve yapılan mikroskobik incelemelerde buna fungal bir etmenin değil, bakterinin yol açtığını belirlemişlerdir. Bakteriyel leke belirtilerinin 1963 yılından beri deneme yürütülen saksılarda her yıl belirti gösterdiğini, 1967 ve 1968 yıllarında bu lekelerde artış olduğunu ve 1967 yılında bakteriyel meyve lekesinin daha şiddetli gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Tarla koşullarında olgunlaşmış kavun meyvelerinde kabukta hızla ilerleyen su emmiş lekeler, ilerleyen durumlarda meyve kabuğunun meyve etinden ayrıldığı ve beyaz bir bakteriyel akıntının bu kısımlardan çıktığı, fakat meyve lekelerinin meyve etinde derine inmediğini saptamışlardır. Bu kısımlardan

yapılan izolasyonlarda floresan tipte kolonileri saflaştırmışlardır. Karpuz yaprak ve meyvesine yapılan enjeksiyonlarda, yapraklarda lezyonlar ve meyve kabuğunda su emmiş lekelerin oluştuğunu ve Florida ve Georgia'da saptanan bakteri ile aynı olup olmadığının belirlenmesi için çalışmaların devam ettiğini bildirmişlerdir.

Wall ve Santos, (1988) ile Wall ve ark., (1990) Büyük Okyanusun batısında, Filipinler'in doğusunda yer alan ABD'ye bağlı Mariana Adaları'nın Guam ve Tinian bölgelerinde karpuz meyvelerinde su emmiş lekeler saptamış, buralardan yaptıkları izolasyonda floresan olmayan tipteki bakteriyi izole etmişlerdir. Tanı testleri ile patojenin daha önce izole edilen *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* ile aynı olduğunu, tohumla taşındığını ve Mariana Adaları'nda bu hastalığın ilk kez ortaya çıktığını saptamışlardır.

Somodi ve ark., (1991) ABD'nin Florida eyaletinde 1989 yılının sonbahar ayında karpuz meyvelerinde geniş, koyu yeşil renkte düzensiz su emmiş lekeler olduğunu, kavun meyvelerinde ise küçük su emmiş lekeler şeklinde başlayan meyve etine ilerlemeyen lekeler gözlemlemişlerdir. Lekeler ilerledikçe ve yaşlandıkça periderm tabakası çatlayarak bu kısımlardan beyaz bakteriyel akıntı çıktığı ve meyve çürümeleri gerçekleştiğini saptamışlardır. Meyvelerin % 50'sinin pazarlanamaz hale geldiğini bildirmişlerdir. Hasta meyvelerden yapılan izolasyonlarda gram negatif, aerobik, non-floresan özellikte bakteriyi izole etmişlerdir. İzole edilen bakteriyi morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve patojenite testlerine göre daha önce tanılanan *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* ile aynı patojen olarak tanılamışlardır. İzole ettikleri bakterinin 1965 yılında Webb ve Goth (1965) tarafından izole edilen bakteriden farklı olarak tütün ve domateste aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturduğunu da ayrıca belirtmişlerdir.

Rane ve Latin (1992) ABD'nin Indiana eyaletinde 1989 yılında karpuz alanlarında şiddetli epidemilere rastlamış, karpuz fidelerinde su emmiş nekrotik lekeler ile meyvelerde geniş su emmiş lekelerin tüm karpuz kabuğunu kapladığını bildirmişlerdir. Enfekteli meyvelerden alınan tohumlara sıcak su, sodyum hipoklorit (NaOCI) ve hidroklorik asit (HCI) uyguladıklarında patojeni % 79-87 oranında baskılarken, laboratuvarda yapay olarak hastalıkla bulaştırılmış tohumlarda bu etkinin % 96-98 oranında olduğunu saptamışlardır. Bu durumun patojenin tohumda

bulunduğu yerle ilgili olduğunu ve embriyodaki inokulumu azaltma ya da yok etmede başarının düştüğünü bildirmişlerdir. Çalışmayla doğal bulaşık tohumlarda patojenin hem tohum kabuğunda, hem de embriyoda varlığını belirlemişlerdir. Bölgedeki epideminin tohum kaynaklı olduğunu da ortaya koymuşlardır.

Demir (1996), 1995 yılının yaz aylarında Edirne ili Ezine ilçesine bağlı Sultaniçe Köyü'nde karpuz üretimi yapılan alanlarda yaprak ve gövdede nekrozlar, genç kollarda yanıklıklar ve hasattan önce meyvelerde önce küçük daha sonra bir hafta içinde meyve yüzeyini kaplayan koyu yeşil lekeler, çatlaklar ve çürümeler olduğunu saptamıştır. Hastalıklı karpuz yaprak, petiol, kol ve meyvelerden yapılan izolasyonlarda yuvarlak, düzensiz, krem-sarı renkte, floresan olmayan özellikteki bakteriyi izole etmiştir. İzolatlar gram negatif, tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturmuş, 41ºC'de gelişen ancak 4ºC'de gelişemeyen, oksidaz, katalaz ve 3-ketogluconate reaksiyonu pozitif sonuç vermiştir. Karpuz fide ve meyvelerinde yapılan patojenite testlerinde tipik hastalık belirtileri olan su emmiş koyu yeşil renkte lekeler oluşturmuştur. Yapılan fizyolojik, biyokimyasal ve patojenite testlerine göre izole edilen bakterinin bakteriyel meyve lekesi hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli* olduğunu ve Türkiye için ilk rapor olduğunu bildirmiştir.

Assouline ve ark., (1997) ABD'den 1992-1994 yılları arasında İsrail'e ithal edilen karpuz tohumlarında *Acidovorax citrulli*'nin varlığını saptamışlardır. Patojen, 1995 yılında orjini bilinmeyen patlıcan tohumlarından gelişen fidelerden de izole edilmiştir. Bu izolatla karpuz, hıyar, patlıcan ve domateslerde yapılan patojenite çalışmaları Koch postulatlarına göre tamamlanmış ve bu konukçu bitkilerde hastalık belirtileri gözlenerek patojen yeniden izole edilebilmiştir. 1997 yılında İsrail'e Hindistan'dan ithal edilen domates tohumlarının *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli, Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis, Erwinia sp.* ve tobacco mosaic virus ile bulaşık olduğunu, *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ile bulaşıklığı yarı seçici besi yerine ekim, ELISA testi ve yağ asidi metil ester analizleri (FAME) ve karpuz fidelerinde patojenite testiyle ortaya koymuşlardır. Yapılan bu çalışmalarla *Acidovorax citrulli*'nin domates ve patlıcan ile taşınabildiği ve bu kültür bitkilerinin patojen için alternatif konukçu olduğu saptanmıştır.

Isakeit ve ark., (1997) ABD'nin Teksas eyaletinde kavun (*Cucumis melo* var. *inodorus*) tarlasında Mornin Ice, Honeybrew ve Green Flesh çeşitlerde yuvarlak, 3-10 mm genişliğinde meyve etine işlemeyen lezyonlar olduğunu gözlemlemişlerdir. Lekelerin köşelerinde kabuk bağlamış su emmiş lekeler olduğunu da fark etmişlerdir. İzolasyonlarda 11 adet floresan olmayan özellikte, gram negatif bakteri izole etmişlerdir. İzolatlar karpuz ve kavun fidesinde patojenite testi, karbon kaynaklarını kullanım özelliği (BIOLOG) testlerine göre *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* olarak tanılanmış ve bölgede karpuzdan sonra kavunda ilk rapor olarak bildirilmiştir.

Walcott ve ark., (2000) ABD'nin Georgia eyaletinde 1999 yılının nisan-temmuz ayları arasında kantalop kavununda yapraklarda nekroz ve meyvelerde çürüklük şikayetlerinin olduğunu bildirmişlerdir. Yaprak lekeleri V şeklinde, yaprak orta damarı boyunca gelişen nekrotik lekeler şeklinde iken, meyve yüzeyinde yuvarlak, nekrotik, içe çökük lekeler ve çatlaklar şeklinde belirtiler olduğu gözlenmiştir. Meyve kabuğundan meyve etine doğru ilerleyen bir çürüklük olduğu ve meyvelerin % 5'inin bu şekilde hastalandığını saptamışlardır. İzolasyonlarda non-floresan özellikte, krem renkte koloniyi saflaştırmışlardır. Patojenite testinde karpuz fidelerine püskürtme yapılmış ve hastalık belirtileri kontrol edilmiştir. Yağ asidi analizi ve WFB 1/ WFB 2 primerleri kullanılarak yapılan türe spesifik PCR ve RFLP testlerine göre tüm izolatlar *Acidovorax citrulli* olarak tanılanmıştır. Genus spesifik antibody kullanılarak gerçekleştirilen indirekt ELISA testine göre de izolatlar *Acidovorax* sp. olarak tanılanmıştır.

Babadoost ve Pataky (2002) ABD'nin Illinois eyaletinde altı farklı tarladan toplanan Crimson Sweet ve Royal sweet çeşit karpuz meyvelerinde koyu yeşil, su emmiş lekelerin ve meyvede çatlamanın olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan izolasyonlarda krem renkte, non-floresan, gram negatif, anaerobik, oksidaz pozitif, çubuk şeklinde bakteriyi izole etmişlerdir. Bakteri tanısı için türe spesifik enzim-linked immunosorbent teste tabi tutulmuş ve izole edilen bakteri *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* olarak tanılanmıştır.

Martin ve Horlock (2002) Avustralya'da Queensland'in kuzeyinde bir fidelikte bir çeşit kabak anacının (*Cucurbita moschata* L. cv. Ken Special Hybrid 864) kotiledon yapraklarında klorozlar, uçtan petiollere kadar uzanan köşeli su

emmiş lekeler, gerçek yapraklarda damarlarla sınırlı kahverengi, köşeli su emmiş lekeler olduğunu, mikroskop altında incelendiğinde ise su içerisinde bakteriyel akıntılar olduğunu saptamışlardır. King B besi yerine yaptıkları izolasyonlarda yavaş gelişen, krem-beyaz renkte, gram negatif bakteriyi izole etmişlerdir. Bakteri patojenite testi, karbon kaynaklarını kullanım özelliği (BIOLOG) ve PCR testlerine göre *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* olarak tanılanmıştır. Rep-PCR tekniği ile daha önce kavundan izole edilen izolatla karşılaştırıldığında aynı bant özelliklerini göstermiş ve patojen bakteri Avustralya'da kabakta hastalık oluşturan *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* olarak ilk kez rapor edilmiştir.

Munoz ve Monterroso (2002), Nikaragua'da üreticilerden gelen şikayetler üzerine karpuzu etkileyen ve daha önceden bilinmeyen bir hastalığın varlığını belirlemişlerdir. Bu durumun kaynağına bakıldığında bir tohum firması tarafından Kosta Rika'dan ithal edilen tohumlarla ülkeye giriş yaptığı saptanmıştır. Tarım Bakanlığı bitki koruma servisince testlenen tohumların *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ile bulaşık olduğu ve Nikaragua için ilk rapor olduğu bildirilmiştir.

Ren ve ark., (2006) Çin Halk Cumhuriyeti'nin Xinjiang bölgesinde 2003-2005 yılları arasında karpuz meyvelerinin kabuğunda küçük su emmiş lekeler olduğunu, lekelerin genişledikçe siyah renkte olduğunu ve çatladığını ve ürünün pazarlanamaz bir hal aldığını saptamışlardır. Fidelerde ise yaprakların alt yüzeyinde koyu su emmiş lekeler olduğunu ve bu lekelerin yaprak damarları boyunda ilerlediğini ve genişlediğini belirlemişlerdir. Enfekteli fide, meyve ve tohumlardan yaptıkları izolasyonlardan elde ettikleri 54 adet bakteriyi biyolojik ve biyokimyasal testlere göre *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* olarak tanılamış ve Çin'de yetiştirilen karpuzlarda ilk kez görüldüğünü bildirmişlerdir.

Mirik ve ark., (2006) Doğu Akdeniz Bölgesi'nde 2005 yılının yaz aylarında Crisby çeşidi karpuzlarda meyve kabuğunda koyu yeşil lekeler, kabukta çatlamalar ve amber sarısı renginde bakteriyel akıntı şeklinde belirtiler olduğunu saptamışlardır. Buralardan yapılan izolasyonlarda floresan olmayan özellikteki bakteriyi izole etmişlerdir. İzole edilen bakteri gram reaksiyonu, LOPAT, patojenite ve biyokimyasal testlere göre *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* olarak tanılanmış ve

karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığının Doğu Akdeniz Bölgesi'nde ilk kez görüldüğü rapor edilmiştir.

Harighi (2007), İran'da karaçalı bitkisi (*Paliurus spina-christi*) yapraklarında düzensiz su emmiş lekeler ve sarı alanlar şeklinde belirtiler olduğunu saptamış, bu kısımlardan yaptığı izolasyonlardan gelişen beyaz renkteki bakteriyi patojenite, fenotipik, biyokimyasal ve fizyolojik testlere göre *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* olarak tanılamıştır. Ayrıca bu etmenin İran'da ilk kez karaçalı bitkisinde hastalık oluşturduğu ortaya konmuştur.

Amadi ve ark., (2009) Nijerya'da 2008 yılı şubat-mayıs ayları arasında karpuz üretim alanlarında yapraklarda düzensiz su emmiş lekeler ve meyvelerde küçük koyu yeşil su emmiş lekeler olduğunu belirlemişlerdir. Bu kısımlardan yaptıkları izolasyonda non-floresan gram negatif bakteriyi izole etmişler ve yaptıkları patojenite testleriyle hastalığa neden olan etmeni *Pseudomonas pseudoalcaligenes* olarak belirlemişlerdir.

Aysan ve ark., (2011) karpuz üretim alanlarında *Acidovorax citrulli*'nin yayılmasında tohum kökenli bulaşmaların önemine dikkat çekmiştir. Hastalık etmeninin 2009 ve 2010 yıllarının yaz aylarında Çukurova Bölgesi'nde Adana ve Osmaniye illerine bağlı köylerde büyük epidemiler yaparak önemli ekonomik kayıplara neden olduğunu bildirmiştir. Ayrıca bu illerde 4763 dekarlık karpuz üretim alanının Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından karantinaya alınarak dört yıl boyunca bu tarlalarda kabakgil üretiminin yasaklandığını da belirtmişlerdir. Fideliklerde de hastalıktan dolayı pek çok karpuz fidesinin imha edildiğini, hastalık belirtilerinin yeşil aksamda ve en önemlisi meyvede büyük zarar oluşturarak ürünü pazarlanamaz hale getirdiğini vurgulamıştır. Hastalık etmeninin tohum kökenli olduğuna, hastalıkla mücadele çeşitli yöntemler uygulansa bile, mücadelede en önemli adımın hastalıksız tohum kullanımı olması gerektiğine dikkat çekmiştir.

Horuz ve Aysan (2011) hasta karpuz meyvelerinin alındığı altı farklı tarladan alınmış karpuz tohumlarını üç ay buzdolabında saklamışlardır. Daha sonra *Acidovorax citrulli*'nin tohumla taşınma oranını belirlemek amacıyla steril torfta yetiştirdikleri bitkilerde, çimlenen tohumların kotiledon yapraklarının arka yüzeyinde su-yağ emmiş lekeler ve nekrotik alanlar şeklinde hastalık belirtileri tespit

etmişlerdir. Her tarladan alınan tohumlardan gelişen fidelerdeki bulaşıklılık oranını % 22-39 olarak saptamışlardır. Lekeli kısımlardan yaptıkları izolasyonlardan elde ettikleri bakterileri ELISA ve türe spesifik PCR testi ile *Acidovorax citrulli* olarak tanılamışlardır. Bu çalışma ile tohumda yüksek oranda saptanan bakteri inokulumunun önemini vurgulamışlardır.

Basım (2012) Antalya'da 2010 ve 2011 yıllarında on farklı fideliğe yaptığı ziyaretlerle kabakgillerde hastalıklara neden olan bakteriyel ve fungal patojenleri belirlemiştir. Üç farklı fidelikte karpuz fidelerinde küçük, düzensiz, su emmiş lekeler şeklinde belirtiler olduğunu saptamıştır. Yaptığı izolasyonlarda hastalığa neden olan etmenin *Acidovorax avenae* subsp*. citrulli* olduğunu bildirmiştir.

Tian ve ark., (2013) Çin'de kabak anacı üzerine aşılı karpuz fidelerinde yanıklık belirtisi gösteren bitkilerden BX-L1/BX-S-R2 primerlerini kullanarak türe spesifik PCR ile *Acidovorax citrulli*'nin fidelerde varlığını ortaya koymuşlardır. Tohum firması karpuz tohumlarının hastalıksız sağlıklı tohum sertifikasına sahip olduğunu ancak, anaç olarak kullanılan kabak tohumlarının ise hastalık varlığı yönünden testlenmediğini beyan etmiştir. Esas inokulum kaynağını bulmak amacıyla çiftçinin elinde kalan karpuz ve kabak tohumları alınmış ve ekstrakte edilen tohumdan hazırlanan süspansiyondan petriye ekim ve türe spesifik PCR yöntemi ile *Acidovorax citrulli* yönünden testlenmiştir. Ayrıca tohumlardan ekim yapılarak fidede belirti izleme yöntemine göre kotiledon lekeleri kontrol edilmiştir. Gelişen kabak fidelerinde kahverengi, düzensiz nekrotik lekeler oluşurken, karpuz fidelerinde herhangi bir belirti olmadığı gözlenmiştir. Sonuç olarak hastalık etmeni bakterinin, aşılama sırasında kabak bitkilerinden karpuz bitkilerine bulaştığı ortaya konmuştur.

Kumagai ve ark., (2014) ABD'nin Kaliforniya eyaletinde kavun üretilen bir tarlada küçük, bronz renkten koyu kırmızımsı kahverengine dönüşen etrafı sarı bir hale ile çevrili V şeklinde düzensiz lekeler olduğunu saptamışlardır. İzolasyonlarda yuvarlak, krem renkte, non-floresan bakteri kolonilerini elde etmişlerdir. Bakteri çubuk şeklinde, gram negatif, oksidaz pozitif, aerobik, tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturan ve 41ºC gelişim gösteren bir etmen olarak belirlenmiştir. Bu testlere ek olarak real-time PCR ve klasik PCR ile kavunda hastalığa neden olan

etmenin *Acidovorax citrulli* olduğunu ve Kaliforniya için ilk rapor olduğunu bildirmişlerdir.

Erfen ve ark., (2014) simptomsuz karpuz fidelerinden *Acidovorax citrulli*'nin epifitik bulaşmalarının saptanmasında kullanılabilecek genel ve yarı seçici besi yerlerini araştırdıkları çalışmada, beş adet genel besi yeri ve yedi adet yarı seçici besi yerini kullanmışlardır. Çalışma sonucunda karışık olmayan temiz bir popülasyondan *Acidovorax citrulli* izolasyonunda genel besi yerlerinden King B ve tryticase soy agar besi yerleri, yarı seçici besi yerlerinden P-278 ve EBBA veya mEBB'nin tercih edilmesini önermişlerdir.

Horuz ve ark., (2014) Doğu Akdeniz Bölgesinde 2010 ve 2011 yılları yaz aylarında kavun üretim alanlarında özellikle yerel bir çeşit olan *Cucumis melo* cv. Surmeli yapraklarında su emmiş lekeler, açık kahverengiden kırmızımsı kahverengiye kadar değişen renklerde düzensiz lekeler ve meyve yüzeyinde su emmiş, yağlımsı görünümde, kabuğun alt yüzeyinde biten ve meyve etine çok işlemeyen koyu yeşil lekeler, çatlamalar ve yumuşamalar olduğunu saptamışlardır. Bu kısımlardan yaptıkları izolasyonlarda otuz beş adet yavaş gelişen, yuvarlak, krem renkte, non floresan özellikte gram negatif bakteriyi izole etmişlerdir. Elde ettikleri bakterileri kavun fide ve meyvesinde patojenite, DAS-ELISA, türe spesifik PCR testleriyle *Acidovorax citrulli* olarak tanılamışlardır. Etmenin Türkiye'de kavunlarda ilk kez saptandığını da rapor etmişlerdir.

Çetinkaya-Yıldız ve Karataş (2014) Doğu Akdeniz Bölgesinde 2011-2012 yılları arasında Adana, Mersin ve Osmaniye illerinde karpuz tarlalarından aldıkları örneklerden 51 adet bakteri izolatı elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bu izolatların tanısını geleneksel yöntemler ve türe spesifik PCR testi ile yapmışlardır. Hastalığın görüldüğü tarlaların Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından karantinaya alınarak bu alanlarda dört yıl boyunca kabakgil üretiminin yasaklandığını bildirmişlerdir. Etmenin toprakta ve tohumda yaşam süresinin belirlenmesi çalışmasında patojenin Osmaniye'den alınan toprakta 180 gün, Adana'dan alınan toprakta 120 gün boyunca yaşamını devam ettirdiği, oda sıcaklığında saklanan karpuz tohumlarında ise dokuz ay canlılığını sürdürdüğünü saptamışlardır.

2.2 Etmenin Genetik Akrabalığının Belirlenmesi Çalışmaları

Walcott ve ark., (2000) 1992-1999 yılları arasında karpuz, kantalop kavunu ve kabak tohum, fide ve meyvelerinden izole ettikleri 121 adet *Acidovorax citrulli* izolatını DNA'nın restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilmesi prensibine dayalı PFGE (Pulse Field Gel Electrophoresis) ve bakterileri hücre duvarındaki farklı yağ asitlerine göre ayıran FAME (Fatty Acid Methyl Esters)'i kullanarak akrabalık durumları yönünden karşılaştırmışlardır. PFGE Analizi sonucunda izolatlar arasında % 84.8 (sekiz haplotip) ve % 15.2 (altı haplotip) oranlarında genotipik olarak iki altgrup olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde FAME analizi de iki farklı fenotipik alt grup olduğunu ortaya koymuştur. Çalışma sonucunda *Acidovorax citrulli* izolatlarının iki grupta olduğu belirlenmiştir. Kavun ve kabaktan elde edilen izolatlar birinci grupta yer alırken, karpuzdan elde edilenlerin ikinci grupta yer aldığı saptanmıştır. Bu çalışma ile özellikle altgrupların ortaya konmasıyla *Acidovorax citrulli'*ye dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi çalışmalarına yardımcı olabileceği bildirilmiştir.

Burdman ve ark., (2005) İsrail'de 2000-2003 yılları arasında karpuz ve kavunlardan izole ettikleri 12 adet izolatı patojenite testi, FAME profili ve substrat kullanım profillerine göre *Acidovorax citrulli* olarak tanılamışlardır. Ayrıca izolatların pulse-field gel elektroforez (PFGE) ve repetitive-PCR teknikleri ile genotipik akrabalık durumlarını ortaya koymuşlardır. PFGE analizlerine göre 12 *Acidovorax citrulli* izolatının beş farklı haplotipe ayrılabileceği, bunlardan dördünün önceden rapor edilmemiş olduğu saptanmıştır. Çalışma sonucunda, daha önce Walcott ve ark., (2000)'in yapmış olduğu çalışmayı destekler nitelikte genotipik açıdan *Acidovorax citrulli'*nin iki farklı grubunun olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu gruplar karpuzdan izole edilen izolatların yer aldığı grup iki ile diğer kabakgillerden izole edilen *Acidovorax citrulli* izolatlarının yer aldığı grup bir olarak saptanmış ve her iki gruptaki *Acidovorax citrulli* izolatlarının İsrail'de bulunduğu vurgulanmıştır.

Wen ve ark., (2008) 59 adet *Acidovorax citrulli* izolatının genotipik akrabalığını AFLP-PCR tekniğiyle belirledikleri çalışmada, 58 izolatın iki alt gruba ayrıldığını ve bu izolatların da % 85 oranında benzerlik gösterdiğini saptamıştır.

İsrail'den izole edilen bir kavun izolatının farklı bir grupta yer aldığını ve diğer *Acidovorax citrulli* izolatlarıyla % 56 benzerlik gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Feng ve ark (2009) içerisinde bir Türkiye izolatının da bulunduğu çeşitli ülkelerden ve Çin'de kavun ve karpuzdan izole ettiği 93 *Acidovorax citrulli* izolatını MLST tekniğiyle karşılaştırmıştır. Çalışmada ABD'nin eyaletleri, Guam, Çin'in tohum üretimi yapılan farklı şehirleri, Kore, Japonya, Brezilya, Malezya ve İsrail'den elde edilen izolatların bulunduğu grupta Türkiye izolatı da yer almıştır. Bu grupta yer alan 24 izolatın ikisi kavundan 22 tanesi karpuzdan 1989-2007 yılları arasında elde edilen izolatlardır. İkinci grupta ise İsrail, Avustralya, Çin'in farklı yöreleri, ABD'nin Georgia eyaletinden elde edilen 15 izolat yer almaktadır. Bu izolatların dördü kavundan, ikisi rockmelondan ve dokuzu karpuzdan izole edilmiştir. Bu ikinci grupta ATTC 29625 kodlu type izolat da bulunmaktadır. Çalışma ile *Acidovorax citrulli* izolatlarının iki gruba ayrıldığı ve her iki grupta kavun ve karpuzdan izole edilmiş izolatların yer aldığı saptanmıştır.

Yan ve ark., (2013) Çin'de *Acidovorax citrulli*'nin oldukça yoğun olduğunu belirttikleri çalışmada, Çin'den ve farklı ülkelerden elde edilen 118 adet *Acidovorax citrulli* izolatının genetik akrabalık durumlarını testlemişlerdir. Öncelikle tüm izolatları patojenite testi, fenotipik karakterizasyon ve türe spesifik PCR testi ile *Acidovorax citrulli* olarak tanılamışlardır. İzolatların genetik karakterizasyonunda PFGE ve multilocus sequence typing (MLST) tekniklerini kullanmışlardır. PFGE testi sonucunda dokuz farklı genotip olduğu, bunların içerisinde konukçular dikkate alındığında birinci grupta kavundan izole edilen izolatların yer aldığı ve ikinci grupta karpuzdan elde edilen *Acidovorax citrulli* izolatlarının yer aldığı saptanmıştır. MLST testine göre izolatlar arasında 73 farklı sekans tipi olduğu ve izolatların üç gruba ayrıldığı ortaya çıkmıştır. Birinci grupta 82 izolat, ikinci grupta 35 izolat ve üçüncü grupta bir izolat yer almıştır. PFGE analizine benzer şekilde birinci grupta kavun izolatları, ikinci grupta karpuzdan elde edilen izolatların varlığı görülmüştür. MLST tekniğinde farklı olarak, Çin'de karpuzdan elde edilen 10 *Acidovorax citrulli* izolatı, birinci grupta yer alan kavun izolatları ile aynı grupta bulunmuştur. Bu durum araştırıcılar tarafından karpuz izolatlarının kavun izolatları ile yakın bir genetik akrabalık olduğunun göstergesi şeklinde yorumlanmıştır. Ayrıca bu çalışma PFGE ve

MLST analizlerini karşılaştıran ve MLST tekniğinin *Acidovorax citrulli* izolatlarını daha iyi gruplandırdığını ortaya koyan ilk çalışma niteliğindedir.

Melo ve ark., (2014) Brezilya'da kavun ve karpuzdan elde ettikleri *Acidovorax citrulli* izolatları ile ABD'den temin ettikleri referans kültürün fenotipik özelliklerini biyokimyasal, patojenite ve serolojik testlerle, genotipik akrabalık durumlarını ise moleküler testlerle ortaya koymuşlardır. On beş farklı biyokimyasal test, her iki kültür bitkisinde patojenite, serolojik yöntem olan DAS-ELISA, moleküler testler olarak türe spesifik PCR ve rep-PCR testleriyle izolatları karşılaştırmışlardır. Yapılan çalışmada biyokimyasal testler, DAS-ELISA ve türe spesifik PCR testine göre tüm izolatlar *Acidovorax citrulli* olarak belirlenmiş ve izolatlar arasında fenotipik yönden bir fark olmadığı saptanmıştır. Ancak, patojenite testlerinde bazı izolatların kavun bitkilerinde daha şiddetli hastalık belirtileri oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca petiolde yara açılıp bu kısma bir damla patojen süspansiyonu damlatıldıktan 36 saat sonra belirtilerin çıktığı ve bu yöntemin hızlı patojenite testi olarak kullanılabileceği önerilmiştir. İzolatların genotipik akrabalık seviyelerinin belirlendiği rep-PCR testine göre tüm izolatlar % 73 oranında benzerlik göstermiştir. İzolatlar kendi aralarında beş farklı grupta yer almıştır. Kavun ve karpuzdan elde edilen bazı izolatların da aynı grupta bulunduğu vurgulanmıştır.

2.3. Hastalığın Biyolojik Mücadelesiyle İlgili Çalışmalar

Fessehaie ve Walcott (2005) çeşitli kültür bitkilerinden izole edilmiş 30 aday antagonist bakteriden *Pseudomonas fluorescens* (A506), *Acidovorax avenae* subp. *avenae* (AAA 99-2) ve karpuz tohumundan izole edilen fakat tanılanmamış bir gram pozitif bakterinin (WS-1) *in vitro* ve *in vivo* koşullarda tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisini araştırmışlardır. *In vitro* denemelerde *Acidovorax avenae* subp. *avenae (*AAA 99-2) kodlu izolat petride 1 cm kadar inhibisyon zonu oluştururken, *Pseudomonas fluorescens* (A506) ve tanılanmamış gram pozitif bakteri (WS-1) izolatları 2 cm'e yakın engelleme zonu oluşturarak patojen gelişimini baskıladığını saptamışlardır.. *In vivo* denemelerde tanılanmamış gram pozitif bakteri (WS-1) izolatı kontrolle kıyaslandığında etkisiz

bulunmuş, *Acidovorax avenae* subp. *avenae (*AAA 99-2) izolatıyla uygulama görmüş tohumlarda ise hastalık % 96.5 oranında baskılanmıştır. Ayrıca karpuz çiçeklerine de bu aday antagonistleri uygulamışlardır. *Pseudomonas fluorescens* (A506) püskürtülmüş çiçeklerde patojen miktarı 6.5 hücre/ml iken, *Acidovorax avenae* subp. *avenae (*AAA 99-2) uygulanmış çiçeklerde bu miktarın 21.5 hücre/ml olduğu gözlenmiştir. Uygulama görmüş çiçeklerden elde edilen tohumların çimlenme durumuna bakıldığında pozitif kontrole göre çok büyük bir fark gözlenmemiştir. Bu çalışma ile karpuz çiçeklerine antagonist bakteri püskürtülmesinin hastalıkla biyolojik mücadeleye yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Oliveira ve ark., (2006) epifitik ve endofitik 96 bakteri ile 69 endofitik fungus izolatını hastalık belirtisi göstermeyen kavun bitkilerinden izole etmiş ve bu antagonistlerin sera koşullarında *Acidovorax citrulli'* ye etkisini araştırmışlardır. Sağlıklı kavun tohumları önce etmenle bulaştırılmış, daha sonra aday antagonistlerin bulunduğu süspansiyonlara daldırılmış ve ekilmiştir. Çimlenen tohumlarda farklı antagonist uygulamalarının inkübasyon süresine, hastalık çıkışına ve hastalık şiddetine etkisini değerlendirmişlerdir. Endofit bakterilerden ENM5 (Tanılanmamış), ENM9 (*Bacillus cereus)*, ENM13 (*Bacillus* sp.) ENM16 (*Bacillus cereus),* ENM32 (*Bacillus subtilis)* ve ENM43 (*Bacillus* sp.) izolatları hastalık gelişimini engellemiştir. Bu izolatların biyolojik mücadelede kullandığı etki mekanizmaları ortaya konmuş, ENM9 (*Bacillus cereus)* ve ENM13 (*Bacillus* sp.) kodlu antagonistlerin fosfatı çözdüğü, ENM5 (Tanılanmamış) kodlu izolatın antibiyosis gösterdiği, ENM43 (*Bacillus* sp.) kodlu izolatın ise HCN (hidrojen siyanür) ürettiğini saptamışlardır. ENM16 (*Bacillus cereus)* ve ENM32 (*Bacillus subtilis)* kodlu izolatların *in vitro*'da gerçekleştirilen hiçbir etki mekanizmasını kullanmadığını bildirmişlerdir.

Santos ve ark., (2006) kavun bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesi hastalığı ile biyolojik mücadelede *Bacillus* spp. tarafından üretilen biyoaktif bileşiklerin tohumdaki patojene etkisini testlemişlerdir. *Bacillus subtilis* R14, *B. megaterium* pv. *cerealis* RAB7, *B. pumilis* C116 ve *Bacillus* sp. MEN2 izolatlarının etkinliğini *in vivo*'da denemişlerdir. *In vitro* koşullarda izolatların etki mekanizmaları petriye yayma tekniğiyle ortaya konmuştur. Geliştirilen biyoaktif bileşikler hemolisis

testi ve yüzey aktif madde aktivitesiyle karakterize edilmiştir. Tüm uygulamalar kontrolden farklı bulunurken, kendi aralarında değerlendirildiklerinde bir farklılık olmadığı gözlenmiştir. *B. megaterium* pv. *cerealis* RAB7 adlı antagonistin hastalık çıkışını % 89.1, hastalık şiddetini % 92.7 oranında azalttığını, inkübasyon süresini 9.8 günden 11.9 güne yükselttiğini, hastalık gelişim eğrisindeki alanı ise 3.36 dan 0.17' ye düşürdüğünü saptamışlardır. *In vitro* testlerde tüm antagonistler patojen gelişimini engellemiş ve bu biyoaktif bileşikler lipopeptitler olarak tanılanmıştır.

Medeiros ve ark., (2009) kavunda bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesi ile biyolojik mücadele amaçlı turptan izole edilen RAB9 (*Bacillus* sp.) ve R9 (Tanılanmamış), kavundan izole edilen MEN19 (*Bacillus* sp.) ve MEN2 (*Paenibacillus lentimorbus*), pamuktan izole edilen JM339 (*Pseudomonas chlororaphis*) ve hıyardan izole edilen PEP91 (*Enterobacter cloacae*) kodlu antagonistleri kavun tohumu ve yapraklarına uygulamış ve kavun kök, gövde ve tohumundaki kolonizasyon durumlarını incelemişlerdir. RAB9 (*Bacillus* sp.) hastalıkla bulaşık tohumlara tohum uygulaması olarak uygulandığında hastalık gelişim eğrisindeki alanı % 47 oranında azaltmış ve inkübasyon süresini (inokulasyon ile ilk belirti gözlenene kadar geçen süre) % 18-35 oranında uzatmıştır. *In vitro* antibiyosis testlerinde JM339 (*Pseudomonas chlororaphis*) 1.07 cm, PEP91 (*Enterobacter cloacae*) 0.77 cm ve MEN2 (*Paenibacillus lentimorbus*) 0.73 cm inhibisyon zonu oluşturarak patojeni baskılamıştır. Yapraklara püskürtülen MEN2 (*Paenibacillus lentimorbus*) izolatı hastalık gelişim eğrisindeki alanı % 88, hastalık şiddetini % 81 ve hastalık çıkışını ise % 77 oranlarında azaltmıştır. Rifampicin ve nalidiksik asit mutantı RAB9 (*Bacillus* sp.) kavun tohumu yüzeyinde epifitik olarak uygulamadan 12 saat sonra, kavun köklerinde endofitik ve gövdesinde ise epifitik olarak uygulamadan 10 gün sonra bile saptanmıştır. Antagonist bakterinin kavun kök ve gövdesinde iyi bir kolonizasyona sahip olduğu saptanmıştır.

Wang ve ark., (2009) Çin'de yürüttükleri çalışmada hami kavununda (*Cucumis melo* var. *saccharinus*) bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesine neden olan *Acidovorax citrulli* ile biyolojik mücadelede kullanılabilecek antagonist mayaları araştırmışlardır. Çin'in üç farklı ilinde yetiştirilen farklı kültür bitkilerinin sağlıklı yaprak ve çiçeklerinden aldıkları toplam 283 bitki örneğinden 463 adet aday

antagonist maya izole etmişlerdir. Bunlardan 24 tanesinin petri denemelerinde *Acidovorax citrulli* gelişimini baskıladığını saptamışlardır. 24 izolattan sekizinin 18 mm'den geniş inhibisyon zonu oluşturduğunu da bildirmişlerdir. Karpuzdan izole edilen 0732-1 kodlu maya izolatının en yüksek inhibisyon zonuna sahip olduğu, hastalık çıkışını % 43-49 oranında engellerken, hastalık şiddetini % 13-19 oranına düşürdüğünü saptamışlardır. 0732-1 kodlu maya izolatı morfolojik, fizyolojik testler ve ITS bölgelerinin sekansına göre *Pichia anomala* (Hansen) Kurtzman olarak tanılanmıştır. Araştırıcılar bu maya izolatının *Acidovorax citrulli* ile biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

Johnson ve ark., (2011) patojenik olmayan *Acidovorax citrulli* izolatının karpuzda bakteriyel meyve lekesine karşı biyolojik tohum uygulaması olarak etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla antagonist bakteri *Acidovorax citrulli* patojen bakteride *hrcC* geni silinmesiyle tip 3 salgı sistemine mutant hale getirilmiş ve karpuz tohumlarına uygulanarak tohum çimlenmesi esnasında ne oranda kolonize olduğu ortaya konmuştur. Patojen bakteri, antagonist bakteri ve *hrcC* mutasyon komplementeri bulaştırılmış karpuz tohumları plastik küvetlerde nem tutucu filtre kağıtları arasında 30ºC ve % 100 nem koşullarında çimlenmeye bırakmışlardır. Bu uygulamadan 0, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96 saat sonra tohum örnekleri alarak patojenik olmayan mutant *Acidovorax citrulli*'nin tohumda kolonizasyonunu belirlemişlerdir. Uygulamadan 96 saat sonra popülasyonda artış olduğunu bildirmişlerdir. Patojenle doğal bulaşık tohumlara mutant bakteri uygulandıktan sonra gelişen fidelerde hastalık oranı % 10 iken uygulama görmemiş doğal bulaşık tohumlardan gelişen fidelerde hastalık oranının % 55 olduğunu saptamışlardır. Sera koşullarında mutant bakterinin hastalık çıkışına etkisi araştırıldığında doğal enfekteli tohumlardan gelişen fidelerde hastalık çıkışı % 37, mutant uygulanmış tohumdan gelişen fidelerde % 23 olduğu ortaya konmuştur. Araştırıcılar patojenik olmayan *Acidovorax citrulli* izolatının karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalığı ile entegre mücadele programlarına biyolojik tohum uygulaması olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Mengulluoglu ve Soylu (2012) Lamiaceae familyası içerisinde yer alan kekik, mercanköşkü, nane, lavanta, oğulotu, biberiye ve fesleğen bitki estraktlarından elde edilen uçucu yağların *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*'ye antibakteriyel etkisini *in*

vitro petri testleriyle ortaya koymuştur. Kekik ve marcanköşkünden elde edilen uçucu yağların patojen gelişimini baskılayan başarılı uçucu yağlar olduğunu ve bunların gelecekte tohum uygulaması olarak hastalıkla biyolojik mücadelede kullanılma potansiyellerinin bulunduğunu bildirmişlerdir.

Basım ve Basım (2014) gül (*Rosa damascena* L.) yağının *Acidovorax citrulli*'ye antibakteriyel etkisini ve tohuma uygulama olarak koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Etmene karşı en etkili antibakteriyel doz 50 µg/ml olarak bulunmuştur. 50 µg/ml gül yağı ile muamele edilmiş karpuz tohumlarında patojen gelişimi tamamen engellenmiştir ve uygulanan dozun tohum çimlenmesine herhangi bir etkisi olmadığı da saptanmıştır. Çalışma ile gül yağının *Acidovorax citrulli'*ye karşı doğal bir tohum koruyucu olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur.

Conceiçao ve ark., (2014) kavun yaprak ve meyvesinden izole ettikleri antagonist *Rhodotorula aurantiaca* LMA1, *Rhodotorula glutinis* LMS ve *Pichia anomala* CC-2 kodlu maya izolatlarının ve silikonun (kalsiyum silikat) kavun bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisini araştırmışlardır. Tohum uygulamalarında kavun tohumları ekilmeden 25 gün önce silikon toprağa karıştırılmış, antagonist mayalar ise kavun tohumu çimlendikten sonra kotiledon yapraklara püskürtülmüştür. Bu uygulamadan 24 saat sonra patojen bakteri *Acidovorax citrulli* yapraklara püskürtülmüştür. Yapılan uygulamalar sonucunda antagonist maya *Rhodotorula aurantiaca* LMA1 ve silikon tek olarak veya kombinasyon halinde kullanıldıklarında 29 gün boyunca kavun bitkilerinde hastalık çıkışını engellediği saptanmıştır.

Farimaz ve ark., (2014) çeşitli bitki aktivatörleri ve ticari gübrelerin karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisini araştırdıkları çalışmada 12 farklı preparatı (ISR-2000, Crop-Set, Stubble-Aid, Messenger, Peras INC-2, Biocrop L45, Biozyme TF, Seaweed, Reva Zinc, Streptomicin, Okey ve Peras) denemişlerdir. Deneme sonuçlarına göre, Crop-Set hariç tüm preparatların % 15-58 oranında hastalığı baskıladığını belirlemişlerdir. Reva Zinc uygulaması hastalığı ortalama % 58, Stubble-Aid uygulaması hastalığı ortalama % 53 oranında engellemiştir. Karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığının mücadelesinde en etkili tohum uygulamasının Reva Zinc ve Stubble-Aid olduğu saptanmış ve bu iki preparatı tohum uygulamaları olarak pratikte kullanılabilir olarak değerlendirmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Patojen İzolatlar: Çalışmada kullanılan patojen *Acidovorax citrulli* izolatları (Çizelge 4.2) Adana (Ceyhan, Karataş, Kozan, Yüreğir ilçeleri), Antalya (Serik ilçesi), Mersin ve Osmaniye (Kadirli ilçesi) illerindeki karpuz ve kavun üretim alanlarından ve ticari fideliklerden izole edilmiştir.

Karşılaştırma Kültürleri: Testlerde karşılaştırma kültürleri olarak Prof. Dr. Yeşim AYSAN'ın kültür koleksiyonunda bulunan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (YA-2 kodlu), *Erwinia amylovora* (A 1/1 kodlu), *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (BD 8/2b), *Pseudomonas syringae* pv *tomato (*Pst 1 1r kodlu), *Acidovorax citrulli* (Taşçı kodlu) izolatları, Ron R. Walcott (University of Georgia, Department of Plant Pathology, Athens, USA) ve Dr. Harrie Koenraadt (Naktuinbouw, Research&Development, The Netherlands) isimli araştırıcılardan temin edilen kabakgil bitkilerinden izole edilmiş *Acidovorax citrulli* izolatları ile çeşitli kültür bitkilerinden izole edilmiş *Acidovorax* genusu içerisinde yer alan diğer türlere ait (*Acidovorax avenae, A. cattleyae, A. facilis, A. konjaci, A.* sp. *A. valerianellae*) izolatlar kullanılmıştır. AFLP-PCR testinde kullanılan kültürler 15 farklı ülkeden (Almanya, Amerika, Avustralya, Belçika, Brezilya, Çin, Danimarka, Fransa, Hollanda, Honduras, İsrail, Kosta Rika, Meksika, Peru, Tayland) temin edilmiştir.

Besi Yerleri: Prof. Dr. Yeşim AYSAN danışmanlığında yüksek lisans tezini tamamlayan Erfen (2011)'in yüksek lisans tez çalışmasında testlediği 12 adet farklı besi yerinden *Acidovorax citrulli*'nin en iyi geliştiğini belirlediği genel besi yeri olarak King B (Lelliott ve Stead, 1987) (Ek 1), kullanılırken, yarı seçici besi yerleri olarak modifiye edilmiş ethanol bromcresol purple brilliant blue (mEBB) (Zhao ve ark., 2009) (Ek 2) ve P-278 (Randhawa ve ark., 2001) (Ek 1) besi yerleri bu tez çalışmasında kullanılmıştır. Çiçek ve yapraktan antagonist maya izolasyonunda nutrient yeast dekstroz agar (NYDA) (Ek 3) (Droby ve ark., 1990), topraktaki fosforu çözen antagonist bakteri izolasyonu çalışmalarında ise NBRIP (National Botanical

Research Institute's phosphate growth medium) (Ek 3) besi yeri kullanılmıştır (Nautiyal, 1999). Ayrıca bakteri kültürlerinin uzun süre -80 ºC ve -20 ºC'de saklanmasında % 20 gliserol+nutrient broth (750 µl steril nutrient broth+ 750 µl % 40'lık steril gliserol) ve +4 ºC'de muhafazası için Yeast Extrakt Kalsiyum Karbonat Agar (YDCA) (Lelliott ve Stead, 1987) (Ek 2) besiyeri kullanılmıştır.

Antibiyotikler: P-278 besi yerinde seçiciliği arttırmaya yardımcı antibiyotikler olarak ampicillin (Sigma A9393), cefaclor (Sigma C6895), cycloheximide (Sigma C7698), gentamycin (Sigma G1914), vancomycin (Sigma V2002), 5-flourocil (Sigma F6627) kullanılmıştır. Cycloheximide ve ampicillin % 70 etil alkol içerisinde, cefaclor, gentamycin, vancomycin ve 5-flourocil saf su içerisinde çözdürülerek her bir antibiyotikten ayrı ayrı stok solüsyonlar hazırlanmıştır.

ELISA Tanı Kiti: Agdia marka (Agdia Inc., Belkart, USA) SRA 14800 Reagent Set kodlu *Acidovorax citrulli*'ye spesifik monoklonal antiserum içeren DAS-ELISA ticari tanı kiti kullanılmıştır.

Karpuz Tohum ve Fideleri: Patojenite testi ve tohum uygulamaları çalışmalarında Crimson Sweet (Nickerson Zwaan, Made, The Netherlands) çeşit standart tipi karpuz tohumları kullanılmıştır. Sera denemelerinde 501 F1 (Tasaco, Antalya) karpuz çeşidi ve tarla denemelerinde kullanılan Üstün F1 (Yüksel Tohum, Aksu, Antalya) karpuz fideleri Atlas Fide (Yeniyayla Köyü, Sarıçam, Adana) firmasından temin edilerek çalışmalarda kullanılmıştır.

Alet ve Ekipmanlar: Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitobakteriyoloji laboratuvarında halihazırda bulunan hassas terazi (Sartorius TE214S), otoklav (Hirayama Hiclave HV 50 L), pH metre (WTW 315i), etüv (Memmert), inkübatörler (Memmert ve Nüve ES 500), erlen ısıtıcı ve karıştırıcı (Heidolph MR Hei-Standard), erlen ve beher çalkalayıcı (Heidolph Unimax 1010), su banyosu (GFL W. Krannich), saf su cihazı (Millipore Rios-DI), steril kabin (Holten HH 36), tüp çalkalayıcı (Heidolph Reax Top), spektrofotometre (Shimadzu UV-120-01), mikrotüp santrifüj (Hettich Universal 320 R), jel elektroforez (Bio-Rad), thermocycler (Techne TC-4000), ELISA pleyt okuyucu (Medispec ESR 200), derin dondurucular (Bosch Ged 2620, Revco ULT 2186), no-frost buzdolabı (Vestel

NT 540) bu tez çalışmasında kullanılmıştır. Ayrıca Naktuinbouw (Hollanda)'da bulunan poliakrilamid jel elektroforez (Li-Cor 4300 DNA Analyzer), agaroz jel elektroforez (Bio-Rad marka), mikrotüp santrifüj (Eppendorf marka), thermocycler (Bio-Rad, PTC 200 DNA Engine Peltier) cihaz ve aletleri kullanılmıştır.

