ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aziz ÇEMEN

DOMATES BAKTERİYEL BENEK HASTALIĞI (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)'NIN BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE BAKTERİYOFAJLARIN KULLANIM OLANAKLARI

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2017

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOMATES BAKTERİYEL BENEK HASTALIĞI (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)'NIN BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE BAKTERİYOFAJLARIN KULLANIM OLANAKLARI

Aziz ÇEMEN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Yıl: 2017, Sayfa: 88
Jüri : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
: Doç. Dr. Mustafa MİRİK
: Yrd. Doç. Dr. Sümer HORUZ

Domates (*Solanum lycopersicum* L.), dünyada en fazla üretimi yapılan sebzedir. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*) adlı bakteri domateste bakteriyel benek hastalığına neden olmaktadır. Bu hastalığın mücadelesinde farklı yöntemler araştırılmaktadır. Bu yöntemlerden biri de bakteriyofajların kullanımıdır. Bakteriyofajlar, bakterilerin doğal düşmanlarıdır, bakteriler dışında hiçbir canlıyı öldürmezler. Bu çalışmada *Pst*'yi eriten bakteriyofajların izolasyonu ve *Pst*'nin biyolojik mücadelesinde bakteriyofajların potansiyel kullanım olanakları araştırılmıştır. Bu kapsamda, Adana ve Mersin illerinde 17 tarla, 12 sera ve 4 ticari fidelikten bakteriyel benek hastalığı belirtisi gösteren bitki örnekleri toplanmıştır. NYGA (Nutrient Yeast Glycerol Agar) besi yeri kullanılarak bitki örneklerinden *Pst*'yi eriten bakteriyofaj izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Petrilerin 27°C'de 36 saat inkübasyonundan sonra plak (inhibisyon alanı) oluşumları gözlenmiş ve 47 adet bakteriyofaj saflaştırılmıştır. Elde edilen bakteriyofajlar içerisinde CMN 33 kodlu bakteriyofajın tohum kökenli hastalığı tamamen (%100) baskıladığı ve çimlenmeyi %14.6 oranında arttırdığı, CMN 34 bakteriyofajı ise hastalığı %65.8 baskıladığı, çimlenmeyi de %21.6 oranında arttırdığı tespit edilmiştir. CMN 33 ve CMN 34 bakteriyofajlarının domatesteki saprofitik floraya ve domateste patojen olan diğer bakteriyel etmenlere herhangi bir etkisinin olmadığı da belirlenmiştir. Araştırma sonucunda CMN 33 ve CMN 34 bakteriyofajlarının bakteriyel benek hastalığına spesifik olduğu (monofaj) tespit edilmiştir. Bildiğimiz üzere, bu çalışma ülkemizde bakteriyofajların bitki hastalıklarının biyolojik mücadelesinde tohum uygulaması olarak kullanılan ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, domates bakteriyel benek hastalığı, bakteriyofaj, monofaj, tohum

ABSTRACT

MSc. Thesis

POSSIBILITIES OF USING BACTERIOPHAGES FOR BIOLOGICAL CONTROL OF TOMATO BACTERIAL SPECK DISEASE (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)

Aziz CEMEN

CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor : Prof. Dr. Yesim AYSAN
Year: 2017, Page: 88
Jury : Prof. Dr. Yesim AYSAN
: Assoc. Prof. Mustafa MIRIK
: Assist. Prof. Sümer HORUZ

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.), is the most widely grown vegetable crop throught the world. The bacterium known as *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*), causes bacterial speck disease on tomatoes. Alternative control strategies are studied for that disease management. The use of the bacteriophages is one of those strategies. Bacteriophages are natural enemies of bacteria and extremely specific to their targeted hosts without affecting any other bacteria. In this study, isolation of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*-lysing bacteriophages and the possibility of using these bacteriophages as biological control agents were investigated. Therefore, samples of tomato plants with typical symptoms of bacterial speck disease were collected from 17 tomato fields, 12 greenhouses and four nurseries in Adana and Mersin provinces. The bacteriophages were isolated from the sample using NYGA medium. As a result, after 36 hours of incubation, the plaques (inhibition zones) were observed and 47 bacteriophages were purified. Among the obtained bacteriophages, the CMN 33 isolate was completely (100 %) suppressed the growth of pathogen and increased the germination rate by %14.6, whereas the CMN 34 isolate was suppressed the pathogen by 65.8 % and increased the germination rate by 21.6 %. It was determined that these bacteriophages (CMN 33 and CMN 34) were specific to *Pseudomonas syringae pv. tomato* and had no effect on the saprophytic bacterial flora on tomatoes. To our knowledge, this is the first study to investigate the possibility of using bacteriophages for biological control of plant diseases in Turkey.

Key Words: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, tomato bacterial speck disease, bacteriophage, monophage, seed

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Domates, Christopher Columbus'un 1492 yılında Amerika'yı keşfetmesinden sonra Avrupa'ya taşınmış ve süs bitkisi olarak kullanılmıştır. (Devres, 2014). 1570'li yıllarda İngilizlerin ve İspanyolların bahçelerinde süs bitkisi olarak yetiştirildiği bilinmektedir. Domates, yıllarca tüketilmeyen ancak yetiştiriciliği yapılan bir bitki olmuştur. Ta ki Napolilerin imkânsızlıktan dolayı bu süs bitkisinin meyvelerini toplayarak pizzada kullanmalarına kadar bu süreç devam etmiştir. Daha sonra İtalyanlar bu bitkiyi yaygın bir şekilde yetiştirmeye başlamışlardır. Bu bitkiye çok çekirdekli ve sulu meyve manasına gelen 'pomodoro' ismini vermişlerdir ve hala bu ismi kullanmaktadırlar. Domates 1781 yılında Amerika Birleşik Devletleri'ne (ABD) bağlı Virginia eyaletinde Thomas Jefferson tarafından üretilmeye başlansa da yetiştirilen bu domateslerin zehirli olduğuna inanmalarından dolayı ABD'de yayılış gösterememiştir. Osmanlıda ise domatesin tarihçesi lale devrine (1718-1730 yılları) dayanmaktadır. III. Ahmet döneminde vezirlik yapmış olan Nevşehirli Damat İbrahim Paşa'nın 1723 yılındaki aylık masraf defterinde domates alımına rastlanmıştır (Devres, 2014). Ayrıca Abak (2016)'nın bildirdiğine göre, domates 1770'lerde önce Akdeniz Bölgesi'ne muhtemelen Adana'ya daha sonra da İstanbul ve Marmara'ya geçmiş, ardından diğer bölgelerimize yayılmıştır.

TÜİK (2016a) verilerine göre Türkiye'de 2016 yılında 12.600.000 ton domates üretimi yapılmıştır. Üretilen domatesler taze olarak tüketilmekle birlikte işlenmiş olarak konserve, salça, ketçap gibi pek çok şekilde tüketilebilmektedir. FAO (2014) verilerine göre dünya domates üretim miktarı 170.750.767 tondur. Türkiye Çin, Hindistan ve ABD'den sonra 11.850.000 ton domates üretimi ile dördüncü sırada yer almıştır. Domates üretim miktarları yıllara göre değişmekte ve bu değişimin de pek çok sebebi bulunmaktadır. Bu sebepler 2 ana başlık altında toplanabilir. Bunlardan ilki, biyotik faktörler ikincisi ise abiyotik faktörlerdir. Biyotik faktörlere kısaca değinecek olursak bakteriler, virüsler, viroidler,