PCR Malzemeleri: Çalışmada Walcott ve Gitaitis (2000)'in bildirdiği gen dizilimi Iontek (İstanbul) firması tarafından sentezlenen etmene spesifik WFB1 (5'-GAC CAG CCA CAC TGG GAC-3') ve WFB2 (5'-CTG CCG TAC TCC AGC GAT-3') primerleri, PCR master mix (Thermo Fisher Scientific, K0171), agaroz (Sigma, A9539), TAE Buffer (Merck, 1.06023), nuclease free water, PCR tüpü, 100 bp DNA ladder (Thermo Fisher Scientific, SM0241), One-Phor-All-Buffer (Amersham), enzimler (Biolabs, R0619L ve R0525L), bovine serum albumin (NEB, B9001S), Dithiothreitol (Amersham), PCR RXN Buffer (Invitrogen, P/N Y02028), $MgCI_2$ (Invitrogen, P/N Y02016) malzemeleri kullanılmıştır.

3.2. Metod

3.2.1. Hastalık Belirtisi Gösteren Karpuz ve Kavun Bitkilerinin Toplanması

Karpuz üretiminin yoğun şekilde yapıldığı Adana iline bağlı ilçelerde (Ceyhan, Karataş, Kozan, Yumurtalık, Yüreğir), Mersin ve Osmaniye iline bağlı Kadirli ilçesine bağlı alanlarda üretim yapan çiftçi, ilçelerde Tarım Bakanlığı'na bağlı kurumlarda çalışan ziraat mühendisleri ve zirai ilaç bayilerinden bakteriyel meyve lekesi şüphesiyle 2010 yılında laboratuvarımıza getirilen ya da gönderilen 10 adet karpuz ve sekiz adet kavun örnekleri analiz edilmiştir. Ayrıca bu örneklerin içerisinde tipik hastalık belirtisi gösteren karpuz meyvelerinin yanı sıra 2011 ve 2012 yılları yaz aylarında hastalık belirtisi şikayetlerinin geldiği 15 adet karpuz tarlası ziyaret edilmiş, hastalık belirtisi gösteren yaprak ve meyvelerden örnekler toplanmış ve resimleri çekilmiştir. Özellikle yağ emmiş görünümde, su emmiş leke ve kahverengi lekelerin olduğu yaprak örnekleri seçilmiştir. Meyvelerde ise, meyve kabuğunda su emmiş, koyu yeşil renkte, kabukta çatlamalar veya çatlaklardan dışarı sızan akıntıların olduğu meyvelerden örnekler alınmıştır. Toplanan yaprak ve meyve

örnekleri gazete kağıdına sarılarak polietilen torbalara konulmuş, ziyaret süresi boyunca buz kutusu içerisinde veya aracın güneş almayan bagaj kısmında muhafaza edilip laboratuvara getirilmiştir.

Adana ve Mersin'de ticari karpuz fidesi yetiştiriciliği yapan iki fidelik 2010 ve 2011 yıllarında karpuzun tohumdan en yoğun dönemde fide haline getirildiği Ocak ve Şubat aylarında ziyaret edilmiştir. Kotiledon yaprakların arka tarafında su emmiş lekeler, gerçek yapraklarda kahverengi yanıklıkların olduğu fideler bakteriyel fide yanıklığı belirtisi şüphesiyle alınmış ve kökün olduğu toprak kısmı bir polietilen torbaya sarılı halde fideler polietilen torbalar içerisinde izolasyon için laboratuvara getirilmiştir. Ayrıca fide üreticisi firma sahiplerinin karpuz ve kavun fidelerinde hızlı ölümlerin olduğu şikayetiyle laboratuvarımıza ulaştırdığı örnekler de çalışmada kullanılmıştır.

Bu doktora tezine başlamadan önce 2009 yılında Dr. Hatice Selçuk ve Zir. Yük. Müh. Ali Karataş tarafından bölgede hastalığın görüldüğü alanlardan izole ettikleri ve tanıladıkları *Acidovorax citrulli* izolatları da çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2.2. Karpuz ve Kavun Bitkilerinden Bakteriyel Etmenin İzolasyonu

Laboratuvara getirilen hastalıklı karpuz yaprakları akan çeşme suyu altında yıkanmış ve kurutulmuştur. Kotiledon yapraklarda su emmiş lekeler ve gerçek yapraklarda kahverengi lekeler ile hastalıklı meyvelerin kabuk yüzeyi sıyrılarak etli kısımda gözlenen kahverengi-sarı lekelerden hastalıklı ve sağlam dokuyu içerecek şekilde 1-3 mm çapında parçalar alınmıştır. Her parça % 70'lik alkolle yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulduktan sonra steril porselen havanlarda ezilmiş ve 2 ml kadar steril salin buffer (% 0.85'lik NaCI çözeltisi) ile homojenize edilmiştir. Daha sonra bu süspansiyondan 1 öze dolusu alınarak King B besi yerine üç çizgi yöntemiyle çizimleri gerçekleştirilmiştir. Petriler bakteri gelişiminin sağlanması için 25 ºC'de inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan 24-48 saat içerisinde King B besi yerinde gelişen krem renkte koloniler saflaştırılarak izolatlar elde edilmiştir. İzolatlar daha sonraki testlerde kullanılmak üzere yeast dekstroz kalsiyum karbonat agar (YDCA) besi yerinde geliştirilip patojen bakteri +4 ºC buzdolabında

yaşamını sürdüremediğinden +5 ºC'de ya da oda koşullarında muhafaza edilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987). Uzun süre bakteri muhafazası için mikrosantrifüj tüplere (1.5 ml) ilave edilen steril nutrient broth içerisine bir öze dolusu bakteri eklenmiş ve üzerine % 40'lık steril gliserin eklenerek tüpler -80 ºC'de derin dondurucuda saklanmıştır.

3.2.3. Elde Edilen İzolatların Klasik Testlerle Tanısı

Hastalık belirtisi gösteren karpuz ve kavun bitkilerinin yaprak, fide ve meyvelerinden izole edilen bakteri izolatlarının klasik testlerle tanısı yapılmıştır. Bu amaçla izolatların patojenitesi iki yapraklı dönemde olan sağlıklı karpuz fidesi ve sağlıklı karpuz ve kavun meyveleri kullanılarak belirlenmiştir. Morfolojik özellikleri genel (King B) ve yarı seçici (P-278 ve mEBB) besi yerlerindeki koloni gelişimleri gözlenerek ortaya konmuştur. Fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi için % 3'lük potasyum hidroksit (KOH) ile gram reaksiyonu ve LOPAT (levan tipte bakteriyel gelişim, oksidaz reaksiyonu, patates dilimlerinde pektolitik aktivite, arginin dehidrolaz aktivitesi, tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu) testleri yapılmıştır.

Patojenite Testi: Elde edilen bakteri izolatlarının patojenite testi iki yapraklı dönemde (kotiledon) olan karpuz fidelerinde, sağlıklı karpuz ve kavun meyvelerinde gerçekleştirilmiştir.

Karpuz kotiledon yapraklarında patojenite testi için karpuz tohumları küvetlere ekilmiş, 2 yapraklı döneme geldiğinde patojenite çalışmalarında kullanılmıştır. İnkübatörde 48 saat geliştirilmiş her bir taze bakteri kültüründen spektrofotometre yardımıyla 600 nm dalga boyunda 0.2 ölçüm değerine ayarlanarak süspansiyonlar hazırlanmış, her bir örnekten 50-100 µl alınarak karpuz kotiledon yapraklarının arka yüzeyine bir enjektör yardımıyla 50 µl infiltre edilmiştir. Karpuz bitkileri 30 ºC sıcaklık ve % 70-80 nemde 16 saat aydınlık 8 saat karanlık koşullarına ayarlı iklim odasında muhafaza edilmiştir. Kotiledon yapraklarda su emmiş alanların oluşumuna göre belirti var/yok olarak değerlendirilmiş ve su emmiş lekelerden re-izolasyonlar gerçekleştirilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan Taşçı kodlu izolat

da aynı yöntemle bulaştırılmıştır. Negatif kontrol olarak kotiledon yapraklara saf su enjekte edilmiştir.

Aynı şekilde patojenite testinde kullanılmak amacıyla sağlıklı tarladan temin edilen sağlıklı karpuz ve kavun meyvelerinin yüzeyi çeşme suyuyla iyice yıkanmış ve kurutulmuştur. Her bir taze bakteri izolatından hazırlanan karışım spektrofotometrede A_{600}: 0.2 ölçüm değerine ayarlanarak süspansiyonlar hazırlanmıştır. Her bir süspansiyondan 100 µl enjektörle karpuz ve kavun meyvelerinin dış kabuğundan meyve etine doğru infiltre edilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan Taşçı kodlu izolat aynı şekilde bulaştırılmıştır. Negatif kontrol olarak meyvelere aynı oranda saf su enjekte edilmiştir. Uygulama görmüş karpuz ve kavun meyveleri ortalama 30 ºC sıcaklık ve % 70-80 nemde 16 saat aydınlık 8 saat karanlık koşullarına ayarlı iklim odasında muhafaza edilmiştir. Meyve etinde renk değişimi ve çürüme oluşumu gözlenene kadar meyveler bekletilmiş ve izolatların patojen olma özelliklerinin varlığı/yokluğu olarak değerlendirilmiştir. Söz konusu belirtileri gösteren meyvelerden re-izolasyonlar gerçekleştirilmiş ve elde edilen re-izolatlarla tanı çalışmalarına geçilmiştir.

Koloni Morfolojisi: Erfen (2011)'in tamamladığı yüksek lisans tezinde *Acidovorax citrulli* izolasyonunda kullanılabilecek en uygun besi yerlerini saptamak amacıyla 5 adet genel ve 7 adet yarı seçici besi yerini testlemiş ve King B, mEBB ve P-278 besi yerlerini etmen izolasyonu için en uygun olarak önermiştir. Bu verilerden yola çıkarak çalışmada etmen izolasyonu için önerdiği genel besiyeri (King B) ve yarı seçici besi yerlerinde (P-278 ve mEBB) bakteri izolatlarının koloni gelişimi izlenmiştir. 25 ºC'de inkübasyondan sonra King B besi yerinde çizimden 24-48 saat sonra petride 2-3 mm çapında krem renkte, floresan olmayan tipte, yuvarlak kolonilerin varlığı, P-278 besi yerinde 48 saat inkübasyon sonrası 3-4 mm çapında, lila (açık mor) renkte, yaşlandıkça (7-10 gün sonra) ortası koyu yeşil etrafı açık mor renkte koloniler ve mEBB besi yerinde ise 7 gün inkübasyondan sonra 1-2 mm çapında, mavimsi yeşil renkte kolonilerin olması durumuna göre değerlendirilmiştir.

Potasyum Hidroksit (KOH) ile Gram Reaksiyonu Testi: Potasyum hidroksit Gram negatif bakterilerin hücre duvarını parçaladığı için bakteri DNA'sı açığa çıktığından sünme gerçekleşir ve bu testle bakterilerin gram özellikleri

belirlenir. Bu amaçla taze olarak hazırlanan % 3'lük potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi lam üzerine 1 damla (yaklaşık 20 µl) damlatıldıktan sonra 24-48 saatlik bakteri izolatları özeyle alınmış ve çözelti içerisinde dairesel hareketlerle iyice karıştırılmıştır. Öze 5-10 saniye sonra hafifçe yukarı doğru kaldırıldığında KOH vizkoz ve yoğun bir durum alarak 1-3 cm veya daha fazla iplik gibi uzarsa bakteri DNA'sı açığa çıkmıştır Bu durum pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir. Bu durumun gözlendiği bakteri ise gram negatif bakteri olarak değerlendirilmiştir. Kontrol olarak gram pozitif özelliğe sahip YA-2 kodlu *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatı, gram negatif özelliğe sahip Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı kullanılmıştır.

Levan Tipte Bakteri Gelişimi: Sakkaroz nutrient agar besi yerinde sakkaroz ya da sükrozu glikoz yerine tek var olan karbonhidrat olarak kullanan bakteriler bu besi yerinde beyaz renkte, mukoid tipte, kubbe şeklinde gelişim gösterirler. Bu amaçla önceden hazırlanmış içerisinde % 5 oranında sakkaroz bulunan sakkaroz nutrient agar (SNA) besi yerine (Ek 3) re-izolatlar ve referans izolatlar çizgi ekim yöntemiyle çizilmistir. Beyaz renkte, mukoid tipte, kubbe şeklinde gelişen izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. Bu testte pozitif özelliğe sahip A 1/1 kodlu *Erwinia amylovora* izolatı, negatif kontrol olarak Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı kullanılmıştır.

Oksidaz Testi: Sitokrom oksidaz enzimini üreten bakterileri ayırt etmek için taze olarak hazırlanan % 1'lik N;N;N;N'-Tetramethyl-1.4 phenylene diammonium diclorid solüsyonundan 1 damla steril filtre kağıdına damlatılarak platin öze ile alınan 48 saatlik taze bakteri kültürleri solüsyonun damlatıldığı yere iyice sürülmüştür. Uygulamadan yaklaşık 5-10 saniye sonra koyu mor rengin oluşması pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı, negatif kontrol olarak Pst 1 1r kodlu *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatı kullanılmıştır.

Pektolitik Aktivite Testi: Pektolitik enzim üreten bakterileri ayırt etmek için bu testte seçilen patatesler öncelikle çeşme suyunda iyice yıkanmıştır. Daha sonra patatesler % 1'lik sodyum hipokloritte (NaOCI) 5 dakika bekletilmiştir. Ardından iki kez saf sudan geçirilerek yüzey dezenfeksiyonu gerçekleştirilmiştir. Yüzeysel olarak

dezenfekte edilen patateslerin kabuğu steril bir bıçakla soyularak 2-3 mm kalınlığında halkalar kesilerek steril petriler içerisinde bulunan steril kurutma kağıtları üzerine tek tek yerleştirilmiştir. Patates dilimleri üzerine 48 saatlik taze bakteri kültüründen bir öze dolusu bulaştırılmıştır. Kurutma kağıtları 1-2 ml steril saf su ile nemlendirilmiş ve petriler 25 ºC'de 24-48 saatlik inkübe edildikten sonra patates dilimleri değerlendirilmiştir. Değerlendirmede patates diliminde yumuşama, hafif pis koku ve suda sararma oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak BD 8/2b kodlu *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* izolatı, negatif kontrol olarak Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı kullanılmıştır.

Arginin Dehidrolaz Testi: Testte Thornley 2A (Litrede 1g peptone, 5g NaCI, 0.3g K_2HPO_4, 3g agar, 0.01g phenol red, 10g DL-Arginine HCI) besi yeri kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987). Agar dışındaki kimyasallar eritilip besi yeri turuncu-pembe renk alana kadar pH:7.2'ye ayarlanmış, agar eklendikten sonra karıştırıcıda bulunan besi yeri ısıtılarak agarın da iyice erimesi sağlanmıştır. Hazırlanan besi yeri tüplere 3 ml olacak şekilde eklenmiş ve 121 ºC ve 1.2 atm basınçlı otoklavda 20 dakika sterilize edilmiştir. Ardından 24-48 saatlik kültürler tüplere bir öze dolusu aşılanmış ve üzerine 2 ml steril parafin eklenerek 7 gün süreyle 25 ºC'de inkübatörde bekletilmiştir. Negatif kontrol olarak iki tüp aşılanmamıştır. Değerlendirmede besi yeri pembe-kırmızı renk aldığında pozitif, normal renk olan açık turuncu-pembe renkte kalanlar negatif olarak değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Pozitif kontrol olarak BD-1 kodlu *Pseudomonas corrugata* izolatı ve negatif kontrol olarak Pst 1 1r kodlu *Pseudomonas syringae* pv *tomato* izolatı kullanılmıştır.

Tütünde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu: Besi yerinde 24-48 saat geliştirilen re-izolatlardan salin buffer içerisinde 10^8 hücre/ml yoğunluğunda süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonların her biri tütün (*Nicotiana tabacum* cv. Adıyaman) bitkisinin yan damarlarında iki damar arasındaki alana insülin iğnesi ile enjekte edilmiştir. İnokulasyon yapılan bölgede 24-48 saat sonra bir çökme ve su emmiş gibi görüntü oluşması pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Negatif kontrol olarak saf su, pozitif kontrol olarak Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı inokule edilmiştir.

3.2.4. Elde Edilen İzolatların Serolojik Test ile Tanısı

Doktora çalışmasında Adana, Antalya, Mersin ve Osmaniye illerinden elde edilen ve klasik testlere göre *Acidovorax citrulli* olarak tanılanan re-izolatlar içerisinden seçilen, özellikleri Çizelge 3.1'de verilen 17 izolatın tanı sonuçlarını desteklemek amacıyla DAS-ELISA ile tanısı yapılmıştır. DAS-ELISA testi Agdia marka ticari kitte (CAB 14800) belirtilen prosedüre göre yapılmıştır. Negatif kontrol olarak sağlıklı karpuz bitkisi yaprağı, pozitif kontrol olarak Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı kullanılmıştır. Her izolat iki tekrarlı ve her tekrar 200 µl olarak ELISA Pleyt'inde belirtilen çukurlara yüklenmiştir.

Çizelge 3.1 ELISA testinde kullanılan *Acidovorax citrulli* izolatları

No	İzolat Adı	İzole Edildiği Yer	Bitki	Materyal	Yıl
1	Taşçı (Pozitif kontrol)	Taşçı Köyü /Yüreğir/Adana	Karpuz	Meyve	2009
2	5/1d	Tuzla/Karataş/Adana	Kavun	Meyve	2010
3	6c	Tuzla/Karataş/Adana	Kavun	Meyve	2010
4	7a	Tuzla/Karataş/Adana	Kavun	Meyve	2010
5	9/1c	Kapı Köyü /Tuzla/Adana	Kavun	Meyve	2010
6	15-1e	Beyköy/Karataş/Adana	Karpuz	Meyve	2010
7	23-1a	Tabaklar Köyü/Tuzla/Adana	Karpuz	Meyve	2010
8	25d	Tabaklar Köyü/Tuzla/Adana	Karpuz	Meyve	2010
9	30c	Tabaklar Köyü/Tuzla/Adana	Karpuz	Meyve	2010
10	Kavun 2a	Tuzla/Karataş/Adana	Kavun	Meyve	2010
11	SH-60	Ticari Fidelik/Mersin	Kavun	Fide	2010
12	SH-61	Ticari Fidelik/Mersin	Kavun	Fide	2010
13	İK 4|1	Serik/Antalya	Karpuz	Fide	2011
14	İK 5/2	Manavgat/Antalya	Karpuz	Fide	2011
15	SH-2	Irmakbaşı Kilise Köyü/Yüreğir/Adana	Karpuz	Meyve	2011
16	SH-11	Ticari Fidelik/Adana	Karpuz	Fide	2011
17	SH-43	Kösreli Köyü/Ceyhan/Adana	Karpuz	Yaprak	2011
18	Kadirli 1 Ac 1	Sumbas/Kadirli/Osmaniye	Karpuz	Meyve	2012

Çalışmada, öncelikle capture antibody 1:200 oranında carbonate coating buffer (1.59 g sodyum karbonat, 2.93 g sodyum bikarbonat, 0.2 g sodyum azid, 1 litre saf su, pH 9.6) ile seyreltilmiş ve ELISA çukurlarına 2 tekrarlı olarak 200 µl

eklenmiştir. ELISA Pleyt naylon poşetle iyice kapatılarak oda koşullarında nem çemberi içerisinde 4 saat inkübe edilmiştir. Bu süre içerisinde general extract buffer (27.9 g buffer tozu, 500 ml saf su) hazırlanmıştır. Daha sonra steril mikrosantrifüj tüpü içerisine 300 µl general extract buffer (GEB2) eklenmiştir. 24-48 saatlik re-izolatlardan kürdan yardımıyla alınarak GEB2 içeren mikrosantrifüj tüplerine alınmış ve tüp karıştırıcında iyice karıştırılarak süspansiyon elde edilmiştir. Süre bitiminde ELISA pleyt'i inkübatörden alınmış ve 1X PBST yıkama tamponu (8 g sodyum klorid, 1.15 g dibazik sodyum fosfat, 0.2 g monobazik potasyum fosfat, 0.2 g potasyum klorid, 0.5 g Tween 20, 1 litre saf su) ile yıkanmıştır. Çukurların iyice yıkama tamponundan arınması için pleyt hızlıca bir havlu üzerine vurulmuştur. Yıkama işlemi iki kez tekrarlanmıştır. Ardından çukurlara mikrosantrifüj tüplerde hazırlanan örneklerden 200 µl eklenmiş, aynı miktarda negatif kontrol, pozitif kontrol ve general ekstrakt buffer pleyt'de belirtilen yerlerine yüklenmiştir. ELISA Kiti naylon poşetle sarılarak bir gün (24 saat) 4 ºC'de bekletilmiştir. Ertesi gün pleyt alınarak 1X PBST yıkama tamponu ile 6-8 kez yıkanmıştır. Alkalin fosfataz enzim conjugate RUB3 enzim conjugate diluent ile 1/200 oranında seyreltilmiştir. Daha sonra her bir çukura enzim conjugate eklenmiş ve pleyt naylon poşet ile kaplanarak oda koşullarında nem çemberi içerisinde 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra pleyt 1X PBST yıkama tamponu ile 6-8 kez yıkanmıştır. Ardından her bir çukura 200 µl 1X PNP buffer (0.1 mg magnezyum klorid hekzahidrat, 0.2 g sodyum asit, 97 ml diethanolamine 800 ml saf su içerisinde çözdürülmüştür. pH 9.8'e ayarlanmış, ardından hacim saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır) eklenmiştir. Pleyt naylon poşetle kapatılarak karanlıkta bekletilmiştir. Son aşama tamamlandıktan sonra sonuçlar 5. ve 20. dakika olmak üzere iki kez Medispec ESR 200 marka ELISA pleyt okuyucusunda 405 nm absorbans değerinde okunmuştur. Negatif kontrolün iki katı veya daha yüksek olan değerler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Farklı Yoğunluktaki Patojenin DAS-ELISA Testiyle Tanısı: Daha önceki çalışmalarda $1.44x10^8$ hücre/ml yoğunlukta olduğu saptanan Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatından hazırlanan süspansiyon spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0.2 ölçüm değerine ayarlanmış ve bu süspansiyondan seyreltme serileri hazırlanarak her bir seyreltmedeki *Acidovorax citrulli* yoğunluğuna göre etmenin

DAS-ELISA testiyle tespit edilebilme oranı ortaya konmuştur. Çalışmada negatif kontrol olarak sağlıklı karpuz bitkisi yaprağı, pozitif kontrol olarak Agdia marka LPC 14800 kodlu *Acidovorax citrulli*'ye spesifik pozitif kontrol kullanılmıştır. Sonuçlar 5, 30 ve 60. dakika (firmanın önerdiği süre) olmak üzere üç kez okunmuş ve farklı sürelerde ELISA pleyt okumanın *Acidovorax citrulli* yoğunluklarıyla ilişkisi de değerlendirilmiştir. Bu çalışma kullandığımız antiserumun patojeni saptama sınırı ve özellikle epifitik olarak ya da düşük populasyonda bulunan *Acidovorax citrulli*'nin tespit edilmesinde yapılacak ELISA yönteminin kullanım olanağını ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

3.2.5. Elde Edilen İzolatların Moleküler Testlerle Tanısı

Geleneksel testler ve serolojik testlerden DAS-ELISA ile *Acidovorax citrulli* olarak tanılanan re-izolatların tanısını desteklemek için moleküler testlerden türe spesifik PCR ve Taqman Real-Time PCR yöntemi kullanılmıştır. Klasik testlere göre *Acidovorax citrulli* olduğu belirlenen 108 adet izolat Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde türe spesifik WFB1 ve WFB2 primerleri kullanılarak moleküler yöntemle tanılanmışlardır. Hollanda Naktuinbouw kurumunda ise 76 adet *Acidovorax citrulli* izolatının Taqman Real Time PCR testi ile moleküler tanısı gerçekleştirilmiştir.

Genomik DNA İzolasyonu: Türe spesifik PCR testinde re-izolatların DNA'sı Nejat ve ark., (2009)'un bildirdiği yöntem modifiye edilerek izole edilmiştir. Bu yönteme göre petride 48 saat gelişen bakteri kültürlerinden 1 öze alınarak içerisinde 600 µl CTAB buffer (% 2 cetyltrimethylammonium bromide, 1.4 M NaCI, % 0.2 2-mercaptoethanol, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-Base, % 2 polyvinylpyrrolydone, pH:8.0) bulunan mikrosantrifüj tüpte süspanse edilerek iyice karıştırılmıştır. Tüpler 65 ºC'de su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminde tüplere 600 µl chloroform-isoamyl alkol (24:1 oranında) eklenerek tüpler 1 dakika karıştırılmıştır. 13.000 rpm hızda 10 dakika santrifüj edilmiş, üstteki supernatant içerisindeki DNA yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. 600 µl soğutulmuş isopropanol eklenerek tüpler -20 ºC'de 45 dakika bekletilmiştir.

Ardından tüpler 12.000 rpm hızda 15 dakika santrifüj edilmiştir. DNA içeren tüplere 1 ml soğutulmuş % 70'lik etil alkol eklenmiş, 12.000 rpm hızda tekrar 15 dakika santrifüj edilerek DNA yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Alkol uzaklaştırıldıktan sonra DNA içeren tüpler oda koşullarında 1 saat bekletilmiş, daha sonra 30 µl TE Buffer (Tris-EDTA pH:8.0) içerisinde -20 ºC'de muhafaza edilmiştir.

PCR Çalışmaları: 2x PCR Master Mix (Fermentas, K0171), WFB1: (5'-GAC CAG CCA CAC TGG GAC-3') ve WFB2: (5'-CTG CCG TAC TCC AGC GAT-3') primerleri, nukleaz free water ve 108 adet *Acidovorax citrulli* izolatının genomik DNA'sı kullanılmıştır. PCR karışımı bir mikrosantrifüj tüpte (200 µl) 12.5 µl PCR Master Mix, 6.5 µl nukleaz free water, her bir primerden 2 µl ve 2 µl DNA örneği olmak üzere 25 µl'ye tamamlanmıştır. Tüpler etiketlenerek thermocycler cihazına yerleştirilmiştir. PCR işlemlerinde kullanılan thermalcycler programında Walcott ve ark., (2000)'in bildirdiği program modifiye edilerek kullanılmıştır. Buna göre 95 ºC'de 3 dakika ısınma sağlanmış, 95 ºC'de 45 saniye ilk denatürasyon, 55 ºC'de 45 saniye primerlerin ilgili bölgelere bağlanması, 72 ºC'de 45 saniye oluşan yeni DNA fragmentlerinin uzaması şeklinde bir döngü olacak şekilde bu aşamalar 35 döngüye tamamlanmıştır. 72 ºC'de 10 dakika son uzama ile program tamamlanmıştır. Elde edilen PCR ürünleri agaroz jelde görüntüleninceye kadar +4 ºC'de saklanmıştır.

PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi için % 1.5'luk agaroz jel (1.5 g agarose+100 ml 1X TAE Buffer) hazırlanmış ve 50 ºC'ye soğutulduktan sonra jel tankına dökülmüştür. Hemen ardından PCR ürünlerinin yükleneceği taraklar jelin içerisine yerleştirilmiş ve jel donmaya bırakılmıştır. Jel donduktan sonra tarak dikkatlice yerinden çıkarılmış ve jel tepsisi içerisinde 1X TAE Buffer bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiştir. PCR ürünleri kuyucuklara 10 µl olarak mikropipet vasıtasıyla yüklenmiştir. Oluşan bantların büyüklüğünü ölçebilmek için 100 bp büyüklüğünde moleküler işaretleyici (marker) jelde ilk ve son kuyucuğa yerleştirilmiştir. PCR ürünleri 400 miliamper elektrik akımında 40 Volt gerilimde iki saat yürütülmüştür. Bantların görüntülenebilmesi için jel etidyum bromit ile (10 mg/ml) 10 dakika boyanmış ve ardından 10 dakika saf su içerisinde yıkanmıştır. Elde

edilen bantlar UV ışık altında transliminatörde 302 nm dalga boyunda incelenmiş ve gözlenen 360 bp büyüklüğündeki bantlar fotoğraflanmıştır.

Taqman Real-Time PCR: Hollanda'da bulunan Naktuinbouw kurumuna AFLP PCR testinde kullanılmak amacıyla götürülen 76 adet izolat ayrıca moleküler testlerden Taqman Real Time PCR yöntemiyle de tanılanmıştır. Bu amaçla izolatların DNA'sı Qiagen marka DNEasy Blood&Tissue DNA izolasyon kiti kullanılarak elde edilmiştir. Protokole göre, King B besi yerinde 24 saat geliştirilmiş olan bakteri kültürleri 4 ml Tryptic Soy Broth (TSB) bulunan tüplere aşılanmış ve bir gün süreyle 25 ºC'de 250 rpm hızda çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Gelişen bakteri kültürleri iki ayrı santrifüj tüpüne aktarılmış ve 5000 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmış ve pellet elde edilmiştir. Pellete 1 ml steril saf su eklenmis ve tekrar 5000 rpm hızda beş dakika santrifüj edilmiştir. Sıvı kısım (supernatant) uzaklaştırılmış ve pellet ile DNA izolasyonu çalışmalarına devam edilmiştir. İçerisinde lizozim (Sigma, L-5876) bulunan (20 mg/ml) enzimatik lysis buffer (20 mM Tris-CI, pH:8.0, 2 mM sodyum EDTA, % 1.2 Triton X-100) hazırlanmış, her tüpe 180 µl eklenmiş ve tüplerin içindeki pellet iyice parçalanana kadar tüpler vortekslenmiştir. Hazırlanan bakteri kültürleri 37 ºC'de en az 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası tüplere 25 µl Proteinase-K ile 200 µl ethanol içermeyen AL Buffer eklenmiştir. Tüpler vortekslenmiş ve 56 ºC su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Tüplere 200 µl ethanol (% 96-100) ilave edilmiş ve tüpler vortekslenmiştir. Elde edilen sıvı kısım (yaklaşık 650 µl) 2 ml'lik toplama tüpü içeren Dneasy mini spin tüplerine aktarılmıştır. 16000 rpm hızda 1 dakika santrifüj sonrası tüplere 500 µl AW1 Buffer eklenmiştir. İçerisinde sıvı kısım bulunan 2 ml'lik tüp atılmış ve üstte bulunan spin tüp yeni bir toplama tüpüne konulmuştur. 500 µl AW2 Buffer eklendikten sonra 16000 rpm hızda 3 dakika santrifüj edilmiştir. Spin tüp 1.5-2.0 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne konulmuş ve her örneğe 200 µl AE (Elution) Bufferdan eklenmiştir. Oda koşullarında 1 dakika bekleme sonrası 16000 rpm hızda 1 dakika santrifüj edilerek mikrosantrifüj tüplerde DNA elde edilmiştir. Elde edilen bakteri DNA'sı daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -20 ºC'de derin dondurucuda bekletilmiştir.

PCR karışımı olarak 8 µl su, 12.5 µl 2x Gene Expression Master Mix, 20 pmol stoktan 0.5 µl Aacit 1-F (289a) primer (5'-GAG TCT CAC GAG GTT GTT-3'), 20 pmol stoktan 0.5 µl Aacit 1-R (289b) primer (5'-GAC CCT ACG AAA GCT CAG-3'), 20 pmol stoktan 0.5 µl floresan işaretli Aacit 1-Probe (289c) (6FAM- TGC AGC CCT TCA TTG ACG G-BHQ1) ve 3 µl genomik DNA eklenerek 25 µl hacme tamamlanmıştır. PCR ürünleri BIO-RAD marka CFX96 Realtime system thermocycler cihazına yerleştirilmiştir. Thermocycler programında amplifikasyon 95 ºC'de 10 dakika ve 95 ºC'de 0.15 dakika, 60 ºC'de 0.48 dakika bir döngü olacak şekilde bu aşama 40 döngü olarak ayarlanmıştır. PCR ürünlerinin oluşturduğu floresan ışığa göre reaksiyon sonucunda amplifiye olan DNA miktarındaki artış (threshold cycle (Ct)) değerleri bilgisayar programında analiz edilerek oluşan PCR ürünleri yorumlanmıştır. Buna göre 30'un altında Ct değerine sahip izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.6. İzolatlar Arası Genetik Akrabalığın Belirlenmesi

Hastalıkların inokulum kaynaklarının belirlenmesi ve izolatların akrabalık ilişkilerinin ortaya konmasında genetik profilleme yöntemlerine başvurulmaktadır. Bu doktora çalışmasında karpuzdan izole edilen izolatlarla diğer kabakgillerden elde edilen kültürler arasındaki genotipik benzerlik oranını belirlemek, Türkiye'den karpuz ve kavundan izole edilen izolatların diğer ülke izolatlarıyla benzerlik ve farklılıklarını ortaya koymak ve en önemlisi ülkemizdeki epideminin kaynağı olan inokulumun belirlenmesi amacıyla AFLP PCR yöntemi kullanılmıştır.

Geleneksel testler ve tanıyı destekleyici moleküler testlere göre *Acidovorax citrulli* olduğu belirlenen re-izolatların genotipik akrabalık durumlarının ortaya konması amacıyla AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms) testi gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın bu kısmı Hollanda'da bulunan Naktuinbouw kurumunda Ekim 2011- Ocak 2012 ve Kasım 2012-Ocak 2013 tarihleri arasında iki farklı dönemde iki kez tekrarlanmıştır. Bu amaçla 2009-2012 yılları arasında Türkiye'den izole edilen *Acidovorax citrulli* izolatlarından 76 adet izolat seçilmiş, karşılaştırma olarak Ron R. Walcott ve Dr. Harrie Koenraadt'a ait kültür

koleksiyonları çalışmada kullanılmıştır. Karşılaştırma izolatları *Acidovorax* genusu içerisinde yer alan türlerden (*Acidovorax avenae, A. cattleyae, A. citrulli, A. facilis, A. konjaci, A.* sp. *A. valerianellae*) oluşmuştur. AFLP testinde kullanılan toplam 222 adet izolat 16 farklı ülkeden (Almanya, Amerika, Avustralya, Belçika, Brezilya, Çin, Danimarka, Fransa, Hollanda, Honduras, İsrail, Kosta Rika, Meksika, Peru, Tayland ve Türkiye) izole edilmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. AFLP PCR testinde kullanılan izolatlar

İzolat No	**Patojen Bakteri**	**İzole Edildiği Bitki**	**İzole Edildiği Yer**	**Bitki Materyali**	**İzole Edildiği Yıl**
1	*Acidovorax citrulli*	Kabak	Çin	Bilinmiyor	2003
2	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Çin	Bilinmiyor	2002
3	*Acidovorax citrulli*	Kantalop kavunu	Meksika	Bilinmiyor	2002
4	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Brezilya	Bilinmiyor	2002
5	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Brezilya	Bilinmiyor	2002
6	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ABD	Bilinmiyor	2002
7	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Honduras	Bilinmiyor	2003
8	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ABD	Bilinmiyor	2002
9	*Acidovorax citrulli*	Kantalop kavunu	Meksika	Bilinmiyor	2002
10	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Kosta Rika	Bilinmiyor	2001
11	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Kosta Rika	Bilinmiyor	2001
12	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Brezilya	Bilinmiyor	2000
13	*Acidovorax citrulli*	Kabak	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1998
14	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ABD	Bilinmiyor	1994
15	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ABD	Bilinmiyor	1999
16	*Acidovorax citrulli*	Citron kavunu	ABD	Bilinmiyor	1994
17	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ABD	Bilinmiyor	1994

Çizelge 3.2. Devamı

18	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Tayland	Bilinmiyor	2002
19	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ABD	Bilinmiyor	1994
20	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Tayland	Bilinmiyor	2001
21	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ABD	Bilinmiyor	2000
22	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1992
23	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1994
24	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1994
25	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1992
26	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1994
27	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1992
28	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Florida-ABD	Bilinmiyor	1994
29	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1994
30	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1992
31	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1994
32	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1965
33	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Avustralya	Bilinmiyor	1999
34	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Avustralya	Bilinmiyor	1999
35	*Acidovorax citrulli*	Kabak	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1998
36	*Acidovorax citrulli*	Kantalop kavunu	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1999
37	*Acidovorax citrulli*	Kantalop kavunu	Indiana-ABD	Bilinmiyor	1999
38	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Florida-ABD	Bilinmiyor	1999
39	*Acidovorax citrulli*	Kantalop kavunu	Georgia-ABD	Bilinmiyor	2000
40	*Acidovorax citrulli*	Kantalop kavunu	ABD	Bilinmiyor	2000
41	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ABD	Bilinmiyor	2001
42	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1994
43	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Avustralya	Bilinmiyor	2001

Çizelge 3.2. Devamı

44	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1994
45	*Acidovorax citrulli*	Kavun	İsrail	Bilinmiyor	2002
46	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Peru	Bilinmiyor	2003
47	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Bilinmiyor	Bilinmiyor	2003
48	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1992
49	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1994
50	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ABD	Bilinmiyor	2001
51	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1992
52	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	İsrail	Bilinmiyor	2002
53	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Meksika	Bilinmiyor	2003
54	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Brezilya	Bilinmiyor	1999
55	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1996
56	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1992
57	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Georgia-ABD	Bilinmiyor	1994
58	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Avustralya	Bilinmiyor	2001
59	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Çin	Bilinmiyor	2002
60	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Brezilya	Bilinmiyor	1999
61	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Oklahama-ABD	Bilinmiyor	2000
62	*Acidovorax citrulli*	Kantalop kavunu	Georgia-ABD	Bilinmiyor	2001
63	*Acidovorax citrulli*	Kantalop kavunu	Avustralya	Bilinmiyor	2000
64	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Tayland	Bilinmiyor	2002
65	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Honduras	Bilinmiyor	2003
66	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	STA	Bilinmiyor	2003
67	*Acidovorax citrulli*	Kantalop kavunu	Meksika	Bilinmiyor	2003
68	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Teksas	Bilinmiyor	2003
69	*Acidovorax citrulli*	Kantalop kavunu	Bilinmiyor	Bilinmiyor	2003

Çizelge 3.2. Devamı

70	*Acidovorax citrulli*	Kantalop kavunu	Georgia-ABD	Bilinmiyor	2003
71	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Meksika	Bilinmiyor	2003
72	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Avustralya	Bilinmiyor	1997
73	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Avustralya	Bilinmiyor	2000
74	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Bilinmiyor	Bilinmiyor	2003
75	*Acidovorax facilis*	Karpuz	Bilinmiyor	Bilinmiyor	1994
76	*Acidovorax avenae*	Çeltik	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
77	*Acidovorax konjaci*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
78	*Acidovorax cattleyae*	Orkide	Bilinmiyor	Bilinmiyor	1998
79	*Acidovorax* sp.	Çilek	Bilinmiyor	Bilinmiyor	2001
80	*Acidovorax* sp.	Calathea	Bilinmiyor	Bilinmiyor	2001
81	*Acidovorax* sp.	Sıklamen	Bilinmiyor	Bilinmiyor	2000
82	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
83	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
84	*Acidovorax citrulli*	hıyar	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
85	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
86	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
87	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
88	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
89	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
90	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
91	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
92	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
93	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
94	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	

Çizelge 3.2. Devamı

95	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
96	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
97	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
98	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
99	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
100	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
101	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
102	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
103	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
104	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Yüreğir/Adana	Meyve	2009
105	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Yüreğir/Adana	Meyve	2009
106	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Kadirli/OSMANİYE	Meyve	2009
107	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Tabaklar Köyü /Tuzla /ADANA	Meyve	2009
108	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Hamamköy/Kozan/ADANA	Meyve	2009
109	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Kadirli/OSMANİYE	Meyve	2009
110	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Karataş/ADANA	Meyve	2009
111	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Karataş/ADANA	Meyve	2009
112	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Karataş/ADANA	Meyve	2009
113	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Karataş/ADANA	Meyve	2009
114	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ANKARA	Meyve	2009
115	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Kozan/ADANA	Fide	2010
116	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Kadirli/OSMANİYE	Fide	2010
117	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Kadirli/OSMANİYE	Fide	2010
118	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Kadirli/OSMANİYE	Fide	2010
119	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Kadirli/OSMANİYE	Fide	2010
120	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ANTALYA	Fide	2010

Çizelge 3.2. Devamı

121	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Tuzla/Kapı Köyü/ADANA	Meyve	2010
122	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Beyköy/Karataş/ADANA	Meyve	2010
123	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Beyköy/Karataş/ADANA	Meyve	2010
124	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Beyköy/Karataş/ADANA	Meyve	2010
125	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Beyköy/Karataş/ADANA	Meyve	2010
126	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Beyköy/Karataş/ADANA	Meyve	2010
127	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ANTALYA	Fide	2010
128	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	ANTALYA	Fide	2010
129	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Tabaklar Köyü /Tuzla /ADANA	Meyve	2010
130	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Tabaklar Köyü /Tuzla /ADANA	Meyve	2010
131	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Tabaklar Köyü /Tuzla /ADANA	Meyve	2010
132	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Tabaklar Köyü /Tuzla /ADANA	Meyve	2010
133	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Tabaklar Köyü /Tuzla /ADANA	Meyve	2010
134	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Tabaklar Köyü /Tuzla /ADANA	Meyve	2010
135	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Tabaklar Köyü /Tuzla /ADANA	Meyve	2010
136	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Tabaklar Köyü /Tuzla /ADANA	Meyve	2010
137	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Tabaklar Köyü /Tuzla /ADANA	Meyve	2010
138	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Tuzla/Karataş/ADANA	Meyve	2010
139	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/MERSİN	Fide	2010
140	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/MERSİN	Fide	2010
141	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/MERSİN	Fide	2010

Çizelge 3.2. Devamı

142	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/MERSİN	Fide	2010
143	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/MERSİN	Fide	2010
144	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/MERSİN	Fide	2010
145	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Yüreğir/ADANA	Meyve	2011
146	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Yüreğir/ADANA	Meyve	2011
147	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Yüreğir/ADANA	Meyve	2011
148	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Yüreğir/ADANA	Meyve	2011
149	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/ADANA	Fide	2011
150	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/ADANA	Fide	2011
151	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/ADANA	Fide	2011
152	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/ADANA	Fide	2011
153	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/ADANA	Fide	2011
154	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/ADANA	Fide	2011
155	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Yaprak	2011
156	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Yaprak	2011
157	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Yaprak	2011
158	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Meyve	2011
159	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Meyve	2011
160	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Meyve	2011
161	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Meyve	2011
162	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Meyve	2011
163	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Meyve	2011
164	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Meyve	2011
165	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Meyve	2011
166	*Acidovorax avenae*	Bilinmiyor	Hollanda	Bilinmiyor	2004
167	*Acidovorax cattleyae*	Bilinmiyor	Hollanda	Bilinmiyor	1989

Çizelge 3.2. Devamı

168	*Acidovorax cattleyae*	Orkide	Almanya	Yaprak	2003
169	*Acidovorax cattleyae*	Orkide	Hollanda	Bilinmiyor	2004
170	*Acidovorax cattleyae*	Orkide	Hollanda	Yaprak	2004
171	*Acidovorax cattleyae*	Orkide	Belçika	Yaprak	2004
172	*Acidovorax cattleyae*	Orkide	Fransa	Yaprak	2005
173	*Acidovorax cattleyae*	Orkide	Hollanda	Yaprak	2005
174	*Acidovorax cattleyae*	Orkide	Danimarka	Yaprak	2005
175	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Hollanda	Bilinmiyor	2004
176	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Hollanda	Bilinmiyor	2004
177	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Hollanda	Bilinmiyor	2004
178	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Hollanda	Bilinmiyor	2004
179	*Acidovorax citrulli*	hıyar	Bilinmiyor	Bilinmiyor	
180	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Bilinmiyor	Bilinmiyor	2011
181	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Bilinmiyor	Bilinmiyor	2011
182	*Acidovorax valerianellae*	Veldsla	Hollanda	Bilinmiyor	2006
183	*Acidovorax valerianellae*	Veldsla	Hollanda	Bilinmiyor	2010
184	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Tuzla/Karataş/ADANA	Meyve	2010
185	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Tuzla/Karataş/ADANA	Meyve	2010
186	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Kapı Köyü/Tuzla/ADANA	Meyve	2010
187	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Kapı Köyü/Tuzla/ADANA	Yaprak	2010
188	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Tuzla/Karataş/ADANA	Meyve	2010

Çizelge 3.2. Devamı

189	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Yüreğir/ADANA	Meyve	2011
190	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Yüreğir/ADANA	Meyve	2011
191	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Fidelik/ADANA	Fide	2011
192	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Yaprak	2011
193	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Ceyhan/ADANA	Meyve	2011
194	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Fidelik/MERSİN	Fide	2010
195	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Fidelik/MERSİN	Fide	2010
196	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Kadirli/OSMANİYE	Meyve	2012
197	*Acidovorax citrulli*	Karpuz	Kadirli/OSMANİYE	Meyve	2012
198	*Acidovorax citrulli*	Kavun	Bilinmiyor	Bilinmiyor	2011
199	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
200	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
201	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
202	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
203	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
204	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
205	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
206	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
207	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
208	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
209	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
210	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
211	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
212	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
213	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
214	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor

Çizelge 3.2. Devamı

215	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
216	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
217	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
218	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
219	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
220	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
221	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor
222	*Acidovorax citrulli*	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Bilinmiyor

Genomik DNA İzolasyonu: Çalışmada kullanılan *Acidovorax citrulli* izolatlarının DNA'sı Qiagen marka DNEasy Blood&Tissue DNA izolasyon kiti kullanılarak elde edilmiştir. Bakteri DNA'sı 1/10 oranında AE (Elution) Buffer içerisinde seyreltilmiş ve % 1'lik agaroz jelde yürütülmüştür. DNA miktarlarını hesaplamak amacıyla 20, 50, 100, 200 ve 500 ng/µl markerlar kullanılmıştır. AFLP çalışmalarında kullanılacak DNA miktarlari Gene Tools from Syngene bilgisayar programı kullanılarak hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan 200 ng'lık DNA miktarları hazırlanmıştır. DNA miktarları belirlendikten sonra PCR çalışmasına devam edilmiştir. İlk aşama olarak restriksiyon (Kesme) aşamasında 30 µl genomik DNA ve 10 µl restriksiyon karışımı [(3.15 µl enjeksiyonluk su, 4 µl 10x One-Phor-All-Buffer (Amersham) (10 mM Tris-Hac; 10 mM MgAc; 50 mM KAc; ph:7.5), 2 µl 0.1 M DTT (Pharmacia/Amersham), 0.4 µl 10 mg/ml BSA (NEB, #B9001S), 0.25 µl rare cutter (HPYCH4IV) (Biolabs, R0619L:10000 U/ml), 2 pmol/µl stoktan 0.2 µl frequent cutter (MseI) (Biolabs, R0525L; 10000 U/ml)] kullanılmıştır. Hazırlanan 10 µl restriksiyon karışımı ile 30 µl genomik DNA ELISA pleyt'ine yerleştirilmiştir. pleyt 37 ºC inkübatörde 1 saat bekletilmiştir. Bir sonraki adım olan ligasyon (yapışma) aşamasında 40 µl miktarındaki genomik DNA ve restriksiyon karışımına 10 µl ligasyon karışımı [(5.3 µl enjeksiyonluk su, 1 µl 10x One-Phor-All-Buffer (Amersham) (10 mM Tris-Hac; 10 mM MgAc; 50 mM KAc; ph:7.5), 0.5 µl 0.1 M DTT (Dithiothreitol) (Pharmacia/Amersham), 0.1 µl 10 mg/ml BSA (Bovine Serum

Albumin) (Biolabs), 0.1 µl 100 mM ATP (Pharmacia/Amersham), 5 pmol/µl stoktan 1 µl rare cutter-adapter (HPYCH4IV), 5 pmol/µl stoktan 1 µl frequent cutter-adapter (MseI), 1 µl T4-DNA ligase (Invitrogen, P/N 100004917)] eklenmiştir. Hazırlanan karışımdan yeni bir ELISA pleyt'ine 10 µl olarak eklenmiş ve pleyt 37 ºC inkübatörde 3 saat bekletilmiştir.