fitoplazmalar, funguslar, oomycetesler, böcekler ve nematodlar olarak sayılabilir. Abiyotik faktörler ise iklimsel değişimler, asit yağmurları, gübreleme, ilaçlama, toprak işleme gibi birçok faktörü içermektedir. Bu tez çalışmasında biyotik faktörlerden biri olan domates bakteriyel benek hastalığının biyolojik mücadelesinde bakteriyofajların kullanım olanakları ele alınmıştır. Bakteriyel benek hastalığı sadece domates bitkisinde zararlı olan bir bakteridir. Bu bakteri domates bitkisinin kök bölgesi ve iletim demetleri hariç diğer bütün aksamlarında hastalığa sebebiyet verebilmektedir. Bitkilerin çiçeklerinde yani meyvenin bağlanacağı bölgede hastalık oluşturduğundan dolayı domates meyvesi tutumu gerçekleşmemekte veya çok az bir meyve büyüklüğü ile karşılaşılmaktadır. Bu da üreticilerin istedikleri düzeyde gelir sağlamalarına engel olmaktadır. Bu hastalıkla mücadelede üreticiler genel olarak bakırlı preparatları kullanmaktadırlar; fakat hastalığı baskılayamadıklarını da bildirmektedirler. Üreticilerimizin bu problemini kısmen veya tamamen çözebilmek amacıyla bakteriyofajlar üzerine bir çalışma yapılmıştır. Bakteriyofajlar bakterileri enfekte eden virüslerdir. Genel olarak iki kısma ayrılmaktadırlar. Bunlar monofaj ve polifajlardır. Monofajlar sadece hedefteki bakteriyi yok etmeye özelleşmiş türe spesifik bakteriyofajlar iken, polifajlar pek çok bakteriyi enfekte edebilen bakteriyofajlardır. Bu bilgilerden de anlaşılacağı üzere mücadelede önemli olan grup monofajların olduğu gruptur. Eğer monofajlar elde edilebilirse, bu hastalıkla biyolojik olarak mücadele edilebilir. Dünyada 2000 ile 2015 yılları arasında farklı kültür bitkileri üzerinde bakteriyel hastalıklara karşı bakteriyofajların kullanılabileceği üzerine yapılmış pek çok çalışma mevcuttur. Bu ümit var çalışmalar esas alınarak yapılan bu yüksek lisans tezinde Adana ve Mersin illerinde surveyler yapılmıştır. Bu amaç doğrultusunda 4 ticari fidelik, 17 tarla ve 12 seradan örnekler alınmıştır. Alınan örneklerden bakteriyofaj ve saprofit bakteri izolasyonu yapılmıştır. Ayrıca, herhangi bir uygulamaya tabi tutulmayan domates tohumları ile thiramla ilaçlanmış olan domates tohumlarından da saprofit bakteri izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon sonucunda 28 adet saprofit bakteri ile 47 adet bakteriyofaj elde edilmiştir. Elde

edilen saprofit bakteriler ve bakteriyofajlar saflaştırılmıştır. Bakteriyofajların domates tohumundaki patojen bakteriye (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) tedavi edici etkisini saptamak amacıyla domates tohum denemeleri yapılmıştır. Yapılan denemelerde bakteriyofajlar içerisinde CMN 33 kodlu bakteriyofajın tohumdaki patojen inokulumunu (3.3×10^8 hücre/ml) %100 baskıladığı ve çimlenmeyi de %14.6 oranında arttırdığı (pozitif kontrole göre) tespit edilmiştir. Ayrıca CMN 30 kodlu bakteriyofajın hastalığı %76.4 baskıladığı ve çimlenmeyi de %15.3 oranında arttırdığı, CMN 34 kodlu bakteriyofajın ise hastalığı %65.8 baskıladığı ve çimlenmeyi de %21.6 oranında arttırdığı da tespit edilmiştir. CMN 33 ve CMN 34 kodlu bakteriyofajların domatesteki saprofitik floraya ve domateste patojen olan diğer etmenlere (*Xanthomonas vesicatoria, Clavibacter michiganensis, Pectobacterium carotovorum, Pseudomonas viridiflava* ve *Pseudomonas corrugata*) etkisi de araştırılmıştır. Araştırma sonucunda CMN 33 ve CMN 34 kodlu bakteriyofajların domates bakteriyel benek etmenine spesifik olduğu (monofaj) tespit edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmamda bana her dem yardımcı olan ve beni şevklendiren değerli aileme, fikirleriyle yol gösteren ve çalışmalarımı destekleyen danışmanım sayın Prof. Dr. Yeşim AYSAN'a, emekli olmasına rağmen benimle arazi çıkışları yapan ve çalışmamda emeği çok fazla olan sayın Prof. Dr. Hikmet SAYGILI'ya, yardımlarından dolayı Dr. Raziye ÇETİNKAYA YILDIZ'a, Öğr. Gör. Feray KARABÜYÜK'e, tohum temin eden Petektar tohumculuğa, desteklerinden dolayı Çukurova Üniversitesi BAP birimine çok teşekkür ederim.