AFLP Çalışmaları: Pre-amplifikasyon (yapışma) aşamasında elde edilen 10 µl restriksiyon+ligasyon ürünü 1/10 oranında TE Buffer (10 mM Tris-HCI, 0.1 mM EDTA, pH: 8.0) ile seyreltilerek çalışmalara devam edilmiştir. Pre-amplifikasyon karışımı [10.9 µl enjeksiyonluk su, 2 µl 10x PCR RXN Buffer (Invitrogen, P/N Y02028), 0.6 µl 50 mM $MgCI_2$ (1.5 mM), (Invitrogen, P/N Y02016), 0.5 µl 5 µM rare cutter primer (Hpy00) (2.5 pmol), 0.5 µl 5 µM frequent cutter primer (MseI00) (2.5 pmol), 0.4 µl 10 mM dNTPs (0.2 mM), 0.1 µl 0.5 U taq polimerase, recombinant (5U/µl)] hazırlanmış ve PCR pleyt'ine 15 µl olarak eklenerek üzerine 1/10 oranında seyreltilmiş restriksiyon+ligasyon ürününden 5 µl ilave edilmiştir. Pre-amplifikasyon aşaması Bio-Rad marka PTC 200 DNA Engine Peltier Thermal Cycler cihazında pre-amplifikasyon programı gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada Thermal cycler cihazı 94 ºC'de 30 saniye, 56 ºC'de 60 saniye, 72 ºC'de 60 saniye bir döngü olacak şekilde 25 döngüye ayarlanmıştır. Pre-amplifikasyon aşamasında sonra amplifikasyon aşaması olan AFLP-PCR aşamasına geçilmiştir. Elde edilen pre-amplifikasyon ürünü 1/20 oranında TE Buffer içerisinde seyreltilerek AFLP-PCR çalışmalarına devam edilmiştir. 4 farklı PCR pleyt (Hpy00-700, M01; Hpy00-700, M02; Hpy00-800, M03; Hpy00-800, M04) hazırlanmıştır. AFLP-PCR karışımı [(10.9 µl enjeksiyonluk su, 2 µl 10x RXN PCR Buffer, 0.6 µl 50 mM $MgCI_2$ (1.5 mM), 0,4 µl 10 mM dNTPs (0.2 mM), 0.4 µl 700/800 nm işaretli rare cutter primer (Hpy00), 0.3 µl işaretsiz rare cutter primer (Hpy00) (2.5 pmol), 1 µl 5 µM işaretsiz frequent cutter primer (M01, M02, M03, M04), 0.1 µl 0.5 U taq polimerase, recombinant (5U/µl)] hazırlanarak PCR pleyt'ine 15 µl olarak eklenmiş, 1/20 oranında seyreltilmiş pre-amplifikasyon ürününden 5 µl eklenerek toplam reaksiyon içeriği 20 µl'ye tamamlanmıştır. Ürünlerin AFLP-PCR işlemi için Bio-Rad marka PTC 200 DNA Engine Peltier Thermal Cycler cihazına yerleştirilmiştir. Amplifikasyon programı 94 ºC'de 0.05 dakika, 65 ºC'de 0.30 dakika, 72 ºC'de 2

dakika 1 döngü olarak, ardından 94 ºC'de 3 saniye, 56 ºC'de 30 saniye ve 72 ºC'de 2 dakika bir döngü 25 kez tekrarlanarak 25 döngü olacak şekilde ayarlanmıştır.

Jel Görüntüleme: 2 farklı jel yükleme gerçekleştirilmiştir. Hpy00-700-M01 ile Hpy00-800-M03 ve Hpy00-700-M02 ile Hpy00-800-M04 birlikte kullanılmıştır. Bu amaçla Hpy00-700-M01 içeren PCR ürünlerinden 2.5 µl, Hpy00-800-M03 içeren PCR ürünlerinden de 2.5 µl alınmış, yeni bir PCR pleyt'ine aktarılmıştır. Ayrıca her bir örnek için 4 µl loading buffer ve 1 µl sizer eklenmiş ve toplam reaksiyon içeriği 10 µl olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan reaksiyon içeriği 94 ºC'de 3 dakika bekletilmiş ve alınan örnekler buz içerisinde tutulmustur. Her bir örnekten 0.2 mm lik şırınga ile maksimum 1 µl olacak şekilde alınmış ve Licor marka (LI-COR Bioscience, Lincoln, NE, USA) 4300 DNA Analyzer poliakrilamid jel (% 5) görüntüleyicide çukurlara yüklemeler gerçekleştirilmiştir. Böylelikle 700/800 nm dalga boyunda işaretli primerlerle 50-1500 bp büyüklüğündeki DNA fragmentlerinin görüntülenebilmesi sağlanmıştır. Kontrol olarak 100 bp DNA ladder ve 8 farkli sizerı (1-568, 8-499, 3-430, 3-355, 6-312, 1-264, 1-238, 1-213, 4-151, 8-106, 3-39) içeren karışım jelde belirtilen çukurlara yüklenmiştir.

AFLP-PCR Değerlendirme: 4 farklı primer kombinasyonu sonucu elde edilen jel görüntüsü Bionumerics (versiyon 6.6) adlı istatistik programında optimize edilmiş ve tüm izolatlara ait dendogram oluşturularak Türkiye'den ve diğer ülkelerden izole edilen *Acidovorax citrulli* izolatları arasındaki genetik akrabalık seviyeleri küme analizlerine göre % benzerlik oranıyla belirlenmiştir.

3.2.7. Karpuz Fide Yanıklığı ve Meyve Lekesi Hastalığının Biyolojik Mücadelesine Yönelik Çalışmalar

Bu doktora çalışması kapsamında, antagonist bakteri ve mayaların tohum kökenli inokulumu baskılama yetenekleri araştırılmıştır. Elde edilen antagonistlerin tohum uygulaması olarak kullanımının *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu fide yanıklığı hastalığının oluşumu ve şiddetine etkisi iki farklı tarihte yapılan iklim odası denemeleriyle araştırılmıştır.

Hastalığın biyolojik mücadelesinde çiçek ve yapraklar yoluyla meydana gelecek enfeksiyonları önlemek için antagonistler çiçek ve yaprağa püskürtülerek hastalık şiddetine etkisi hem örtü altında cam serada hem de tarlada iki farklı yılda yapılan dört denemeyle araştırılmıştır.

Etkili olabilecek antagonistleri izole edebilmek amacıyla hastalığın geçmişte gözlendiği Adana ve Osmaniye illerinden ve bunun yanında daha önce hastalığın saptanmadığı Hatay ilinde karpuz ve kavun yetiştirilen tarlalardan yaprak, çiçek ve toprak örnekleri toplanmıştır. Bu amaçla ziyaret edilen tarlalarda zigzag şeklinde dolaşılarak sağlıklı olduğu görülen yaprak ve çiçekler tesadüfi olarak örneklenmiş, ayrıca meyvelerin bağlı olduğu kök bölgesinden de toprak örnekleri alınmıştır. Farklı besi yerleri kullanılarak izole edilen aday antagonist bakteri ve mayaların seçimi fosfatı çözme yetenekleri ve *Acidovorax citrulli*'ye karşı *in vitro* petri denemeleriyle yapılmıştır. İkili kültür testlerinde etkili bulunan antagonistler içerisinden seçim yapılarak tohum denemeleri gerçekleştirilmiş ve ardından burada başarılı olan antagonistlerle cam ve tarla denemeleri yapılmıştır. Bu çalışmada izlenen prosedür aşağıda detaylı olarak anlatılmıştır.

3.2.7.1. Çiçek, Yaprak ve Topraktan Aday Antagonist İzolasyonu

Antagonist bakteri ve maya izolasyonu için, 2012 yılı Mayıs-Ağustos ayları arasında Adana iline bağlı (Ceyhan, Karataş, Yumurtalık, Yüreğir) ilçeler, Osmaniye iline bağlı Kadirli ilçesi ile Hatay ili Arsuz ilçesine bağlı Beyköy'de karpuz ve kavun yetiştiriciliği yapılan farklı lokasyonlardan alınan yaprak ve çiçek örnekleri kese kağıtları içerisinde etiketlenerek buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir. Örnekler kese kağıtlarından çıkarılarak filtre kağıtları üzerine serilmiştir. Alınan yaprak ve çiçek örneklerinden bakteri ve maya izolasyonu aynı gün gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla maya izolasyonu için 1/2 oranında hazırlanmış patates dekstroz agar (Litrede 19.5 g hazır PDA ve 7.5 g agar) ve nutrient yeast dekstroz agar (NYDA) kullanılırken bakteri izolasyonu için King B besi yeri kullanılmıştır. Bakteri ve maya izolasyonu için yaprak veya çiçek örneklerinden 10'ar g alınarak 90 ml nutrient broth içerisinde ve maya gelişimi için 90 ml steril saf su içerisinde 2 saat süreyle 150 rpm

hızda oda koşullarındaki çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Ardından yaprak ve çiçek süspansiyonlarından 1'er ml alınarak içerisinde 9 ml saline buffer bulunan tüplere aktarılmış ve her bir örnekten ayrı ayrı seyreltme serileri hazırlanmıştır. Seyreltme serilerinin -3, -4 ve -5'inden 100 µl alınarak 3 tekrarlı olacak şekilde King B, 1/2 doz PDA ve NYDA besi yerlerine ekimleri gerçekleştirilmiştir. Petriler bakteri izolasyonu için üç gün maya izolasyonu için 25ºC'de 7 gün inkübe edilmiş ve petrilerde gelişen farklı renk, tip ve özellikteki koloniler saflaştırılmıştır.

Topraktan fosfatı çözen bakterilerin izolasyonu çalışmalarında, alınan toprak örnekleri filtre kağıtları üzerinde kuruduktan sonra 2 mm kalınlıktaki elekten geçirilerek karıştırılmış ve yabancı maddelerden arındırılmıştır. Ardından toprak örneğinden 10 gr alınıp içerisinde 90 ml salin buffer (% 0.85 NaCI) bulunan erlenlere konulmuş ve 2 saat süreyle 150 rpm hızda oda koşullarındaki çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Fosfatı çözen bakterilerin topraktan izolasyonu için NBRIP besi yeri kullanılmıştır. Toprak örneklerinin -3, -4, -5 ve -6 seyreltmelerinden 100 µl alınarak içerisinde NBRIP besi yeri bulunan petrilere üç tekrarlı olarak ekimleri gerçekleştirilmiştir. 25 ºC'de 7 gün inkübasyondan sonra petrilerde zon oluşumu gösteren koloniler saflaştırılmıştır.

Fosfatı çözme yeteneğindeki farklı koloni morfolojisine sahip bakteriler ve maya izolatları, aday antagonistler olarak, sonraki çalışmalarda kullanılıncaya kadar YDCA besiyerinde +4 ºC'de buzdolabında saklanmıştır.

3.2.7.2. Bakteriyel Antagonistlerin *In vitro*'da Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi

Biyolojik mücadele elemanlarının *Acidovorax citrulli*'ye karşı antagonistik etkisi Krishnamurthy ve Gnanamarickam (1998), Mirik (2005), Küsek (2007) ve Çetinkaya-Yıldız (2007)'e göre ikili kültür testlemeleri şeklinde yapılmıştır. Çalışmada patojen bakteri olarak Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı kullanılmıştır. *In vitro* petri testlerinde patojenin gelişimini engelleyen inhibisyon zonlarının ölçümüne dayanan testler üç tekrarlı olarak yürütülmüştür. Her bir tekrarda oluşan inhibisyon zonu ölçülmüş ve oluşan inhibisyon zonuna göre patojen

gelişimini baskılayan antagonistler biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılmak üzere seçilmiştir. Antagonistlerin patojen gelişimine etkisi istatistiki olarak karşılaştırılmış ve farklı grupta yer alan ve farklı koloni özelliğine sahip izolatlardan seçim yapılarak antagonistlerin fide yanıklığı hastalığını engelleme oranı ortaya konulmuştur. Yapılan çalışmalar aşağıda detaylıca anlatılmıştır.

İzolasyon çalışmalarında elde edilen aday antagonistler King B besi yerinde geliştirilmiş ve gelişen kültürlerin her biri petride 120 derecelik açıyla birbirinden uzak çizilmiş üç noktaya bulaştırılmıştır. Aday antagonist aşılanmış petriler 25ºC inkübatörde inkübe edilerek antagonistlerin petride gelişmeye başlaması sağlanmıştır. Aday antagonist gelişiminden 24 saat sonra patojenin üç farklı popülasyon ($1.44x10^6$, $1.44x10^7$ ve $1.44x10^8$ hücre/ml) yoğunluğu petrilere eşit mesafeden püskürtülerek tüm petrinin patojenle kaplanması sağlanmıştır. Petriler 2 gün 25 ºC'de inkübe edilmiş ve petrilerde patojenin gelişmediği şeffaf kısım ile antagonistin geliştiği alan arası ve antagonistin geliştiği alanın çapı ölçülmüştür. İnhibisyon zonunda ölçülen değer, antagonist gelişimine oranlanarak antagonistlerin patojen gelişimini *in vitro* petri denemeleriyle engelleme oranları hesaplanmıştır. Etkili bulunan antagonistlerin patojen gelişimini engelleme oranlarının ortalaması alınmış, daha sonra ortalamaların açı değerleri alınarak ANOVA İstatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma testiyle ($P \leq 0.05$) istatistiki olarak farklılıkları değerlendirilmiştir. Elde edilen oranlar ile aday antagonistlerin *in vitro* koşullarda patojene olan etkisi 0-6 skalasına göre değerlendirilmiştir. Bu skalaya göre engelleme alanı 1-4 mm arası **1**, 5-8 mm arası **2**, 9-12 mm arası **3**, 13-16 mm arası **4**, 17-20 mm arası **5**, 21 mm ve üzerindeki alanlar **6** skala değerinde değerlendirilmiştir. İstatistiki olarak farklı grupta yer alan antagonistlerden seçilerek tohum uygulaması olarak bakteriyel fide yanıklığı hastalığına etkileri araştırılmıştır.

Etkili olduğu belirlenen antagonistlerden 12 adet izolatın tanısı 183A (TCC TAC GGG AGG CAG CAG T) ve 183B (GGA CTA CCA GGG TAT CTA ATC CTG TT) primerleri kullanılarak 16S rRNA sekans analizi ile Hollanda Naktuinbouw kurumu aracılığıyla Belçika'da yapılmıştır. Sekans analiz sonuçları BLASTn programı kullanılarak National Center For Biotechnology Information

(www. ncbi.nlm.nih.gov) web adresinde kayıtlı bulunan diğer nükleotitlerle karşılaştırılarak en yüksek benzerlik gösterdiği tür ya da cinsleri kaydedilmiştir.

3.2.7.3. Antagonistlerin Tohum Uygulaması Olarak Karpuz Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığına Etkisi

İzole edilen antagonistlerin tohum kökenli inokulumu baskılama yetenekleri, *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu fide yanıklığına (hastalık çıkışına ve hastalık şiddetine) etkisi ve tohum uygulaması olarak antagonistlerin kullanım olanakları iki farklı tarihte (12 Mart 2013 ve 27 Mart 2013) yapılan iklim odası denemeleriyle araştırılmıştır. Her tohum denemesinde uygulamalar üç tekrarlı ve her tekrar için 33 adet tohum ile yapılmıştır. Elde edilen 322 adet aday antagonist içerisinden *in vitro* testler ve istatistiki analizler sonucu patojen gelişimini engelleyen 14 adet antagonistin (Antg-12, Antg-57, Antg-61, Antg-79, Antg-97, Antg-101, Antg-144, Antg-147, Antg-189, Antg-197, Antg-198, Antg-223, Antg-262 ve Antg-273) tohum uygulamaları olarak patojen gelişimi üzerine etkileri ortaya konmuştur. Çalışmada pozitif kontrol olarak Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı, Crimson Sweet çeşit karpuz tohumları kullanılmıştır. Uygulamaların etkinliği sadece patojen bulaştırılmış pozitif kontrole göre değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak tohumlar saf su ile bulaştırılmıştır.

Kullanılan Patojen Popülasyonu Tespiti: Biyolojik tohum uygulamalarında kullanılmak amacıyla King B besi yerinde 48 saat süreyle geliştirilen *Acidovorax citrulli* izolatından süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyon spektrofotometrede OD:0.15 değerine ayarlanmıştır. Elde edilen süspansiyon 6 kez seyreltilmiştir. Her bir seyreltmeden King B besiyerine üç tekrarlı olarak yayma işlemi gerçekleştirilmiştir. 48 saat inkübasyondan sonra petrilerde gelişen koloniler sayılarak tohum uygulamalarında kullanılan patojen popülasyonu hesaplanmıştır.

Karpuz Tohumlarına Patojenin ve Antagonistlerin Bulaştırılması: Crimson Sweet çeşit karpuz tohumları fungisit uygulanmış olduğundan çeşme suyunda yıkanarak fungisit uzaklaştırılmaya çalışılmıştır. Yıkanan tohumlar laboratuvar koşullarında kurumaya bırakılmıştır. Taşçı kodlu pozitif kontrol

Acidovorax citrulli izolatı King B besi yerinde 48 saat süreyle inkübatörde geliştirilmiştir. Gelişen saf bakteri kolonisinden süspansiyon hazırlanmış, süspansiyon spektrofotometrede OD:0.3 değerine ayarlanmıştır. Süspansiyon % 1'lik carboxymethyl cellulose (Sigma) (CMC) ile 1:1 oranında yeniden süspanse edilmiş ve son popülasyon OD:0.15 olmuştur. Tohumlar hazırlanan süspansiyon içerisine bandırılmış ve 30 dakika süreyle 200 rpm hızda oda koşullarındaki çalkalayıcıda çalkalanmışlardır. Tohumlar ince tül süzgeçten geçirilerek kurutma kağıtları üzerinde, steril kabin içerisinde ve oda koşullarında 24 saat kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan tohumlar patojenin tohum içerisine girişini sağlamak için oda koşullarında 3-7 gün muhafaza edilmiştir.

Tohumlara patojen uygulandıktan 3-7 gün sonra King B besi yerinde 48 saat süreyle geliştirilmiş antagonistlerden süspansiyon hazırlanmış ve süspansiyonlar spektrofotometrede OD:0.2 ölçüm değerine ayarlanmıştır. Tohumlar antagonist içeren erlenlere alınmış ve 50 rpm hızda 30 dakika oda koşullarındaki çalkalayıcıda çalkalanarak 14 adet antagonist ayrı ayrı bulaştırılmıştır. Negatif kontrol olarak tohumlar saf su içerisinde çalkalanmıştır. Çalkalanan tohumlar ince tül süzgeçten geçirilerek kurutma kağıtları üzerinde, steril kabin içerisinde ve oda koşullarında 24 saat kurumaya bırakılmıştır. Pozitif kontrol olarak sadece patojenle bulaşık tohumlar denemeye dahil edilmiştir.

Tohum Uygulamalarının Etkinliğinin Değerlendirilmesi: Antagonistlerle uygulama görmüş hasta tohumlar, içerisinde steril torf bulunan 42x28x17 cm (boy, en, yükseklik) boyutundaki plastik küvetlere ekilmiş, 28 ºC ve % 85 neme sahip iklim odasında muhafaza edilmişlerdir. Çimlenmenin varlığı ile birlikte kotiledon yapraklar sık sık nemlendirilmiş, hastalık çıkışı günlük olarak takip edilmiştir. Pozitif kontrol bitkilerinin tamamına yakınında hastalık belirtileri gözlendiği zaman (ekimden yaklaşık 10 gün sonra) denemeler sonlandırılmıştır. Denemelerde her tekrardaki, toplam fide sayısı ve hastalıklı fide sayısı kaydedilip hastalıklı fide %'si hesaplanarak uygulamaların hastalık çıkışına etkisi %Abbott formülüne göre hesaplanmıştır. Daha sonra ortalama hastalık yüzdesi hesaplanmış ve bu rakamların açı değerleri alınarak ANOVA İstatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma

testine (P≤0,05) göre, antagonistlerin karpuz fide yanıklığı hastalığının çıkışına etkisi iststistiki olarak değerlendirilmiştir.

Uygulamaların hastalık şiddetine etkisi belirlenirken denemeler Araujo ve ark., (2005) ile Amadi ve ark., (2009)'un bildirdiği 0-4 skalası modifiye edilerek 0-7 skalasına (**0**: hastalık belirtisi yok; **1**: yaprağın % 1-10'unda lekelenme, **2**: yaprağın % 11-20'sinde lekelenme, **3**: yaprağın % 21-35'inde lekelenme, **4**: yaprağın % 36-50'sinde lekelenme, **5**: yaprağın % 51-70'inde lekelenme, **6**: yaprağın % 71-85'inde lekelenme, **7**: yaprağın % 86-100'ünde çökme ve ölüm) göre değerlendirilmiştir (Şekil 3.1). Skala değerleri Tawsend-Heuberger formülüne (Hastalık %'si= [Toplam(farklı zarar gruplarına giren yaprak sayısı*skala değerleri)/(en yüksek skala değeri*toplam değerlendirilen yaprak sayısı)]*100) göre hastalık %'sine çevrilmiştir. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak hastalık şiddetine etkisi % Abbott formülüne göre hesaplanmıştır. Elde edilen veriler ANOVA İstatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma testiyle (P≤0.05) karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.1. Tohum denemelerinde kullanılan 0-7 skalası

3.2.7.4. Antagonistlerin Cam Sera Koşullarında Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Karpuz Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi

Kullanılan Patojen Populasyonunun Belirlenmesi: Denemelerde kullanılan Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatından hazırlanan süspansiyon spektrofotometrede OD:0.2 ölçüm değerine ayarlanmıştır. Elde edilen $1.44x10^8$ hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyon yedi kez seyreltilmiştir. Yedi kez seyreltilmiş patojen popülasyonundaki her bir seyreltme 3-5 yapraklı dönemdeki 501 F1 çeşit karpuz, 37-20 F1 çeşit kavun ve Ferro RZ F1 (aşılı karpuz anacı) çeşit kabak fidelerine vakum pompasıyla püskürtülerek hastalık belirtilerinin oluştuğu inokulum yoğunlukları belirlenmiştir. Hastalık belirtisi oluşturan en düşük inokulum yoğunluğu cam sera ve tarla çalışmalarında kullanılmak üzere seçilmiştir.

Birinci Deneme: Yeşil aksamdaki hastalık gelişimini baskılamak amacıyla tohum denemeleri sonucunda başarılı bulunan 14 adet antagonist bakteri içerisinden birinci yıl cam sera denemeleri için beş adet antagonist (Antg-12, Antg-57, Antg-97, Antg-101, Antg-189) seçilmiştir. Antagonistlere ek olarak Tri-Miltox Max, pozitif kontrol olarak Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı ve negatif kontrol su olacak şekilde toplamda sekiz uygulama ile deneme kurulmuştur.

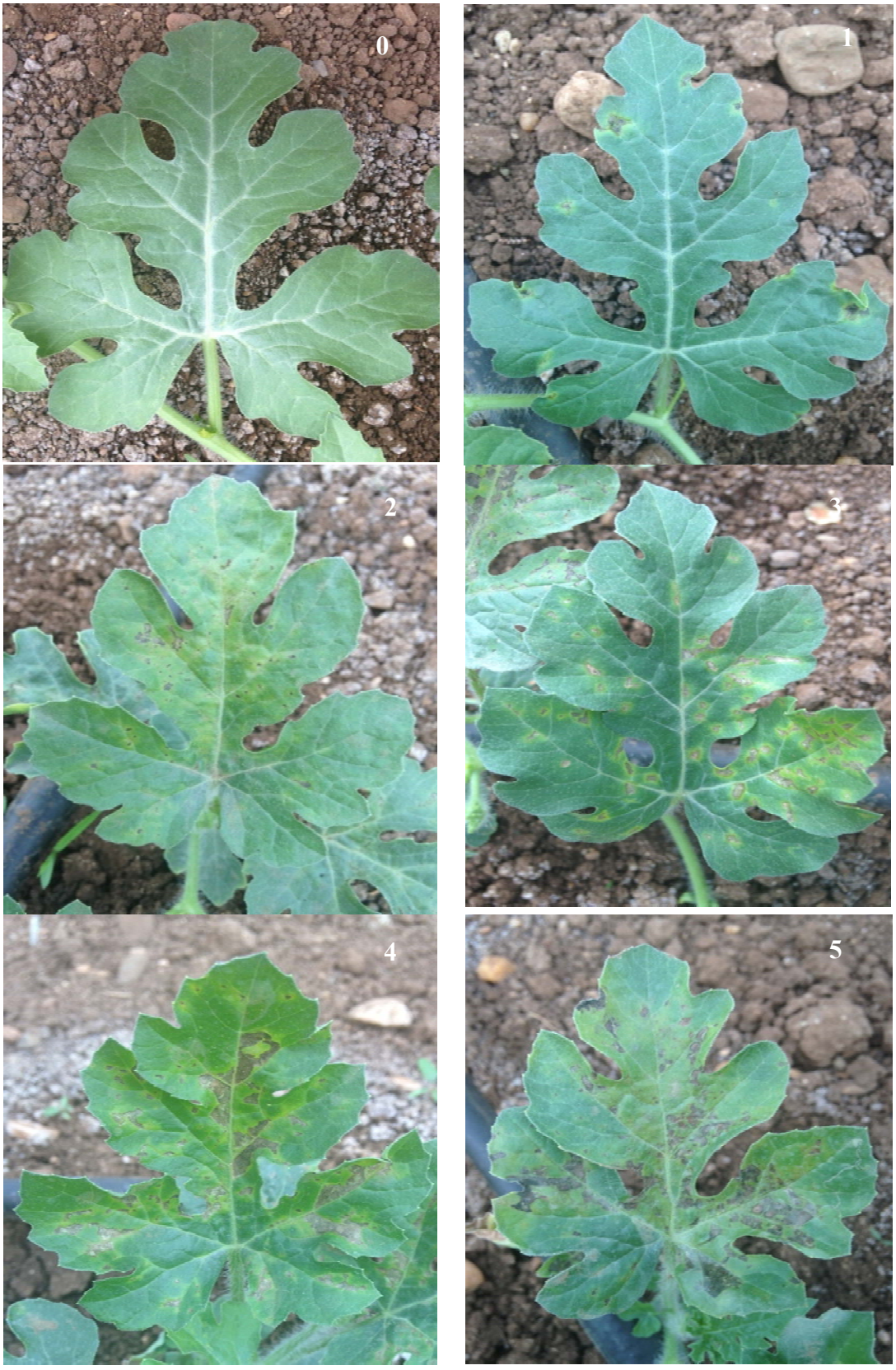
Seçilen antagonistlerin cam sera koşullarında karpuz yapraklarına püskürtme yöntemiyle yeşil aksamdaki patojene etkisi araştırılmıştır. Cam sera koşullarında birinci deneme Mart-Haziran ayları arasında 2013 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Uygulama ve Araştırma parselinde yürütülmüştür. Fideler 26 Mart 2013 tarihinde önceden hazırlanan toprağa sıra arası 130 cm ve sıra üzeri 120 cm mesafe olacak şekilde dikilmiştir. Uygulamalar arasında sıra üzeri 150 cm mesafe bırakılmıştır.

Denemelerde 3-5 yapraklı dönemde bulunan 501 F1 (Tasaco) karpuz çeşidi kullanılmıştır. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre kurulmuş, her uygulama için 12 karpuz fidesi antagonistle ve patojenle bulaştırılmıştır. Hastalık değerlendirmelerinde her bitkide üç yaprak olmak üzere her uygulama için 36 adet yaprak incelenmiştir.

Fideler dikildikten 24 saat sonra King B besi yerinde 48 saat süreyle geliştirilmiş antagonistlerden süspansiyon hazırlanmış ve süspansiyonlar spektrofotometrede OD:0.2 ölçüm değerine ayarlanmıştır. Süspansiyonlar karpuz fidelerinin arka yüzeyine bir el pülverizatörü yardımıyla yapraklar tamamen ıslancaya kadar püskürtülmüştür. Antagonist uygulamasından yedi gün sonra Taşçı izolatından hazırlanan süspansiyon spektrofotometrede OD:0.2 ölçüm değerine ayarlanmıştır. 1/10 oranında seyreltilmiş $1.44x10^7$ hücre/ml yoğunluktaki patojen karpuz yapraklarının arka yüzeyine vakum pompası kullanılarak yara açma suretiyle yaprakların tamamı ıslanana kadar püskürtülmüştür (Hopkins ve Thompson, 2002b; Bahar ve ark., 2009; Flavio ve ark., 2009).

Patojen püskürtmeden 24 saat sonra daha önce belirtildiği şekilde hazırlanan antagonist süspansiyonları ikinci kez yapraklara püskürtülmüştür (Hopkins ve Thompson, 2002b; Bahar ve ark., 2009; Flavio ve ark., 2009). Uygulamalardan sonra karpuz bitkileri hastalık çıkışı yönünden günlük olarak kontrol edilmiştir. Sıcaklık ölçer (Global sensors) ile deneme boyunca cam seradaki sıcaklık değerleri ^oC olarak kayıt altına alınmıştır. Karpuz yapraklarında pozitif kontrolde kahverengi düzensiz lekeler şeklinde belirtiler gözlendikten sonra her bitkide rastgele üç yaprak seçilmiş, yaprak saplarına renkli ip bağlanmıştır. Birinci yıl denemelerinde beş hafta boyunca, renkli ip bağlanmış hastalıklı yapraklar değerlendirilmiştir. Değerlendirme boyunca bir yapraktaki hastalık oranı haftalık izlenmiştir.

Cam serada yeşil aksam denemeleri Hopkins ve Thompson (2002b)'nin bildirdiği 1-9 skalası modifiye edilerek 0-9 (**0**: hastalık belirtisi yok; **1**: yaprağın % 1-5'inde lekelenme, **2**: yaprağın % 6-10'unda lekelenme, **3**: yaprağın % 11-25'inde lekelenme, **4**: yaprağın % 26-35'inde lekelenme, **5**: yaprağın % 36-45'inde lekelenme, **6**: yaprağın % 46-55'inde lekelenme, **7**: yaprağın % 56-70'inde lekelenme, **8**: yaprağın % 71-80'inde lekelenme ve **9**: yaprağın % 81-100'ünde çökme ve ölüm) skalasına göre değerlendirilmiştir (Şekil 3.2). Her uygulamadaki ortalama skala değerine göre hastalık yüzdesi(%) hesaplanmıştır. Elde edilen veriler ANOVA İstatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma testinde $P \leq 0.05$ önem düzeyinde uygulamalar arasındaki istatistiki farklar saptanmıştır. Aynı istatistiki grupta yer alan uygulamalar aynı harfle işaretlenmiş ve sonuçlar yorumlanmıştır.


0
1
2
3
4
5



Şekil 3.2. Yeşil aksam denemelerinde kullanılan 0-9 skalası

İkinci Deneme: TİK üyelerinin önerisi doğrultusunda ikinci yıl cam sera denemelerinde 2014 yılında, birinci yıl testlenen 5 antagoniste ek olarak tohum uygulamasında etkili bulunan üç antagonist (Antg-197, Antg-198 ve Antg-273) daha eklenmiştir. Seçilen antagonistlerin cam sera koşullarında karpuz yapraklarına püskürtme yöntemiyle yeşil aksamdaki patojene etkisi araştırılmıştır.

İkinci yıl kurulan cam sera denemelerinde sekiz adet antagonist (Antg-12, Antg-57, Antg-97, Antg-101, Antg-189, Antg-197, Antg-198, Antg-273), Tri-Miltox Max, pozitif kontrol olarak Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı ve negatif kontrol olarak su ile deneme kurulmuştur. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre

Celebration F1 çeşidi karpuz bitkilerinde üç tekrarlı kurulmuş ve her tekrarda üç yaprak değerlendirilmiştir.

Fideler 4 Mart 2014 tarihinde birinci denemede anlatıldığı şekilde cam seraya dikilmiş ve antagonist ile patojen bulaştırmaları yapılmıştır. Hastalık değerlendirme yönteminde üç hafta boyunca birinci cam sera denemesinde olduğu gibi değerlendirilmiştir.

3.2.7.5. Cam Sera Koşullarında Farklı Antagonist Uygulamalarının Karpuz Meyve Verimi Üzerine Etkisi

Hastalık etmeni en büyük zararını meyve döneminde verdiğinden, meyvedeki hastalık belirtilerinin değerlendirilmesi amacıyla meyve oluşumu ve olgunlaşması dönemine kadar karpuz bitkilerinin günlük bakım işlemleri yapılmıştır. Meyveler yeterli büyüklüğe ve olgunluğa eriştiğinde hastalık belirtileri yönünden incelenmiştir. Olgunlaşmış olan karpuz meyveleri hasat edilmiş, terazide tartılmış ve kg olarak ağırlıkları not edilmiştir. Uygulamaların meyve verimi üzerine etkisi ANOVA İstatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma testinde $P \leq 0.05$ önem düzeyinde uygulamaların meyve verimi üzerine etkisi değerlendirilmiştir.

3.2.7.6. Tarla Koşullarında Farklı Antagonistlerin Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Karpuz Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi

In vitro koşullarda antagonistik etki çalışmaları, tohum uygulamaları ve cam serada yeşil aksam uygulamalarının ilk hafta değerlendirme sonuçlarına göre patojen gelişimini engellediği görülen üç adet antagonistin (Antg-12, antg-57, antg-101) tekli ve çoklu kombinasyonlarının karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına tarla koşullarında etkisi araştırılmıştır. Bu uygulamalara ek olarak ikinci tarla denemesine tohum denemelerinde başarılı olduğu görülen Antg-198 adlı antagonist ilave edilmiştir.

Birinci Deneme: Tarla koşullarında yeşil aksama farklı antagonist uygulamalarının birinci denemesi 2013 yılı Nisan-Temmuz ayları arasında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Uygulama ve Araştırma parselinde yürütülmüştür. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre 12 tekrarlı olarak ve her tekrarda üç yaprak değerlendirilecek şekilde kurulmuştur. Uygulama olarak üç adet antagonist (Antg-12, Antg-57, Antg-101) ve kombinasyonları, pozitif kontrol olarak Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı ve negatif kontrol olarak su olacak şekilde toplamda dokuz uygulama ile deneme kurulmuştur.

Deneme kurulan alandaki toprak fide dikimi öncesi derin sürülmüştür. Deneme parseline damla sulama sistemi kurularak parselizasyon gerçekleştirilmiştir. 3-5 yapraklı dönemde bulunan Üstün F1 (Yüksel Tohumculuk) karpuz çeşidi Atlas Fide (Yeniyayla Köyü, Adana) firmasından temin edilmiştir. Fideler 15 Nisan 2013 tarihinde önceden hazırlanan toprağa sıra arası ve sıra üzeri 120 cm mesafe olacak şekilde dikilmiştir. Uygulamalar arasında sıra üzeri 210 cm mesafe bırakılmıştır.

Fidelere antagonist ve patojen bakteri uygulamaları 3.2.7.4'de anlatılan cam sera denemelerinde yapıldığı şekilde uygulanmıştır. Hastalık değerlendirmesinde cam sera denemelerinde kullanılan 0-9 skalasına göre beş hafta boyunca değerlendirilmiş ve 3.2.7.4'de anlatıldığı gibi uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak karşılaştırılmıştır.

İkinci Deneme: Tarla koşullarında yeşil aksama farklı antagonist uygulamalarının da yer aldığı ikinci denemesi 2014 yılı Nisan-Temmuz ayları arasında yürütülmüştür. İkinci yıl üç adet antagonist (Antg-12, Antg-57, Antg-101) ve kombinasyonlarına ilave olarak, Antg-198 tekli halde, pozitif kontrol ve negatif kontrol su olacak şekilde 10 uygulama ile deneme kurulmuştur. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre beş tekrarlı ve her tekrarda üç yaprak değerlendirilecek şekilde kurulmuştur. Fideler 5 Nisan 2014 tarihinde önceden hazırlanan toprağa birinci denemede belirtildiği şekilde dikilmiştir. Antagonist ve patojen bulaştırmaları 3.2.7.4'de anlatılan cam sera denemelerinde yapıldığı şekilde uygulanmıştır. Pozitif kontrol bitkilerinde kahverengi lekeler gözlendikten sonra bitkilerde belirlenen hastalık şiddeti ve uygulamaların istatistiksel benzerlik ve

farklılıkları birinci denemede olduğu şekilde karşılaştırılmıştır. Deneme dört hafta boyunca değerlendirilmiştir.

3.2.7.7. Tarla Koşullarında Antagonist Uygulamalarının Karpuz Meyve Verimi Üzerine Etkisi

Hastalık etmeni en büyük zararını meyve döneminde gerçekleştirdiğinden meyvedeki hastalık belirtilerinin değerlendirilmesi amacıyla meyve oluşumu ve olgunlaşması dönemine kadar karpuz bitkilerinin günlük bakım işlemleri yapılmıştır. Meyveler yeterli büyüklüğe ve olgunluğa eriştiğinde hastalık belirtileri yönünden incelenmiştir. Olgunlaşmış olan karpuz meyveleri hasat edilmiş ve terazide tartılmıştır. Uygulamaların meyve verimi üzerine etkisi ANOVA İstatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma testinde $P \leq 0.05$ önem düzeyinde değerlendirilerek istatistiki farklar belirlenmiştir. Aynı istatistiki grupta yer alan uygulamalar aynı harfle işaretlenmiş ve sonuçlar yorumlanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Hastalık Belirtisi Gösteren Karpuz ve Kavun Bitkilerinin Toplanması

Karpuz üretiminin yoğun şekilde yapıldığı Adana iline bağlı ilçeler (Ceyhan, Karataş, Kozan, Yumurtalık, Yüreğir), Mersin ili ve Osmaniye ili Kadirli ilçesine bağlı 15 farklı karpuz ve kavun tarlası 2010, 2011 ve 2012 yılları yaz aylarında (Mayıs-Ağustos) ziyaret edilmiş, bakteriyel meyve lekesi belirtisine benzeyen örnekler toplanmıştır. Her tarladan özellikle yağ emmiş görünümde, su emmiş lekelerin ve kahverengi lekelerin olduğu çok sayıda yaprak örneği alınmıştır. Meyvelerde ise, meyve kabuğunda su emmiş, koyu yeşil renkte, kabukta çatlamalar veya çatlaklardan dışarı sızan akıntıların olduğu meyvelerden 2-3 adet meyve örneği alınmıştır. Toplanan yaprak ve meyve örneklerinden laboratuvarda yapılan izolasyonlarda 9 tarladan toplanan örneklerde bakteriyel meyve lekesi etmeni izole edilmiştir. Karpuz yaprak örneklerinde yağ emmiş görünümde ve düzensiz kahverengi lekeler (Şekil 4.1) ve meyvelerde ise meyve kabuğunda su emmiş zeytin yeşili renklenme ve kabukta çatlamalar (Şekil 4.2) ve bu kısımlardan beyaz renkte köpürmelerin olduğu (Şekil 4.3) örneklerden etmen izole edilmiştir. Kavun yapraklarında kızılımsı kahverengi lekeler ve meyvelerde su emmiş, içe çökük, kahverengi renkte ve çatlakların olduğu (Şekil 4.4) örneklerden patojen bakteri izole edilmiştir.

Alınan yaprak ve meyve örnekleri incelendiğinde yapraklardaki hastalık belirtilerinin belirgin olmadığı, fungal etmenlerin oluşturduğu nekrozlarla benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Aynı durum kavun yapraklarında da göze çarpmıştır. Karpuz meyvelerinde kabukta oluşan su emmiş alan şeklinde başlayan lekelerin tüm meyve kabuğunu kaplayarak önce zeytin yeşili renginde olduğu, daha sonra kahverengileştiği, meyve kabuğunun çatladığı ve bu kısımlardan asit üreten bakteriden ötürü köpükler çıktığı belirgin bir şekilde gözlenmiştir. Ayrıca meyve etinde de kahverengi lekelerin varlığı da tipik hastalık belirtisi olarak belirlenmiştir. Tipik hastalık belirtileri gösteren karpuz meyvelerinin bulunduğu tarlalar ziyaret edildiğinde tarlanın % 100'üne yakınında hastalık belirtileri olduğu gözlenmiştir.

İncelenmek amacıyla laboratuvarımıza ulaştırılan beş tarladan on adet karpuz ve sekiz tarladan sekiz adet kavun örneğinin dokuzundan bakteriyel etmen izole edilmiştir. Karpuz meyvelerinde meyve etinde kahverengileşme, meyve kabuğunda su emmiş geniş lekeler ve daha ileri aşamada kabukta kahverengileşme ve çatlamalar olduğu örneklerden izolasyonlar yapılmış ve etmen izole edilmiştir. Bekletilen karpuz meyve örneklerinde de bu çatlaklardan asit üretiminden dolayı köpürmeler gerçekleştiği de tespit edilmiştir. Kavun meyvelerinde ise içe çökük, kahverengi lekeler ve çatlamalar olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Karpuz yapraklarında yağ emmiş görünümde (sağda) ve düzensiz kahverengi lekeler (solda)



Şekil 4.2. Meyve kabuğunda su emmiş zeytin yeşili renk (solda) ve kabukta çatlamalar (sağda)



Şekil 4.3. Karpuz meyvesinde çatlaklardan dışarı çıkan beyaz köpükler



Şekil 4.4. Kavun yapraklarında kızılımsı kahverengi lekeler (solda) ve meyvelerde içe çökük, kahverengi lekeler ve çatlamalar (sağda)



Şekil 4.5. Kotiledon yaprakların arka tarafında su emmiş lekeler (solda) ve gerçek yapraklarda kahverengi yanıklıkların olduğu fideler (sağda)

Adana ve Mersin'de ticari 2 fidelik 2010 ve 2011 yıllarında ziyaret edilmiştir. Kotiledon yaprakların arka tarafında su emmiş lekeler ve gerçek yapraklarda kahverengi yanıklığın olduğu fideler (Şekil 4.5) bakteriyel fide yanıklığı şüphesiyle alınmış ve yapılan izolasyonlarda her iki fidelikten de bakteriyel etmen izole edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Toplanan hasta karpuz ve kavun bitkileri hakkında bilgiler

No	**Örneklenen Yer**	**Bitki Adı**	**Çeşit**	**Örneklenen Materyal**	**Yıl**
1	Tuzla, Karataş, ADANA	Kavun	Sürmeli	Meyve	2010
2	Tuzla, Karataş, ADANA	Kavun	Sürmeli	Meyve	2010
3	Tuzla, Karataş, ADANA	Kavun	Sürmeli	Meyve	2010
4	Kapı Köyü, Tuzla, ADANA	Kavun	Sürmeli	Meyve	2010
5	Kapı Köyü, Tuzla, ADANA	Kavun	Sürmeli	Yaprak	2010
6	Beyköy, Karataş, ADANA	Karpuz	Crisby	Meyve	2010
7	Tabaklar Köyü, Tuzla, ADANA	Karpuz	Zeugma	Meyve	2010
8	Tabaklar Köyü, Tuzla, ADANA	Karpuz	Blade	Meyve	2010
9	Tabaklar Köyü, Tuzla, ADANA	Karpuz	Blade	Meyve	2010
10	Tuzla, Karataş, ADANA	Kavun	Sürmeli	Meyve	2010
11	Ticari Fidelik, MERSİN	Kavun	Sürmeli	Fide	2010
12	Irmakbaşı Kilise Köyü, Yüreğir, ADANA	Karpuz	Bilinmiyor	Meyve	2011
13	Ticari Fidelik, ADANA	Karpuz	Zeugma	Fide	2011
14	Kösreli Köyü, Ceyhan, ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011
15	Kösreli Köyü, Ceyhan, ADANA	Karpuz	Starburst	Yaprak	2011
16	Kösreli Köyü, Ceyhan, ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011
17	Sumbas, Kadirli, OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012

Çukurova Bölgesi'nde erkenci, orta ve geç hasat edilme özelliklerine sahip farklı çeşit karpuzlar yetiştirilmektedir. Bu nedenle yapılan tarla ziyaretleri ve laboratuvara getirilen hasta karpuz örnekleri farklı karpuz çeşitlerinden (Crisby, Starburst, Zeugma ve Blade) alınmıştır. 2010 yılında Crisby, Zeugma ve Blade çeşit karpuzlardan, 2011 ve 2012 yıllarında Starburst çeşit karpuz meyvelerinden örnekler toplanmıştır. 2011 yılında Adana'da bir fidelikte Zeugma çeşidi hasta karpuz fidelerinden örnek alınmıştır.

Aynı şekilde Çukurova Bölgesi'nde Sürmeli çeşit kavun yoğun olarak yetişitirildiğinden hastalık şüphesiyle 2010 yılında laboratuvara getirilen ve Mersin'de bir fidelikten alınan kavun fidesi örneklerinin hepsi Sürmeli çeşidi kavunlardan alınmıştır (Çizelge 4.1).

4.2. Karpuz ve Kavun Bitkilerinden Bakteriyel Etmenin İzolasyonu

Laboratuvarımıza ulaştırılan örneklerden ve Adana, Mersin ve Osmaniye illerinden 2010, 2011 ve 2012 yıllarında ziyaret edilen ticari fidelik ve tarlalardan toplanan hasta karpuz ve kavun bitkilerinin fide, yaprak ve meyvelerinden yapılan izolasyonlarda King B besi yerinde 1-3 mm çapında, floresan olmayan özellikte ve krem renkte koloniler gelişmiştir. Adana ve Mersin'de fideliklerden alınan örneklerden 10 adet, Adana ve Osmaniye'de karpuz ve kavun tarlalardan alınan yaprak ve meyve örneklerinden 72 adet bakteri izolatı elde edilmiştir. Ayrıca bu konuda Prof. Dr. Yeşim Aysan danışmanlığındaki doktora çalışmasını tamamlayan Dr. Hatice Selçuk ve doktora çalışmasına devam eden Zir. Yük. Müh. Ali Karataş'ın 2009 yılında bölgeden gelen şikayetler üzerine yaptıkları surveylerde elde ettikleri 22 adet bakteri izolatı ile Antalya'da ticari bir fidelikten *Acidovorax citrulli* şüphesiyle Antalya Zirai Karantina Müdürlüğü'ne gönderilen fidelerden Dr. Hatice Selçuk tarafından izole edilen 4 adet *Acidovorax citrulli* izolatı da doktora çalışmamızda kullanılmıştır. Böylece toplamda 108 adet bakteri izolatı elde edilmiştir (Çizelge 4.2).

Osmaniye ilinden karpuz meyvelerinden toplam 19 adet, Adana ilinde kavun bitkilerinden 6 adet, karpuz bitkilerinden 76 adet, Antalya ilinden ise karpuz

bitkilerinden 4 adet *Acidovorax citrulli* izolatı elde edilmiştir. 2009 yılında 22 adet, 2010 yılında 27 adet, 2011 yılında 43 adet ve 2012 yılında 16 adet *Acidovorax citrulli* izolatı elde edilmiştir. İzole edilen bakteri izolatlarının 14 tanesi fidelikten, geriye kalan 94 adedi ise tarladan izole edilmiştir. İzolatların 82 adedi Adana ilinden, 4 adedi Antalya'dan, 3 adedi Mersin'den ve 19 adedi Osmaniye'den elde edilmiştir. Elde edilen *Acidovorax citrulli* izolatlarının 8 adedi kavun bitkisinden, bunlar içerisinde ise 3 adedi kavun fidesinden, 100 tanesi ise karpuz bitkilerinden ve bu izolatların 19 adedi enfekteli karpuz yapraklarından ve geriye kalan 89 adedi hastalıklı karpuz meyvelerinden izole edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Elde edilen toplam *Acidovorax citrulli* izolatları

No	**İzolat Adı**	**İzole Edildiği Yer**	**Bitki Adı**	**Çeşit**	**Örnek Materyali**	**Yıl**	**İzole Eden Kişi**
1	Taşçı	Taşçı Köyü/Yüreğir/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Hatice Selçuk
2	Abdullah	Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Hatice Selçuk
3	AZM 54	Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Hatice Selçuk
4	AZM-50	Hamamköy/KOZAN	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Hatice Selçuk
5	Tolga	Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Hatice Selçuk
6	AZM-2	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
7	AZM-4	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
8	AZM-5	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
9	AZM-6	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
10	AZM-8	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
11	AZM-10	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
12	AZM-12	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
13	AZM-13	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
14	AZM-14	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
15	AZM-15	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş

Çizelge 4.2. Devamı

16	AZM-16	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
17	AZM-17	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
18	AZM-18	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
19	AZM-19	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
20	AZM-20	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
21	AZM-21	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
22	AZM-22	Karataş/ADANA	Karpuz	Crimson Tide	Meyve	2009	Ali Karataş
23	5/1d	Tuzla/Karataş/ ADANA	Kavun	Sürmeli	Meyve	2010	Sümer Horuz
24	6c	Tuzla/Karataş/ ADANA	Kavun	Sürmeli	Meyve	2010	Sümer Horuz
25	7a	Tuzla/Karataş/ ADANA	Kavun	Sürmeli	Meyve	2010	Sümer Horuz
26	9/1c	Kapı Köyü/Tuzla/ADANA	Kavun	Sürmeli	Meyve	2010	Sümer Horuz
27	9/3a	Kapı Köyü/Tuzla/ADANA	Kavun	Sürmeli	Yaprak	2010	Sümer Horuz
28	15-1a	Beyköy/Karataş/ADANA	Karpuz	Crisby	Meyve	2010	Sümer Horuz
29	15-1d	Beyköy/Karataş/ADANA	Karpuz	Crisby	Meyve	2010	Sümer Horuz
30	15-1e	Beyköy/Karataş/ADANA	Karpuz	Crisby	Meyve	2010	Sümer Horuz
31	15-2b	Beyköy/Karataş/ADANA	Karpuz	Crisby	Meyve	2010	Sümer Horuz
32	15-2d	Beyköy/Karataş/ADANA	Karpuz	Crisby	Meyve	2010	Sümer Horuz
33	15-2e	Beyköy/Karataş/ADANA	Karpuz	Crisby	Meyve	2010	Sümer Horuz
34	15-2g	Beyköy/Karataş/ADANA	Karpuz	Crisby	Meyve	2010	Sümer Horuz
35	23-1a	Tabaklar Köyü/Tuzla/ ADANA	Karpuz	Zeugma	Meyve	2010	Sümer Horuz
36	23-1c	Tabaklar Köyü/Tuzla/ ADANA	Karpuz	Zeugma	Meyve	2010	Sümer Horuz
37	23-2b	Tabaklar Köyü/Tuzla/ ADANA	Karpuz	Zeugma	Meyve	2010	Sümer Horuz
38	23-2c	Tabaklar Köyü/Tuzla/ ADANA	Karpuz	Zeugma	Meyve	2010	Sümer Horuz
39	25d	Tabaklar Köyü/Tuzla/ ADANA	Karpuz	Blade	Meyve	2010	Sümer Horuz
40	25f	Tabaklar Köyü/Tuzla/ ADANA	Karpuz	Blade	Meyve	2010	Sümer Horuz
41	30a	Tabaklar Köyü/Tuzla/ ADANA	Karpuz	Blade	Meyve	2010	Sümer Horuz

Çizelge 4.2. Devamı

42	30b	Tabaklar Köyü/Tuzla/ ADANA	Karpuz	Blade	Meyve	2010	Sümer Horuz
43	30c	Tabaklar Köyü/Tuzla/ ADANA	Karpuz	Blade	Meyve	2010	Sümer Horuz
44	30d	Tabaklar Köyü/Tuzla/ ADANA	Karpuz	Blade	Meyve	2010	Sümer Horuz
45	30h	Tabaklar Köyü/Tuzla/ ADANA	Karpuz	Blade	Meyve	2010	Sümer Horuz
46	Kavun 2a	Tuzla/Karataş/ADANA	Kavun	Sürmeli	Meyve	2010	Sümer Horuz
47	SH-55	Ticari Fidelik/MERSİN	Kavun	Sürmeli	Fide	2010	Sümer Horuz
48	SH-60	Ticari Fidelik/MERSİN	Kavun	Sürmeli	Fide	2010	Sümer Horuz
49	SH-61	Ticari Fidelik/MERSİN	Kavun	Sürmeli	Fide	2010	Sümer Horuz
50	İK 4/1	Serik/ANTALYA	Karpuz	Crimson Tide TZ-148	Fide	2011	Hatice Selçuk
51	İK 4/2	Serik/ANTALYA	Karpuz	Crimson Tide TZ-148	Fide	2011	Hatice Selçuk
52	İK 5/1	Manavgat/ANTALYA	Karpuz	Crimson Tide TZ-148	Fide	2011	Hatice Selçuk
53	İK 5/2	Manavgat/ANTALYA	Karpuz	Crimson Tide TZ-148	Fide	2011	Hatice Selçuk
54	SH-1	Irmakbaşı Kilise Köyü/ Yüreğir/ADANA	Karpuz	Bilinmiyor	Meyve	2011	Sümer Horuz
55	SH-2	Irmakbaşı Kilise Köyü/ Yüreğir/ADANA	Karpuz	Bilinmiyor	Meyve	2011	Sümer Horuz
56	SH-3	Irmakbaşı Kilise Köyü/ Yüreğir/ADANA	Karpuz	Bilinmiyor	Meyve	2011	Sümer Horuz
57	SH-4	Irmakbaşı Kilise Köyü/ Yüreğir/ADANA	Karpuz	Bilinmiyor	Meyve	2011	Sümer Horuz
58	SH-5	Irmakbaşı Kilise Köyü/ Yüreğir/ADANA	Karpuz	Bilinmiyor	Meyve	2011	Sümer Horuz
59	SH-6	Irmakbaşı Kilise Köyü/ Yüreğir/ADANA	Karpuz	Bilinmiyor	Meyve	2011	Sümer Horuz
60	SH-7	Irmakbaşı Kilise Köyü/ Yüreğir/ADANA	Karpuz	Bilinmiyor	Meyve	2011	Sümer Horuz
61	SH-8	Irmakbaşı Kilise Köyü/ Yüreğir/ADANA	Karpuz	Bilinmiyor	Meyve	2011	Sümer Horuz
62	SH-9	Irmakbaşı Kilise Köyü/ Yüreğir/ADANA	Karpuz	Bilinmiyor	Meyve	2011	Sümer Horuz
63	SH-10	Irmakbaşı Kilise Köyü/ Yüreğir/ADANA	Karpuz	Bilinmiyor	Meyve	2011	Sümer Horuz
64	SH-11	Ticari Fidelik/ ADANA	Karpuz	Zeugma	Fide	2011	Sümer Horuz
65	SH-12	Ticari Fidelik/ ADANA	Karpuz	Zeugma	Fide	2011	Sümer Horuz

Çizelge 4.2. Devamı

66	SH-13	Ticari Fidelik/ ADANA	Karpuz	Zeugma	Fide	2011	Sümer Horuz
67	SH-14	Ticari Fidelik/ ADANA	Karpuz	Zeugma	Fide	2011	Sümer Horuz
68	SH-18	Ticari Fidelik/ ADANA	Karpuz	Zeugma	Fide	2011	Sümer Horuz
69	SH-19	Ticari Fidelik/ ADANA	Karpuz	Zeugma	Fide	2011	Sümer Horuz
70	SH-20	Ticari Fidelik/ ADANA	Karpuz	Zeugma	Fide	2011	Sümer Horuz
71	SH-33	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
72	SH-34	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
73	SH-35	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
74	SH-36	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Yaprak	2011	Sümer Horuz
75	SH-37	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Yaprak	2011	Sümer Horuz
76	SH-38	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Yaprak	2011	Sümer Horuz
77	SH-39	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Yaprak	2011	Sümer Horuz
78	SH-40	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Yaprak	2011	Sümer Horuz
79	SH-41	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Yaprak	2011	Sümer Horuz
80	SH-42	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Yaprak	2011	Sümer Horuz
81	SH-43	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Yaprak	2011	Sümer Horuz
82	SH-44	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
83	SH-45	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
84	SH-46	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
85	SH-47	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
86	SH-48	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
87	SH-49	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
88	SH-50	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
89	SH-51	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
90	SH-52	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
91	SH-53	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz

Çizelge 4.2. Devamı

92	SH-54	Kösreli Köyü/ Ceyhan/ADANA	Karpuz	Starburst	Meyve	2011	Sümer Horuz
93	Kadirli 1 Ac 1	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
94	Kadirli 1 Ac 2	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
95	Kadirli 1 Ac 3	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
96	Kadirli 1 Ac 4	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
97	Kadirli 2 Ac 1	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
98	Kadirli 2 Ac 2	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
99	Kadirli 2 Ac 3	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
100	Kadirli 2 Ac 4	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
101	Kadirli 3 Ac 1	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
102	Kadirli 3 Ac 2	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
103	Kadirli 3 Ac 3	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
104	Kadirli 3 Ac 4	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
105	Kadirli 4 Ac 1	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
106	Kadirli 4 Ac 2	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
107	Kadirli 4 Ac 3	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz
108	Kadirli 4 Ac 4	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Karpuz	Starburst	Meyve	2012	Sümer Horuz

4.3. Elde Edilen İzolatların Klasik Testlerle Tanısı

Patojenite Testi: *Acidovorax citrulli* izolatlarının patojenite testinde karpuz fidelerinin kotiledon yapraklarına infiltre edildiğinde 48 saat sonra kotiledon yapraklarda su emmiş alanlar, ilerleyen dönemde ise yanıklık ve kotiledon ölümleri gözlenmiştir.

Bu izolatlar karpuz ve kavun meyvelerine infiltre edildiğinde uygulamalardan 3-7 gün sonra enjeksiyonun gerçekleştiği noktada köpürme, meyve etinde kahverengileşme, ilerleyen dönemde çürümeler, kavun meyvelerinde ise uygulamadan 24 saat sonra enjeksiyonun gerçekleştiği noktada su emmiş alanlar, 3-7

gün sonra meyve kabuğunda ve etinde kahverengileşme, çatlak oluşumu ve bu çatlaklardan köpük çıkışı ile birlikte daha ilerleyen dönemlerde içe çökük lekeler ve çürümeler olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.6).

Fidelikte kotiledon yapraklardaki su emmiş alanlar ve yanıklıklar ile arazi koşullarında gözlenen meyve etinde kahverengileşme, köpürme ve çürümeler patojenite testlerinde de tespit edilmiştir. Negatif kontrol bitkilerinde herhangi bir hastalık belirtisi gözlenmemiştir. Kotiledon yapraklarındaki su emmiş lekelerden, karpuz ve kavun meyvelerinde ise meyve etinde gerçekleşen kahverengi lekelerden re-izolasyonlar gerçekleştirilmiştir.

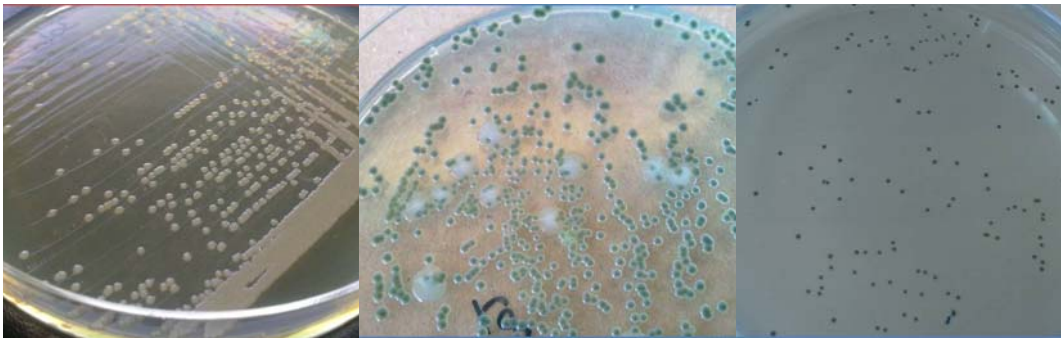
Yapılan re-izolasyonlar sonucunda petride gelişen non-floresan tipte, krem renkte 108 adet re-izolat saflaştırılmıştır. Böylelikle yapılan re-izolasyonlarla Koch postulatlarının aşamaları tamamlanmıştır. Elde edilen re-izolatlarla tanı çalışmaları gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.6. Patojenite testinde karpuz meyvelerinde köpürme (solda) ve kavun meyvelerinde kahverengileşme ve enjeksiyon yerinden köpük çıkışı (sağda)

Koloni Morfolojisi: Karpuz ve kavun bitkilerden elde edilen re-izolatlar genel besi yeri olan King B besi yerinde ekimden 24-48 saat sonra 2-3 mm çapında, krem renkte, floresan olmayan özellikte, yuvarlak koloniler üretmiştir. Yarı seçici

besi yeri olan mEBB'de 25 ºC'de 5-7 gün inkübasyondan sonra 1-2 mm çapında, mavimsi yeşil renkte koloniler ve P-278 besi yerinde ise 48 saat inkübasyon sonrası 3-4 mm çapında, lila (açık mor) renkte, yaşlandıkça (7-10 gün sonra) ortası koyu yeşil etrafı açık mor renkte koloniler gelişmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Genel besi yeri King B (solda), yarı seçici besi yeri olan P-278 (ortada) ve mEBB (sağda) besi yerlerinde koloni gelişimi

Potasyum Hidroksit (KOH) ile Gram Reaksiyonu Testi: Karpuz ve kavun izolatları vizkoz ve yoğun bir durum alarak 1-3 cm veya daha fazla iplik gibi uzamış ve reaksiyon pozitif olarak değerlendirilmiştir. Tüm re-izolatlar ve Taşçı kodlu *Acidovorax citrulli* bu özelliği göstermiş ve gram negatif bakteri olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3). Gram pozitif özellikteki YA-2 kodlu *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatı ise KOH çözeltisinde çözünmemiştir.

Levan Tipte Bakteri Gelişimi: Tüm re-izolatlar SNA besiyerinde levan tipte gelişim göstermemiştir (Çizelge 4.3). A 1/1 kodlu *Erwinia amylovora* izolatı SNA besiyerinde beyaz renkte, mukoid tipte, kubbe şeklinde koloni gelişimi göstererek pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Oksidaz Testi: Sitokrom oksidaz enzimini üreten bakterileri ayırt etmek için yapılan bu testte tüm kavun ve karpuz izolatları ve Taşçı izolatı yaklaşık 5-10 saniye sonra koyu mor renk oluşturarak pozitif sonuç vermiştir.

Pektolitik Aktivite Testi: Patates dilimlerine bulaştırılan re-izolatlar ve Taşçı izolatı patates dilimlerinde yumuşamaya neden olmamış ve reaksiyon negatif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3). Karşılaştırma amaçlı kullanılan BD 8/2b kodlu pektolitik enzim üreten *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* izolatı patates dilimlerinde yumuşama, hafif pis koku ve çürümeye neden olmuştur.

Arginin Dehidrolaz Testi: Thornley 2A besi yerine bulaştırılan re-izolatlar ve Taşçı izolatı besi yerinde renk değişimine neden olmamış ve turuncu-pembe renkte kalmıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan *Pseudomonas corrugata* izolatı besi yerini pembe-kırmızı renge dönüştürmüş ve reaksiyon pozitif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3). Negatif kontrol olarak kullanılan Pst 1 1r kodlu *Pseudomonas syringae* pv *tomato* izolatı normal renk olan açık turuncu-pembe renkte kalmıştır.

Tütünde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu: Re-izolatlar ve Taşçı izolatı tütün (*Nicotiana tabacum* cv. Adıyaman) bitkisinin yan damarlarında enjekte edildikten 24-48 saat sonra verilen alanla sınırlı çökme ve su emmiş leke oluşturmuş (Şekil 4.8) ve sonuç olarak tüm izolatlar HR pozitif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. *Acidovorax citrulli* re-izolatlarının klasik testlerle tanı sonuçları

Testler	**Referans İzolat (Taşçı izolatı)**	**Kavun-Karpuz İzolatları (108 Adet)**
Gram Reaksiyonu	Negatif	Negatif
L	-	-
O	+	+
P	-	-
A	-	-
T	+	+

L: levan tipte koloni gelişimi; **O**: oksidaz testi; **P**: patateste pektolitik aktivite; **A**: arginin dehidrolaz aktivitesi; **T**: tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu

4.4. Elde Edilen İzolatların Serolojik Test ile Tanısı

Doktora çalışmasında klasik testlere göre *Acidovorax citrulli* olarak tanılanan izolatlar içerisinden seçilen 17 izolatın tanı sonuçlarını desteklemek amacıyla monoklonal antiserum kullanılarak yapılan DAS-ELISA testinde 5. ve 20. dakika olmak üzere iki kez ELISA plate okuyucusunda 405 nm'de absorbans değerleri okunmuş ve 5. dakikada okumada absorbans değerleri 2.20-3.19 arasında kaydedilmiştir. 20. dakikada ise absorbans değerleri 3.26-3.37 arasında ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.4. Re-izolatların DAS-ELISA absorbans değerleri

	5. Dakika Okuma			20. Dakika Okuma			
ÖRNEKLER	**1. kuyu**	**2. kuyu**	**Ort**	**1. kuyu**	**2. kuyu**	**Ort**	**SONUÇ**
Negatif Kontrol	0.38	0.40	0.39	0.43	0.53	0.48	NEGATİF
Ekstraksiyon Bufferı	0.43	0.38	0.40	0.57	0.40	0.48	NEGATİF
Pozitif Kontrol	2.78	2.85	2.81	3.31	3.33	3.32	POZİTİF
5/1d	2.72	2.66	2.69	3.32	3.33	3.32	POZİTİF
6c	2.96	2.73	2.85	3.26	3.34	3.30	POZİTİF
7a	3.13	3.08	3.11	3.34	3.34	3.34	POZİTİF
9/1c	3.01	3.05	3.03	3.32	3.31	3.32	POZİTİF
15-1e	3.15	3.18	3.16	3.29	3.30	3.30	POZİTİF
23-1a	3.17	3.21	3.19	3.26	3.27	3.26	POZİTİF
25d	2.61	2.34	2.47	3.36	3.33	3.34	POZİTİF
30c	2.60	2.56	2.58	3.30	3.33	3.32	POZİTİF
Kavun 2a	3.05	2.69	2.87	3.38	3.33	3.36	POZİTİF
SH-60	3.05	3.09	3.07	3.30	3.33	3.31	POZİTİF
SH-61	3.13	3.02	3.08	3.32	3.30	3.31	POZİTİF
İK 4/1	2.64	2.66	2.65	3.27	3.29	3.28	POZİTİF
İK 5/2	1.92	2.49	2.20	3.33	3.32	3.33	POZİTİF
SH-2	2.46	2.16	2.31	3.33	3.28	3.30	POZİTİF
SH-11	2.10	2.42	2.26	3.30	3.32	3.31	POZİTİF
SH-43	3.07	3.08	3.07	3.27	3.29	3.28	POZİTİF
Kadirli 1 Ac1	2.02	2.66	2.34	3.36	3.38	3.37	POZİTİF

Pozitif kontrolde absorbans değeri beşinci dakikada 2.81, negatif kontrolde 0.39, 20. dakikada pozitif kontrol 3.32 olarak ölçülürken, negatif kontrolde bu değer 0.48 olarak kaydedilmiştir. Elde edilen absorbans değerlerinin negatif kontrolün iki katından fazla ve pozitif kontrole yakın değerlerde olmasıyla tüm izolatların DAS-ELISA testine göre *Acidovorax citrulli* olduğu doğrulanmıştır (Çizelge 4.5).

Farklı Yoğunluktaki Patojenin DAS-ELISA Testiyle Tanısı: ELISA testi aşamaları tamamlandıktan beş dakika sonra absorbans değerleri okunduğunda $1.44x10^4$ hücre/ml yoğunlukta ve daha altındaki yoğunlukta olan patojen bu testle saptanamamıştır. Ancak, 30 ve 60 dakika sonra absorbans değerleri kaydedildiğinde

$1.44x10^4$ ve üzerindeki konsantrasyon değerleri saptanmış, $1.44x10^3$ hücre/ml ve daha altındaki patojen popülasyonu belirlenememiştir.

Çizelge 4.5. ELISA testinde farklı sürelerde kaydedilen absorbans değerleri

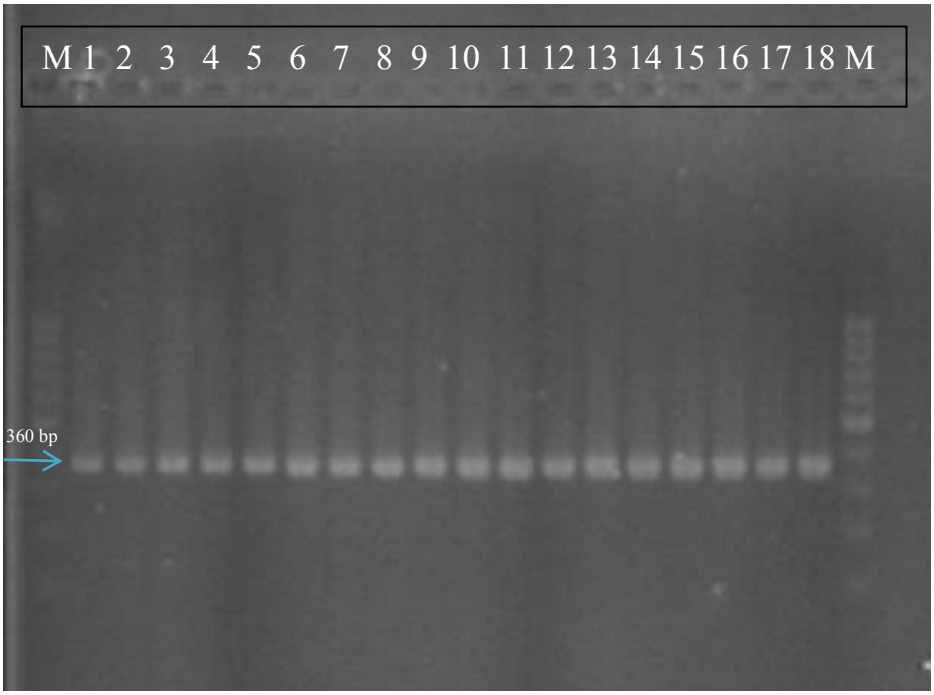
Örnekler	**5. dakika**				**30. dakika**				**60. dakika**			
	1*	**2***	**Ort.**	**Sonuç**	**1**	**2**	**Ort.**	**Sonuç**	**1**	**2**	**Ort.**	**Sonuç**
Negatif Kontrol	0.06	0.04	0.05		0.03	0.10	0.06		0.01	0.14	0.07	
Ekstraksiyon Bufferı	0.06	0.08	0.07		0.05	0.08	0.06		0.04	0.07	0.05	
Pozitif kontrol	1.14	1.20	1.17	P	3.00	3.05	3.02	P	3.03	3.03	3.03	P
Taşçı ($1.44x10^8$)	1.68	1.84	1.76	P	2.98	3.03	3.00	P	2.99	3.03	3.01	P
Taşçı ($1.44x10^7$)	0.79	0.77	0.78	P	2.78	3.02	2.90	P	3.00	3.12	3.06	P
Taşçı ($1.44x10^6$)	0.43	0.45	0.44	P	2.37	2.47	2.42	P	2.94	2.98	2.96	P
Taşçı ($1.44x10^5$)	0.12	0.10	0.11	P	0.64	0.73	0.69	P	1.13	1.12	1.13	P
Taşçı ($1.44x10^4$)	0.03	0.06	0.04	N	0.14	0.18	0.16	P	0.24	0.27	0.26	P
Taşçı ($1.44x10^3$)	0.07	0.11	0.09	N	0.08	0.13	0.11	N	0.11	0.16	0.13	N
Taşçı ($1.44x10^2$)	0.02	0.05	0.04	N	0.01	0.05	0.03	N	0.02	0.02	0.02	N
Taşçı ($1.44x10^1$)	0.08	0.02	0.05	N	0.08	0.00	0.04	N	0.10	0.02	0.06	N

P: pozitif; N; negatif
*1: Birinci tekrar; 2: İkinci tekrar

Her üç zamandaki okuma değerlerinde negatif kontrolde dikkate değer fark gözlenmezken, farklı yoğunluktaki popülasyonlarda bekleme süresi arttıkça kaydedilen absorbans değerinde ciddi artış olduğu dikkati çekmiştir. Bu çalışma ile ticari kitte firmanın önerdiği bekleme süresinin dikkate alınmasının hatalı sonuçların önüne geçilmesinde faydalı olacağı ortaya konmuştur. Bu ticari kitin $1.44x10^4$ hücre/ml yoğunluğundaki bakteri popülasyonunu saptayacak duyarlılıkta olduğu saptanmıştır.

4.5. Elde Edilen İzolatların Moleküler Testlerle Tanısı

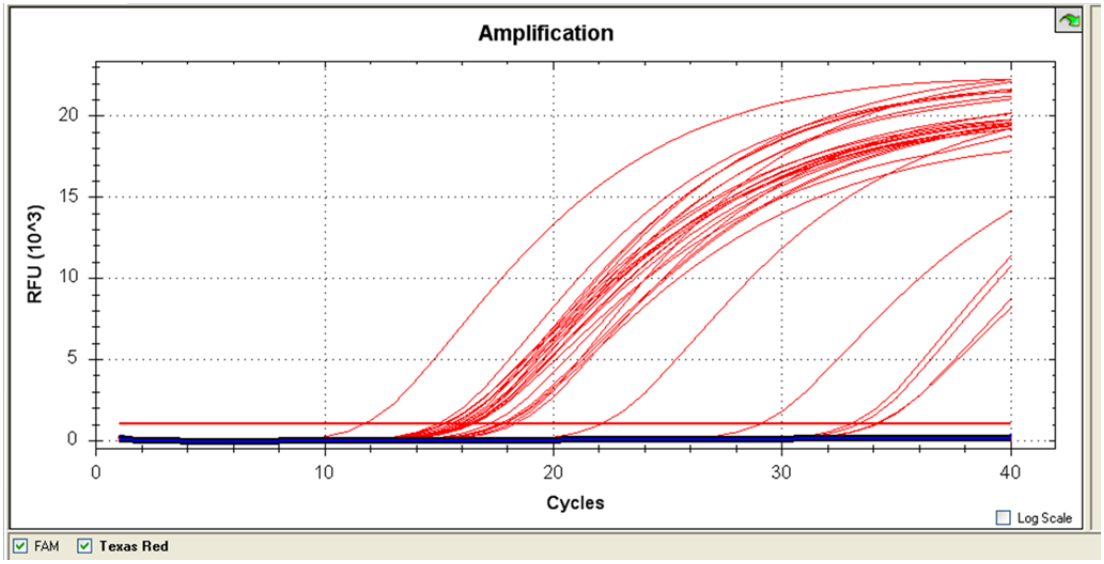
Geleneksel testler ve serolojik test DAS-ELISA ile *Acidovorax citrulli* olarak tanılanan re-izolatların tanı sonucunu desteklemek için moleküler tanıları türe spesifik PCR ve Taqman Real-Time PCR teknikleriyle yapılmıştır. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde gerçekleştirilen türe spesifik klasik PCR testinde, toplam 108 adet re-izolattan elde edilen genomik DNA, master mix, türe spesifik primerler (WFB1/WFB2) kullanılarak yapılan PCR testinde tüm re-izolatlar % 1.5 agaroz jelde 360 bp büyüklüğünde *Acidovorax citrulli'*ye spesifik bant oluşturmuştur (Şekil 4.8). Türe spesifik klasik PCR testi ile karpuz ve kavundan elde edilen re-izolatların tümü *Acidovorax citrulli* olarak tanılanmıştır.



Şekil 4.8. PCR ürünlerinin % 1.5 agaroz jelde oluşturduğu bantlar (M:100 bp marker; 1:Taşçı kodlu pozitif kontrol; 2:5/1d; 3:6c; 4:7a; 5:9/1c; 6:15-1e; 7:23-1a; 8:25d; 9:30c; 10:Kavun 2a; 11:SH-60; 12:SH-61; 13:İK 4/1; 14:İK 5/2; 15:SH-2; 16:SH-11; 17:SH-43; 18:Kadirli 1 Ac 1)

Hollanda'da Naktuinbouw kurumunda yapılan Taqman Real-Time PCR çalışmasında, 76 adet izolatın genomik DNA'sı, master mix, primerler (Aacit 1-F ve Aacit 1-R) ve probe (Aacit 1-Probe) kullanılarak gerçekleştirilen thermocyclerda

testlenen izolatların 55 adedi 13.28-18.56 Ct değerleri arasında DNA fragmentleri oluşturmuştur (Şekil 4.9). PCR ürünlerinin oluşturduğu DNA amplifikasyonuna göre PCR ürünlerinin miktarındaki artış (threshold cycle (Ct)) değerleri 30'un altında olduğundan bu 55 adet izolat Taqman Real-Time PCR testine göre *Acidovorax citrulli* olarak değerlendirilmiştir. 21 adet izolat ise 30'un üzerinde (32-40 arası) Ct değeri oluşturduğundan negatif olarak değerlendirilmişlerdir. Türkiye'de yapılan türe spesifik PCR'a göre *Acidovorax citrulli* olarak tanılanan ve Taqman Real-Time PCR testinde negatif sonuç veren 21 adet izolatın Türkiye'den Hollanda'ya kültür transferi esnasında bulaşık olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.9. Taqman Real-Time PCR testine göre re-izolatların oluşturduğu amplifikasyonlar

4.6. İzolatlar Arası Genetik Akrabalığın Belirlenmesi

Geleneksel ve tanıyı destekleyici testlere göre *Acidovorax citrulli* olduğu belirlenen re-izolatların genotipik akrabalık durumlarının belirlenmesi, bölgemizdeki epideminin orjininin ortaya konması amacıyla AFLP-PCR testi kullanılarak poliakrilamid jelde farklı bantların oluşturduğu polimorfizm belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda 4 farklı primer kombinasyonu kullanılarak genomik DNA üzerinde farklı bölgelere bağlanarak amplifiye olmuş bantlar değerlendirildiğinde

elde edilen küme analizi sonucu tüm izolatlar iki ana gruba ayrılmıştır (Şekil 4.10). Dendogramda birinci ana grupta *Acidovorax* genusu içerisinde yer almayan 21 adet izolat yer almıştır. Birinci ana grup 4 özgü profil ve iki kümeden oluşmuştur. Birinci özgü profilde bir izolat (138 nolu), ikincide beş izolat (114, 115, 117, 118 ve 119 nolu), üçüncü özgü profilde bir izolat (151 nolu) ve dördüncü profilde ise iki izolat (146 ve 148 nolu) yer almıştır. Birinci kümede beş izolat (139, 141, 142, 143 ve 144 nolu) ve ikinci kümede yedi izolat (116, 121, 149, 150, 152, 153 ve 154 nolu) olduğu saptanmıştır. Bu ana grupta yer alan izolatların yedi (7) adedi (121, 138, 139, 141, 142, 143 ve 144 nolu) 2011 yılında Adana'dan Sürmeli çeşidi hasta kavun meyvelerinden izole edilmiştir. Dr. Hatice Selçuk'un tamamladığı doktora çalışmasında referans kültür olarak kullandığı bir izolat (114 nolu), 2010 yılında Osmaniye'den Crimson Tide çeşit karpuz fidesinden 5 izolat (115,116, 117, 118 ve 119 nolu), 2011 yılında Adana'da Zeugma çeşit hasta karpuz fidesinden 6 izolat (149, 150, 151,152, 153 ve 154 nolu) ve 2011 yılında Adana'dan hasta karpuz meyvesinden 2 adet izolat (146 ve 148 nolu) dendogramda birinci ana grupta yer almıştır. Dendograma göre birinci ana grupta yer alan bu izolatlar ikinci ana grupta yer alan *Acidovorax* spp. türleri ile % 100 farklılık göstermiştir. Bu izolatların muhtemelen Türkiye'den Hollanda'ya götürülen eğik agar kültürlerinde bir bulaşıklık olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu izolatlarla yapılan Taqman Real Time PCR testinde de negatif sonuç vererek *Acidovorax citrulli* olmadıkları teyit edilmiştir.

Dendograma göre *Acidovorax* genusu içerisinde yer alan türler ikinci ana grupta yer almıştır. İkinci ana grup kendi içerisinde üç alt gruba ayrılmıştır. Birinci alt grupta *Acidovorax citrulli* dışındaki *Acidovorax* genusu içerisinde yer alan 33 adet izolat yer almıştır. Birinci alt grup 8 özgü profil ve 10 kümeden oluşmuştur. 4 özgü profilde yer alan beş izolatın (200, 202, 203, 206 ve 211 nolu) hangi *Acidovorax* tür/leri oldukları bilinmemektedir. Ancak bu alt grupta yer alan diğer türlerle % 24-70 arasında benzerlik göstermişlerdir. Ayrıca bu alt grupta yer almış olmaları da izolatların *Acidovorax* genusu içerisinde bulunan türler olduğunun da bir göstergesidir. Bir özgü profilde *Acidovorax citrulli* olarak AFLP PCR çalışmasına alınan bir izolat (86 nolu) bu grupta yer almış, ancak, bu izolatla yapılan türe spesifik

PCR ve Taqman Real-Time PCR'da etmenin *Acidovorax citrulli* olmadığı saptanmıştır. Geriye kalan üç özgü profilde yer alan izolatlar *Acidovorax konjaci* (77 nolu), *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (166 nolu), *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* (78, 167, 169 nolu) türleridir. Birinci kümede çeltikten izole edilmiş *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* izolatı (76 nolu) ve ne olduğu bilinmeyen bir izolat (210 nolu) yer almıştır. İkinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci kümede bulunan izolatların (199, 201, 204, 205, 207, 208, 209 ve 212 nolu) hangi tür olduğu bilinmemektedir. Altıncı kümede 2003, 2004 ve 2005 yıllarında Almanya, Hollanda, Fransa ve Belçika'dan orkidelerden izole edilmiş dört adet *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* izolatı (168, 171, 172 ve 173 kodlu) yer almıştır. Beşinci kümede 2004 ve 2005 yılında Danimarka ve Hollanda'da yine orkidelerden izole edilmiş iki adet *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* izolatı (170 ve 174 nolu), altıncı kümede dua çiçeğinden (*Calathea* sp.) ve çilekten elde edilmiş iki *Acidovorax* sp. (79 ve 80 nolu) türü bulunmuştur. Yedinci kümede sıklamenden izole edilmiş *Acidovorax* sp. (81 nolu) ve karpuzdan elde edilmiş *Acidovorax facilis* (75 nolu) yer almıştır. Sekizinci kümede ise yaprakları salatada kullanılan Veldsla bitkisinden (*Valerianella locusta)* izole edilmiş iki *Acidovorax valerianella* izolatı (182 ve 183 nolu) yer almıştır (Şekil 4.10).

İkinci ana grup ikinci ve üçüncü alt grupta *Acidovorax citrulli* izolatları yer almıştır. Bu iki alt grupta yer alan izolatlar arasındaki benzerlik oranının % 33 olduğu saptanmıştır. İkinci ana grup ikinci alt grupta bulunan 62 izolat, altı özgü profil ve 13 kümeye ayrılmıştır. Birinci kümede 2011 yılında Türkiye'den Antalya'da Crimson Tide çeşit aşılı karpuz fidesinden elde edilmiş üç izolat (120, 127 ve 128 nolu) ve 2010 yılında Adana'da Zeugma çeşidi hasta karpuz meyvesinden bir izolat (131 nolu) yer almıştır. Bu izolatlar arasındaki benzerlik % 96, farklılık ise % 4'tür. Bu izolatlar arasında bir ya da iki bant farklılık olduğu düşünülmektedir. Bu benzerlik oranı dört izolatın aynı tür ve yakın akraba olduğunun göstergesidir. Ayrıca bu durum fidenin temin edildiği fideliğin 2011 yılından önce hastalıkla bulaşık olduğunu, aynı inokulum kaynağının 2010 yılında tarlada karpuz meyvelerinde 2011 yılında fidelerde hastalık oluşturmuş olabileceği ihtimalini de ortaya koymaktadır. İkinci kümede 2011 yılında kavundan izole edilmiş iki izolat

(181 ve 198 nolu), üçüncü kümede 1965 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nden karpuzdan alınmış bir izolat (32 nolu) ve 2004 yılında Hollanda'da izole edilmiş bir izolat (177 nolu) yer almıştır. Üçüncü kümede yer alan ABD'den 1965 yılında karpuzdan alınmış izolat muhtemelen hastalığın dünyada ilk epidemisini yaptığı izolat olabileceği düşünülmektedir. Bu izolat kendi kümesinde yer alan Hollanda'da 2004 yılında izole edilmiş izolatla % 96 benzerlik göstermiş, bu alt grupta yer alan ve birinci kümede yer alan Türkiye'den alınmış dört izolatla arasındaki fark % 40'tır. Dördüncü kümede 2001 yılında ABD'den kantalop kavunundan bir izolat (62 nolu) ve 2003 yılında Peru'da karpuzdan bir izolat (46 nolu), beşinci kümede üç izolat (218, 219 ve 220 nolu), altıncı kümede ise 2003 yılında Honduras'ta kavun (7 nolu) ve karpuzdan (65 nolu) iki izolat ve aynı yıl Meksika'da karpuzdan bir izolat (71 nolu) bulunmuştur. Yedinci kümede Avustralya'da 1999, 2000 ve 2001 yıllarında farklı kavun tiplerinden elde edilmiş üç izolat (33, 58 ve 73 nolu), sekizinci kümede 1998 yılında ABD'de kabaktan iki izolat (13 ve 35 nolu), 1999 ve 2002 yılında Brezilya'da kavundan iki izolat (5 ve 60 nolu), dokuzuncu kümede 1992 yılında ABD'de karpuzdan bir izolat (30 nolu) ve 1999'da Brezilya'da kavundan bir izolat (54 nolu) olduğu belirlenmiştir. Onuncu kümede 2000 yılında Brezilya'da karpuzdan (12 nolu) ve 2003 yılında Çin'de kabaktan (1 nolu) bir izolat, onbirinci kümede 2002 yılında İsrail'de kavundan bir izolat (45 nolu) ve elde edildiği bölge bilinmeyen iki izolat (215 ve 216 nolu) yer almışken, onikinci kümede iki (87 ve 88 nolu) ve onüçüncü kümede de iki izolat (95 ve 96 nolu) bulunmuştur.

İkinci ana grup ikinci alt grup birinci özgü profilde ABD'de 1999 yılında kantalop kavundan ve karpuzdan iki izolat (37 ve 61 nolu), 2004 yılında Hollanda'dan üç izolat (175, 176 ve 178 nolu) birbirinden farksız türler olarak belirlenmiştir. İkinci özgü profilde 2000 yılında ABD'de kantalop kavunundan elde edilmiş bir izolat (39 nolu) yer almıştır. Üçüncü özgü profilde bulunan 16 izolat (3, 9, 34, 40,59, 67, 68, 69, 70, 89, 92, 97, 103, 179, 180 ve 217 nolu) 1999-2011 yılları arasında kavun, kantalop kavunu, karpuz ve hıyardan ABD, Avustralya, Meksika, Çin ve Teksas'tan izole edilmiş ve % 100 benzerlik göstererek aynı tür ve birbirinin aynı olan izolatlar olarak değerlendirilmişlerdir. Bu durum aynı inokulum kaynağının farklı ülkelerde ve yıllarda farklı kabakgil türlerinde hastalık oluşturarak

yayılmasının bir sonucudur. Bu inokulumun özellikle tohum ticaretiyle diğer ülkelere taşınmış olabileceğinin de bir kanıtı niteliğindedir. Dördüncü özgü profilde nereden temin edildiği bilinmeyen iki izolat (213 ve 214 nolu), Avustralya'dan 1999, 2000 ve 2001 yıllarında kavundan üç izolat (33, 43 ve 63 nolu) ve 1992 yılında ABD'de karpuzdan bir izolat (27 nolu) olmak üzere altı izolat yer almış ve % 92 oranında benzerlik göstererek yakın akraba olarak yorumlanmışlardır. Beşinci özgü profilde 2002 yılında Brezilya'da kavundan alınmış bir izolat (4 nolu) ve son olarak altıncı özgü profilde ABD'de 1999 yılında kantalop kavunundan bir izolat (36 nolu) bulunmuştur. Sonuç olarak bu alt grupta yer alan tüm izolatlar *Acidovorax citrulli*'nin birinci inokulum kaynağı olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.10).

İkinci ana grup üçüncü alt grupta bulunan 106 adet izolat yedi küme ve 11 özgü profilde toplanmıştır. İzolatlar arasındaki benzerliğin % 90-100, farklılığın ise % 0-10 arasında olduğu belirlenmiştir. Birinci kümede bulunan 14 izolat değerlendirildiğinde Türkiye'den 2010 yılında Sürmeli çeşit kavundan bir izolat (140 nolu), ABD'de karpuzdan üç izolat (8, 26 ve 42 nolu), İsrail ve Meksika'dan karpuzdan iki izolat (52 ve 53 nolu), Çin'den 2002 yılında alınmış kavundan bir izolat (2 nolu), 2011 yılında kavundan bir izolat (198 nolu) ile nerden alındığı bilinmeyen altı izolatın (82, 83, 91, 93, 100 ve 102 nolu) yer aldığı belirlenmiştir. Bu kümede yer alan Türkiye'den 2010 yılında alınan kavun izolatı ABD, İsrail, Meksika izolatları ile % 100 benzerlik, Çin'den elde edilen bir izolatla % 2 oranında farklılık göstermiştir. Türkiye'den izole edilen *Acidovorax citrulli* izolatlarının büyük çoğunluğu ikinci kümede toplanmıştır. İkinci kümede bulunan 51 izolatın 42 adedi (104, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 122, 123, 124, 125, 126, 129,130, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 155, 156, 157, 158, 159, 160,161, 162, 163, 164, 165, 185, 186, 187, 188, 191, 192, 193, 194 ve 195 nolu) Türkiye'den hasta karpuz ve kavun fidelerinden ve meyvesinden izole edilmiştir (Çizelge 4.6). Dokuz izolat ise Tayland'dan 2001 ve 2002 yılında kavundan iki izolat (18 ve 20 nolu), nereden alındığı bilinmeyen üç izolat (94, 99 ve 222 nolu), ABD'den karpuzdan iki izolat (21 ve 24 nolu), 1997 yılında Avustralya'da kavundan bir izolat (72 nolu) bu kümede yer almıştır. İkinci kümede yer alan izolatlar arasında Türkiye'den alınan 42 adet *Acidovorax citrulli* izolatı bu kümede bulunan Tayland ve Amerika'dan alınmış

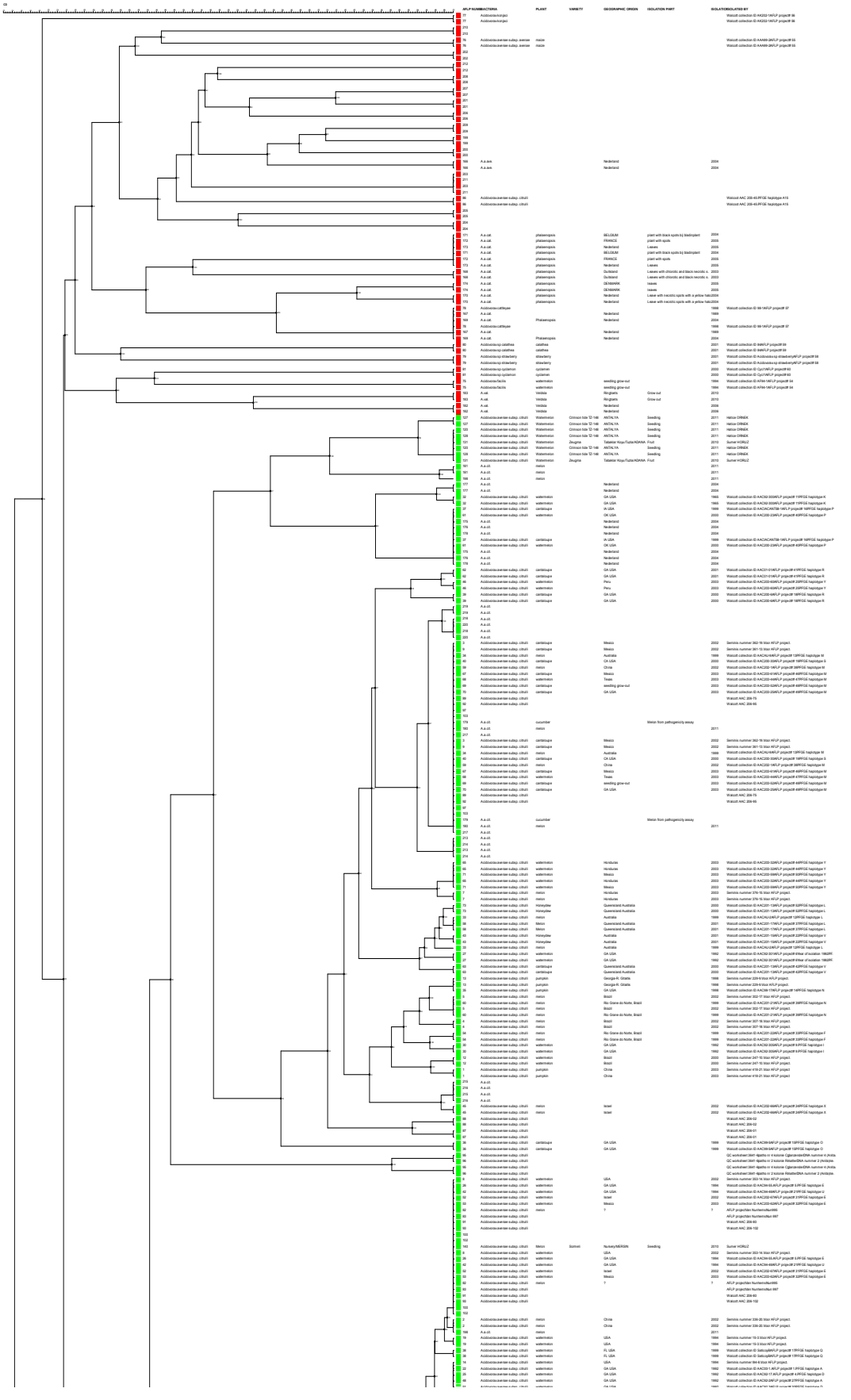
izolatlarla % 98-100 arasında benzerlik göstermiş ve yakın ilişkili izolatlar oldukları saptanmıştır. Bu durum bize hastalığın bu kadar uzak mesafelerden ancak bulaşık tohum ticaretiyle taşınmasıyla mümkün olabildiğini bir kez daha göstermiştir. Üçüncü kümede bulunan iki izolat (23 ve 49 nolu) 1994 yılında ABD'de karpuzdan, bir izolatın (85 nolu) ise nerden alınmış olduğu bilinmemektedir. Dördüncü kümede Türkiye'den karpuzdan izole edilen beş izolat (105, 145, 147, 189 ve 190 nolu) ile ABD'den karpuzdan elde edilen beş izolat (47, 56, 66, 74 ve 98 nolu) yerini almıştır. Yine bu kümede yer alan Türkiye'den beş izolat aynı kümedeki diğer izolatlarla % 98 benzerlik göstermiştir. Beşinci kümede yer alan bir izolat (84 nolu) hıyardan, üç izolat (17, 31 ve 57) ise 1994 yılında ABD'den karpuzdan izole edilmiştir. Altıncı kümede 2001 yılında ABD ve Kosta Rika'dan karpuzdan üç izolat (11, 41 ve 50 nolu) ile nereden alındığı bilinmeyen bir izolat (101 nolu) bulunmuştur. Yedinci kümede ise ABD'de 1999 ve 2002 yıllarında karpuzdan elde edilen iki izolat (6 ve 15 nolu) yer almıştır. 11 özgü profilde bulunan Türkiye'den üç izolat 2010 yılında kavundan ve 2012 yılında karpuzdan (196 ve 197 nolu) elde edilmiştir. Geriye kalan sekiz özgü profildeki izolatlardan yedisi Kosta Rika, ABD ve Tayland'dan kavun ve karpuzdan (10, 28, 29, 44, 55 ve 64 nolu) elde edilirken, bir izolatın (90 nolu) nereden alınmış olduğu bilinmemektedir.

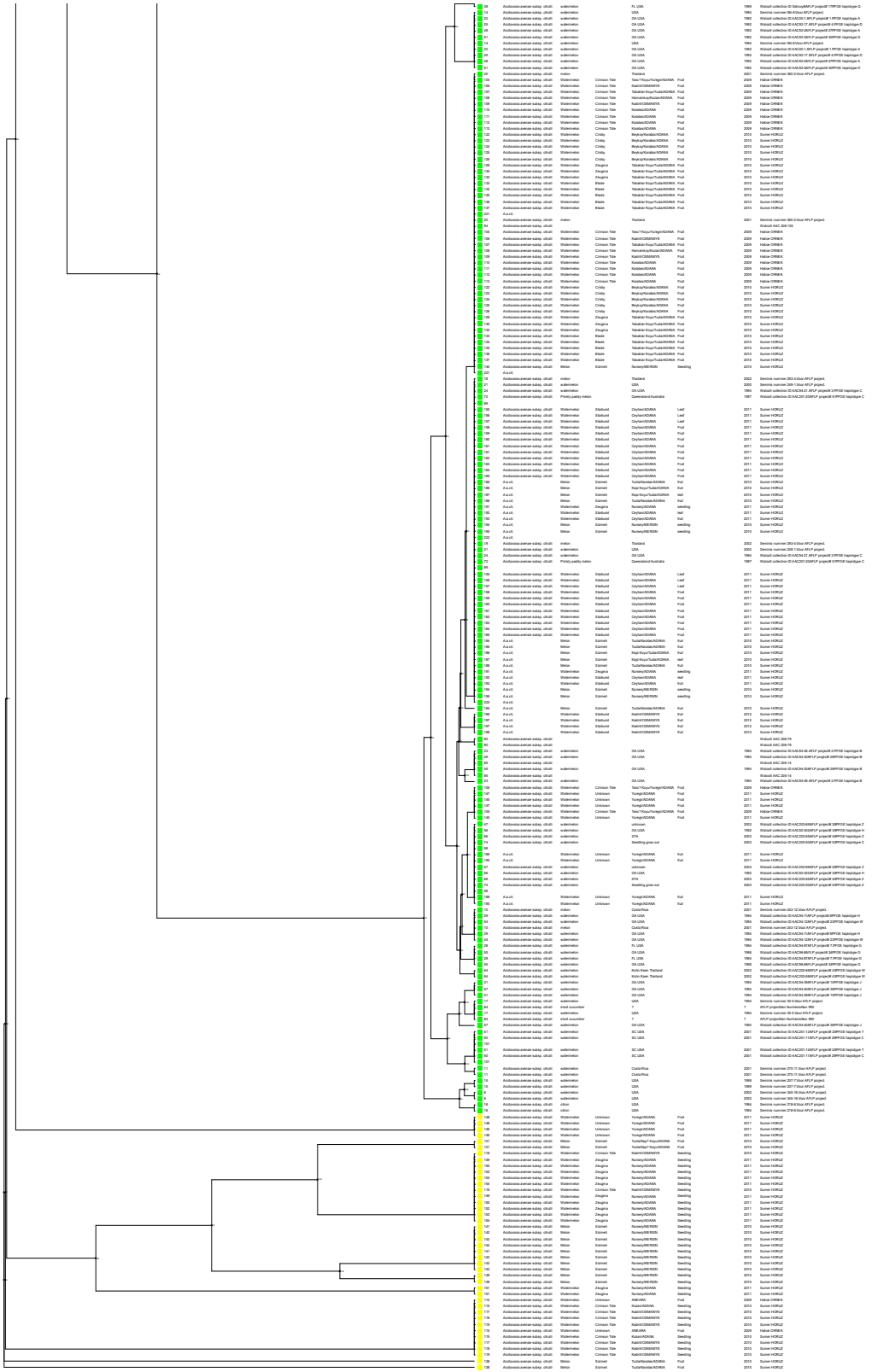
Sonuç olarak ülkemizden ve farklı ülkelerden elde edilmiş *Acidovorax citrulli* izolatlarının iki gruba ayrılmış olduğu bu tez çalışmasında kanıtlanmıştır. Dünyada ve ülkemizde iki farklı inokulum kaynağı mevcut olup, her iki grupta karpuzdan ve diğer kabakgil türlerinden elde edilmiş *Acidovorax citrulli* izolatları yer almıştır. İki inokulum kaynağında ülkemizden elde edilen izolatlar yer almıştır (Şekil 4.11). Birinci inokulum kaynağında Antalya'dan üç izolat ve Adana'dan bir izolat yer almıştır (Çizelge 4.6). Bu izolatlar ABD'nin çeşitli eyaletleri ve Hollanda'da izole edilmiş izolatlarla yakın akrabalık göstermiştir. Türkiye'den izole edilmiş 51 adet izolat ikinci inokulum kaynağının yer aldığı grupta yer almıştır. Bu izolatlar ABD'nin çeşitli eyaletleri, Avustralya, Çin, İsrail, Kosta Rika, Meksika ve Tayland'dan izole edilmiş izolatlarla yakın akrabalık göstermiştir (Çizelge 4.6). Sadece Türkiye'den elde edilen 55 adet *Acidovorax citrulli* izolatı arasındaki genetik

farklılık değerlendirildiğinde, oluşturulan dendograma göre 55 adet izolatın iki farklı inokulum kaynağında yer aldığı saptanmıştır (Şekil 4.11).

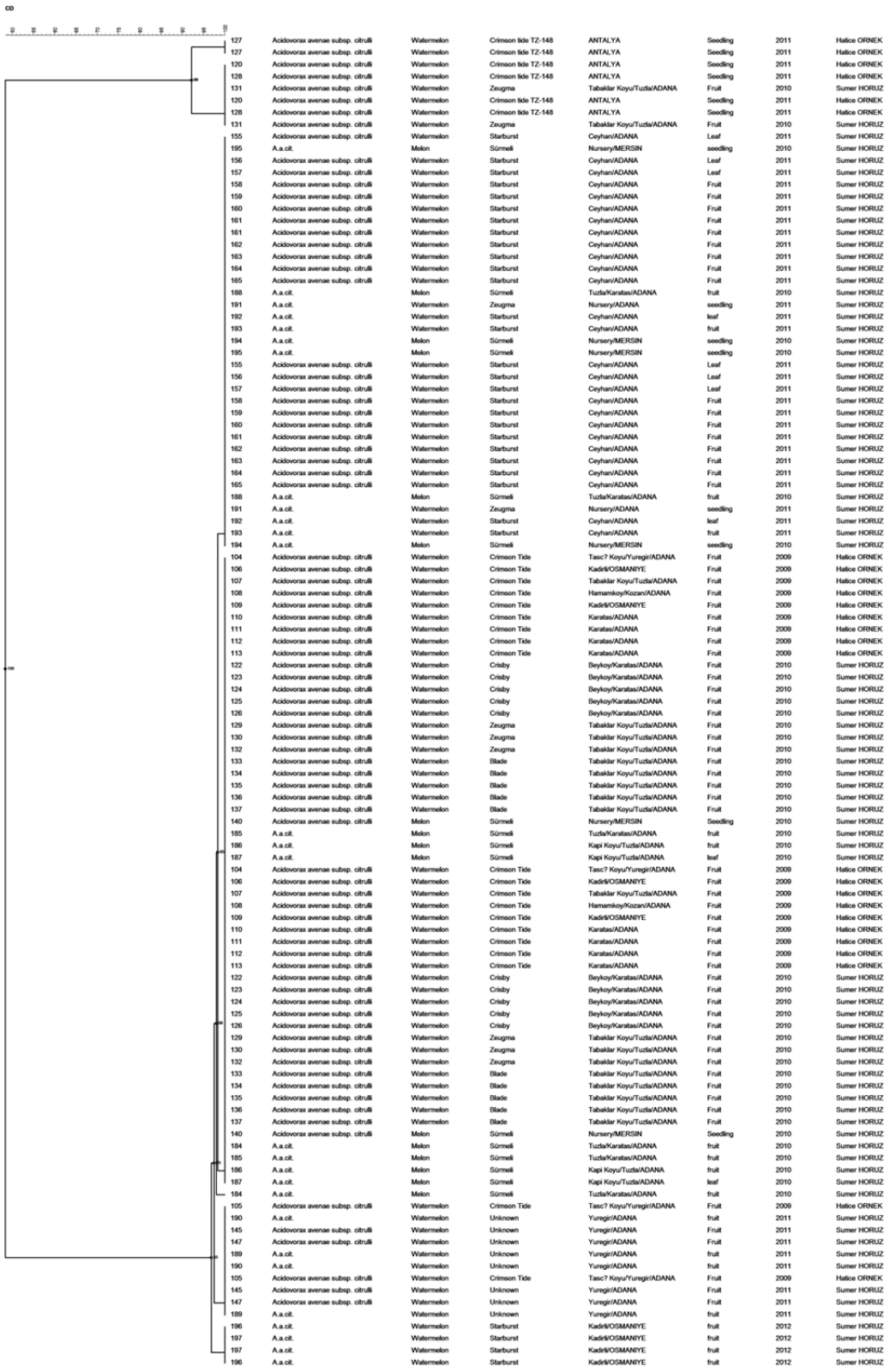
Çizelge 4.6. İki inokulum kaynağında yer alan *Acidovorax citrulli* izolatları ve benzerlik gösterdikleri ülkeler

Grup No	**Türkiye'den İzolat Sayısı**	**İzole Edildiği Bitki**	**Benzerlik Gösterdiği Ülke/Ler**	**Konukçu Bitki**
Grup 1 (Birinci inokulum kaynağı)	4 izolat (120, 127 128 ve 131)	Karpuz	ABD	Karpuz ve kantalop kavunu
			Hollanda	Bilinmiyor
			Peru	Karpuz
			Meksika	Kavun ve Karpuz
			Avustralya	Kavun
			Brezilya	Kavun
			Honduras	Karpuz
			Çin	Kabak
			İsrail	Kavun
			Bilinmiyor	Hıyar
Grup 2 (İkinci inokulum kaynağı)	51 izolat (104,105,106,107 108,109,110,111 112,113,122,123 124,125,126,129 130,132,133,134 135,136,137,140 145,147,155,156 157,158,159,160 161,162,163,164 165,184,185,186 187,188,189,190 191,192,193,194 195,196 ve 197)	Karpuz ve kavun	ABD	Karpuz
			Avustralya	Kavun
			Çin	Kavun
			İsrail	Karpuz
			Kosta Rika	Karpuz ve Kavun
			Meksika	Karpuz
			Tayland	Kavun ve karpuz
			Bilinmiyor	Hıyar


AFLP NUMBER
BACTERIA
PLANT
VARIETY
GEOGRAPHIC ORIGIN
ISOLATION PART
ISOLATOR/ISOLATED BY



Şekil 4.10. AFLP-PCR testine göre *Acidovorax citrulli* izolatlarının genetik farklılıkları



Şekil 4.11. AFLP-PCR testine göre Türkiye'den elde edilen 55 adet *Acidovorax citrulli* izolatlarının genetik farklılıkları

4.7. Karpuz Fide Yanıklığı ve Meyve Lekesi Hastalığının Biyolojik Mücadelesine Yönelik Çalışmalar

Antagonistlerin tohum kökenli inokulumu ve yeşil aksamdaki inokulumu baskılama yeteneklerinin araştırıldığı, tohuma antagonist bakteri uygulamasının, cam sera ve tarla koşullarında yeşil aksama antagonist uygulamasının yapıldığı denemelerde, Adana, Hatay ve Osmaniye illerinde ziyaret edilen karpuz ve kavun yetiştirilen 37 farklı tarladan toplanan yaprak, çiçek ve toprak örneklerinden 322 adet aday antagonist izole edilmiştir.

4.7.1. Çiçek, Yaprak ve Topraktan Aday Antagonist İzolasyonu

2012 yılı Mayıs-Ağustos ayları arasında farklı lokasyonlarda bulunan 37 tarla gezilmiştir. Bunlardan 28'i karpuz ve 9 tarla ise kavun yetiştiriciliği yapılan alanlardır. Yapılan ziyaretlerde 31 tarladan yaprak, 23 tarladan çiçek ve 37 tarladan toprak örneği alınmıştır. Alınan taze karpuz ve kavun yaprak ve çiçekleri ile toprak örneklerinden King B, PDA, NBRIP ve NYDA besi yerlerine yapılan izolasyonlarda farklı tip, renk ve özellikte 322 adet aday antagonist elde edilmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7 incelendiğinde, çiçekten izole edilen antagonistlerin 42 adedi PDA besi yerinden, 12 adedi NYDA ve 50 adedi King B besi yerinden saflaştırılmıştır. Yapraktan izole edilen antagonistlerin 35 adedi PDA, 24 adedi NYDA ve 43 adedi King B besi yerinden saflaştırılmıştır. 116 adet aday antagonist ise NBRIP besi yerinden izole edilmiştir. Genel olarak 322 adet aday antagonistin 116 adedi NBRIP, 93 adedi King B, 77 adedi PDA ve 36 adedi NYDA besi yerlerinden elde edilmiştir.

Aday antagonistlerin 231 adedi Adana, 87 adedi Osmaniye ve dördü Hatay'dan izole edilmiştir. Adana ilinden alınan örneklerde yapraktan 70 adet, çiçekten 81 ve topraktan 80 adet farklı aday antagonist elde edilmiştir. Osmaniye'nin Kadirli ilçesinden toplanan örneklerden 32 adet aday antagonist yapraktan, 23 adedi çiçekten ve 32 adedi ise topraktan izole edilmiştir. Hatay ilinde ise Arsuz İlçesine bağlı Beyköy'de bulunan bir tarladan alınan toprak örneğinden dört adet aday

antagonist bakteri saflaştırılmıştır. Toplam 322 adet aday antagonistin 102 adedi yapraktan, 104 adedi çiçekten ve 116 adedi topraktan elde edilmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.7. Çiçek, yaprak ve topraktan izole edilen aday antagonistler ve özellikleri

No	Bitki Materyali	Alındığı Yer	Koloni Rengi	Koloni Özelliği	İzole Edildiği Besi yeri
1	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Floresan	PDA
2	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Pembe	-	PDA
3	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	-	PDA
4	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Beyaz	Mukoid	PDA
5	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Turuncu	Mukoid	PDA
6	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	-	PDA
7	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Beyaz	Actinomycet	PDA
8	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Actinomycet	PDA
9	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Floresan	PDA
10	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	-	PDA
11	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Floresan	PDA
12	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Beyaz	Mat	PDA
13	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Pudra	Mat	NYDA
14	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Mat	PDA
15	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Mukoid	PDA
16	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Parlak	PDA
17	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Pembe	-	NYDA
18	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Mat	PDA
19	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Floresan	PDA
20	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	-	PDA
21	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	-	NYDA
22	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Floresan	NYDA
23	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Beyaz	Mat	King B
24	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	-	King B
25	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Beyaz	Actinomycet	PDA
26	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Parlak	PDA
27	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Parlak	PDA
28	Çiçek	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Beyaz	Parlak	PDA
29	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	-	PDA
30	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Kırmızı	-	King B

Çizelge 4.7. Devamı

31	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	-	King B
32	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	-	NYDA
33	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	Mat	PDA
34	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	-	King B
35	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	-	King B
36	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	-	King B
37	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Turuncu	-	King B
38	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	-	King B
39	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Pembe	-	King B
40	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	-	King B
41	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	-	King B
42	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	-	King B
43	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Mat	PDA
44	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Turuncu	-	NYDA
45	Çiçek	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	-	King B
46	Çiçek	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	-	King B
47	Çiçek	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	-	King B
48	Çiçek	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	-	King B
49	Çiçek	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	-	PDA
50	Çiçek	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	-	PDA

Çizelge 4.7. Devamı

51	Çiçek	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Pembe	-	King B
52	Çiçek	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	-	King B
53	Çiçek	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	-	King B
54	Çiçek	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	-	King B
55	Çiçek	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	-	King B
56	Çiçek	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Beyaz	-	King B
57	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Mat	NYDA
58	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Parlak	King B
59	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Mat	King B
60	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Mat	King B
61	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Mat	King B
62	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Mat	NYDA
63	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Mat	PDA
64	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Mat	King B
65	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Mat	King B
66	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Mat	King B
67	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Mat	King B
68	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Pudra	Mukoid	King B
69	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Parlak	King B
70	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Turuncu	Mat	King B
71	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Parlak	PDA
72	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Parlak	King B
73	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	mat	PDA
74	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Pudra	Parlak	King B
75	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Krem	zayıf	PDA
76	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Parlak	King B
77	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Turuncu	Parlak	King B
78	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Pudra	Parlak	King B
79	Çiçek	Kadirli/OSMANİYE	Turuncu	Mukoid	King B
80	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	Mukoid	King B
81	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mat	PDA
82	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	Floresan	King B

Çizelge 4.7. Devamı

83	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mukoid	King B
84	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Beyaz	Parlak	NYDA
85	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Turuncu	Parlak	NYDA
86	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mukoid	PDA
87	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Parlak	PDA
88	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mat	PDA
89	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	Parlak	King B
90	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Beyaz	Mukoid	King B
91	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Beyaz	Parlak	King B
92	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mat	King B
93	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Parlak	PDA
94	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	Mukoid	PDA
95	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	Parlak	NYDA
96	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	Floresan	King B
97	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	Floresan	King B
98	Çiçek	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	Floresan	PDA
99	Çiçek	Tuzla/Karataş/ADANA	Sarı	Mukoid	PDA
100	Çiçek	Tuzla/Karataş/ADANA	Sarı	Mukoid	PDA
101	Çiçek	Tuzla/Karataş/ADANA	Sarı	Mat	PDA
102	Çiçek	Tuzla/Karataş/ADANA	Turuncu	Mat	PDA
103	Çiçek	Tuzla/Karataş/ADANA	Sarı	Mat	NYDA
104	Çiçek	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Parlak	King B
105	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	*	NBRIP
106	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
107	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Beyaz	Zayıf	NBRIP
108	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP

Çizelge 4.7. Devamı

109	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
110	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
111	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	*	NBRIP
112	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
113	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
114	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Floresan Orta zon	NBRIP
115	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Orta	NBRIP
116	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	krem	Floresan Orta zon	NBRIP
117	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Beyaz	Kuvvetli	NBRIP
118	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Kuvvetli	NBRIP
119	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
120	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Zayıf	NBRIP
121	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	*	NBRIP
122	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Zayıf	NBRIP
123	Toprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	*	NBRIP
124	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	Kuvvetli	NBRIP
125	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	Zayıf	NBRIP
126	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Floresan	NBRIP
127	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	Zayıf	NBRIP
128	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	Zayıf	NBRIP
129	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Zayıf floresan	NBRIP
130	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Kuvvetli floresan	NBRIP
131	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	Zayıf	NBRIP
132	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Kuvvetli floresan	NBRIP
133	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Orta	NBRIP
134	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	Mat	NBRIP
135	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	Mat	NBRIP

Çizelge 4.7. Devamı

136	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Turuncu	Zayıf	NBRIP
137	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	Orta	NBRIP
138	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	Mukoid	NBRIP
139	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
140	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
141	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	Kuvvetli	NBRIP
142	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Turuncu	*	NBRIP
143	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	*	NBRIP
144	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	*	NBRIP
145	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	*	NBRIP
146	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	*	NBRIP
147	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Floresan	NBRIP
148	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Floresan	NBRIP
149	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Mukoid	NBRIP
150	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Mukoid	NBRIP
151	Toprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Mukoid	NBRIP
152	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
153	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Kuvvetli	NBRIP
154	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Kuvvetli	NBRIP
155	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Kuvvetli	NBRIP
156	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Kuvvetli	NBRIP
157	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Orta	NBRIP
158	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	*	NBRIP
159	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Mat	NBRIP
160	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Kuvvetli	NBRIP
161	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Mukoid	NBRIP

Çizelge 4.7. Devamı

162	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Parlak	NBRIP
163	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Orta	NBRIP
164	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
165	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
166	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
167	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
168	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
169	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
170	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
171	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
172	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
173	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
174	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Zayıf	NBRIP
175	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Zayıf	NBRIP
176	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
177	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Zayıf	NBRIP
178	Toprak	Havutlu/Yüreğir/ADANA	Beyaz	Orta	NBRIP
179	Toprak	Havutlu/Yüreğir/ADANA	Sarı	*	NBRIP
180	Toprak	Havutlu/Yüreğir/ADANA	Beyaz	Zayıf	NBRIP
181	Toprak	Havutlu/Yüreğir/ADANA	Sarı	Zayıf	NBRIP
182	Toprak	Doğankent/Yüreğir/ADANA	Beyaz	Zayıf mukoid	NBRIP
183	Toprak	Doğankent/Yüreğir/ADANA	Sarı	*	NBRIP
184	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	*	NBRIP
185	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf floresan	NBRIP
186	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Sarı	Mukoid	NBRIP
187	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Orta	NBRIP
188	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf mukoid	NBRIP
189	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf mukoid	NBRIP
190	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf floresan	NBRIP
191	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Kuvvetli	NBRIP
192	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
193	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
194	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
195	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Beyaz	Kuvvetli	NBRIP
196	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Beyaz	Kuvvetli	NBRIP
197	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Orta	NBRIP
198	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Sarı	Kuvvetli	NBRIP
199	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Beyaz	Zayıf	NBRIP
200	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP

Çizelge 4.7. Devamı

201	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
202	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Beyaz	Zayıf	NBRIP
203	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Beyaz	Zayıf	NBRIP
204	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Beyaz	Zayıf	NBRIP
205	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Sarı	*	NBRIP
206	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
207	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
208	Toprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
209	Toprak	Yumurtalık/ADANA	Krem	Zayıf	NBRIP
210	Toprak	Yumurtalık/ADANA	Sarı	Zayıf	NBRIP
211	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Zayıf	NBRIP
212	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Zayıf	NBRIP
213	Toprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Zayıf	NBRIP
214	Toprak	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Zayıf	NBRIP
215	Toprak	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Zayıf	NBRIP
216	Toprak	Sumbas/Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Zayıf	NBRIP
217	Toprak	Beyköy/Arsuz/HATAY	Krem	Kuvvetli floresan	NBRIP
218	Toprak	Beyköy/Arsuz/HATAY	Krem	Kuvvetli floresan	NBRIP
219	Toprak	Beyköy/Arsuz/HATAY	Krem	Kuvvetli floresan	NBRIP
220	Toprak	Beyköy/Arsuz/HATAY	Krem	Kuvvetli floresan	NBRIP
221	Yaprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Mat	PDA
222	Yaprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Parlak	NYDA
223	Yaprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Parlak	PDA
224	Yaprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	-	PDA
225	Yaprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Turuncu	-	PDA
226	Yaprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Mat	PDA
227	Yaprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Kahve-beyaz	Actinomycete	PDA
228	Yaprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Beyaz	Mukoid	PDA
229	Yaprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Krem	Floresan	PDA
230	Yaprak	Yüzbaşı/Karataş/ADANA	Sarı	Mat	PDA
231	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	-	NYDA
232	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	-	King B
233	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Pudra	-	King B

Çizelge 4.7. Devamı

234	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	-	King B
235	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Pudra	Actinomycete	King B
236	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	Parlak	PDA
237	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	Parlak	PDA
238	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	Parlak	NYDA
239	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	Mukoid	PDA
240	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	Parlak	PDA
241	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	Mukoid	PDA
242	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Mat	PDA
243	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Mat	PDA
244	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Beyaz	Actinomycete	PDA
245	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Turuncu	Mat	PDA
246	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Krem	Mat	PDA
247	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Turuncu	-	King B
248	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Pembe	-	King B
249	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Sarı	-	King B
250	Yaprak	Tabaklar Köyü/Tuzla/ADANA	Turuncu	-	King B
251	Yaprak	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	-	PDA
252	Yaprak	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	-	NYDA
253	Yaprak	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	-	King B
254	Yaprak	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Turuncu	-	King B

Çizelge 4.7. Devamı

255	Yaprak	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Turuncu	-	King B
256	Yaprak	Kürkçüler Köyü/Ceyhan/ADANA	Beyaz	-	King B
257	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Parlak	NYDA
258	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	-	PDA
259	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Mat	NYDA
260	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Floresan	NYDA
261	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Turuncu	Mat	PDA
262	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Mukoid	PDA
263	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Mat	NYDA
264	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Floresan	King B
265	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Pembe	Parlak	King B
266	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Turuncu	Mat	King B
267	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Mukoid	PDA
268	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Mat	NYDA
269	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Turuncu	-	PDA
270	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Pembe	-	King B
271	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Parlak	King B
272	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	-	PDA
273	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Krem	Floresan	NYDA
274	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Mat	PDA
275	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Mat	King B
276	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Turuncu	Mat	King B
277	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Parlak	King B
278	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Beyaz	Mat	King B
279	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Pembe	Mat	King B
280	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Parlak	King B
281	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Turuncu	Parlak	King B
282	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Pembe	Mukoid	King B
283	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Mukoid	King B
284	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Pudra	Mukoid	King B
285	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Parlak	King B
286	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Sarı	Mukoid	PDA
287	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Turuncu	Mukoid	King B
288	Yaprak	Kadirli/OSMANİYE	Turuncu	Mat	King B
289	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mukoid	King B
290	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mat	King B

Çizelge 4.7. Devamı

291	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mat	King B
292	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mukoid	PDA
293	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Beyaz	Mat	King B
294	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	Parlak	NYDA
295	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Parlak	NYDA
296	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mukoid	King B
297	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Parlak	PDA
298	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Beyaz	Parlak	NYDA
299	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mukoid	King B
300	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	Mat	King B
301	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mukoid	PDA
302	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Krem	Parlak	NYDA
303	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Sarı	Mat	PDA
304	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Beyaz	Mat	NYDA
305	Yaprak	Kösreli Köyü/Ceyhan/ADANA	Beyaz	Mat	NYDA
306	Yaprak	Havutlu/Yüreğir/ADANA	Turuncu	Mat	NYDA
307	Yaprak	Havutlu/Yüreğir/ADANA	Turuncu	Mat	King B
308	Yaprak	Havutlu/Yüreğir/ADANA	Sarı	Parlak	NYDA
309	Yaprak	Doğankent/Yüreğir/ADANA	Sarı	Parlak	NYDA
310	Yaprak	Doğankent/Yüreğir/ADANA	Turuncu	Mukoid	King B
311	Yaprak	Doğankent/Yüreğir/ADANA	Turuncu	Parlak	King B
312	Yaprak	Doğankent/Yüreğir/ADANA	Krem	Mat	King B
313	Yaprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Beyaz	Mat	PDA
314	Yaprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Turuncu	Mat	PDA
315	Yaprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Sarı	-	NYDA
316	Yaprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Sarı	Mat	NYDA
317	Yaprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Turuncu	Mat	PDA

Çizelge 4.7. Devamı

318	Yaprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Sarı	Mukoid	King B
319	Yaprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Turuncu	Mat	NYDA
320	Yaprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Sarı	Mat	NYDA
321	Yaprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Krem	Parlak	King B
322	Yaprak	Tuzla/Karataş/ADANA	Turuncu	Parlak	NYDA

Çizelge 4.8. Adana, Osmaniye ve Hatay illerinden elde edilen aday antagonist izolat sayısı

Toplanan Bitki Materyali	**Adana**	**Osmaniye**	**Hatay**	**Toplam İzolat Sayısı**
Yaprak	70	32	-	102
Çiçek	81	23	-	104
Toprak	80	32	4	116
Genel Toplam	231	87	4	**322**

4.7.2. Bakteriyel Antagonistlerin *In vitro*'da Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi

Aday antagonist bakterilerin patojeni *in vitro* koşullarda engelleme düzeylerinin belirlenmesi ikili kültür testleri ile yürütülmüştür (Şekil 4.12).

Farklı tarlalardan izole edilen 322 adet aday antagonistin $1.44x10^6$, $1.44x10^7$ ve $1.44x10^8$ hücre/ml yoğunluktaki *Acidovorax citrulli*'ye etkisinin *in vitro* petri denemeleriyle araştırıldığı çalışmada, 322 adet aday antagonistten seçilen 54 adet antagonist bakterinin ikili kültür testinde oluşturduğu engelleme oranları ölçülmüş olup ortalamaları Çizelge 4.9'da verilmiştir. Çizelgeye göre aday antagonistlerin neden olduğu engelleme zonları 2.3-27 mm arasında değişiklik göstermiştir. 54 adet antagonistin tamamı inhibisyon zonu oluşturarak $1.44x10^6$ hücre/ml yoğunluğundaki patojeni baskılamış, 49 adedi $1.44x10^7$ hücre/ml popülasyon yoğunluğundaki patojeni ve 41 adedi ise $1.44x10^8$ hücre/ml popülasyon yoğunluğundaki patojeni baskılamıştır (Çizelge 4.11).



Şekil 4.12. Petride Antg-12 kodlu antagonistin oluşturduğu engelleme zonu (solda), Antg-101 kodlu antagonistin oluşturduğu inhibisyon zonu (sağda)

Çizelge 4.9. Antagonistlerin *in vitro* koşullarda patojen ($1.44x10^6$ hücre/ml) gelişimini engelleme oranları

No	İzolat No	Antagonist Gelişimi (cm)			Engelleme Zonu (cm)			Engelleme Alanı (cm)			ORT
1	12	1.5	1.0	1.3	2.1	2.4	2.0	1.40	2.40	1.54	1.78
2	18	1.3	1.1	1.2	1.5	1.3	1.2	1.15	1.18	1.00	1.11
3	27	1.3	1.4	1.5	1.0	1.2	1.4	0.77	0.86	0.93	0.85
4	38	0.6	0.9	0.6	1.0	0.6	1.2	1.67	0.67	2.00	1.44
5	43	1.0	1.0	1.0	0.5	0.4	0.3	0.50	0.40	0.30	0.40
6	45	1.5	1.5	1.7	1.0	1.2	1.0	0.67	0.80	0.59	0.68
7	57	0.9	0.9	0.8	1.8	2.1	1.7	2.00	2.33	2.13	2.15
8	61	2.0	2.5	2.4	2.4	1.9	1.5	1.20	0.76	0.63	0.86
9	77	0.9	1.2	0.6	1.5	0.9	1.4	1.67	0.75	2.33	1.58
10	78	0.7	1.0	1.0	0.7	1.1	1.0	1.00	1.10	1.00	1.03
11	79	1.2	1.3	1.1	1.9	1.8	1.8	1.58	1.38	1.64	1.53
12	82	0.9	1.0	0.9	0.3	0.4	0.7	0.33	0.40	0.78	0.50
13	85	1.0	1.0	1.1	0.4	0.5	0.5	0.40	0.50	0.45	0.45
14	88	1.1	1.2	1.1	1.7	2.2	2.0	1.55	1.83	1.82	1.73
15	92	1.0	1.0	1.0	0.5	1.1	1.0	0.50	1.10	1.00	0.87
16	95	1.2	1.6	1.5	0.6	0.6	0.2	0.50	0.38	0.13	0.34
17	96	1.2	1.6	1.7	0.6	1.6	1.6	0.50	1.00	0.94	0.81
18	97	1.1	1.5	1.0	1.9	2.0	1.6	1.73	1.33	1.60	1.55
19	101	1.6	3.0	2.1	2.0	2.2	2.5	1.25	0.73	1.19	1.06
20	102	1.0	1.2	1.2	1.1	1.0	1.0	1.10	0.83	0.83	0.92

Çizelge 4.9. Devamı

21	103	2.0	1.9	2.0	1.6	1.4	1.4	0.80	0.74	0.70	0.75
22	143	1.0	1.0	0.5	1.2	1.4	1.1	1.20	1.40	2.20	1.60
23	144	1.2	1.2	1.0	2.4	2.4	2.4	2.00	2.00	2.40	2.13
24	147	0.9	0.7	0.8	1.6	1.9	1.7	1.78	2.71	2.13	2.21
25	164	0.8	0.8	1.0	1.5	1.4	1.5	1.88	1.75	1.50	1.71
26	173	0.9	0.7	0.7	0.5	0.9	0.9	0.56	1.29	1.29	1.04
27	177	1.5	1.5	1.4	1.4	1.7	1.8	0.93	1.13	1.29	1.12
28	186	0.7	1.0	1.4	0.5	0.5	0.4	0.71	0.50	0.29	0.50
29	188	0.7	1.0	1.1	1.0	0.9	1.0	1.43	0.90	0.91	1.08
30	189	0.7	0.6	0.5	1.5	1.9	1.4	2.14	3.17	2.80	2.70
31	197	1.2	1.3	1.2	1.5	1.8	1.4	1.25	1.38	1.17	1.27
32	198	1.3	1.0	1.4	1.5	1.7	1.6	1.15	1.70	1.14	1.33
33	199	1.0	1.3	1.4	0.9	0.7	1.2	0.90	0.54	0.86	0.77
34	205	1.6	1.5	1.4	1.5	1.5	1.5	0.94	1.00	1.07	1.00
35	207	0.9	1.1	1.2	1.2	1.1	1.5	1.33	1.00	1.25	1.19
36	208	1.0	0.7	1.1	0.5	0.9	1.0	0.50	1.29	0.91	0.90
37	209	0.9	1.0	0.5	0.5	0.7	0.6	0.56	0.70	1.20	0.82
38	221	1.1	1.2	1.2	1.4	1.2	1.3	1.27	1.00	1.08	1.12
39	222	1.9	2.1	1.5	1.5	1.3	1.6	0.79	0.62	1.07	0.83
40	223	2.5	2.3	2.2	1.6	1.5	1.4	0.64	0.65	0.64	0.64
41	225	1.9	1.7	1.9	1.3	1.5	1.4	0.68	0.88	0.74	0.77
42	238	0.7	1.0	1.0	1.0	1.1	1.4	1.43	1.10	1.40	1.31
43	242	1.2	1.6	1.4	1.4	1.1	1.3	1.17	0.69	0.93	0.93
44	244	1.5	1.6	1.2	1.8	1.4	1.3	1.20	0.88	1.08	1.05
45	254	1.2	2.0	1.4	0.9	1.5	1.0	0.75	0.75	0.71	0.74
46	261	1.4	1.6	1.5	0.3	0.3	0.5	0.21	0.19	0.33	0.25
47	262	1.6	1.8	1.8	1.1	1.2	1.0	0.69	0.67	0.56	0.64
48	264	1.0	1.0	1.1	0.7	0.3	0.5	0.70	0.30	0.45	0.48
49	273	1.4	1.6	1.5	1.8	2.0	1.9	1.29	1.25	1.27	1.27
50	276	1.5	1.7	1.5	1.3	1.0	1.2	0.87	0.59	0.80	0.75
51	284	1.1	1.3	1.2	0.4	0.2	0.2	0.36	0.15	0.17	0.23
52	105	1.5	1.7	1.8	1.9	2.3	2.0	1.27	1.35	1.11	1.24
53	111	1.0	1.1	1.0	0.4	0.5	0.2	0.40	0.45	0.20	0.35
54	172	1.0	1.0	1.0	0.6	0.5	0.6	0.60	0.50	0.60	0.57

Ölçülen ortalama engelleme alanları 0-6 skalasına göre değerlendirildiğinde, Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi, patojenin $1.44x10^8$ yoğunluğundaki popülasyonuna aday antagonistler içerisinden 281'i etki etmezken, dokuz antagonist **1** skala değeri, 11 antagonist **2** skala değeri, 13 antagonist **3** skala değeri, yedi antagonist **4** skala değeri ve bir antagonist de **5** skala değerinde yer almıştır (Çizelge 4.10).

Patojen bakterinin $1.44x10^7$ hücre/ml yoğunluğundaki popülasyonuna 273 adet aday antagonist herhangi bir etkide bulunmamıştır. Dört antagonist **1** skala değerinde, 16 antagonist **2** skala değeri, 17 antagonist **3** skala değeri, 9 antagonist **4** skala değerinde ve üç antagonist ise **5** skala değerinde yer almıştır (Çizelge 4.10).

Aday antagonistlerden 268 adedi $1.44x10^6$ hücre/ml yoğunluğundaki patojen popülasyonunu *in vitro* petri testlerinde engelleyememiştir. Ancak, dört antagonist **1** skala değerinde, 10 antagonist **2** skala değeri, 12 antagonist **3** skala değerinde yer almıştır. Bunun yanı sıra 17 adet antagonist **4** skalasında, 7 antagonist **5** skala değerinde ve dört antagonist de **6** skala değerinde yer alarak patojen gelişimini *in vitro*'da baskılamıştır (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Farklı popülasyon yoğunluğundaki *Acidovorax citrulli*'nin gelişimini *in vitro*'da engelleyen antagonistlerin sayısı

	Patojen yoğunluğu		
Skala Değeri	$1.44x10^6$	$1.44x10^7$	$1.44x10^8$
0	268	273	281
1	4	4	9
2	10	16	11
3	12	17	13
4	17	9	7
5	7	3	1
6	4	0	0

Patojen bakterinin $1.44x10^6$ hücre/ml yoğunluğundaki popülasyonunu baskılayan 54 adet antagonistin patojen gelişimini engelleme alanlarının açı değerleri alınarak yapılan istatistiki analizde antagonistler farklı gruplarda yer almıştır. Patojen bakteri popülasyonu arttıkça oluşan engelleme alanında azalma olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Farklı popülasyon yoğunluğundaki *A. citrulli*'yi baskılayan antagonistler

No	Antagonistler	Ortalama Engelleme Alanı (cm)		
		10^6 hücre/ml	**10^7 hücre/ml**	**10^8 hücre/ml**
1	**Antg-189**	2.70^{a}	1.46	0.95
2	**Antg-147**	2.21^{ab}	1.62	1.78
3	**Antg-57**	2.15^{abc}	2.91	1.53
4	**Antg-144**	2.13^{abc}	1.63	1.90
5	**Antg-12**	1.78^{bcd}	1.66	1.00
6	Antg-88	1.73^{bcd}	1.53	0.84
7	Antg-164	1.71^{bcde}	1.48	0.60
8	Antg-143	1.6^{bcdef}	1.03	0.70
9	**Antg-97**	1.55^{bcdef}	0.84	0.94
10	**Antg-79**	1.53^{bcdef}	2.20	1.21
11	Antg-77	1.58^{cdef}	0.60	0.57
12	Antg-38	1.44^{defg}	0.79	0.65
13	**Antg-198**	1.33^{defgh}	0.93	1.11
14	Antg-238	1.31^{defgh}	0.88	0.57
15	**Antg-273**	1.27^{defghi}	1.17	0.99
16	**Antg-197**	1.27^{defghi}	1.06	0.79
17	Antg-105	$1.24^{defghij}$	Etki yok	Etki yok
18	Antg-207	$1.19^{defghij}$	1.06	0.60
19	Antg-221	$1.12^{efghijk}$	0.72	0.43
20	Antg-177	$1.12^{efghijk}$	1.29	1.00
21	Antg-18	$1.11^{efghijk}$	0.81	0.73
22	Antg-188	1.08^{fghijk}	0.64	0.33
23	Antg-244	1.05^{fghijk}	1.13	0.80
24	**Antg-101**	1.06^{fghijk}	0.83	0.55
25	Antg-78	1.03^{fghijk}	0.31	Etki yok
26	Antg-173	1.04^{fghijk}	0.71	0.40
27	Antg-205	1.00^{fghijk}	0.76	0.49
28	Antg-102	0.92^{ghijkl}	0.78	0.94
29	Antg-242	0.93^{ghijkl}	0.68	0.25
30	Antg-208	$0.9^{ghijklm}$	0.76	Etki yok
31	Antg-27	$0.85^{ghijklm}$	0.85	0.73
32	**Antg-61**	$0.86^{ghijklm}$	0.41	0.28
33	Antg-92	$0.87^{ghijklm}$	0.58	Etki yok
34	Antg-222	0.83^{hijklm}	0.68	0.59
35	Antg-209	0.82^{hijklm}	0.71	0.34
36	Antg-96	0.81^{hijklm}	0.78	0.31
37	Antg-225	0.77^{ijklmn}	0.72	0.63

Çizelge 4.11. Devamı

38	Antg-199	0.77^{ijklmn}	0.65	Etki yok
39	Antg-276	0.75^{ijklmn}	0.64	0.46
40	Antg-103	0.75^{jklmn}	0.79	0.71
41	Antg-254	0.74^{jklmn}	0.44	0.27
42	Antg-45	0.68^{klmno}	0.53	0.38
43	Antg-223	0.64^{klmnop}	0.46	0.53
44	**Antg-262**	0.64^{klmnop}	0.51	0.44
45	Antg-172	0.57^{lmnop}	Etki yok	Etki yok
46	Antg-82	0.5^{mnopq}	0.53	Etki yok
47	Antg-186	0.5^{mnopq}	0.82	Etki yok
48	Antg-264	0.48^{mnopq}	0.40	0.18
49	Antg-85	0.45^{mnopq}	0.39	0.20
50	Antg-43	0.4^{nopq}	Etki yok	Etki yok
51	Antg-111	0.35^{opq}	Etki yok	Etki yok
52	Antg-95	0.34^{pq}	Etki yok	Etki yok
53	Antg-261	0.25^{q}	0.36	Etki yok
54	Antg-284	0.23^{q}	0.39	Etki yok

Buna göre istatistiki olarak farklı grupta yer alan 14 adet antagonist (Antg-12, Antg-57 Antg-61 Antg-79 Antg-97 Antg-101 Antg-144 Antg-147, Antg-189 Antg-197 Antg-198 Antg-223, Antg-262 ve Antg-273) seçilmiştir. Karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalığıyla biyolojik mücadele çalışmaları için seçilen antagonistlerden altı adedi karpuz çiçeklerinden, beş adedi karpuz yapraklarından ve üç adedi karpuz yetiştirilen topraktan izole edilmiştir. Bunlardan altı adedi krem renkte, ikisi krem-beyaz, beşi sarı ve bir adedi turuncu renktedir. 16S rRNA sekans analizi sonucunda Antg-12 *Serratia* cinsinden (Şekil 4.10), Antg-79 *Microbacterium* sp., Antg-97 *Bacillus* sp., Antg-101 *Paenibacillus* sp., (Şekil 4.10), Antg-147 ise *Proteus* sp., cinslerinde yer almıştır. Antg-144 kodlu antagonist bakteri *Staphylococcus* cinsi ile yüksek oranda (% 98-100) benzerlik göstermiştir. Antg-189 *Bacterium* sp., Antg-198 ise *Curtobacterium* sp. olarak belirlenmiştir. Dört farklı antagonist bakteri (Antg-61, Antg-197, Antg- 223 ve Antg-273) *Pseudomonas* cinsinde yer alan bakterilerle % 98-100 oranında benzerlik göstermiştir. Antg-57 ve Antg-262 sekans analizinden sonra çalışmalara dahil edildiğinden tanıları yapılmamıştır (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Biyolojik mücadele çalışmaları için seçilen 14 adet antagonist bakteri ve özellikleri

İzolat No	İzole Edildiği Yer	Bitki	Bitki Kısmı	Koloni Rengi	F/NF	Koloni Gelişimi	HR	Bakteri tür/cinsi
Antg-12	Yüzbaşı mevkii/Karataş	Karpuz	Çiçek	Krem	NF	Normal	Negatif	*Serratia* sp.
Antg-57	Kürkçüler Köyü/Ceyhan	Karpuz	Çiçek	Sarı	NF	Normal	Negatif	
Antg-61	Kürkçüler Köyü/Ceyhan	Karpuz	Çiçek	Sarı	NF	Normal	Negatif	*Pseudomonas* sp.
Antg-79	Kadirli/Osmaniye	Karpuz	Çiçek	Sarı	NF	Normal	Negatif	*Microbacterium* sp.
Antg-97	Kösreli Köyü/Ceyhan	Karpuz	Çiçek	Krem-beyaz	NF	*Bacillus*	Negatif	*Bacillus* sp.
Antg-101	Kösreli Köyü/Ceyhan	Karpuz	Çiçek	Krem-beyaz	NF	*Bacillus*	Negatif	*Paenibacillus* sp.
Antg-144	Kadirli/Osmaniye	Karpuz	Yaprak	Krem	NF	Mat	Negatif	*Staphylococcus* sp.
Antg-147	Kadirli/Osmaniye	Karpuz	Yaprak	Krem	NF	Mat	Negatif	*Proteus* sp.
Antg-189	Kösreli Köyü/Ceyhan	Karpuz	Yaprak	Sarı	NF	Mukoid	Negatif	*Bacterium* sp.
Antg-197	Doğankent/Karataş	Karpuz	Yaprak	Sarı	NF	Normal	Negatif	*Pseudomonas* sp.
Antg-198	Doğankent/Karataş	Karpuz	Yaprak	Turuncu	NF	Normal	Negatif	*Curtobacterium* sp.
Antg-223	Yüzbaşı mevkii/Karataş	Karpuz	Toprak	Krem	F	Normal	Negatif	*Pseudomonas* sp.
Antg-262	Kadirli/Osmaniye	Karpuz	Toprak	Krem	F	Normal	Negatif	
Antg-273	Kadirli/Osmaniye	Karpuz	Toprak	Krem	F	Normal	Negatif	*Pseudomonas fluorescens*

F: Floresan; **NF:** Non-floresan; **HR:** Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu

4.7.3. Antagonistlerin Tohum Uygulaması Olarak Karpuz Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığına Etkisi

Tohum uygulaması olarak 14 adet antagonistin karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalığına etkisinin araştırıldığı çalışmada tüm antagonistler birinci denemede hastalık çıkışını % 13-83 oranında, hastalık şiddetini % 45-95 oranında baskılamıştır. İkinci denemede ise hastalık çıkışını % 10-94, hastalık şiddetini ise % 10-96 oranları arasında engellemiştir.

4.7.3.1. Antagonistlerin Tohum Uygulaması Olarak Karpuz Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalık Çıkışına Etkisi

Kullanılan Patojen Popülasyonu Tespiti: Tohum uygulamalarında kullanılan patojen popülasyonunu bulmak amacıyla King B besi yerine 100 µl olarak yapılan yayma işleminden 48 saat sonra petriler incelenmiş ve 1/10, 1/100, 1/1.000 ve 1/10.000 seyreltmelerinde sayılamayacak kadar çok yoğun bakteri gelişimi gözlenmiştir. Bakteri süspansiyonunun 1/100.000 seyreltmesinde ortalama 206, 1/1.000.000 kez seyreltmede ise ortalama 18.66 adet bakteri kolonisi gelişmiştir. Buna göre tohuma bulaştırılan OD:0.15 değerine sahip *Acidovorax citrulli* popülasyonunun $1.86x10^8$ hücre/ml yoğunlukta olduğu saptanmıştır.

Birinci Deneme: Çizelge 4.13'te görüldüğü gibi 14 farklı antagonist bakteri karpuz fidelerinde bakteriyel fide yanıklığı hastalığını % 13-83 oranında baskılamıştır. *Acidovorax citrulli* ile bulaştırılmış pozitif kontrol uygulamasında 100 adet tohumdan 99'u çimlenmiş ve gelişen fidelerin 88'inde hastalık belirtileri gözlenmiştir. Pozitif kontroldeki fidelerde ortalama hastalık oranı % 89.80 olarak belirlenmiştir. Negatif kontrol olarak saf su uygulanmış tohumların 100'ü de çimlenmiş, hiçbir fidede hastalık belirtisine rastlanmamıştır.

Karpuz tohumlarına Antg-198 uygulandığında 100 adet tohumun 99'u çimlenmiş, bunlardan beş adedinde hastalık belirtileri gözlenmiştir. Uygulama sonrası ortalama hastalık oranı % 15.15, antagonist bakterinin fide yanıklığı hastalığına etkisi % 83.13 olmuş ve en etkili antagonist olarak belirlenmiştir. Ayrıca istatistiki analiz sonucunda bu uygulama tek bir grupta yer almıştır.

Antg-273 uygulanan karpuz tohumlarının hepsi çimlenmiş, 100 tohumdan 25'inde hastalık belirtileri saptanmıştır. Ortalama hastalık oranı % 25.01 ve Antg-273'ün fide yanıklığı hastalığına etkisi % 72.15 olarak belirlenmiştir. Antg-12 uygulanmış tohumların 99'u çimlenmiş, sadece 26 adedinde hastalık belirtileri saptanmıştır. Bu uygulamadaki ortalama hastalık yüzdesi 26.26, antagonistin hastalığa etkisi ise % 70.76 olarak saptanmıştır. Bu iki farklı antagonist istatistiki analizde aynı grupta yer almıştır.

Karpuz tohumlarına Antg-57 bulaştırıldığında 99 tohum çimlenmiş, bunun 31'i hasta fide olarak belirlenmiştir. Uygulama sonrası ortalama hastalık oranı % 31.31, antagonistin hastalığı engelleme oranı % 65.13 olmuştur. Bu uygulama diğer uygulamalarla kıyaslandığında istatistiki analiz sonucunda tek bir grup oluşturmuştur.

Antg-197 bulaştırılmış tohumlardan 39 adedinde hastalık gözlenmiş, değerlendirme sonrası ortalama hastalık oranı % 39.04, antagonist bakterinin hastalık gelişime etkisi % 56.53 olmuştur. Tohumlar Antg-223 ile bulaştırıldığında tohumların hepsi çimlenmiş ve 42 adedinde hastalık belirtileri olduğu saptanmıştır. Değerlendirme sonucunda ortalama hastalık oranı % 41.62 ve uygulamanın hastalığa etkisi % 53.66 olarak belirlenmiştir. Antg-79 ile bulaştırılmış tohumların 95'i çimlenmiş, 42 adet hasta fide olduğu tespit edilmiştir. Ortalama hastalık oranı % 44.19 ve antagonist bakteri hastalığı % 50.80 oranında baskılamıştır. Bir diğer antagonist olan Ant-101 ile bulaşık tohumların hepsi çimlenmiş ve sadece 45 adedinde hastalık görülmüştür. Uygulama sonrası ortalama hastalık yüzdesi 45.01 ve hastalık gelişime etki ise % 49.88 olmuştur. Bu dört farklı antagonist uygulamaları diğer uygulamalarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bulunmamış ve aynı grupta yer almışlardır.

Diğer antagonistler olan Antg-144, Antg-97, Antg-262, Antg-147 ve Antg-189 ile uygulama görmüş tohumlardan gelişen fidelerde ortalama hastalık oranı sırasıyla % 54.93, %56.85, % 59.22, % 60.82 ve % 64.65 olarak saptanmıştır. Bu uygulamalar hastalık gelişimini de sırasıyla % 38.83, % 36.69, % 34.06, % 32.28 ve % 28.01 oranlarında baskılamıştır. Bu beş farklı antagonist uygulaması diğer tüm uygulamalarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemsiz bulunarak aynı grupta yer almışlardır.

Son uygulama olarak Antg-61 ile bulaştırılmış tohumlardan gelişen 96 fide içerisinde 75 adet hasta fide sayılmış, ortalama hastalık oranı % 64.65, antagonistin hastalığa etkisi ise % 28.01 olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.13. Farklı antagonistlerin bakteriyel fide yanıklığı hastalık çıkışına etkisi (Birinci Deneme)

Uygulamalar	Çimlenen Fide Sayısı			Hastalıklı Fide sayısı			Hastalık Oranı %			Ort Hastalık %'si	% Etki
	1. tekrar	2. tekrar	3. tekrar	1. tekrar	2. tekrar	3. tekrar	1. tekrar	2. tekrar	3. tekrar		
Pozitif K	33	33	32	30	29	29	90.91	87.88	90.63	89.80^{a*}	
Negatif K	34	34	32	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00	
Antg-198	33	33	33	5	5	5	15.15	15.15	15.15	15.15^{j}	83.13
Antg-273	34	33	33	8	8	9	23.53	24.24	27.27	25.01^{i}	72.15
Antg-12	33	33	33	9	9	8	27.27	27.27	24.24	26.26^{i}	70.76
Antg-57	33	33	33	11	11	9	33.33	33.33	27.27	31.31^{h}	65.13
Antg-197	34	33	33	12	13	14	35.29	39.39	42.42	39.04^{g}	56.53
Antg-223	33	33	35	14	14	14	42.42	42.42	40.00	41.62^{fg}	53.66
Antg-79	32	32	31	14	15	13	43.75	46.88	41.94	44.19^{fg}	50.80
Antg-101	33	33	34	15	15	15	45.45	45.45	44.12	45.01^{f}	49.88
Antg-144	34	33	33	21	19	15	61.76	57.58	45.45	54.93^{e}	38.83
Antg-97	31	32	32	18	18	18	58.06	56.25	56.25	56.85^{de}	36.69
Antg-262	33	33	32	19	19	20	57.58	57.58	62.50	59.22^{de}	34.06
Antg-147	35	33	34	20	20	22	57.14	60.61	64.71	60.82^{cd}	32.28
Antg-189	33	33	33	21	22	21	63.64	66.67	63.64	64.65^{c}	28.01
Antg-61	32	32	32	25	25	25	78.13	78.13	78.13	78.13^{b}	13.01

*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0,05'e göre önemsizdir.

Birinci deneme sonuçları değerlendirildiğinde tüm uygulamalar istatistiki olarak pozitif kontrolden farklı grupta yer alarak hastalığı baskılamada etkili uygulamalar olarak belirlenmiştir. Uygulamalar istatistiksel olarak altı farklı grupta toplanmıştır. Antg-198 tek başına bir grupta, Antg-273 ve Antg-12 aynı grupta, Antg-57 tek bir grup, Antg-197, Antg-223, Antg-79 ve Antg-101 ise dördüncü grup olarak birlikte aynı grupta yer almışlardır. Beşinci grupta Antg-144, Antg-97, Antg-262, Antg-147 ve Antg-189 yer almıştır. En son altıncı grupta ise Antg-61'in olduğu tespit edilmiştir. Hastalığı % 80'in üzerinde baskılayan Antg-198 en başarılı antagonist bakteri, hastalığı % 13.01 oranında engelleyen Antg-61 ise en az etkili tohum uygulaması olarak saptanmıştır (Çizelge 4.13).

İkinci Deneme: Biyolojik tohum uygulamalarının ikinci kez tekrar edildiği denemede, Çizelge 4.14'te görüldüğü şekilde, 14 farklı antagonist bakteri karpuz fidelerindeki bakteriyel fide yanıklığı hastalığını % 10-94 oranlarında baskılamıştır. Sadece *Acidovorax citrulli* ile bulaştırılmış pozitif kontrol uygulamasında 100 tohumun hepsi çimlenmiş, 95 adet fidede hastalık belirtileri gözlenmiştir (Şekil 4.11). Pozitif kontroldeki fidelerde ortalama hastalık oranı % 95.01 olarak saptanmıştır. Negatif kontrol olarak saf su ile bulaştırılmış 100 adet tohumdan 99'u çimlenmiş ve fidelerde hiçbir hastalık belirtisi saptanmamıştır.

Biyolojik tohum uygulaması olarak Antg-12 ile bulaştırılmış tohumlardan 98'i çimlenmiş, altı adet fidede hastalık belirtileri gözlenmiştir. Uygulama sonrası ortalama hastalık oranı % 6.19, antagonist bakteri uygulamasının hastalığa etkisi ise % 93.49 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.12). Antg-197 ile uygulama görmüş karpuz tohumlarının hepsi çimlenmiş, sekiz tanesinde hastalık belirtileri olduğu saptanmıştır. Değerlendirmede ortalama hastalık oranı % 7.99 iken, antagonistin hastalığı baskılama oranı % 91.59 olmuştur. Antagonist bakteri Antg-273 uygulanmış tohumların 93 adedi çimlenmiş, sekiz hasta fide olduğu tespit edilmiştir. Ortalama hastalık oranı % 8.60 iken, tohum uygulaması hastalık gelişimini % 90.95 oranında engellemiştir. Antg-57 uygulanmış tohumların hepsi çimlenmiş, 10 adet hasta fide olduğu belirlenmiştir. Değerlendirmede ortalama hastalık yüzdesi 9.80, hastalığa etki % 89.68 olarak saptanmıştır. Bu dört farklı antagonist uygulaması diğer uygulamalarla kıyaslandığında istatistiki olarak birbirinden önemsiz ve aynı grupta yer almışlardır.

Antg-79 uygulanmış tohumlardan 95 adedi çimlenmiş, 12 fidede hastalık gözlenmiştir. Uygulama sonrası ortalama hastalık oranı % 12.63, antagonist uygulamanın hastalık gelişimine etkisi ise % 86.7 olmuştur. Antg-198 ve Antg-147 Antg-79'a yakın değerler göstermiş, her iki antagonist hastalık gelişimini sırasıyla % 86.34 ve % 85.12 oranlarında baskılamıştır. Bu üç farklı antagonist diğer uygulamalardan farklı etkide ancak istatistiki olarak aynı grupta yer almışlardır.

Antg-262 uygulanmış tohumdan gelişen fidelerde 37 tane hasta fide saptanmıştır. Ortalama hastalık oranı % 36.99, antagonist bakterinin hastalığı

baskılama oranı ise % 61.07 olarak belirlenmiştir. Diğer uygulamalardan istatistiksel olarak farklı grupta tek olarak yer almıştır.

Antg-223 uygulanmış tohumların 99'u çimlenmiş, 49 adet fidede hastalık olduğu tespit edilmiştir. Uygulama sonrası ortalama hastalık oranı % 49.49 iken, bakteriyel antagonistin fide yanıklığı hastalığını engelleme oranı % 47.9 olarak belirlenmiştir.

Ant-101, Antg-144 ve Antg-97 antagonistleri diğer tüm uygulamalarla kıyaslandıklarında hastalık gelişimini farklı oranlarda engellemiş, ancak istatistiksel olarak aynı grupta yer almış ve birbirinden önemsiz olarak kabul edilmişlerdir. Bu antagonistler tohuma uygulandığında ortalama hastalık yüzdeleri sırasıyla 60.86, 63.73 ve 65.66 olarak saptanmıştır. Üç farklı antagonist bakteriyel fide yanıklığı hastalığını % 35.94, % 32.93 ve % 30.89 gibi yakın değerlerde engellemiştir.

Antg-61 uygulanmış tohumların 99'u çimlenmiş, bunlar içerisinde 80 adet hasta fide tespit edilmiştir. Değerlendirme sonucunda ortalama hastalık oranı % 80.81 olarak belirlenmiş, antagonist bakteri hastalık gelişimini % 14.95 oranında baskılamıştır.

Son olarak Antg-189 ile bulaştırılmış 100 adet tohumdan 99'u çimlenmiş, bunlar içerisinde 85 adedinde hastalık belirtileri gözlenmiştir. Değerlendirmeye göre ortalama hastalık oranı % 85.86 olarak belirlenmiş, antagonist bakteri de hastalık gelişimini % 9.63 oranında baskılamıştır.

İkinci deneme sonuçlarına göre 14 adet farklı antagonist istatistiki olarak farklı grupta yer almış ve bakteriyel fide yanıklığı hastalığını engellemede başarılı uygulamalar oldukları saptanmıştır. Bakteriyel fide yanıklığı hastalığını % 94'e yakın bir oranla Antg-12 en yüksek oranda baskılarken, Antg-189 % 10'a yakın düşük bir oranda hastalığı engellemiştir.

Çizelge 4.14. Farklı antagonistlerin bakteriyel fide yanıklığı hastalık çıkışına etkisi (İkinci Deneme)

Uygulamalar	Çimlenen Fide Sayısı			Hastalıklı Fide Sayısı			Hastalık Oranı %			Ort Hastalık %'si	% Etki
	1. tekrar	2. tekrar	3. tekrar	1. tekrar	2. tekrar	3. tekrar	1. tekrar	2. tekrar	3. tekrar		
Pozitif K	34	33	33	32	32	31	94.12	96.97	93.94	95.01^{a*}	
Negatif K	33	33	32	0	0	0	0.00	0.00	0.00		
Antg-12	33	32	32	2	2	2	6.06	6.25	6.25	6.19^{j}	93.49
Antg-197	34	33	33	3	3	2	8.82	9.09	6.06	7.99^{ij}	91.59
Antg-273	31	31	31	3	3	2	9.68	9.68	6.45	8.60^{i}	90.95
Antg-57	34	34	34	4	3	3	11.76	8.82	8.82	9.80^{i}	89.68
Antg-79	32	32	31	4	4	4	12.50	12.50	12.90	12.63^{h}	86.7
Antg-198	34	33	33	5	4	4	14.71	12.12	12.12	12.98^{h}	86.34
Antg-147	33	33	33	5	5	4	15.15	15.15	12.12	14.14^{h}	85.12
Antg-262	34	33	33	13	12	12	38.24	36.36	36.36	36.99^{g}	61.07
Antg-223	33	33	33	17	16	16	51.52	48.48	48.48	49.49^{f}	47.9
Antg-101	32	32	33	27	26	26	84.38	81.25	78.79	60.86^{e}	35.94
Antg-144	34	34	34	22	22	21	64.71	64.71	61.76	63.73^{de}	32.93
Antg-97	33	33	33	22	22	21	66.67	66.67	63.64	65.66^{d}	30.89
Antg-61	33	33	33	27	27	26	81.82	81.82	78.79	80.81^{c}	14.95
Antg-189	33	33	33	29	28	28	87.88	84.85	84.85	85.86^{b}	9.63

*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0,05'e göre önemsizdir.

Çizelge 4.15'te görüldüğü gibi iki deneme ile 14 farklı antagonistin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalığı çıkışına etkisinin değerlendirildiği her iki denemede altı antagonist bakteri (Antg-12, Antg-57 Antg-79 Antg-197 Antg-198 Antg-273) hastalık oluşumunu % 50'nin üzerinde engelleyerek en etkili tohum uygulamaları olmuştur. Ancak Antg-147 ve Antg-262 ikinci denemede oldukça başarılı bulunurken, birinci denemede düşük etki göstermiştir. Antg-61 ve Antg-189 her iki denemeye göre en az etkili tohum uygulamaları olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.15. Tohum uygulaması olarak farklı antagonistlerin karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalık çıkışına etkisi (Birinci ve ikinci deneme)

Uygulamalar	Birinci Deneme		İkinci Deneme	
	Hastalık %'si	Hastalık Çıkışına % Etki	Hastalık %'si	Hastalık Çıkışına % Etki
Pozitif K	89.80[a*]	0	95.01[a*]	
Negatif K	0.00	0	0.00	
198	15.15[j]	**83.13**	12.98[g]	**86.34**
273	25.01[i]	**72.15**	8.60[h]	**90.95**
12	26.26[i]	**70.76**	6.19[i]	**93.49**
57	31.31[h]	**65.13**	9.80[h]	**89.68**
197	39.04[g]	**56.53**	7.99[hi]	**91.59**
223	41.62[fg]	53.66	49.49[e]	47.90
79	44.19[fg]	**50.80**	12.63[g]	**86.70**
101	45.01[f]	49.88	60.86[c]	35.94
144	54.93[e]	38.83	63.73[d]	32.93
97	56.85[de]	36.69	65.66[d]	30.89
262	59.22[de]	34.06	36.99[f]	61.07
147	60.82[cd]	32.28	14.14[g]	85.12
189	64.65[c]	28.01	85.86[b]	9.63
61	78.13[b]	13.01	80.81[c]	14.95

*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0,05'e göre önemsizdir.

Yapılan tohum uygulamaları sonucunda her iki denemede ve *in vitro* ikili kültür testlerinde etkili bulunan iki adet antagonist (Antg-12 ve Antg-57) ve istatistiki olarak farklı grupta yer alan üç antagonist (Antg-97, Antg-101 ve Antg-189) seçilerek, 2013 yılında cam sera koşullarında yeşil aksam uygulamalarının hastalığı engelleme düzeyi araştırılmıştır. Tez izleme komitesi üyelerinin de önerisi doğrultusunda 2014 yılındaki ikinci yıl cam sera denemelerinde, birinci yıl testlenen beş antagoniste ek olarak tohum uygulamasında etkili bulunan üç antagonist (Antg-197, Antg-198 ve Antg-273) daha seçilmiştir.



Şekil 4.13. Pozitif kontrolde kotiledonlarda su emmiş lekeler ve yanıklık



Şekil 4.14. Antg-12 uygulanmış tohumlardan gelişen fidelerden görünüm

4.7.3.2. Antagonistlerin Tohum Uygulaması Olarak Karpuz Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalık Şiddetine Etkisi

Birinci Deneme: Çizelge 4.16'da görüldüğü gibi 2013 yılında yapılan birinci denemede 14 farklı antagonist bakteri tohum uygulaması olarak uygulandığında, karpuz fidelerinde bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddeti % 3-35 oranlarında saptanmış, antagonistler hastalık şiddetini % 45-95 arasındaki oranlarda baskılamıştır. Yapılan değerlendirmede *Acidovorax citrulli* ile bulaştırılmış pozitif kontrol uygulamasında skala değeri ortalaması 4.43 iken, hastalık şiddetinin % 63.27 olduğu saptanmıştır.

Antg-198 uygulanmış tohumdan gelişen 99 adet fidede yapılan değerlendirmede skala değerleri ortalaması 0.22, hastalık şiddeti % 3.17 ve antagonistin hastalığı baskılama oranı ise % 94.98 olmuştur. Antg-12 uygulanmış tohumların fidelerinde skala değerleri ortalaması 0.46, hastalık şiddeti % 6.64 ve antagonistin hastalığı engelleme oranı ise % 89.51 olarak saptanmıştır.

Üçüncü sırada yer alan Antg-57 ile bulaştırılmış tohumlardan gelişen 99 adet fidede hastalık belirtilerinin skala değerleri ortalaması 0.64, hastalık şiddeti % 9.09 ve antagonistin hastalık şiddetine etkisi % 85.63 olmuştur.

Antg-197 uygulaması sonrası skala değerleri ortalaması 0.76, hastalık şiddeti % 10.86, hastalık şiddetine etki ise % 82.84 olmuştur. Antg-273 ve Antg-79 uygulanmış tohumlardan gelişen fideler değerlendirildiğinde hastalık şiddeti sırasıyla % 14.71 ve % 15.04, hastalık şiddetine uygulamaların etkisi % 76.74 ve % 76.23 olarak saptanmıştır.

Antg-101, Antg-147 Antg-223 ve Antg-189 biyolojik tohum uygulamaları olarak tek tek uygulandıklarında bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddetini % 69-61 oranlarında baskılamıştır.

Biyolojik tohum uygulaması olarak Antg-61, Antg-144 ve Antg-262 karpuz tohumlarına uygulandığında gelişen fidelerde hastalık şiddeti % 60-55 arasında engellenmiştir. Son olarak Antg-97 uygulanmış tohumlardan gelişen fidelerde skala değerleri ortalaması 2.42, hastalık şiddeti % 34.59 ve antagonistin hastalık şiddetine etkisi % 45.33 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.16. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddetine etkisi (Birinci deneme)

Uygulamalar	Çimlenen Fide Sayısı	Skala Değerleri Ortalaması	Hastalık %'si	% Etki
Pozitif K	98	4.43	63.27	
Negatif K	100	0	0.00	
198	99	0.22	3.17	94.98
12	99	0.46	6.64	89.51
57	99	0.64	9.09	85.63
197	100	0.76	10.86	82.84
273	100	1.04	14.71	76.74
79	95	1.04	15.04	76.23
101	100	1.36	19.43	69.29
147	102	1.49	21.29	66.35
223	101	1.60	22.35	64.68
189	99	1.71	24.39	61.45
61	96	1.78	25.45	59.78
144	100	1.84	26.29	58.45
262	98	1.99	28.72	54.61
97	95	2.42	34.59	45.33

İkinci Deneme: Çizelge 4.17'de görüldüğü şekilde tohum uygulaması olarak 14 farklı antagonist bakteri uygulandığında karpuz fidelerinde bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddeti % 3-59 oranları arasında saptanmış, antagonistler hastalık şiddetini % 11-96 oranında baskılamıştır. Yapılan değerlendirmede *Acidovorax citrulli* ile bulaştırılmış pozitif kontrol uygulamasında skala değerleri ortalaması 4.58, hastalık şiddetinin ise % 65.43 olduğu saptanmıştır. Uygulamaların skala değerleri ortalamasının ise pozitif kontrolden farklı olarak 0.18-4.10 arasında olduğu belirlenmiştir.

Antg-12 uygulanmış tohumdan gelişen 97 adet fidede yapılan değerlendirmede, skala değerleri ortalaması 0.18, hastalık şiddeti % 2.50 ve antagonistin hastalığı baskılama oranı ise % 96.17 olmuştur. Antg-57 uygulanmış tohumların fidelerinde skala değerleri ortalaması 0.21, hastalık şiddeti % 2.94 ve antagonistin hastalık şiddetini azaltma oranı ise % 95.50 oranında saptanmıştır.

Üçüncü olarak Antg-197 ile bulaştırılmış tohumlardan gelişen 100 adet fidede, hastalık belirtilerinin skala değerleri ortalaması 0.25, hastalık şiddeti % 3.57 ve antagonistin hastalık şiddetine etkisi % 94.54 olmuştur.

Antg-147 uygulaması sonrası çimlenen 99 fidede skala değerleri ortalaması 0.26, hastalık şiddeti % 3.75, hastalık şiddetine etki ise % 94.27 olmuştur. Antg-273 ve Antg-79 uygulanmış tohumlardan gelişen fideler değerlendirildiğinde hastalık şiddeti sırasıyla % 4.92 ve % 5.41, hastalık şiddetine uygulamaların etkisi % 92.49 ve % 91.73 olarak saptanmıştır.

Antg-198 ile bulaştırılmış tohumlardan gelişen tüm fidelerdeki skala değerleri ortalaması 0.51, hastalık şiddeti % 7.43 ve bu uygulamanın hastalık şiddetini azaltma oranı ise % 88.65 olarak belirlenmiştir.

Antg-262 ile bulaştırılmış tohumlardan gelişen fidelerde yapılan değerlendirmede skala değerleri ortalaması 1.10, hastalık şiddeti % 15.86 ve antagonistin hastalık şiddetini azaltma oranı ise % 75.76 oranında kaydedilmiştir.

Antg-97 ve Antg-223 biyolojik tohum uygulamaları olarak tek tek uygulandıklarında skala değerleri ortalamaları 1.61 ve 1.76, bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddetini ise % 65 ve % 61 oranlarında baskılamışlardır.

Biyolojik tohum uygulaması olarak Antg-101, Antg-144 ve Antg-61 karpuz tohumlarına tek tek bulaştırıldıklarında, uygulama sonrası gelişen fidelerde uygulamaların hastalık şiddetine etkisi sırasıyla % 54.53, % 47.34 ve % 27.22 olmuştur.

Son olarak Antg-189 bulaştırılmış tohumlardan gelişen fidelerdeki kotiledon lekelerinin skala değerleri ortalaması 4.10, hastalık şiddeti % 58.59 ve antagonistin hastalık şiddetini azaltma oranı ise % 10.46 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.17. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddetine etkisi (İkinci Deneme)

Uygulamalar	Çimlenen Fide Sayısı	Skala Değerleri Ortalaması	Hastalık %si	% Etki
Pozitif K	100	4.58	65.43	
Negatif K	98	0	0.00	
12	97	0.18	2.50	96.17
57	102	0.21	2.94	95.50
197	100	0.25	3.57	94.54
147	99	0.26	3.75	94.27
273	93	0.34	4.92	92.49
79	95	0.38	5.41	91.73
198	100	0.51	7.43	88.65
262	100	1.10	15.86	75.76
97	99	1.61	22.94	64.93
223	99	1.76	25.11	61.62
101	97	2.08	29.75	54.53
144	102	2.48	34.45	47.34
61	99	3.33	47.62	27.22
189	99	4.10	58.59	10.46

Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi farklı tarihlerde yapılan iki deneme ile yürütülen 14 farklı antagonistin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalığı şiddetine etkileri değerlendirildiğinde, 10 farklı antagonist bakteri (Antg-12, Antg-57, Antg-79, Antg-101, Antg-147, Antg-197, Antg-198, Antg-223, Antg-262 ve Antg-273) hastalık şiddetini % 50'nin üzerinde baskılamış ve bu antagonistler en etkili tohum uygulamaları olarak saptanmışlardır. Geriye kalan dört antagonistten Antg-61, Antg-144 ve Antg-189 birinci denemede sırasıyla % 60, % 58 ve % 61 oranlarında hastalığı baskılamada başarılı antagonistler arasında yer almışken, ikinci denemede % 27, % 47 ve % 11 gibi düşük oranlarda hastalığı engelleyerek az başarılı uygulamalar olmuşlardır. Antg-97 birinci denemede hastalığı % 45 oranında, ikinci denemede de % 65 oranında baskılayabilmiştir.

Çizelge 4.18. Antagonistlerin tohum uygulaması olarak karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddetine etkisi (Birinci ve İkinci Deneme)

	Birinci Deneme		**İkinci Deneme**	
Uygulamalar	**Hastalık %'si**	**Hastalık Şiddetine % Etki**	**Hastalık %'si**	**Hastalık Şiddetine % Etki**
Pozitif K	63.27		65.43	
Negatif K	0.00		0.00	
198	3.17	**94.98**	7.43	**88.65**
12	6.64	**89.51**	2.50	**96.17**
57	9.09	**85.63**	2.94	**95.50**
61	25.45	**59.78**	47.62	27.22
197	10.86	**82.84**	3.57	**94.54**
273	14.71	**76.74**	4.92	**92.49**
79	15.04	**76.23**	5.41	**91.73**
101	19.43	**69.29**	29.75	**54.53**
147	21.29	**66.35**	3.75	**94.27**
223	22.35	**64.68**	25.11	**61.62**
189	24.39	**61.45**	58.59	10.46
144	26.29	**58.45**	34.45	47.34
262	28.72	**54.61**	15.86	**75.76**
97	34.59	45.33	22.94	**64.93**

Yapılan tohum uygulamaları sonucunda altı antagonist (Antg-12, Antg-57, Antg-79, Antg-197, Antg-198 ve Antg-273) hastalık çıkışını % 50'nin üzerinde baskılamış, 10 antagonist bakteri (Antg-12, Antg-57, Antg-79, Antg-101, Antg-147, Antg-197, Antg-198, Antg-223, Antg-262 ve Antg-273) de hastalık şiddetini % 50'nin üzerinde engellemiştir.

4.7.4. Antagonistlerin Cam Sera Koşullarında Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Karpuz Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi

Patojen Populasyonunun Belirlenmesi: Yeşil aksam püskürtmesinde kullanılan patojen popülasyonunu belirlemek için yapılan çalışmada patojen

püskürtmesinden 7 gün sonra $1.86x10^8$, $1.86x10^7$, $1.86x10^6$ ve $1.86x10^5$ hücre/ml yoğunlukta patojenin püskürtüldüğü karpuz ve kavun bitkilerinin kotiledon ve gerçek yapraklarında lekelenmeler olduğu gözlenmiştir. Diğer popülasyonlarda $1.86x10^4$ $1.86x10^3$ ve $1.86x10^2$ hücre/ml seyreltmelerde sadece kotiledon yapraklarda leke oluşmuş, fakat doğada bu yaprakların düşeceği düşünülerek pozitif olarak değerlendirilmemiştir. $1.86x10^1$ hücre/ml yoğunlukta patojenin püskürtüldüğü karpuz ve kavun bitkilerinde herhangi bir belirti gözlenmemiştir. Kabak bitkilerine püskürtülen farklı popülasyonların hiçbirinde hastalık belirtisi gözlenmemiştir. Hastalık belirtisi gözlenen kavun ve karpuz yapraklarından izolasyon yapılmış, lekelere patojenin neden olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma ile patojenin $1.86x10^5$ ve daha üstü yoğunluktaki popülasyonunun gerçek yapraklarda gözle görülür lekelere neden olduğu, $1.86x10^4$ ve daha az yoğunluktaki popülasyonunun ise gerçek yapraklarda belirti oluşturmadığı ortaya konmuştur.

4.7.4.1 Antagonistlerin Cam Sera Koşullarında Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Karpuz Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi

Birinci Deneme: Çizelge 4.19 ve Şekil 4.13'de görüldüğü gibi, cam sera koşullarında antagonistlerin yeşil aksam uygulaması olarak bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi değerlendirildiğinde üç antagonist bakteri (Antg-12, Antg-97 ve Antg-101) hastalık gelişimini beş hafta boyunca % 20-49 oranında baskılamıştır. Sadece patojenin püskürtüldüğü pozitif kontrol bitkilerinde ortalama hastalık oranı % 56-65 oranında saptanmıştır.

İlk hafta yapılan değerlendirmede Antg-12 uygulanmış bitkilerde ortalama hastalık yüzdesi % 28.4, bu antagonistin hastalığı baskılama oranı ise % 48.88 olarak belirlenmiştir. Antg-101 uygulanmış bitkilerde ortalama hastalık % 34.26, hastalığı engelleme oranı % 38.34 olmuştur. Bir diğer uygulama olan Antg-97, hastalık gelişimini % 12.22 oranında baskılamıştır. Bu üç uygulama diğer uygulamalarla istatistiki olarak karşılaştırıldığında pozitif kontrolden farklı grupta yer alarak başarılı uygulamalar olmuştur. Antg-57, Antg-189 ve Tri Miltox Max uygulanmış bitkilerde hastalık şiddeti pozitif kontrolden daha yüksek oranlarda belirlenmiş ve uygulamalar

hastalığı engellemede başarısız olmuştur. Tri Miltox Max kontrol olarak kullanılmasına karşın, yanlış uygulama zamanından dolayı başarısız kaldığı düşünülmektedir.

İkinci haftaki değerlendirmede Antg-12 uygulanmış bitkilerde ortalama hastalık şiddeti % 34.26, hastalığı baskılama oranı % 41.88, Antg-101 püskürtülmüş bitkilerde ortalama hastalık şiddeti % 37.96, antagonistin hastalığı engelleme oranı ise % 35.61 olarak belirlenmiştir. Antg-97 uygulanmış bitkilerde ortalama hastalık şiddeti % 46.6, hastalığı baskılama oranı % 20.95 olmuştur. İlk değerlendirmede olduğu gibi bu üç uygulama istatistiksel olarak diğer uygulamalara göre pozitif kontrolden farklı grupta yer alarak başarılı uygulamalar olarak saptanmıştır. Antg-57, Antg-189 ve Tri Miltox Max püskürtülmüş bitkilerde hastalık şiddeti pozitif kontrolden yüksek oranda belirlenmiş ve uygulamalar başarısız olmuştur.

Üçüncü hafta yapılan değerlendirmede yine Antg-57, Antg-189 ve Tri Miltox Max başarısız uygulamalar olarak belirlenmiştir. Antg-12 uygulanmış bitkilerde antagonist bakteri patojen gelişimini % 38.16 oranında baskılamıştır. Antg-101 püskürtülmüş bitkilerde antagonist patojeni % 32.37 oranında, Antg-97 uygulanmış bitkilerde antagonist bakteri hastalık gelişimini % 19.82 oranında engellemiştir. Tüm uygulamalar istatistiki olarak karşılaştırıldığında Antg-12, Antg-101 ve Antg-97 pozitif kontrolden farklı, fakat üçü aynı grupta yer almış ve en başarılı uygulamalar olmuştur.

Dördüncü haftaya bakıldığında üçüncü hafta yapılan değerlendirmelerin değişmediği, oranların aynı kaldığı belirlenmiştir.

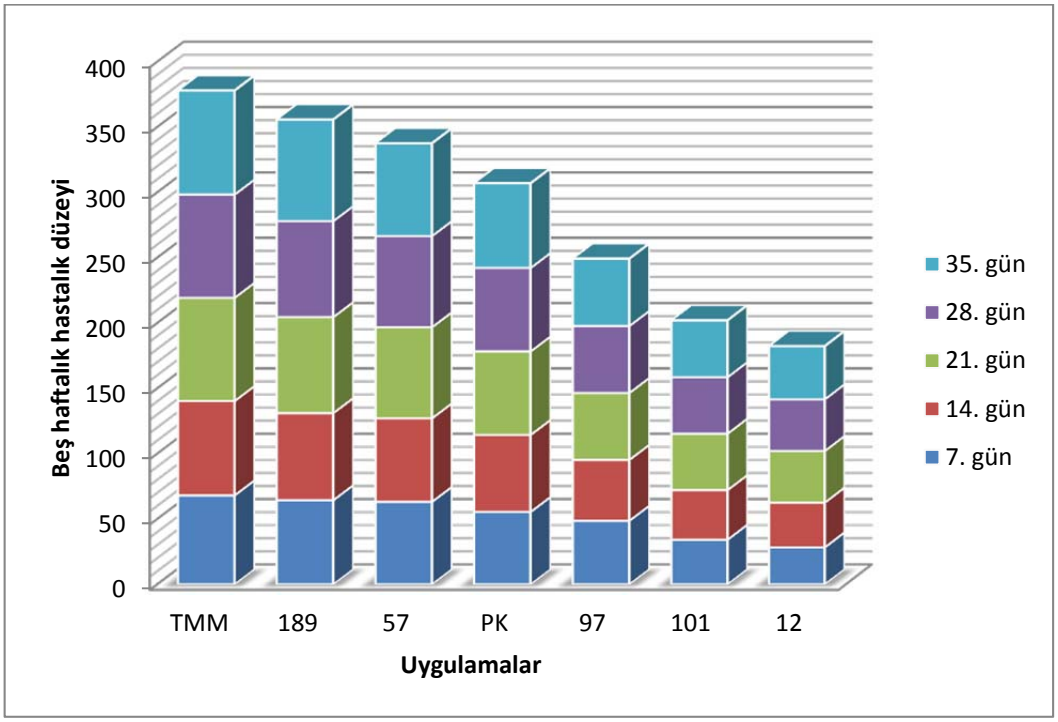
Son değerlendirmenin yapıldığı beşinci hafta ise üç antagonist (Antg-12, Antg-101 ve Antg-97) hastalık gelişimini sırasıyla % 37.14, % 32.85 ve % 20.48 oranlarında engellemiş ve istatistiki olarak diğer uygulamalardan farklı, üçü ise aynı grupta yer alarak başarılı uygulamalar olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.19. Cam Sera Koşullarında Antagonistlerin Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Karpuz Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (Birinci Deneme)

Uygulamalar	Ortalama Hastalık Şiddeti (%)											
	7. gün			14. gün			21. gün			28. gün			35. gün		
	Ort. Hastalık % si		% Etki	Ort. Hastalık % si		% Etki	Ort. Hastalık % si		% Etki	Ort. Hastalık % si		% Etki	Ort. Hastalık % si		% Etki
PK	55.56^{bc*}			58.95^{b}			63.89^{b}			63.89^{b}			64.81^{b}		
TMM	68.21^{a}		-22.77	72.22^{a}		-22.51	79.01^{a}		-23.67	79.01^{a}		-23.67	79.63^{a}		-22.87
189	64.51^{ab}		-16.11	66.67^{ab}		-13.10	73.46^{ab}		-14.98	73.46^{ab}		-14.98	77.78^{a}		-20.01
57	63.27^{ab}		-13.88	63.89^{ab}		-8.38	69.75^{ab}		-9.17	69.75^{ab}		-9.17	70.99^{ab}		-9.54
97	48.77^{c}		12.22	46.6^{c}		20.95	51.23^{c}		19.82	51.23^{c}		19.82	51.54^{c}		20.48
101	34.26^{d}		38.34	37.96^{cd}		35.61	43.21^{c}		32.37	43.21^{c}		32.37	43.52^{c}		32.85
12	28.4^{d}		48.88	34.26^{d}		41.88	39.51^{c}		38.16	39.51^{c}		38.16	40.74^{c}		37.14

*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0,05'e göre önemsizdir.

TMM: Tri Miltox Max



Şekil 4.15. Farklı antagonistlerin yeşil aksamda karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı gelişimine haftalık olarak etkisi (Birinci Cam Sera Denemesi)

Sonuç olarak 2013 yılında yapılan birinci deneme değerlendirildiğinde beş hafta boyunca üç antagonist (Antg-12, Antg-101 ve Antg-97) hastalık gelişimini % 20-49 oranlarında baskılayarak en etkili uygulamalar olarak belirlenmiştir.

İkinci Deneme: Çizelge 4.20 ve Şekil 4.14'de görüldüğü gibi, cam sera koşullarında ikinci yıl yapılan denemede yedi antagonist (Antg-12, Antg-57, Antg-97, Antg-101, Antg-189, Antg-197, Antg-198 ve Antg-273) hastalık gelişimini üç hafta boyunca baskılamıştır. Sadece patojenin püskürtüldüğü pozitif kontrol bitkilerinde ortalama hastalık şiddeti % 54-80 oranlarında saptanmıştır.

Pozitif kontrol bitkilerinde ilk hastalık belirtileri gözlenince yapılan birinci değerlendirmede tüm uygulamalar hastalık şiddetini % 25-82 oranında baskılamıştır. Antg-189 uygulanmış bitkilerde ortalama hastalık şiddeti % 40, antagonist hastalığı % 25 oranında engellemiştir. Bu uygulama istatiktiksel olarak pozitif kontrolle aynı grupta yer alarak başarısız olarak değerlendirilmiştir. Diğer uygulamalar istatistiki olarak karşılaştırıldığında pozitif kontrolden farklı grupta yer almış ve başarılı uygulamalar olmuşlardır.

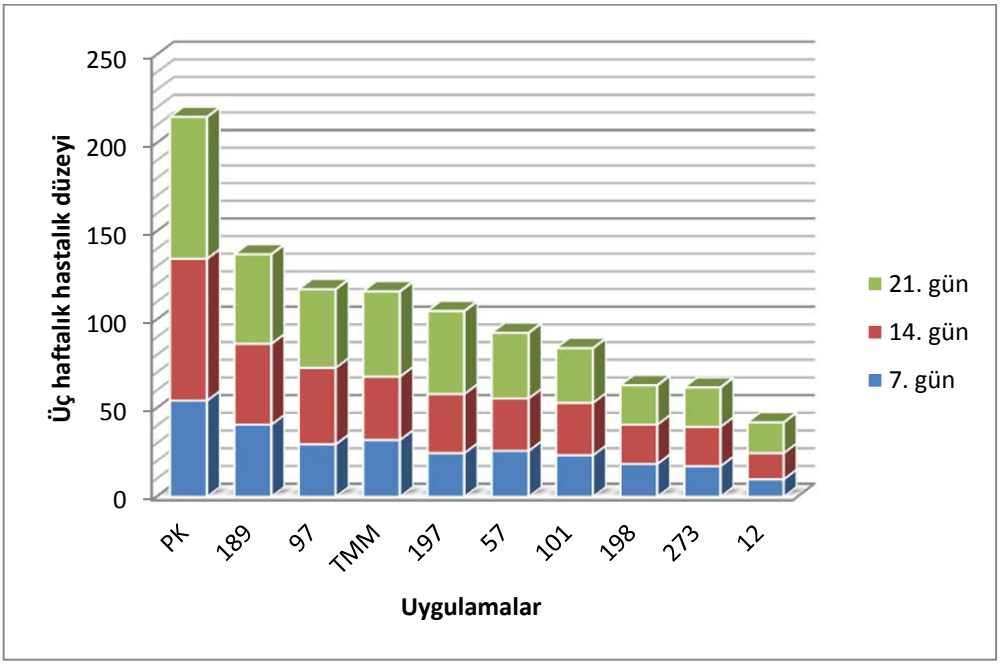
İkinci değerlendirmede Antg-12 püskürtülmüş bitkilerde hastalık şiddeti % 14.81, hastalığı baskılama oranı ise % 81.55 olmuştur. Bu antagonist püskürtmesi en yüksek etkili uygulama olarak ilk sırada yer almıştır. Diğer uygulamalar antagonist gelişimini % 43-72 arasında engellemiştir. Tüm uygulamalar istatistiki olarak değerlendirildiğinde pozitif kontrolden farklı grupta yer almış, hepsi ise aynı harfi alarak aynı grupta yer almışlardır. Tüm uygulamalar patojen gelişimini baskılamada başarılı kabul edilmiştir.

Üçüncü değerlendirmede tüm uygulamalar hastalığı % 37-79 oranında baskılamıştır. Uygulamalar istatistiksel olarak pozitif kontrol kontrolden farklı grupta yer almıştır. Ayrıca istatistiki olarak aynı grupta yer almış ve tümü başarılı uygulamalar olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.20. Cam sera koşullarında antagonistlerin yeşil aksam uygulaması olarak karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi (İkinci deneme)

Ortalama Hastalık Şiddeti (%)						
Uygulamalar	7. gün		14. gün		21. gün	
	Ort. Hastalık % si	% Etki	Ort. Hastalık % si	% Etki	Ort. Hastalık % si	% Etki
PK	54.32[a]*		80.25[a]		80.25[a]	
Antg-189	40.74[ab]	25.00	45.68[b]	43.08	50.62[b]	36.92
TMM	32.10[bc]	40.91	35.80[b]	55.39	48.15[b]	40.00
Antg-197	24.69[bcd]	54.55	33.33[b]	58.47	46.91[b]	41.55
Antg-97	29.63[bc]	45.45	43.21[b]	46.16	44.44[b]	44.62
Antg-57	25.93[bcd]	52.26	29.63[b]	63.08	37.04[b]	53.84
Antg-101	23.46[bcd]	56.81	29.63[b]	63.08	30.86[b]	61.55
Antg-198	18.52[cd]	65.91	22.22[b]	72.31	22.22[b]	72.31
Antg-273	17.28[cd]	68.19	22.22[b]	72.31	22.22[b]	72.31
Antg-12	9.88[d]	81.81	14.81[b]	81.55	17.28[b]	78.47

* Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0.05'e göre önemsizdir.
PK: Pozitif kontrol
TMM: Tri Miltox Max



Şekil 4.16. Farklı antagonistlerin yeşil aksamda karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı gelişimine haftalık olarak etkisi (İkinci Cam Sera Denemesi)

Üç hafta boyunca yapılan değerlendirmeler sonucunda tüm uygulamalar farklı oranlarda hastalık gelişimini baskılamış, istatistiki olarak da pozitif kontrolden farklı grupta yer alarak başarılı uygulamalar oldukları saptanmıştır.

4.7.4.2. Antagonist Uygulamalarının Cam Sera Koşullarında Karpuz Meyve Verimi Üzerine Etkisi

Birinci Deneme: Sezon sonunda gelişen tüm karpuz meyveleri incelendiğinde pozitif kontrol bitkileri dahil, uygulama görmüş hiçbir bitkiden gelişen meyvede hastalık belirtilerine rastlanmamıştır. Cam serada yetiştirilen karpuzlardan gelişen meyvelerin ağırlıkları alındığında, oluşan en küçük meyveler bir kilogramdan az ağırlıkta olduğu belirlenmiş, en iri meyve ise 10 kg olarak tartılmıştır.

Tüm uygulamalardan elde edilen meyvelerin ortalama ağırlıkları 3.09-4.85 kg arasında bulunmuştur.

Çizelge 4.21 incelendiğinde negatif kontrol olarak sadece su püskürtülen bitkilerden gelişen meyvelerin ortalama ağırlığı 3.39 kg olmuştur. Pozitif kontrol bitkilerinde ortalama ağırlık 4.03 kg olarak belirlenmiştir.

Antagonistlerin uygulandığı bitkilerden alınan meyvelerde ortalama ağırlık 3.09-4.85 kg arasında yer almıştır.

Meyve ağırlıkları istatistiki olarak karşılaştırıldığında negatif kontrolle aynı grupta yer almış ve uygulamaların meyve verimi ve kalitesine bir etkide bulunmadığı saptanmıştır.

İkinci Deneme: 2014 yılında kurulan ikinci denemede yaşanan entomolojik sorunlardan dolayı meyve yetiştirilememiştir. Bu nedenle meyve verimi değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Çizelge 4.21. Cam sera koşullarında antagonistlerin karpuz meyve verimine etkisi (Birinci Deneme)

Uygulamalar	Ortalama Meyve Ağırlığı (Kg)
Ant-189	4.85[a]
Tri Miltox Max	4.61[a]
Ant-101	4.47[ab]
Pozitif Kontrol	4.03[ab]
Ant-97	4.01[ab]
Ant-57	3.89[ab]
Negatif Kontrol	3.39[ab]
Ant-12	3.09[b]

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

4.7.5 Tarla Koşullarında Antagonistlerin Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Karpuz Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi

Birinci Deneme: Çizelge 4.22 ve Şekil 4.15'de görüldüğü gibi. tarla koşullarında farklı antagonistlerin yeşil aksam uygulaması olarak bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisinin değerlendirildiği birinci denemede. pozitif kontrol bitkilerinde yapraklarda düzensiz kahverengi lekeler gözlendikten sonra beş hafta

boyunca yapılan değerlendirmelerde antagonistler ve kombinasyonları hastalığı üç hafta boyunca % 7-44 oranında baskılamıştır. Tüm uygulamalar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında pozitif kontrolle aynı grupta yer almış ve bu nedenle başarısız uygulamalar olarak değerlendirilmiştir. Patojen bakterinin püskürtüldüğü pozitif kontrol bitkilerinde ortalama hastalık şiddeti % 27-51 oranlarında saptanmıştır.

Patojen püskürtmesinden yedi gün ve 14 gün sonra yapılan değerlendirmelerde pozitif kontrolde hastalık şiddeti % 27.16 (Şekil 4.16). antagonist uygulamalarında bu oran % 22-25 arasında yer almıştır. Tekli kombinasyonlardan Antg-12 hastalığı % 6.81 (Şekil 4.16). Antg-57 % 14.76 ve Antg-101 ise hastalığı % 19.33 oranında engellemiştir.

Kombinasyonlar incelendiğinde. Antg-12+Antg-57 uygulaması hastalığı % 7.95. Antg-12+Antg-101 uygulaması % 17.05. Antg-57+Antg-101 uygulaması ise hastalığı % 25 oranında. üç antagonistin karışımı da hastalığı % 18.19 oranında baskılamıştır. Her iki hafta yapılan değerlendirmeye göre tüm uygulamalar istatistiksel olarak pozitif kontrolle aynı grupta yer almış. bu nedenle başarısız olarak değerlendirilmişlerdir.

Üçüncü hafta yapılan değerlendirmede pozitif kontrolde hastalık şiddeti % 44.44 olmuş. tüm uygulamalarda hastalık şiddeti % 40-55 oranında belirlenmiştir. Farklı uygulamalar hastalık şiddetini % 0-11 oranında baskılamıştır. Üçüncü haftadan itibaren antagonist uygulanmış bitkilerde hastalık gelişiminde artış olduğu gözlenmiştir. Bu duruma paralel olarak antagonist bakterilerin hastalık gelişimine etkileri de azalmıştır.

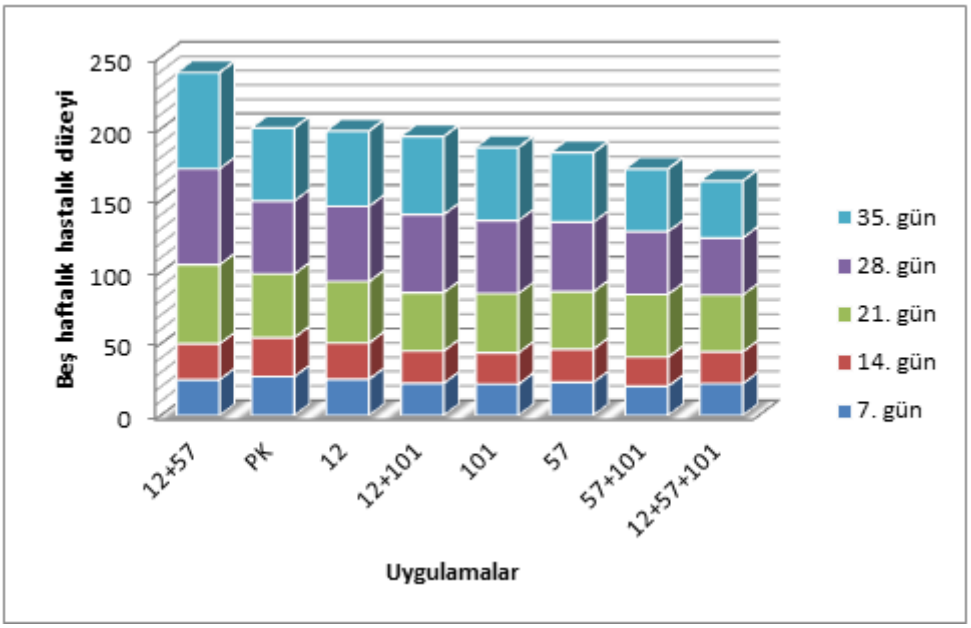
Dördüncü ve beşinci haftalarda yapılan değerlendirmeler değişkenlik göstermemiş. pozitif kontrolde hastalık şiddeti % 51. uygulamaların yapıldığı karpuz bitkilerinde hastalık şiddeti ise % 40-67 oranında saptanmıştır. Antg-57 uygulanmış bitkilerde antagonist bakteri hastalık şiddetini % 5 oranında azaltmıştır. Antg-57+Antg-101 kombinasyonunun uygulandığı bitkilerde hastalık oranı % 43.77. bu kombinasyon yeşil aksamdaki hastalığı % 14 oranında azaltmıştır. Üç antagonistin birlikte uygulandığı bitkilerde hastalık şiddeti % 39.73. üçlü kombinasyonun hastalık gelişimine etkisi % 21 oranında saptanmıştır.

Çizelge 4.22. Tarla Koşullarında Antagonistlerin Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Karpuz Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (Birinci Deneme)

Ortalama Hastalık Şiddeti (%)										
Uygulamalar	7. gün		14. gün		21. gün		28. gün		35. gün	
	Ort. Hastalık % si	% Etki	Ort. Hastalık % si	% Etki	Ort. Hastalık % si	% Etki	Ort. Hastalık % si	% Etki	Ort. Hastalık % si	% Etki
PK	27.16[a]		27.16[a]		44.44[a]		50.93[b]		50.93[b]	
12	25.31[a]	6.81	25.31[a]	6.81	42.90[a]	3.47	52.47[ab]	-3.02	52.47[ab]	-3.02
12+57	25.00[a]	7.95	25.00[a]	7.95	55.22[a]	-24.26	67.00[a]	-31.55	67.00[a]	-31.55
57	23.15[a]	14.76	23.15[a]	14.76	40.12[a]	9.72	48.46[b]	4.85	48.46[b]	4.85
12+101	22.53[a]	17.05	22.53[a]	17.05	40.74[a]	8.33	54.44[ab]	-6.89	54.44[ab]	-6.89
12+57+101	22.22[a]	18.19	22.22[a]	18.19	39.73[a]	10.60	39.73[b]	21.99	39.73[b]	21.99
101	21.91[a]	19.33	21.91[a]	19.33	41.36[a]	6.93	50.93[b]	0.00	50.93[b]	0.00
57+101	20.37[a]	25.00	20.37[a]	25.00	43.77[a]	1.51	43.77[b]	14.06	43.77[b]	14.06

*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0,05'e göre önemsizdir.

PK: Pozitif kontrol

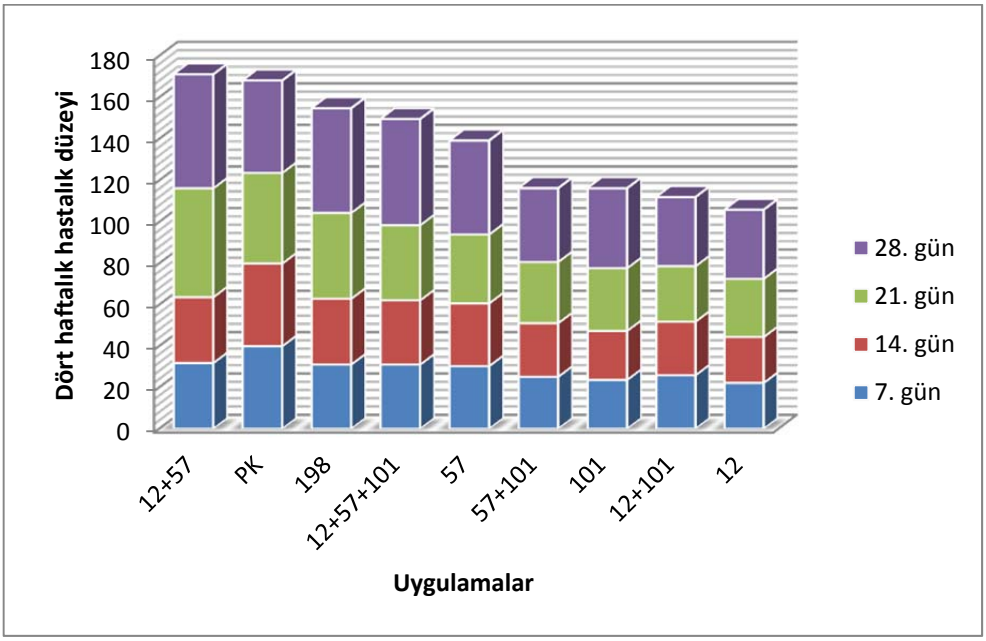


Şekil 4.17. Antagonistlerin yeşil aksamda karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı gelişimine haftalık olarak etkisi (Birinci Tarla Denemesi)



Şekil 4.18. İlk değerlendirmede pozitif kontrol bitkilerinde yapraklarda hastalık gelişimi (solda). Antg-12 uygulanmış bitkilerde hastalık gelişimi (sağda)

İkinci Deneme: Farklı antagonistlerin ve kombinasyonlarının uygulandığı ikinci deneme sonuçlarına bakıldığında Çizelge 4. 23 ve Şekil 4.17'de görüldüğü gibi uygulamalar hastalık gelişimini yedi ve 14. günlerde % 21-44 oranlarında baskılayabilmiştir. 21. ve 28. günlerde hastalığı baskılama değerleri büyük oranda düşüşe geçmiştir. 21. günde Antg-12+Antg-57 kombinasyonunun uygulandığı bitkiler hariç diğer tüm tekli ve çoklu kombinasyon uygulamalarında hastalık gelişimi % 5-39 oranları arasında engellenmiştir. Antg-12+Antg-57 kombinasyonu uygulanan karpuz bitkilerinde pozitif kontrolden çok daha yüksek oranlarda hastalık çıkışı gözlenmiştir. 28. günde ise uygulamaların etkisi düşmüş. tekli uygulamalardan Antg-57 ve Antg-198. ikili kombinasyon Antg-12+Antg-57 ile üçlü kombinasyon Antg-12+57+101 uygulamalarında hastalık şiddetinin pozitif kontrolden daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır. Dördüncü hafta değerlendirmesinde hastalığı % 25 engelleme oranıyla Antg-12 ve ikili kombinasyon Antg-12+101 en yüksek etkiyi göstermiştir.



Şekil 4.19. Antagonistlerin yeşil aksamda karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı gelişimine haftalık olarak etkisi (İkinci Tarla Denemesi)

Çizelge 4.23. Tarla koşullarında antagonistlerin yeşil aksam uygulaması olarak karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi (İkinci deneme)

Ortalama Hastalık Şiddeti (%)								
Uygulamalar	7. gün		14. gün		21. gün		28. gün	
	Ort. Hastalık % si	% Etki	Ort. Hastalık % si	% Etki	Ort. Hastalık % si	% Etki	Ort. Hastalık % si	% Etki
PK	40[a]*		40 [a]		43.7[a]		44.44[a]	
12+57	31.85[a]	20.38	31.85[a]	20.38	52.59[a]	-20.34	54.81[a]	-23.33
198	31.11[a]	22.23	31.85[a]	20.38	41.48[a]	5.08	50.37[a]	-13.34
12+57+101	31.11[a]	22.23	31.11[a]	22.23	36.30[a]	16.93	51.11[a]	-15.01
57	30.37[a]	24.08	30.37[a]	24.08	33.33[a]	23.73	45.19[a]	-1.69
12+101	25.93[a]	35.18	25.93[a]	35.18	26.85[a]	38.56	33.33[a]	25.00
57+101	25.19[a]	37.03	25.93[a]	35.18	29.63[a]	32.20	35.56[a]	19.98
101	23.70[a]	40.75	23.70[a]	40.75	30.37[a]	30.50	38.52[a]	13.32
12	22.22[a]	44.45	22.22[a]	44.45	28.15[a]	35.58	33.33[a]	25.00

* Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark P≤0.05'e göre önemsizdir.
PK: Pozitif kontrol

Her iki yılda gerçekleştirilen tarla koşullarında yeşil aksama antagonist uygulamalarının karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi değerlendirildiğinde. yapılan istatistiki analizlere göre uygulamaların birbirinden farksız olduğu ve pozitif kontrolle aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir. Her iki yıl denemelerinde elde edilen veriler birbiriyle paralellik göstermiş. hiç bir antagonist uygulaması hastalık gelişimini baskılayamamıştır. Bu durum *in vitro* koşullarda patojen gelişimini baskılayan antagonistlerin *in vivo* koşullarda başarısının düştüğünü göstermiştir.

İstatistiki değerlendirmelerin yanı sıra uygulamaların hastalık gelişimini engelleme oranları her iki yılda değişkenlik göstermiştir. Birinci denemede yedinci ve 14. günlerde yapılan değerlendirmelerde engelleme oranları % 7-25 iken. ikinci denemede baskılama oranları % 21-44 arasında değişmiştir. İlk denemede Antg-12 çok düşük başarı gösterirken. ikinci denemede hastalığı baskılamada en etkili uygulama olarak belirlenmiştir. Her iki deneme sonuçlarına göre Antg-101 % 19 ve % 40 engelleme oranlarıyla en etkili antagonist uygulaması olmuştur. Buna paralel olarak Antg-101'in yer aldığı ikili ve üçlü kombinasyon uygulamalarında hastalığı baskılama oranlarında bir artış olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak bu doktora tezinde yaprağa antagonist bakteri uygulamalarının üç hafta boyunca hastalık gelişimini azalttığı. üçüncü haftadan sonra antagonistlerin etkinliğinin azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca yeşil aksama antagonist uygulamalarının hastalık oluşumunu engelleme ya da azaltmada beklenen başarıyı gösteremediği de belirlenmiştir.

4.7.6. Tarla Koşullarında Farklı Antagonist Uygulamalarının Karpuz Meyve Verimi Üzerine Etkisi

Her iki yılda yapılan tarla koşullarındaki denemelerde meyveler yeterli büyüklüğe ve olgunluğa eriştiğinde hastalık belirtileri yönünden incelenmiş. meyve kabuğunda ya da etinde herhangi bir hastalık belirtisi saptanmamıştır.

Birinci Deneme: Sezon sonunda uygulama görmüş tüm bitkilerden gelişen meyveler hasat edilip terazide tartıldığında en küçük meyve bir kilogramın altında. en büyük meyve ise 12 kg olarak tartılmıştır. Negatif kontrol bitkilerinde en büyük meyve ağırlığı 9.5 kg olarak tartılmıştır. Hiçbir antagonist uygulaması meyve verimini olumsuz yönde etkilememiştir.

Çizelge 4.24 incelendiğinde uygulamalar sonrası ortalama meyve ağırlıkları 4.93-7.09 kg arasında olduğu belirlenmiştir. Tüm uygulamalar karşılaştırıldığında negatif kontroldeki meyvelerin ortalama ağırlığı 5.12 kg olarak belirlenmiştir. Negatif kontrolle istatistiki olarak aynı grupta yer alan Antg-12. Antg-57. Antg-12+Antg-57 ve Antg-12+Antg-101 uygulanmış bitkilerin ortalama meyve ağırlığı sırasıyla 4.65. 4.94. 4.91 ve 4.92 kg olarak hesaplanmıştır.

Negatif kontrolden farklı grupta yer alan. sadece patojenin uygulandığı pozitif kontrol bitkilerinin meyvelerinde ortalama meyve ağırlığında % 35.74 oranında artış olmuştur. İkili kombinasyon (57+101) uygulamasında meyve ağırlığındaki ortalama artış % 38.48 ve üçlü kombinasyon (12+57+101) uygulanmış bitkilerin meyve ağırlıklarındaki artış % 45.90 olarak belirlenmiştir. Bu uygulamalar negatif kontrolden farklı grupta yer alarak meyve veriminde artışa yol açmıştır.

Çizelge 4.24. Antagonist uygulamalarının tarla koşullarında karpuz meyve verimine etkisi (Birinci Deneme)

Uygulamalar	Ortalama Meyve Ağırlığı (Kg)*	% Artış
Antg-12+Antg-57+Antg-101	7.47[a*]	45.90
Antg-57+Antg-101	7.09[ab]	38.48
Pozitif Kontrol	6.95[ab]	35.74
Antg-101	5.72[bc]	11.72
Negatif Kontrol	5.12[cd]	0
Antg-12+Antg-101	4.92[cd]	0
Antg-12+Antg-57	4.91[cd]	0
Antg-57	4.94[cd]	0
Antg-12	4.65[d]	0

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

İkinci Deneme: Çizelge 4.25 incelendiğinde birinci yıl yapılan tarla denemesinde olduğu gibi 2014 yılında da karpuz bitkilerinde gelişen meyvelerde herhangi bir hastalık belirtisine rastlanmamıştır. İkinci yıl yapılan değerlendirmelerde uygulamalar arasında meyve ağırlıklarında istatistiki olarak bir fark görülmemiş ve hepsi aynı grupta yer almışlardır.

Çizelge 4.25. Antagonist uygulamalarının tarla koşullarında karpuz meyve verimine etkisi (İkinci Deneme)

Uygulamalar	Ortalama Meyve Ağırlığı (kg)
Negatif Kontrol	8.36[a*]
Antg-57	8.12[a]
Antg-101	7.42[a]
Antg-57+Antg-101	7.29[a]
Antg-198	7.27[a]
Antg-12+Antg-57	7.09[a]
Antg-12	6.22[a]
Antg-12+Antg-101	5.95[a]
Antg-12+Antg-57+Antg-101	6.02[a]
Pozitif Kontrol	5.71[a]

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

5. TARTIŞMA

Karpuzun ekonomik anlamda en önemli hastalığı *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesi hastalığıdır. Bu hastalık karpuz üretimini tehdit eden önemli bir hastalıktır. Son yıllarda hastalık epidemisinde tüm dünyada bir artış gözlenmektedir. Bu artışın nedeni olarak etmenin diğer kabakgil türlerinde de hastalık yapabilmesi, patojenin fenotipik ve genotipik yapısındaki farklılıklar ve dünyada artan tohum ticareti sayılabilir.

Ülkemizde hastalık ilk kez 1996 yılında Edirne (Demir, 1996) ve Adana (Mirik ve ark., 2006) illerinde görülse de ilk epidemisini 2009 ve 2010 yıllarında Çukurova Bölgesinde yapmıştır. Bölgemizde yaşanan epideminin kökeni hakkında fikir yürütebilmek amacıyla bu çalışma yapılmıştır. Çalışmamızda 1965-2012 yılları arasında 15 farklı ülkeden ve 2009-2012 yılları arasında ülkemizden farklı kabakgil türlerinden izole edilen *Acidovorax citrulli* izolatlarının genotipik farklılıkları AFLP-PCR tekniğiyle araştırılmıştır.

Dünyada *Acidovorax citrulli*'nin iki farklı inokulum kaynağının varlığı konusunda az sayıda da olsa farklı çalışmalar mevcuttur (Walcott ve ark., 2000; Burdman ve ark., 2005; Wen ve ark., 2008; Feng ve ark., 2009; Yan ve ark., 2013; Melo ve ark., 2014). Çalışmamızda, diğer çalışmaları destekler şekilde, AFLP yöntemine göre, dünyadaki iki farklı inokulum kaynağının Türkiye'de var olduğu elde edilen dendogramla ortaya konmuştur.

Bu konuda en detaylı çalışmalardan biri Feng ve ark. (2009) tarafından 85 *Acidovorax citrulli* izolatıyla yapılan çalışmadır. Mirik ve ark. (2006) tarafından Çukurova Bölgesi'nden izole edilen *Acidovorax citrulli* izolatının bir tanesi, Prof. Dr. Hikmet Saygılı ve Prof. Dr. Norman W. Schaad vasıtasıyla Feng ve ark (2009)'a gönderilmiştir. Türkiye izolatı bu çalışmada tamamının karpuz izolatlarından oluştuğu grupta yer almıştır. Bu grupta Türkiye izolatının yanında ABD'nin Georgia ve Indiana eyaletleri ile Mariana Adalarından, Çin'in tohum üretimi yapılan farklı şehirlerinden, Kore, Japonya, Brezilya, Malezya ve İsrail'den elde edilen izolatlar bulunmaktadır. Bu grupta yer alan 24 izolatın ikisi kavundan 22 tanesi karpuzdan 1989-2007 yılları arasında elde edilen izolatlardır. Farklı ülkelerden elde edilen

izolatlarla 2006 yılında Çukurova Bölgesinden elde edilen izolatın kökeninin aynı oluşu bölgemize bu hastalığın bulaşık tohum ticaretiyle yayılmış olabileceği fikrini kuvvetlendirmektedir. Bizim çalışmamızla benzer şekilde, ilk grupta ülkemiz izolatlarıyla ABD, Brezilya, Çin ve İsrail izolatları aynı grupta yer almıştır. İkinci grupta ise İsrail, Avustralya, Çin'in farklı yöreleri, ABD'nin Georgia eyaletinden elde edilen 15 izolat yer almaktadır. Bu izolatların dördü kavundan, ikisi rockmelondan ve dokuzu karpuzdan izole edilmiştir. Bu ikinci grupta ABD'nin Georgia eyaletinden izole edilen (ATTC 29625 kodlu type izolat) da bulunmaktadır. Bizim çalışmamızla benzer şekilde ikinci grupta ülkemiz izolatlarıyla ABD, Avustralya, Çin ve İsrail izolatları aynı grupta yer almıştır. ATTC 29625 kodlu type izolatın diğer çalışmalarda atipik (dendogramda iki kümeden farklı olarak yer aldığı) olduğu bildirilse de bu çalışmada MLST sonuçlarına göre oldukça tipik olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda kullanılan Türkiye'den izole edilen *Acidovorax citrulli* olduğu kanıtlanmış 55 adet izolatın, sadece dört adedi birinci inokulum kaynağına aitken, 51 adetinin ikinci inokulum kaynağıyla benzerlik gösterdiği saptanmıştır. İlk inokulum kaynağında yer alan dört izolatımızın üçü Antalya'da bir fidelikten hasta TZ-148 anacı üzerine aşılı Crimson Tide çeşidi karpuz fidesinden diğeri ise Adana'da bir karpuz tarlasında aşısız Zeugma çeşidi hasta meyveden izole edilmiştir. Antalya'da bir fidelikten ve Adana'da tarladan elde edilen izolatlar ile ABD'nin farklı eyaletleri, Avustralya, Çin, Hollanda, Meksika ve Peru ülkelerinden elde edilen izolatlar aynı grupta yer alarak birbirleriyle yakın akraba oldukları belirlenmiştir. Antalya'da bir fidelikten hasta TZ-148 anacı üzerine aşılı Crimson Tide çeşidi karpuz fidesinden elde edilen izolatın TZ-148 anacı tohumundan mı yoksa Crimson Tide çeşidinin tohumundan mı bulaştığı konusunda herhangi bir fikrimiz bulunmamaktadır. Bu izolatların elde edildiği tarihte, karpuz anacı olarak kullanılan TZ-148 tohumu dahil tüm karpuz anacı olarak kullanılan kabak tohumları bu patojen yönünden karantina laboratuvarlarınca incelenmemekteydi. İkinci inokulum kaynağında yer alan 51 Türkiye izolatımızın 43 adeti karpuzdan 8 adeti kavundan izole edilmiştir. Kavun izolatlarımızın tümü Sürmeli çeşidinden, karpuz izolatları da Crimson Tide, Crispy, Zeugma, Blade ve Starburst çeşitlerinden izole edilmiştir. Bu

izolatlar ABD'nin çeşitli eyaletleri, Çin, İsrail, Kosta Rika, Meksika ve Tayland'dan izole edilmiş izolatlarla yakın akrabalık göstermiştir. Bu durum farklı ülkelerden elde edilen izolatlarla ülkemiz izolatlarının kökenin aynı olduğunu göstermektedir. Bu doktora tezinde hastalığın bu kadar alana ancak tohum ticaretiyle taşınmış olabileceği düşünülmektedir. Özellikle son yıllarda tohum üretiminin büyük çoğunluğu Çin'de gerçekleştirilmektedir. Bu hastalık Çin'de kavun ve karpuz üretilen tarlalarda da çok yaygın bir oranda görülmektedir. Ayrıca bu etmen Çin'de tohumlardan da izole edildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Ren ve ark., 2004; Ren ve ark., 2006; Zhao ve ark., 2006; Xu ve ark., 2008). Bu durum tohum ticaretiyle hastalığın kabakgil üreticisi tüm ülkelere yayılmasında en önemli faktör olduğunun da bir kanıtıdır.

1965 ve 1978'de izole edilen *Acidovorax citrulli* izolatlarının benzer özelliğe sahip olduğu daha sonraki yıllarda elde edilen izolatlar arasında genetik varyasyon olduğuna dair bulgular Hopkins ve ark., (1993) ile Walcott ve ark., (2000) tarafından tartışılmıştır. Bu çalışmaların çoğunda (Walcott ve ark., 2000; Burdman ve ark., 2005) izolat-konukçu ilişkisinden bahsedilmiş ve karpuzdan izole edilen *Acidovorax citrulli* izolatlarının bir grupta, diğer kabakgillerden izole edilenlerin de ayrı bir grupta yer aldığı savunulmuştur. 2000'li yıllarda yapılan çalışmaların aksine, bizim çalışmamızda karpuzdan izole edilen izolatlar tek bir grupta toplanmamış, diğer kabakgillerden elde edilenlerle aynı grupta yer alan izolatların varlığı da ortaya konmuştur. Ülkemiz izolatlarını (1) karpuz ve (2) karpuz dışındaki kabakgillerden izole edilenler diye iki gruba ayırmanın uygun olmadığına karar verilmiştir.

Acidovorax citrulli izolatlarının bir kısmı meyvelerde daha az oranda hastalık oluşturup esas olarak yeşil aksamda hastalık oluşturduğunu belirten çalışmalar varken (Schaad ve ark., 1978; Sowell ve Schaad, 1979; Goth ve Webb, 1981), son yıllarda özellikle 2007'den sonra dünyada meydana gelen epideminin nedeni olan izolatlar yapraklar yerine meyvede şiddetli hastalık belirtileri oluşturmaktadır. Bizim bölgemizde de pek çok tarlada yeşil aksam belirtileri oluşmadan meyvede çok şiddetli hastalık belirtileri gözlenmiştir.

Bu doktora çalışmasının ikinci kısmını hastalığın biyolojik mücadelesi üzerine yapılan çalışmalar oluşturmuştur. Karpuz ve kavunda hastalığa karşı çeşitli

fungal ve bakteriyel antagonistlerin kullanıldığı biyolojik mücadele çalışmaları bulunmaktadır. Özellikle son yıllarda karpuz ve kavunda *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesi hastalığının biyolojik mücadelesinde maya fungusları (Wang ve ark., 2009; Conceiçao ve ark., 2014), antagonist bakteriler (Fessehaie ve Walcott. 2005; Oliveira ve ark., 2006; Santos ve ark., 2006; Medeiros ve ark., 2009; Johnson ve ark., 2011), uçucu yağlar (Mengulluoglu ve Soylu, 2012; Basım ve Basım, 2014) çeşitli bitki aktivatörleri (Farimaz ve ark., 2014) ve tohumlara fiziksel uygulamaların (Selçuk, 2014) etkisini gösteren çalışmalar önem kazanmıştır. Fidelik ve tarla koşullarında başarılı bir şekilde bakırlı preparatlarla mücadele edemediğimiz bu hastalıkla biyolojik mücadele çalışmaları bir umut olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, tarla döneminde bu hastalığın yeşil aksamda çok belirgin yaprak lekelerine neden olmayışı, üreticinin hastalığı ancak meyve hasat döneminde fark edebilmesi, meyve lekeleri oluştuktan sonra yapılan bakır uygulamalarının başarılı olmayışı biyolojik mücadele çalışmalarını ön plana çıkarmaktadır. Karpuz tohum kabuğunun sert oluşu nedeniyle başarılı tohum uygulamalarının kullanılamadığı durumlar göz önüne alındığında, biyolojik mücadele elemanlarının tohuma uygulanmasını içeren çalışmaları bir alternatif olarak benimsenmektedir.

Çin'de *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu bakteriyel fide yanıklığını önlemek için bir maya izolatı (*Pichia anomala*) hami kavunlarının tohumlarına uygulandığında fidedeki hastalık streptomisin ve hidroklorik aside eşdeğer oranda engellenmiştir (Wang ve ark., 2009). Bu mayanın yeşil aksama püskürtülmesi de yaprak lekeleri ve yanıklığını azaltmıştır. Bu çalışma hastalığın biyolojik mücadelesinde umutlarımızın devam ettiğini ve bu izolatların pratikte kullanım için biyolojik preparat haline getirilmesi gerektiğini göstermektedir.

Bacillus sp. ve *Paenibacillus lentimorbus* türü bakteri izolatları kavun tohumuna uygulanmış (Medeiros ve ark., 2009) ve *Bacillus* sp., Acibenzolar-S-Methyl'e eşdeğer etki gösterirken, *Paenibacillus lentimorbus* her ikisinden de daha yüksek oranda hastalığı engellemiştir. Ayrıca bu bakteri izolatının bakır uygulamalarından etkilenmediği ve önemli bir biyolojik mücadele elemanı olabileceği saptanmıştır. Bu hastalıkla entegre mücadelede dayanıklı çeşit kullanımı

(Hopkins ve Thompson, 2002), bakırlı preparatların kullanımı (Walcott, 2008) ve biyolojik mücadele elemanlarının birlikte kullanılması gerektiği bu çalışmayla bir kez daha vurgulanmıştır.

Bakteri hastalıklarıyla mücadelede ilk şart hastalıksız üretim materyali kullanmaktır. Sağlıklı fide/fidan, tohum, yumru ile üretime başlamak son derece önemlidir. Hastalık gelişimi gerekli koşullar göz önüne alınarak, tohumluk karpuz üretimi yapılacak alanların serin ve kuru iklime sahip yerler olmasına özen gösterilmelidir. Hastalık etmeni tohumda çok düşük popülasyonda varlığını sürdürebilmekte ve kolaylıkla o tohum partisinden diğer tüm bitkileri hastalandırabilmektedir. Bu nedenle hastalıkla mücadele oldukça zordur (Selçuk, 2014). Hastalıkla bulaşık tohum partisindeki *Acidovorax citrulli* hastalığın bulunmadığı alanlara hasta tohumlarla giriş yapabilir, bu nedenle hastalıkla mücadelede tohum uygulamalarına büyük önem verilmelidir (Medeiros ve ark., 2009). Düşük popülasyondaki bakteriyi saptamada yaşanan zorluklar ve tohum uygulamalarında istenen başarının elde edilememesi hastalığın yönetiminde zorluklara neden olmaktadır. Tohuma uygulanan fermentasyon, antibiyotik, peroksi asetik asit, hidroklorik asit, sodyum hipoklorit gibi kimyasallar ve sıcak su uygulamaları tohumdaki bakteri popülasyonunu azaltmakta, ancak patojeni tamamen yok edememektedir (Sowell ve Schaad, 1979; Hopkins ve ark., 1996; Hopkins ve ark., 2003; Selçuk, 2014). Aynı şekilde tohuma antagonist uygulaması da tohumdaki patojeni tamamen yok etmemekte, sadece azaltmaktadır (Fessehaie ve Walcott, 2005). Bu durum entegre mücadele mücadele programlarına biyolojik mücadelenin de dahil edilmesi gerektiğinin göstergesidir.

Özellikle denemelerde doğal olarak patojenle bulaşık ya da suni yolla patojenle bulaştırılmış tohumların kullanılması tohum uygulamalarının başarısını farklı derecelerde etkilemektedir. Rane ve Latin (1992) hastalıklı meyvelerden aldıkları patojenle doğal bulaşık tohumlara sıcak su, NaOCI ve HCI uyguladığında fidelerde hastalığı baskılama oranları % 79-87 iken, suni yolla laboratuvarda tohumlar patojenle bulaştırıldığında bu etkinin % 96-98 oranında olduğu saptanmıştır. Bu durum patojenin tohumda yerleştiği kısımla ilgilidir. Patojenle doğal bulaşık tohumlarda etmen genellikle embriyoya, suni bulaştırılmış tohumlarda ise

genelde tohum kabuğuna yerleşmektedir. Tohumun içindeki patojeni yok etmek bu nedenle daha da zorlaşmaktadır (Dutta ve ark., 2012c). Yaptığımız çalışmada tohumlar suni olarak patojenle laboratuvarda bulaştırılmış ve biyolojik mücadele elemanları uygulandığında, fidelerde hastalığı baskılamada 14 adet antagonist % 10-94 oranında başarı göstermiştir. Bu yüksek başarı tohumun suni olarak bulaştırılması ve patojenin tohum kabuğunda bulunmasıyla ilgili olabilir. Bu nedenle, olanak dahilinde, doğal olarak patojenle bulaşık tohumlarla deneme yapılması önerilir.

Farklı *Bacillus* türleri kavun tohumlarına uygulandığında *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu bakteriyel fide yanıklığı hastalık şiddetini % 93 oranında baskılamıştır (Oliveira ve ark., 2006). Başka bir çalışmada *Pseudomonas fluorescens* (A506 kodlu), *Acidovorax avenae* (AAA-92 kodlu) ve tanılanmayan bir gram pozitif bakteri patojenle doğal bulaşık karpuz tohumlarına uygulanmış, tohumlar 30ºC sıcaklık, %90 nem ve floresan ışıkta muhafaza edildiğinde AAA-92 uygulanmış tohumlardan gelişen fidelerde hastalık oranı % 3.5 olarak saptamıştır. Aynı şekilde uygulama görmüş tohumlar sera koşullarında yetiştirildiğinde uygulama görmüş tohumlardan gelişen fidelerde plastik kaplarda yürütülen çalışmaya kıyasla hastalık belirtileri daha az oranda görülmüştür. *Acidovorax avenae* (AAA-92 kodlu)'nın plastik kaplarda gösterdiği etkiden çok daha düşük oranda hastalığı baskılayabilmiştir. Bu durumu araştırıcılar çevre koşullarının hastalık gelişimi için uygun olmadığı şeklinde yorumlamıştır. İyi bir antagonizmin olabilmesi için çevre koşullarının da hastalık gelişimi için uygun hale getirilmiş olması gerektiğini savunmuşlardır (Fessehaie ve Walcott, 2005). Buna benzer başka bir araştırmada mutasyona uğratılmış *Acidovorax citrulli* ve *Acidovorax avenae* (AAA-92 kodlu) tohumlara uygulandığında hastalık çıkışı % 10 ve % 14, hastalığın baskılanma oranı ise % 81.8 ve % 74.6 olarak saptanmıştır. Sera koşullarında da mutant izolatın uygulandığı tohumlarda hastalık çıkışı % 37, hastalık şiddeti % 23 olmuştur (Johnson ve ark., 2011). Bizim de yaptığımız çalışmada plastik kaplarda ekilen karpuz tohumları uygun nem, sıcaklık ve ışık koşullarında muhafaza edildiğinde antagonistler hastalık gelişimini % 94'e varan oranda baskılamıştır. Ancak cam sera ve tarla koşullarında sıcaklık ve nem koşulları kontrollü olmadığından bu başarı elde edilememiştir.

Biyolojik mücadele çalışmalarında *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar arasında her zaman bir uyum görülmemektedir. *In vitro* koşullarda patojen ve antagonist karşı karşıyadır. Antagonist besi yerinde antibiyotik oluşumu, besin-yer çekişmesi gibi biyolojik mücadele mekanizmalarından birini ya da bir kaçını kullanarak patojeni baskılayabilmektedir. Ancak cam sera ya da tarla koşullarında doğal ortamda *in* vitro'daki gibi olumlu etkiyi gösteremeyebilir (Bora ve Özaktan, 1998). Bu nedenle çalışmalarda *in vitro* ve *in vivo* testlerde uyumsuzluklar gözlenebilmektedir. Bu doktora çalışmasında da *in vitro* testlerde yüksek oranda inhibisyon zonu oluşturan antagonistler cam sera ve tarla koşullarında yeterince etki gösterememiştir. Örneğin Antg-189 ve Antg-147 nolu antagonistler *in vitro*'da yüksek inhibisyon zonu oluşturarak patojen gelişimini sınırlandırırken, tohum denemelerinde ve cam sera koşullarında düşük oranda hastalık gelişimini baskılamıştır.

Farklı çalışmalarda *in vitro* testlerde başarı gösteren antagonistler tohuma uygulandığında da hastalığı baskılamada başarılı uygulamalar olduğu belirlenmiştir (Fessehaie ve Walcott, 2005; Medeiros ve ark., 2009; Wang ve ark., 2009; Johnson ve ark., 2011). Ancak yeşil aksam uygulaması olarak bakteriyel meyve lekesi hastalığına antagonistlerin etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan bu doktora çalışmasında antagonistlerin tohuma uygulandığında yaprağa püskürtmeye göre daha etkili ve başarılı olduğu saptanmıştır. Bu veriler dikkate alındığında, hastalıkla entegre mücadelede antagonistlerin tohum uygulaması olarak biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılmasının daha etkili olacağı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, tohum uygulamalarında elde edilen bulgular bu hastalığın entegre mücadelesinde antagonistlerin de gerekliliğini ortaya koymuştur.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Karpuzun en önemli bakteriyel hastalıklarından biri olan bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesi hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli*'nin tanısı, izolatlar arası genetik akrabalığı ve antagonistlerin biyolojik mücadelesinde antagonistleri rolünün araştırıldığı çalışmada elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

1. Karpuzda bakteriyel meyve lekesi hastalığına neden olan *Acidovorax citrulli* izolatlarını elde etmek amacıyla Adana, Mersin ve Osmaniye illerindeki karpuz üretim alanı ve fideliklerden alınan şüpheli bitki ve meyve örnekleri ile laboratuvarımıza getirilen şüpheli örneklerden 108 adet *Acidovorax citrulli* izolatı izole edilmiştir. İzolatların patojenite, morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre tanıları yapılmıştır. Ayrıca, DAS-ELISA, türe spesifik PCR ve Taqman Real-Time PCR ile klasik tanıları desteklenmiştir. Seçilen 18 adet izolat DAS-ELISA testinde 405 nm'de 3.26-3.37 absorbans değerlerinde ölçülmüştür. Türe spesifik PCR testinde 108 adet *Acidovorax citrulli* izolatı 360 bp büyüklüğünde bant oluşturmuş ve *Acidovorax citrulli* oldukları teyit edilmiştir. Taqman Real-Time PCR testiyle testlenen 76 adet izolattan 55 adedi 13.28-18.56 Ct değerleri arasında DNA fragmentleri oluşturmuştur. Bu izolatlar Taqman Real-Time PCR testine göre *Acidovorax citrulli* olarak değerlendirilmiştir. 21 adet izolat ise 30'un üzerinde Ct değeri oluşturduğundan negatif olarak değerlendirilmiştir. 21 adet izolat Türkiye'de yapılan testlerde *Acidovorax citrulli* olarak tanılanmış, ancak eğik agarda Hollanda'ya götürülmeleri esnasında bulaşmış ve bu nedenle Taqman Real-Time PCR testinde negatif sonuç vermişlerdir.
2. *Acidovorax citrulli* ve Acidovorax genusu içerisinde yer alan 16 farklı ülkeden (Almanya, Amerika, Avustralya, Belçika, Brezilya, Çin, Danimarka, Fransa, Hollanda, Honduras, İsrail, Kosta Rika, Meksika, Peru, Tayland ve Türkiye) izole edilen 222 adet izolatın genotipik akrabalık durumlarının belirlenmesi amacıyla AFLP-PCR testi kullanılarak poliakrilamid jelde farklı bantların oluşturduğu polimorfizm ile elde edilen küme analizi sonucu 222

adet izolat iki ana gruba ayrılmıştır. Dendogramda birinci ana grupta *Acidovorax* genusu içerisinde yer almayan Türkiye'den 21 adet izolat yer almıştır. Dendograma göre *Acidovorax* genusu içerisinde yer alan türler ikinci ana grupta yer almıştır. İkinci ana grup kendi içerisinde üç alt gruba ayrılmıştır. Birinci alt grupta *Acidovorax citrulli* dışındaki *Acidovorax* genusu içerisinde yer alan 33 adet izolat yer almıştır. İkinci ana grupta yer alan *Acidovorax citrulli* izolatları iki gruba ayrılmıştır. Birinci gruptaki 62 izolatın 4 adedi Türkiye'den izole edilmiştir. İkinci grupta bulunan 106 adet izolatın 51 adedi Türkiye'den elde edilmiştir. Ülkemizden ve farklı ülkelerden elde edilmiş *Acidovorax citrulli* izolatlarının iki gruba ayrılmış olduğu bu tez çalışmasında kanıtlanmıştır. Dünyada ve ülkemizde iki farklı inokulum kaynağının bulunduğu, her iki grupta karpuzdan ve diğer kabakgil türlerinden elde edilmiş *Acidovorax citrulli* izolatlarının yer aldığı saptanmıştır. İki inokulum kaynağında da ülkemizden elde edilen izolatlar yer almıştır. Birinci inokulum kaynağında Antalya'dan üç izolat ve Adana'dan bir izolat yer almıştır. Bu izolatlar ABD'nin çeşitli eyaletleri ve Hollanda'da izole edilmiş izolatlarla yakın akrabalık göstermiş ve Avustralya, Brezilya, Çin, Honduras, İsrail, Meksika ve Peru'dan izolatlarla aynı inokulum kaynağında yer almışlardır. İkinci grupta yer alan Türkiye'den izole edilmiş 51 adet izolat ABD'nin çeşitli eyaletleri, Avustralya, Çin, İsrail, Kosta Rika, Meksika ve Tayland'dan izole edilmiş izolatlarla yakın akrabalık göstermiştir. Bu doktora tezinde hastalığın bu kadar alana ancak tohum ticaretiyle taşınmış olabileceği kanaatine varılmıştır.

3. Karpuz bakteriyel fide yanıklığı ve meyve lekesi ile biyolojik mücadelede antagonistlerin etkisinin araştırıldığı bölümde aday antagonist elde etmek amacıyla Adana, Osmaniye ve Hatay ilinde 37 farklı tarladaki ziyaretlerde 31 tarladan yaprak, 23 tarladan çiçek ve 37 tarladan toprak örneği alınmıştır. Alınan örneklerden 322 adet aday antagonist elde edilmiştir. Bu antagonistlerden 54 adedi *in vitro* petri denemelerinde inhibisyon zonu oluşturarak patojen gelişimini engellemiştir. Bunlar içerisinden seçilen 14 adet antagonist tohum uygulaması olarak hastalık çıkışını % 10-94, hastalık

şiddetini de % 10-96 oranında baskılamıştır. Cam sera denemelerinde üç antagonist (Antg-12, Antg-101 ve Antg-97) hastalık gelişimini engellemiş ve başarılı uygulamalar olarak değerlendirilmiştir. Tarla denemelerinde antagonistler ve kombinasyonları hastalık gelişimini % 7-44 oranında baskılamıştır. Yaprağa antagonist bakteri uygulamalarının üç hafta boyunca hastalık gelişimini azalttığı, üçüncü haftadan sonra antagonistlerin etkinliğinin azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca yeşil aksama antagonist uygulamalarının hastalık oluşumunu engelleme ya da azaltmada beklenen başarıyı gösteremediği de saptanmıştır. Yapılan bu doktora çalışmasında tohuma antagonist uygulamanın yaprağa antagonist püskürtmeye göre daha etkili ve başarılı olduğu saptanmıştır. Bu veriler daha sonra yapılacak biyolojik mücadele çalışmalarında antagonist bakterinin tohuma uygulanarak hastalıkla mücadele çalışmalarına ışık tutacaktır. Ayrıca bu hastalığın entegre mücadelesi kapsamında antagonistlerin de kullanılması gerektiği bu çalışmayla da ortaya konmuştur. Gelecekte bu antagonistler farklı fideliklerde veya tarlada denenerek ticarileştirilmesi ülkemiz açısından ve hastalığın entegre mücadelesi açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

ALVES, A.O., XAVIER, A.S., VIANA, I.O., MARIANO, R.L.R. and SILVEIRA, E.B. 2010. Colonization dynamics of *Acidovorax citrulli* in melon. Tropical Plant Pathology, 35(6):368-372.

AMADI, J.E., ADEBOLA, M.O. and EZE, C.S. 2009. Isolation and identification of bacterial blotch organism from watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai). African Journal of Agricultural Research, 4(11):1291-1294.

ANONYMOUS, 2011. FAO'nun 2011 verileri. www.fao.org

ANONYMOUS, 2012. Karpuz tarımı. www.bahce.biz/bitki/meyve/karpuz.htm. Erişim Tarihi: 10 Şubat 2012.

ANONYMOUS, 2014a. FAO'nun 2012 verileri. www.fao.org. Erişim Tarihi: 10 Ekim 2014.

ANONYMOUS, 2014b. Türkiye İstatistik Kurumu (TUIK) 2013 verileri. www.tuik.gov.tr. Erişim Tarihi: 10 Kasım 2014

ANONYMOUS, 2014c. Eradication of *Acidovorax citrulli* from Emilia-Romagna. http://archives.eppo.int/EPPOReporting/2012/Rse-1205.pdf. Erişim tarihi: 10.09.2014

ARAUJO, D.V., MARIANO, R.L.R. and MICHEREFF, S.J. 2005. Metodos de inoculaçao de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* em melao. Summa Phytopathologica, 31:66-70.

ASSIS, S.M.P., MARIANO, R.L.R., SILVA-HANLIN, D.M.W. and DUART, V. 1999. Bacterial fruit blotch caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in melon in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. Fitopatologia Brasilia, 191.

ASSOULINE, I., MILSHTEIN, H., MIZRAHI, M., LEVY, E. and BENZEEV, I.S. 1997. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* transmitted by solanaceous seeds. Phytoparasitica, 25, 117-118.

AYSAN, Y., HORUZ, S., CETINKAYA YILDIZ, R., MİRİK, M. ve SAYGILI, H. 2011. Karpuz üretim alanlarında *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*'nin yayılmasında tohum kökenli bulaşmaların önemi. Türkiye IV. Tohumculuk Kongresi, 14-17 Haziran 2011, Samsun, sayfa: 292-293.

BABADOOST**,** M. and PATAKY, N. 2002. First report of bacterial fruit blotch of watermelon caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Illinois. Plant Disease, 86(4):443.

BAHAR, O. and BURDMAN, S. 2010. Bacterial fruit blotch: a threat to the cucurbit industry. Israel Journal of Plant Sciences, 58(1):19-31.

BAHAR, O., KRITZMAN, G. and BURDMAN, S. 2009. Bacterial fruit blotch of melon: screens for disease tolerance and role of seed transmission in pathogenicity. European Journal of Plant Pathology, 123(1):71-83.

BASIM, E. ve BASIM, H. 2014. *Acidovorax citrulli* strainlerine karşı gül (*Rosa damascena* L.) yağının antibakteriyel aktivitesi ve tohum koruyucu olarak kullanımı. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, 3-5 Şubat 2014, Antalya, sayfa:224.

BASIM, E. 2012. Determination of fungal and bacterial pathogens greenhouse cucurbit crops in the province of Antalya in Turkey. Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae. 15-18 Ekim 2012, Antalya, pages:755-758.

BLACK, M.C., ISAKEIT, T., BARNES, L.W., KUCHAREK, T.A., HOOVER, R.J. and HODGE, N.C. 1994. First report of bacterial fruit blotch of watermelon in Texas. Plant Disease, 78:831.

BLOCK, C.C. and SHEPHERD, L.M. 2008. Long-term survival and seed transmission of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in melon and watermelon seed. Plant Health Progress, DOI:10.1094/PHP-2008-1219-01-BR.

BORA, T. ve ÖZAKTAN, H. 1998. Bitki hastalıkları ile biyolojik savaş. Prizma Matbaası, İzmir. P:205.

BURDMAN, S., KOTS, N., and KRIZTMAN, G., 2004. Characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* Strains Isolated from Watermelon and Melon Fields in Israel. Phytopathology, 94(6):12 Supplement.

BURDMAN, S., KOTS, N., KRITZMAN, G. and KOPELOWITZ, J. 2005. Molecular, physiological and host-range characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* isolates from watermelon and melon in Israel. Plant Disease, 89:1339-1347.

BURKILL, H.M. 1985. The useful plants of West Tropical Africa. Vol. 1. 2nd Edition. Royal Botanic Gardens, Kew.

CONCEICAO, C.S., FELIX, K.C.S., MARIANO, R.L.R., MEDEIROS, E.V. and SOUZA, E.B. 2014. Combined effect of yeast and silicon on the control of bacterial furit blotch in melon. Scientia Horticulturae, 174:164-170.

CRALL, J.M and SCHENCK, N.C. 1969. Bacterial fruit rot of watermelon in Florida. Plant Disease Reporter, 53(1):74-75.

ÇETİNKAYA-YILDIZ, R. 2007. Domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (smith) davis et.al.)'nin tanılanması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora tezi, sayfa:173.

ÇETİNKAYA-YILDIZ, R. ve KARATAŞ, A. 2014. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde karpuzda bakteriyel meyve lekesi hastalığının epidemiyolojisi. V. Bitki Koruma Kongresi, 3-5 Şubat 2014, Antalya. Sayfa:198.

DANE, F. and LIU, J. 2007. Diversity and origin of cultivated and citron type watermelon (*Citrullus lanatus*). Genetic Resources and Crop Evolution, 54(6):1255-1265.

DE OLIVEIRA, J.R. and MOURA, A.B. 1994. Diseases caused by bacteria on Cucurbitaceae. Informe Agropecuario Belo Horizonte, 17:54-57.

DEMIR, G., 1996. A new bacterial disease of watermelon in Turkiye: Bacterial fruit blotch of watermelon (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad et. al.) Williams et al.). Journal of Turkish Phytopathology, 25(2):43-49.

DENG, W.L., HUANG, T.C. and TSAI, Y.C. 2010. First report of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* as the causal agent of bacterial leaf blight of betelvine in Taiwan. Plant Disease, 94(8):1065.

diseases. In Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants 58-59.

DROBY, S., CHALUTZ, E., COHEN, L ., WEISS, B. and WILSON, C.L. 1990. Biological control of postharvest diseases of citrus fruits. In: Biological Control of Postharvest Diseases of Fruit and Vegetables Workshop Proceedings, Shepherdstown, West Winginia, September 12-14, 60-70.

DUTTA, B., VERNAIZ, M.A.C., CASTRO-SPARKS, A.C., SCHERM, H. and WALCOTT, R.R. 2012a. Location of *Acidovorax citrulli* in watermelon seeds affects efficiency of pathogen detection by seed health testing. Seed Science and Technology, 40:309-319.

DUTTA, B., SCHERM, H. GITAITIS, R.D. and WALCOTT, R.R. 2012b. *Acidovorax citrulli* seed inoculum load affects seedling transmission and spread of bacterial fruit blotch of watermelon under greenhouse conditions. Plant Disease, 96:705-711.

DUTTA, B., AVCI, U., HAHN, M.G. and WALCOTT, R.R. 2012c. Location of *Acidovorax citrulli* in ifested watermelon seeds is inluenced by the pathway of bacterial invasion. Phytopathology, 102:461-468.

ERFEN, S. 2011. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli'*nin farklı populasyonunun kültürde gelişimi ve karpuz fidelerinde aranmasında uygun besi yerlerinin araştırılması**.** Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Sayfa 47.

ERFEN, S., HORUZ, S. ve AYSAN, Y. 2014. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*'nin farklı populasyonunun kültürde gelişimi ve karpuz fidelerinde aranmasında uygun besi yerlerinin araştırılması. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, 3-5 Şubat 2014, Antalya, Sayfa:213.

EVANS, T.A. and MULROONEY, R.P. 1991. First report of watermelon fruit blotch in Delaware. Plant Disease, 75:1074.

FAO, 2012. Food and agricultural commodities production. http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx. (Erişim Tarihi: 10 Ekim 2014).

FARİMAZ, A., HORUZ, S. ve AYSAN Y. 2014. Çeşitli bitki aktivatörleri ve ticari gübrelerin karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığına etkisi. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 5(1):31-38.

FENG, J.J., CHEN, K.J., KIM, J.Y., XU, Y., ZHOU, X.Y. and LI, J.Q. 2007. Effect of seed priming on seedling growth and disinfection to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in triploid watermelon seeds. Acta Phtyopathologica Sinica 37(5):528-534.

FENG, J., SCHUENZEL, E.L., LI, J. and SCHAAD, N.W. 2009. Multilocus sequence typing reveals two evolutionary lineages of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Phytopathology, 99:913-920.

FENG, J.J., LI, J.O., RANDHAWA, P., BONDE, M. and SCHAAD, N.W. 2009. Evaluation of seed treatments for the eradication of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* from melon and watermelon seeds. Canadian Journal of Plant Pathology 31(2):180-185.

FENG, J.J., LI, J.O., WALCOTT, R.R., ZHANG, G.M., LUO, L.X., KANG, L., ZHENG, Y. and SCHAAD, N.W. 2013. Advances in detection of *Acidovorax citrulli*, the causal agent of bacterial fruit blotch of cucurbits. Seed Science and Technology, 41:1-15.

FESSEHAIE, A. and WALCOTT, R.R. 2005. Biological control to protect watermelon blossoms and seed from infection by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Phytopathology, 95(4): 413-419.

FESSEHAIE, A., HOPKINS, D.L., GITAITIS, R.D. and WALCOTT, R.R. 2005. Role of honey bees in watermelon seed infestation by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Phytopathology, 95:29.

FRANKLE, W.G., HOPKINS, D.L. and STALL, R.E. 1993. Ingress of the watermelon fruit blotch bacterium into fruit. Plant Disease, 77:1090-1092.

GOTH, R.W. and WEBB, R.E. 1981. Resistance of commercial watermelon (Citrullus lanatus) to *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli*. Plant Disease, 65:671-672.

GUNER, N. and WEHNER., T.C. 2004. The genes of watermelon. HortScience, 39 (6):1175-1182.

HAMM, P.B. and SPINK, D.S. 1997. First report of bacterial fruit blotch of watermelon in Oregon. Plant Disease, 81:113.

HARIGHI, B. 2007. Bacterial leaf spot of Christ's Thorn, a new disease caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Iran. Journal of Plant Pathology 89(2):283-285.

HOLEVA, M.C., KARAFLA, C.D., GLYNOS, P.E. and ALIVIZATOS, A.S. 2009. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* newly reported to cause bacterial fruit blotch of watermelon in Greece. Plant Pathology, 59:797.

HOPKINS, D.L. 1989. Bacterial fruit blotch of watermelon: A new disease in the Eastern USA. 74-7 In: Proc. Cucurbitaceae'89: Evaluation and Enhancement of Cucurbit Germplasm. C.E. Thomas, Ed. U.S. Vegetable Laboratory, Charleston, SC.

HOPKINS, D.L. 1991. Control of bacterial fruit blotch of watermelon with cupric hydroxide. Phytopathology, 81:1228.

HOPKINS, D.L., THOMPSON, C.M. and ELMSTROM, G.W. 1993. Resistance of watermelon seedlings and fruit to the fruit blotch bacterium. Hortscience, 28:122-123.

HOPKINS, D.L. 1994. Spread of bacterial fruit blotch of watermelon in greenhouse. Phytopathology, 84:775.

HOPKINS, D.L. 1995. Copper-containing fungicides reduce the spread of bacterial fruit blotch of watermelon in the greenhouse. Phytopathology, 85:510.

HOPKINS, D.L., CUCUZZA, J.D. and WATTERSON, J. 1996. Wet seed treatments for the control of bacterial fruit blotch of watermelon. Plant Disease, 80:529-532.

HOPKINS, D.L. and THOMPSON, C.M. 2002a. Evaluation of *Citrullus* sp. germ plasm for resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Plant Disease, 86:61-64.

HOPKINS, D.L. and THOMPSON, C.M. 2002b. Seed transmission of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in cucurbits. HortScience, 37(6):924-926.

HOPKINS, D.L., THOMPSON, C.M., HILGREN J. and LOVIC, B. 2003. Wet seed treatment with peroxyacetic acid for the control of bacterial fruit blotch and other seedborne diseases of watermelon. Plant Disease, 87(12):1495-1499.

HOPKINS, D.L. and THOMPSON, C.M. 2006. Treatments to prevent seed transmission of bacterial fruit blotch of watermelon. Cucurbitaceae 2006, Asheville, North Carolina, USA, 17-21 September 2006 pp. 436-443.

HORUZ, S. ve AYSAN, Y. 2011. Karpuz bakteriyel meyve lekesi hastalığı etmeni *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*'nin tohumla taşınma oranının belirlenmesi. Türkiye IV. Tohumculuk Kongresi, 14-17 Haziran 2011, Samsun, s: 308-312.

HORUZ, S., ÇETİNKAYA YILDIZ, R., MİRİK, M. ve AYSAN, Y. 2011. Çukurova Bölgesi'nde *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*'nin Yeni Bir Konukçusu: Kavun (*Cucumis melo*). Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi, Kahramanmaraş, S:332.

HORUZ, S. and AYSAN, Y. 2012. Outbreak of bacterial furit blotch disease on melon and watermelon in Çukurova Region, Turkey. Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae. 15-18 Ekim 2012, Antalya. Pages: 763-766.

HORUZ, S., CETINKAYA YILDIZ, R., MIRIK, M. and AYSAN, Y. 2014. Occurrence, isolation, and identification of *Acidovorax citrulli* from melon in Turkey. Plant Protection Science, 50:179-183.

HU, F.P., YOUNG, J.M. and TRIGGS, C.M. 1991. Numerical analysis and determinative tests for non-fluorescent plant-pathogenic *Pseudomonas* spp. and genomic analysis and reclassification of species related to *Pseudomonas avenae* Manns 1909. International Journal of Systematic Bacteriology, 41:516–525.

ISAKEIT, T., BLACK, M.C., BARNES, L.W. and JONES, J.B. 1997. First report of infection of honeydew with *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Plant Disease, 81:694.

ISAKEIT, T., BLACK, M.C. and JONES, J.B. 1998. Natural infection of citronmelon with *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Plant Disease, 82:351.

JACOBS, J.L., DAMICONE, J.P. and MCCRAW, B.D. 1992. First report of bacterial fruit blotch of watermelon in Oklahoma. Plant Disease, 76:1185.

JARRET, R.L., MERRICK, L.C., HOLMS, T., EVANS, J. and ARADHYA, M.K. 1997. Simple sequence repeats in watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai). Genome, 40(4):433-441.

JARRET, R.L. and NEWMAN, M. 2000. Phylogenetic relationships among species of *Citrullus* and the placement of *C. rehmii* De Winter as determined by Internal Transcribed Spacer (ITS) Sequence heterogeneity. Genetic Resources and Crop Evolution, 47(2):215-222.

JEFFREY, C. 1975. Further notes on *Cucurbitaceae*: III. Some African taxa. Kew Bu. 30:475-493.

JOHNSON, K.L., MINSAVAGE, G.V., LE, T., JONES, J.B. and WALCOTT, R.R. 2011. Efficacy of a nonpathogenic *Acidovorax citrulli* strain as a biocontrol seed treatment for bacterial furit blotch of cucurbits. Plant Disease, 95:697-704.

JOHNSON, K.L. and WALCOTT, R.R. 2013. Quorum sensing contributes to seed-to seedling transmission of *Acidovorax citrulli* on watermelon. Journal of Phytopathology, 161 (7):562-573.

KEINATH, A.P. and MILLER, G.A. 2012. Watermelon spray guide for 2012. http://www.clemson.edu/psapublishing/Pages/Plntpath/IL86.pdf. Erişim Tarihi: 21 Şubat 2012.

KRISHNAMURTHY, K. and GNANAMANICHKAM, S.S. 1998. Biological control of rice blast by *Pseudomonas flourescens* strain Pf-14:Evaluation of a marker gene and formulations. Biological Control, 13:158-165.

KUMAGAI, L.B., WOODS, P.W., WALCOTT, R.R. and MOUA, X. 2014. First report of bacterial fruit blotch on melon caused by *Acidovorax citrulli* in California. Plant Disease: 98(10):1423.

KÜSEK, M. 2007. Asmada (*vitis vinifera* l.) ura neden olan *Agrobacterium vitis*'in tanılanması ve mücadele olanaklarının araştırılması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora tezi, sayfa:119.

LANGSTON, D.B., WALCOTT, R.R., GITAITIS R.D. and SANDERS, F.H. 1999. First report of a fruit rot of pumpkin caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Georgia. Plant Disease, 83(2):199.

LATIN, R.X. and RANE, K.K. 1990. Bacterial fruit blotch of watermelon in Indiana. Plant Disease, 74:331.

LATIN, R.X. and HOPKINS, D.L. 1995. Bacterial fruit blotch of watermelon. The hypothetical exam question becomes reality. Plant Disease, 83:100.

LATIN, R.X., TIKHONOVA, I. and RANE, K.K 1995. Factors affecting the survival and spread of *Acidivorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon transplant production facilities. Phytopathology, 85:1413-1417.

LATIN, R.X. 1996. Bacterial fruit blotch. In: Compendium of cucurbit diseases (Zitter, T.A., D.L. Hopkins and C.E. Thomas (Eds), pp 34-35. APS Press, St Paul, USA.

LELLIOT, R.A. and STEAD, D.E. 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England. 216 pp.

LESSL, J.T., FESSEHAIE, A. and WALCOTT, R.R. 2007. Colonization of female watermelon blossoms by *Acidivorax avenae* subsp. *citrulli* and the relationship between blossom inoculum dosage and seed infestation. Journal of Phytopathology, 155:114-121.

LEVI, A., THOMAS, C.E., SIMMONS, A.M. and THIES, J.A. 2005. Analysis based on RAPD and ISSR markers reveals closer similarities among *Citrullus* and *Cucumis* species than with *Praecitrullus fistulosus* (Stocks) Pangalo. Genetic Resources and Crop Evolution, 52:465-472.

LOVIC, B.R. and HOPKINS, D.L. 2003. Production steps to reduce seed contamination by pathogens of cucurbits. Horttechnology, 13, 50-54.

MARTIN, H.L., O'BRIEN, R.G. and ABBOTT, D.V. 1999. First report of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* as a pathogen of cucumber. Plant Disease, 83:965.

MARTIN, H.L. and HORLOCK, C.M. 2002. First report of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* as a pathogen of gramma in Australia. Plant Disease, 88(12):1406.

MARTYN, R.D. 1996. Fusarium wilt of watermelon. In: Compendium of cucurbit diseases (Edit. Zitter TA., Hopkins, DL., Thomas, CE). The American Phytopathological Society. p 14.

MCCREIGHT, J.D. 1996. Cultivated types and taxonomy, watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum.& Nakai). p: 5. Compendium of Cucurbit Diseases (Edit. Zitter Thomas A., Hopkins, Donald L., Thomas, Claude E.). The American Phytopathological Society.

MEDEIROS, F.H.V., MORAES, I.S.F., DA SILVA NETO, E.B., SILVEIRA, E.B. and DE LIMA R. MARIANO, R. 2009. Management of melon bacterial blotch by plant beneficial bacteria. Phytoparasitica, 37:453-460.

MELO, L.A., TEBALDI, N.D., MEHTA, A. and MARQUES, A.S.A. 2014. Comparing *Acidovorax citrulli* strains from melon and watermelon: Phenotypic characteristics, pathogenicity and genetic diversity. Tropical Plant Pathology, 39(2):154-162.

MENGULLUOGLU, M. and SOYLU, S. 2012. Antibacterial activities of essential oils extracted from medicinal plants against seed-borne bacterial disease agent, *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli.* Research on Crops 13(2):641-646.

MIRIK, M., AYSAN, Y. and SAHIN, F. 2006. Occurrence of bacterial fruit blotch of watermelon caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. Plant Disease, 90(6):829.

MİRİK, M. 2005. Biberde bakteriyel leke etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın tanılanması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler ile biyolojik mücadele olanakları. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, sayfa:162.

MİRİK, M. ve AYSAN, Y. 2008. Karpuz Bakteriyel Meyve Leke Hastalığı, Bacterial Fruit Blotch of Watermelon, *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli.* In: Bitki Bakteri Hastalıkları (Editörler: H. Saygılı, F. Şahin ve Y. Aysan), Meta Basım, İzmir, Sayfa: 31-33.

MULLIN, R.S. and SCHENCK, N.C. 1963. Bacterial leaf spot on watermelon. Plant Disease Reporter, 47:848.

MUNOZ, M. and MONTERROSO, D. 2002. Identification of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Watermelon Seeds in Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia (Costa Rica), 66:101-104.

NASCIMENTO, A.R.P., MARIANO, R.L.R. and SILVA, E.I. 2004. Alternative hosts of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli.* Horticultura Brasileira, 22:511-515.

NAUTIYAL, C.S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microbiology Letters, 170:265-270.

NEJAT, N., SIJAM, K., ABDULLAH, S.N.A., VADAMALAI, G. and DICKINSON, M. 2009. Molecular characterization of a phytoplasma associated with Coconut Yellow Decline (CYD) in Malaysia. American Journal of Applied Sciences, 6:1331-1340.

NOMURA, T. and SHIRAKAWA, T. 2001. Efficacy of hot water and bactericide treatments of watermelon seeds infected by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Proceedings of the Kansai Plant Protection Society, 43:1-6.

O'BRIEN, R.G. and MARTIN, H.L. 1999. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp *citrulli*. Australian Journal of Experimental Agriculture, 39:479-485.

ODA, M. 1995. New grafting methods for fruit bearing vegetables in Japan. JARQ 29: 187-198.

OLIVEIRA, A. DE., SANTOS, M.H.M. DOS., SILVEIRA, E.B. DA., GOMES, A.M.A. and MARIANO, R. DE. L.R. 2006. Biological control of bacterial blotch of melon by seed treatment with epiphytic and endophytic bacteria. Horticultura Brasileira, 24(3), 373-377.

PALKOVICS, L., PETROCZY, M., KERTESZ, B., NÉMETH, J., BÁRSONY, C.S., MIKE, Z.S. and HEVESI, M. 2008. First report of bacterial fruit blotch of watermelon caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Hungary. Plant Disease, 92(5):834-835.

RANDHAWA, P.S., PANNU S.S. and SCHAAD N.W. 2001. Improved Bio-PCR test for detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon and cantaloupe seeds. APS/Msa/Son Joint Meeting, August, 25-29.

RANE, K.K. and LATIN, R.X. 1992. Bacterial fruit blotch of watermelon-association of the pathogen with seed. Plant Disease, 76:509-512.

REN, Y.Z., LI, H., LI, G.Y., WANG, X.D., WAN, G. and FANG, L. 2004. Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in melon seed using the polymerase chain reaction. Xinjiang Agricultural Sciences, 41(5):329-332.

REN, Y.Z., LI, H., LI, G.Y. and WANG, Q.Y. 2006. First report of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* infecting edible seed watermelon (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*) in China. Plant Disease, 90:1112.

ROBINSON, R.W. and DECKER-WALTERS, D.S. 1997. Cucurbits. CAB International, New York, NY, USA

RUNQIU, L., HONGMEI, Z., JINGHUA, X., DANFENG, H. and FANGJIE, Y. 2003. Effects of rootstocks on growth and fruit quality of grafted watermelon. Journal of Shanghai Jiaotong University-Agricultural Science, 21(4):289-294.

SANTOS, E.R., GOUVEIA, E.R., MARIANO, R.L.R. and SOUTO-MAIOR, A.M. 2006. Bicontrol of bacterial fruit blotch of melon by bioactive compounds produced by *Bacillus* spp. Summa Phytopathologica, 32(4):376-378.

SCHAAD, N.W., SOWELL, G., GOTH, R.W., COLWELL, R.R. and WEBB, R.E. 1978. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* subsp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology, 28:117-125.

SCHAAD, N.W., JONES, J.B. and LACY, G.H. 2001. Gram negative bacteria, *Acidovorax*. In: Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria (Third Edition) Edts:Schaad, N. W., Jones, J.B., and Chun, W. APS Press. St. Paul, Minnesota. P:121-125.

SCHAAD, N.W., POSTNIKOVA, E., SECHLER, A., CLAFLIN, L.E., VIDAVER, A.K., JONES, J.B., AGARKOVA, I., IGNATOV, A., DICKSTEIN, E. and RAMUNDO, B.A. 2009. Reclassification of subspecies of *Acidovorax avenae* as *A. avenae* (Manns 1905) emend., *A. cattleyae* (Pavarino, 1911) comb. nov., *A. citrulli* Schaad et al., 1978) comb. nov., and proposal of *A. oryzae* sp. nov. Systematic Applied Microbiology, 31:434-446.

SELÇUK, H. 2014. *Acidovorax citrulli*'nin karpuzun tohum, fide, meyvesinden izolasyonu ve farklı tohum uygulamalarının bakteriyel fide yanıklığı hastalığının çıkışı üzerine etkisi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 126 sayfa.

SEO, S.T., PARK, J.H., LEE, J.S., HAN, K.S. and CHEONG, S.R. 2006. Bacterial fruit blotch of melon caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli.* Research in Plant Disease, 12(3):185-188.

SOLMAZ, İ. 2010. Bazı karpuz genotiplerinin SSR ve SRAP markörleri ile karakterizasyonu ve fusarium solgunluğu (Fusarium oxysporum f.sp. niveum)'na dayanımlarının klasik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, 138 Sayfa.

SOMODI, G.C., JONES, J.B., HOPKINS, D.L., STALL, R.E., KUCHAREK, T.A., HODGE, N.C. and WATTERSON, J.C. 1991. Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida. Plant Disease, 1053-1056.

SOWELL, G. and SCHAAD, N.W. 1979. Pseudomonas pseudoalcaligenes subsp. citrulli on watermelon-Seed transmission and resistance of plant itroductions. Plant Disease Reporter, 63:437-441.

SOWELL, G. 1981. A bacterial disease causing severe damage to susceptible plant introductions of muskmelon. Plant Disease, 65:609-610.

TAKASHI, S., SHIGEMIKATO, K., ABIKO, T. and AKIRA, K. 2000. Occurrence of watermelon bacterial fruit blotch in Japan. Annuals of the Phytopathological Society of Japan, 66(3):223-231.

TIAN, Y.L., ZHAO, Y.Q., HU, B.S. and LIU, F.Q. 2013. First report of seedling blight of watermelon caused by *Acidovorax citrulli* transmitted from rootstock of pumpkin in China. Plant Disease, 97(3):420.

TUIK, 2013. Bitkisel üretim istatistikleri. http://www.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul. Erişim Tarihi: 10 Ekim 2014.

TZENG, K.C. and HSU, S.T. 2007. Bacterial diseases of cucurbits in Taiwan. Symposium of International Workshop on the Cucurbit Diseases and Resistance Breeding, 43-48.

VOCK, N.T. 1978. A handbook of plant diseases in colour, 2nd edition. Vol.1, Brisbane: Government Printer, Queensland, Australia.

WALCOTT, R.R. and GITAITIS R.D. 2000. Detection of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in watermelon seed using immunomagnetic separation and the polymerase chain reaction. Plant Disease, 84(4):470-474.

WALCOTT, R.R. LANGSTON, D.B., SANDERS F.H. and GITAITIS R.D. 2000. Investigating intraspesific variation of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* using DNA fingerprinting and whole cell fatty acid analysis. Phytopathology, 90(2):191-196.

WALCOTT, R.R., LANGSTON, D.B., SANDERS, F.H. and GITAITIS, R.D. 2000. Natural outbreak of a bacterial fruit rot of cantaloupe in Georgia caused by *Acidovorax avenae* subsp *citrulli.* Plant Disease, 84:372.

WALCOTT, R.R., GITAITIS, R.D. and CASTRO, A.C. 2003. Role of blossoms in watermelon seed infestation by *Acidovorax avenae* subsp *citrulli*. Phytopathology, 93:528-534.

WALCOTT, R.R., FESSEHAIE, A. and CASTRO, A.C. 2004. Differences in pathogenicity between two genetically distinct groups of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on cucurbit hosts. Journal of Phytopathology, 152: 277–285.

WALCOTT, R.R. 2005. Bacterial fruit blotch of cucurbits. http://www.apsnet.org/education/LessonsPlantPath/BacterialBlotch/Default.htm. Erişim Tarihi: 12 Haziran 2011.

WALCOTT, R.R. 2008. Integrated pest management of bacterial fruit blotch of cucurbits. In: Integrated management of diseases caused by fungi, phytoplasma and bacteria. (Editors: Ciancio, A. ve Mukerji, K.G.). Springer Book, p:188.

WALL, G.C. and SANTOS, V.M. 1988. A new bacterial disease of watermelon in the Mariana Islands. *Phytopathology,* 78, 1605.

WALL, G.C. 1989. Control of watermelon fruit blotch by seed heat treatment. Phytopathology, 79:1191.

WALL, G.C., SANTOS, V.M., CRUZ. F.J. and NELSON, D.A. 1990. Outbreak of watermelon fruit blotch in the Mariana Islands. Plant Disease, 74:80.

WANG, X., LI, G., JIANG, D. and HUAND, HUNG-J. 2009. Screening of plant epiphytic yeasts for biocontrol of bacterial fruit blotch (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) of hami melon. Biological Control, 50:164-171.

WEBB, R.E. and GOTH, R.W. 1965. A seedborne bacterium isolated from watermelon. Plant Disease Reporter, 49:818-821.

WEN, A., MANGRAVITA-NOVO, A. HOPKINS, D.L. and NORMAN, D.J. 2008. Genetic characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrull* using amplified fragment length polymorphism (AFLP). Phytopathology, 98:S169.

WHITAKER, T.W. and DAVIS, G.N. 1962. *Cucurbits*: Botany, cultivation and utilization. Leonard Hill, London.

WILLEMS, A., GOOR, M., THIELEMANS, S., GILLIS, M., KERSTERS, K. and DELEY, J.1992. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp*. avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp*. citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae,* and *Acidovorax konjaci.* International Journal of Systematic Bacteriology, 42:107-119.

XU, F.S., WANG, X., XIE, G.L., SU, T. and YU, S.H. 2008. Detection of *Acidovorax avenae* subsp*. citrulli* from seeds of watermelon by immunocapture PCR. Journal of Fruit Science, 25(2):215-218.

YAN, S., YANG, Y., WANG, T., ZHAO, T. and SCHAAD, N.W. 2013. Genetic diversity analysis of *Acidovorax citrulli* in China. European Journal of Plant Pathology, 136:171-181.

YETİŞİR, H. 2001. Karpuzda aşılı fide kullanımının bitki büyümesi, verim ve meyve kalitesi üzerine etkileri ile aşı yerinin histolojik açıdan incelenmesi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 179 sayfa.

ZAMIR, D., NAVOT, N. and RUDICH, J. 1984. Enzyme polymorphism in *Citrullus lanatus* and *C. colocynthis* in Israel and Sinai. Plant Systematic Evolution, 146:163-137.

ZHAO, T.C., SUN, F.Z., WANG, B.W. and HUI, W.G. 2001. Pathogen identification of Hami melon bacterial fruit blotch. Acta Phytopathologica Sinica, 31:357-364.

ZHAO, T.C., SUN, F.Z., WANG, J.R. and XIE, Y.J. 2003. Treatment of muskmelon seeds with fungicides for the control of *Acidovorax avenae* subsp *citrulli.* Plant Protection, 29(4):50-53.

ZHAO, L.H., WANG, X., XIE, G.L., XU, F.S. and XIE, G.X. 2006. Detection of the pathogen associated with bacterial fruit blotch of watermelon by immunocapture PCR. Journal of Agricultural Biotechnology, 14(6):946-951.

ZHAO, T., FENG, J., SECHLER, A., RANDHAWA, P., LI, J. and SCHAAD, N.W. 2009. An ımproved assay for detection of *Acidovorax citrulli* in watermelon and melon seed. Seed Science and Technology, 37:337-349.

ZITTER, T.A. 1996. Compendium of cucurbit diseases. APS Press, St Paul, Minnesota. 87 pp.

ÖZGEÇMİŞ

17/08/1983 tarihinde Hatay'ın Arsuz İlçesi'nde doğdu. İlköğretim ve lise öğrenimini İskenderun'da tamamladı. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim Programı lisans eğitimine 2002 yılında başladı ve 2007 yılında mezun oldu. Aynı üniversitede 2007 yılında Bitki Koruma Bölümü'nde yüksek lisansa başladı ve 2009 yılında mezun oldu. 2009 yılında Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi'nde Araştırma görevlisi olarak göreve başladı. 2009 yılı Eylül ayında YÖK'ün 35. maddesi kapsamında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarında doktora eğitimine başladı. Aynı kurumda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

EKLER

EK 1: *Acidovorax citrulli* izolasyonu ve karakterizasyonu için kullanılan besi yerleri

King B Besi Yeri (Lelliot ve Stead, 1987)

Proteose Peptone	20.0 g
Gliserin	10.0 ml
K_2HPO_4	1.5 g
$MgSO_47H_2O$	1.5 g
Agar	15.0 g
Distile Su	1000 ml

pH 7.2'ye ayarlanmış ve 121 ºC'de 20 dakika otoklav edilmiştir.

P-278 Besi Yeri (Randhawa ve ark., 2001)

$MgSO_4.7H_2O$	1.5 g
K_2HPO_4	1.5 g
Gliserin	15 ml
Proteose peptone	20 g
Brothymol blue	1.5 ml (10 mg/ml distile su)
Methyl violet	100 µl (10 mg/ml distile su)
Agar	15 g
Distile Su	1000 ml

121 ºC'de 20 dakika otoklav işleminden sonra soğuk sterilize edilen aşağıdaki kimyasallar eklenmiştir.

Cycloheximide	1 ml (100 mg/ml % 70 ethanol)
Vancomycin	1 ml (1 mg/ml distile su)
Ampicillin-Na	1 ml (1 mg/ml % 70 ethanol)
Gentamycin	100 µl (10 mg/ml distile su)
5-flourosil	1 ml (10 mg/ml distile su)
Cefaclor	2 ml (10 mg/ml distile su)

EK 2: Modifiye Edilmiş Ethanol Bromcresol Purple Brilliant Blue (mEBB) Besi Yeri (Zhao ve ark., 2009)

$NH_4H_2PO_4$	2.6 g
K_2HPO_4	0.8 g
KH_2PO_4	0.3 g
KCI	0.2 g
$MgSO_4.7H_2O$	0.2 g
Yeast extract	0.3 g
Boric acid	0.5 g
bromcresol purple	0.6 ml(15 mg/ml distile su)
Brilliant blue R	1 ml (10 mg/ml distile su)
Agar	16 g
Distile Su	1000 ml
pH	5.3-5.5

121 ºC'de 20 dakika otoklav işleminden sonra soğuk sterilize edilen aşağıdaki kimyasallar eklenmiştir.

Ethanol	10 ml
Cycloheximide	2 ml (250 mg/ml % 70 ethanol)

Yeast Dekstroz Kalsiyum Karbonat (YDC) Agar (Lelliott ve Stead, 1987)

Yeast Extract	10.0 g
Dextrose (Glikoz)	20.0 g
Calcium Carbonate	20.0g
Agar	15.0g
Distile Su	1000ml

121 ºC'de 20 dakika otoklav edilmiştir.

Ek 3: Antagonist bakteri ve maya izolasyonunda kullanılan besi yerleri

NBRIP (National Botanical Research Institute' phosphate growth medium) Besi Yeri (Nautiyal, 1999)

Glikoz	20.0g
$Ca_3(PO_4)_2$	10.0g
$(NH_4)SO_4$	0.1g
$MgSO_4.7H_2O$	0.25g
KCl	0.2g
$MgCl_2.6H_2O$	5.0g
Brom phenole blue (BPB)	0.025g
Distile Su	1000ml

121 ºC'de 20 dakika otoklav edilmiştir.

Nutrient Yeast Dextroz Agar (NYDA) Besi Yeri (Droby ve ark., 1990)

Nutrient Broth	8 g
Yeast Extract	5 g
Dextrose	10 g
Agar	20 g
Distile Su	1000ml

121 ºC'de 20 dakika otoklav edilmiştir.

SNA Besi Yeri (Lelliot ve Stead, 1987)

Nutrient Agar	13.0g
Sukroz (Sakkaroz)	50.0g
Distile Su	1000ml

121 ºC'de 20 dakika otoklav edilmiştir.

EK 4: İstatistiki Analizler

Antagonistlerin Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığına Etkisi (1. Deneme)

Oct 23, 2013 2:43:52 pm
Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\IKL1.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	12335.807967	15	822.38719778	259.81642842	.0000 ***
Error	101.2884	32	3.1652625		
Total	12437.096367	47			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 3.1652625
Degrees of freedom = 32
Significance level = 5%
LSD .05 = 2.9589392867

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	Pozitif kontrol	71.41	3	a
2	antg 61	62.1	3	b
3	antg-189	53.513333333	3	c
4	antg-147	51.25	3	cd
5	antg-262	50.326666667	3	de
6	antg-97	48.966666667	3	de
7	antg-144	47.873333333	3	e
8	antg-101	42.15	3	f
9	antg-79	41.663333333	3	fg
10	antg-223	40.163333333	3	fg
11	antg-197	38.653333333	3	g
12	antg-57	33.993333333	3	h
13	antg-12	30.823333333	3	i
14	antg-273	29.99	3	i
15	antg-198	22.95	3	j
16	Negatif kontrol	0	3	k

Antagonistlerin Tohum Uygulaması Olarak Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığına Etkisi (2. Deneme)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Oct 23, 2013 3:06:37 pm
Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\IKL2.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	23708.2612	15	1580.5507467	858.95995906	.0000 ***
Error	58.8824	32	1.840075		
Total	23767.1436	47			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 1.840075
Degrees of freedom = 32
Significance level = 5%
LSD .05 = 2.2560511936

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	Pozitif k	77.22	3	a
2	antg-189	67.966666667	3	b
3	antg-61	64.026666667	3	c
4	antg-97	54.136666667	3	d
5	antg-144	52.976666667	3	de
6	antg-101	51.283333333	3	e
7	antg-223	44.713333333	3	f
8	antg-262	37.463333333	3	g
9	antg-147	22.086666667	3	h
10	antg-198	21.09	3	h
11	antg-79	20.816666667	3	h
12	antg-57	18.203333333	3	i
13	antg-273	17.023333333	3	i
14	antg-197	16.373333333	3	ij
15	antg-12	14.46	3	j
16	Negatif k	0	3	k

Antagonistlerin Cam Serada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (1. Deneme)

7. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 6:12:40 pm

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\CAM117.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	28585.709407	7	4083.6727725	71.994652894	.0000 ***
Error	4991.5263083	88	56.721889867		
Total	33577.235716	95			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 56.721889867

Degrees of freedom = 88

Significance level = 5%

LSD .05 = 6.1102775606

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	8 (TMM)	55.849166667	12	a
2	7 (Antg 189)	53.68	12	ab
3	6(Antg 57)	52.825833333	12	ab
4	2(pozitif k)	48.504166667	12	bc
5	5(Antg 97)	44.235	12	c
6	**4 (Antg 101)**	**35.181666667**	**12**	**d**
7	**3(Antg 12)**	**31.851666667**	**12**	**d**
8	1 (negatif k)	0	12	e

Antagonistlerin Cam Serada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (1. Deneme)

14. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 6:24:05 pm

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\CAM1114.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	29668.032257	7	4238.2903225	56.190565495	.0000 ***
Error	6637.5831083	88	75.427080777		
Total	36305.615366	95			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 75.427080777

Degrees of freedom = 88

Significance level = 5%

LSD .05 = 7.0461071356

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	8(TMM)	58.493333333	12	a
2	7 (Antg 189)	55.100833333	12	ab
3	6 (Antg 57)	53.198333333	12	ab
4	2(pozitif k)	50.515833333	12	b
5	**5(Antg 97)**	**42.9275**	**12**	**c**
6	**4 (Antg 101)**	**37.39**	**12**	**cd**
7	**3 (Antg 12)**	**35.226666667**	**12**	**d**
8	1 (negatif k)	0	12	e

Antagonistlerin Cam Serada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (1. Deneme)

21. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 6:35:17 pm

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\CAM1121.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	34066.398091	7	4866.6282987	55.998369281	.0000 ***
Error	7647.7814583	88	86.906607481		
Total	41714.179549	95			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 86.906607481

Degrees of freedom = 88

Significance level = 5%

LSD .05 = 7.5633115604

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	8 (Tri Miltox Max)	63.0325	12	a
2	7(Antg 189)	59.516666667	12	ab
3	6 (Antg 57)	56.860833333	12	ab
4	2 (pozitif kontrol)	53.655833333	12	b
5	**5(Antg 97)**	**45.746666667**	**12**	**c**
6	**4(Antg 101)**	**40.690833333**	**12**	**c**
7	**3(Antg 12)**	**38.3825**	**12**	**c**
8	1 (negatif kontrol)	0	12	d

Antagonistlerin Cam Serada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (1. Deneme)

28. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 10:16:19 pm

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\CAM128.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	34066.398091	7	4866.6282987	55.998369281	.0000 ***
Error	7647.7814583	88	86.906607481		
Total	41714.179549	95			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 86.906607481

Degrees of freedom = 88

Significance level = 5%

LSD .05 = 7.5633115604

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	8 (TMM)	63.0325	12	a
2	7 (Antg 189)	59.516666667	12	ab
3	6 (Antg 57)	56.860833333	12	ab
4	2 (pozitif kontrol)	53.655833333	12	b
5	**5 (Antg 97)**	**45.746666667**	**12**	**c**
6	**4 (Antg 101)**	**40.690833333**	**12**	**c**
7	**3 (Antg 12)**	**38.3825**	**12**	**c**
8	1 (negatif kontrol)	0	12	d

Antagonistlerin Cam Serada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (1. Deneme)

35. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 10:33:13 pm

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\CAM1135.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	36194.9463	7	5170.7066143	50.504959157	.0000 ***
Error	9009.4555	88	102.38017614		
Total	45204.4018	95			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 102.38017614

Degrees of freedom = 88

Significance level = 5%

LSD .05 = 8.2090618658

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	7 (Antg 189)	63.661666667	12	a
2	8 (Tri Miltox Max)	63.534166667	12	a
3	6 (Antg 57)	57.695	12	ab
4	2 (pozitif kontrol)	54.459166667	12	b
5	**5 (Antg 97)**	**45.953333333**	**12**	**c**
6	**4 (Antg 101)**	**40.910833333**	**12**	**c**
7	**3 (Antg 12)**	**39.105833333**	**12**	**c**
8	1(negatif kontrol)	0	12	d

Antagonistlerin Cam Serada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (2. Deneme)

7. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 9:55:51 am

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\CAM27.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	4454.3167515	10	445.43167515	10.694296483	.0000 ***
Error	916.32926667	22	41.651330303		
Total	5370.6460182	32			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 41.651330303

Degrees of freedom = 22

Significance level = 5%

LSD .05 = 10.928259035

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	2 (pozitif k)	47.503333333	3	a
2	7 (Antg 189)	39.553333333	3	ab
3	11 (TMM)	34.453333333	3	bc
4	5 (Antg 97)	32.18	3	bc
5	6(Antg 57)	30.246666667	3	bcd
6	8(Antg 197)	29.42	3	bcd
7	4 (Antg 101)	28.676666667	3	bcd
8	9(Antg 198)	24.843333333	3	cd
9	10(Antg 273)	24.54	3	cd
10	3(Antg 12)	18.073333333	3	d
11	1(negatif k)	0	3	e

Antagonistlerin Cam Serada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (2. Deneme)

14. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 10:06:58 am

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\CAM214.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	7988.2184545	10	798.82184545	6.4408864404	.0001 ***
Error	2728.5189333	22	124.02358788		
Total	10716.737388	32			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 124.02358788

Degrees of freedom = 22

Significance level = 5%

LSD .05 = 18.85769849

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	2 (pozitif k)	68.126666667	3	a
2	7(Antg 189)	42.433333333	3	b
3	5(Antg 97)	40.49	3	b
4	11(TMM)	36.603333333	3	b
5	8(Antg 197)	35.206666667	3	b
6	4 (Antg 101)	32.746666667	3	b
7	6 (Antg 57)	32.476666667	3	b
8	10 (Antg 273)	27.796666667	3	b
9	9(Antg 198)	27.25	3	b
10	3(Antg 12)	22.186666667	3	b
11	1(negatif k)	0	3	c

Antagonistlerin Cam Serada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (2. Deneme)

21. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 10:15:28 am

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\CAM221.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	8560.9384242	10	856.09384242	6.0784647044	.0002 ***
Error	3098.4904	22	140.84047273		
Total	11659.428824	32			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 140.84047273

Degrees of freedom = 22

Significance level = 5%

LSD .05 = 20.095567687

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	2 (pozitif k)	68.126666667	3	a
2	7(Antg 189)	45.406666667	3	b
3	11(TMM)	43.913333333	3	b
4	8(Antg 197)	43.18	3	b
5	5 (Antg 97)	41.44	3	b
6	6 (Antg 57)	36.84	3	b
7	4 (Antg 101)	33.626666667	3	b
8	10 (Antg 273)	27.796666667	3	b
9	9(Antg 198)	27.25	3	b
10	3(Antg 12)	23.963333333	3	b
11	1 (negatif k)	0	3	c

Antagonistlerin Cam Serada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (2. Deneme)

28. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 10:23:20 am

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\CAM228.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	20872.135085	10	2087.2135085	7.3717808634	.0001 ***
Error	6228.9829333	22	283.13558788		
Total	27101.118018	32			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 283.13558788

Degrees of freedom = 22

Significance level = 5%

LSD .05 = 28.492710947

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	2(pozitif k)	90	3	a
2	11(TMM)	90	3	a
3	7(Antg 189)	70.42	3	ab
4	6(Antg 57)	69.376666667	3	ab
5	5(Antg 97)	55.716666667	3	bc
6	3(Antg 12)	49.006666667	3	bc
7	8 (Antg 197)	43.18	3	bc
8	4 (Antg 101)	42.476666667	3	bc
9	10 (Antg 273)	40.723333333	3	bc
10	9(Antg 198)	31.61	3	c
11	1(negatif k)	0	3	d

Antagonistlerin Tarlada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (1. Deneme)

7. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 3, 2014 9:47:10 pm

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\TARLA113.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	8812.08955	8	1101.5111938	23.701492138	.0000 ***
Error	4600.9596167	99	46.474339562		
Total	13413.049167	107			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 46.474339562

Degrees of freedom = 99

Significance level = 5%

LSD .05 = 5.5223018784

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	2 (pozitif kontrol)	30.891666667	12	a
2	3 (Antg-12)	29.834166667	12	a
3	6 (Antg 12+57)	29.418333333	12	a
4	4 (Antg 57)	28.026666667	12	a
5	7 (Antg 12+101)	27.798333333	12	a
6	9 (Antg 12+57+101)	27.765	12	a
7	5(Antg 101)	27.489166667	12	a
8	8 (Antg 57+101)	26.261666667	12	a
9	1 (Negatif kontrol)	0	12	b

Antagonistlerin Tarlada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (1. Deneme)

14. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 3, 2014 9:47:10 pm

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\TARLA113.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	8812.08955	8	1101.5111938	23.701492138	.0000 ***
Error	4600.9596167	99	46.474339562		
Total	13413.049167	107			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 46.474339562

Degrees of freedom = 99

Significance level = 5%

LSD .05 = 5.5223018784

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	2 (pozitif kontrol)	30.891666667	12	a
2	3 (Antg-12)	29.834166667	12	a
3	6 (Antg 12+57)	29.418333333	12	a
4	4 (Antg 57)	28.026666667	12	a
5	7 (Antg 12+101)	27.798333333	12	a
6	9 (Antg 12+57+101)	27.765	12	a
7	5(Antg 101)	27.489166667	12	a
8	8 (Antg 57+101)	26.261666667	12	a
9	1 (Negatif kontrol)	0	12	b

Antagonistlerin Tarlada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (1. Deneme)

21. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 3, 2014 10:02:57 pm

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\TARLA213.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	19201.41005	8	2400.1762563	13.75964267	.0000 ***
Error	17269.158442	99	174.43594386		
Total	36470.568492	107			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 174.43594386

Degrees of freedom = 99

Significance level = 5%

LSD .05 = 10.698712574

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	6 (Antg 12+57)	49.376666667	12	a
2	2 (pozitif kontrol)	41.545	12	a
3	8 (Antg 57+101)	41.413333333	12	a
4	3(Antg 12)	40.8025	12	a
5	9 (Antg 12+57+101)	40.008333333	12	a
6	5 (Antg 101)	39.6325	12	a
7	7 (Antg 12+101)	39.351666667	12	a
8	4 (Antg 57)	38.5575	12	a
9	1(negatif kontrol)	0	12	b

Antagonistlerin Tarlada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (1. Deneme)

28. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 3, 2014 10:19:59 pm

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\TARLA413.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	25005.692152	8	3125.711519	18.201540123	.0000 ***
Error	17001.058058	99	171.72785918		
Total	42006.75021	107			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 171.72785918

Degrees of freedom = 99

Significance level = 5%

LSD .05 = 10.615339989

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	6 (Antg 12+57)	57.581666667	12	a
2	7 (Antg 12+101)	47.866666667	12	ab
3	3 (Antg 12)	46.495	12	ab
4	2 (pozitif kontrol)	45.6325	12	b
5	5 (Antg 101)	45.52	12	b
6	4 (Antg 57)	43.743333333	12	b
7	8 (Antg 57+101)	41.413333333	12	b
8	9 (Antg 12+57+101)	40.008333333	12	b
9	1(negatif kontrol)	0	12	c

Antagonistlerin Tarlada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (1. Deneme)

35. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 3, 2014 10:19:59 pm

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\TARLA413.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	25005.692152	8	3125.711519	18.201540123	.0000 ***
Error	17001.058058	99	171.72785918		
Total	42006.75021	107			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 171.72785918

Degrees of freedom = 99

Significance level = 5%

LSD .05 = 10.615339989

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	6 (Antg 12+57)	57.581666667	12	a
2	7 (Antg 12+101)	47.866666667	12	ab
3	3 (Antg 12)	46.495	12	ab
4	2 (pozitif kontrol)	45.6325	12	b
5	5 (Antg 101)	45.52	12	b
6	4 (Antg 57)	43.743333333	12	b
7	8 (Antg 57+101)	41.413333333	12	b
8	9 (Antg 12+57+101)	40.008333333	12	b
9	1(negatif kontrol)	0	12	c

Antagonistlerin Tarlada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (2. Deneme)

7. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 10:38:50 am

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\TARLA27.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	5101.21652	9	566.80183556	8.7271761994	.0000 ***
Error	2597.87048	40	64.946762		
Total	7699.087	49			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 64.946762

Degrees of freedom = 40

Significance level = 5%

LSD .05 = 10.301281648

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	2 (pozitif k)	38.656	5	a
2	7 (Antg 12+57)	33.892	5	a
3	10 (Antg 12+57+101)	33.616	5	a
4	6 (Antg 198)	33.51	5	a
5	4(Antg 57)	33.056	5	a
6	8 (Antg 12+101)	30.404	5	a
7	9(Antg 57+101)	30.06	5	a
8	5 (Antg 101)	28.9	5	a
9	3 (Antg 12)	28.066	5	a
10	1 (negatif k)	0	5	b

Antagonistlerin Tarlada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (2. Deneme)

14. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 10:38:50 am

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\TARLA27.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	5101.21652	9	566.80183556	8.7271761994	.0000 ***
Error	2597.87048	40	64.946762		
Total	7699.087	49			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 64.946762

Degrees of freedom = 40

Significance level = 5%

LSD .05 = 10.301281648

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	2 (pozitif k)	38.656	5	a
2	7 (Antg 12+57)	33.892	5	a
3	10 (Antg 12+57+101)	33.616	5	a
4	6 (Antg 198)	33.51	5	a
5	4(Antg 57)	33.056	5	a
6	8 (Antg 12+101)	30.404	5	a
7	9(Antg 57+101)	30.06	5	a
8	5 (Antg 101)	28.9	5	a
9	3 (Antg 12)	28.066	5	a
10	1 (negatif k)	0	5	b

Antagonistlerin Tarlada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (2. Deneme)

21. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 10:59:40 am

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\TARLA221.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	7476.291442	9	830.69904911	5.5703871704	.0001 ***
Error	5965.10816	40	149.127704		
Total	13441.399602	49			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 149.127704

Degrees of freedom = 40

Significance level = 5%

LSD .05 = 15.609596441

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	7(Antg 12+57)	49.46	5	a
2	2(pozitif k)	41.024	5	ab
3	6 (Antg 198)	39.988	5	ab
4	10 (Antg 12+57+101)	36.632	5	ab
5	4 (Antg 57)	34.936	5	ab
6	5 (Antg 101)	32.912	5	ab
7	9 (Antg 57+101)	32.872	5	ab
8	3(Antg 12)	31.87	5	ab
9	8(Antg 12+101)	31.02	5	b
10	1 (negatif k)	0	5	c

Antagonistlerin Tarlada Yeşil Aksam Uygulaması Olarak Bakteriyel Meyve Lekesi Hastalığına Etkisi (2. Deneme)

35. gün

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED

Jul 8, 2014 11:09:52 am

Using: D:\MASAST~1\ANOVAA~1\COSTAT\TARLA228.DT

Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	8821.936432	9	980.21515911	5.9097344712	.0000 ***
Error	6634.58004	40	165.864501		
Total	15456.516472	49			

Duncan's Multiple Range Test

Factor:

Error mean square = 165.864501

Degrees of freedom = 40

Significance level = 5%

LSD .05 = 16.46225152

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	7(Antg 12+57)	50.958	5	a
2	10 (Antg 12+57+101)	45.622	5	a
3	6 (Antg 198)	45.358	5	a
4	4(Antg 57)	42.11	5	a
5	2 (pozitif k)	41.52	5	a
6	5 (Antg 101)	37.898	5	a
7	9(Antg 57+101)	36.418	5	a
8	8 (Antg 12+101)	34.936	5	a
9	3(Antg 12)	34.896	5	a
10	1 (negatif k)	0	5	b