Adana'da domates tarlalarına ulaşmamı ve çiftçilerle görüşüp tarlalarından örnek almamı sağlayan sayın Şahin BİÇEN'e çok teşekkür ederim. Ayrıca jüri üyeleri Doç. Dr. Mustafa MİRİK'e ve Yrd. Doç. Dr. Sümer HORUZ'a katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET III
TEŞEKKÜR VI
İÇİNDEKİLER VII
ÇİZELGELER DİZİNİ IIX
ŞEKİLLER DİZİNİ XI
SİMGELER VE KISALTMALAR XIII
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 11
3. MATERYAL VE METOD 21
3.1. Materyal 21
3.2. Metod 23
3.2.1. Patojen Bakteri İzolatının Geliştirilmesi 23
3.2.2. Domates Tohumlarının Patojen Bakteriyle Bulaştırılması 23
3.2.3. Bakteriyofajların İzolasyonu 24
3.2.4. Bakteriyofajların Saflaştırılması 24
3.2.5. Bakteriyofajların titrajlarının arttırılması 25
3.2.6. Bakteriyofajların Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi 26
3.2.7. Etkili Bakteriyofajların Diğer Domates Bakteriyel Etmenlerine Etkisi 28
3.2.8. Etkili Bakteriyofajların Domates Yeşil Aksamındaki ve Domates Tohumundaki Bakteri Florasına Etkisi 28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 31

4.1. Patojen Bakteri İzolatının Geliştirilmesi 31
4.2. Bakteriyofajların İzolasyonu..... 31
4.3. Bakteriyofajların Saflaştırılması 32
4.4. Bakteriyofajların Titrajının Arttırılması..... 32
4.5. Bakteriyofajların Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi 33
4.6. Etkili Bakteriyofajların Diğer Domates Bakteriyel Etmenlerine Etkisi..... 42
4.7. Etkili Bakteriyofajların Domates Yeşil Aksamındaki ve Domates Tohumundaki Bakteri Florasına Etkisi..... 42
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 47
KAYNAKLAR 49
ÖZGEÇMİŞ 55
EKLER..... 57

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 1.1. Dünyadaki domates üretim miktarları 2
Çizelge 1.2. Meyvesi için yetiştirilen sebzeler ve bu sebzelerin talebi karşılama oranları 3
Çizelge 4.1. On farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi 34
Çizelge 4.2. On beş farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi 35
Çizelge 4.3. On dört farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi 38
Çizelge 4.4. Sekiz farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi 39
Çizelge 4.5. 47 farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi 41

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 3.1. 6112 kodlu *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun King B besi yerindeki koloni gelişimi 21
Şekil 3.2. Bakteriyel benek ile bulaşık olan seralar 22
Şekil 3.3. Bakteriyel benek ile bulaşık olan tarlalar 22
Şekil 3.4. Bakteriyel benek ile bulaşık olan fidelikler 22
Şekil 4.1. Faj izolasyonu sonucunda oluşan erime alanları veya plakları 31
Şekil 4.2. Fajların saflaştırıldıktan sonraki görüntüsü 32
Şekil 4.3. 1-a adlı erlende gelişen 6112 izolatı (kontrol), 6-c adlı erlende gelişen bakteri izolatlarının bakteriyofaj izolatı tarafından yenilmesi sonucu oluşan şeffaf görüntü 33
Şekil 4.4. (a) Bakteriyofaj uygulanmayan bitkiler (Pozitif kontrol 1.Tekerrür), (b) bakteriyofaj uygulanan bitkiler (1. Tekerrür), (c) bakteriyofaj uygulanmayan bitkiler (Pozitif kontrol 1. 2. ve 3. tekerrür), (d) bakteriyofaj uygulanan bitkiler (1. 2. ve 3. tekerrür) 36
Şekil 4.5. (a) CMN 40 kodlu bakteriyofaj uygulanan domates fideleri, (b) sağlıklı domates fidesi, (c) bakteriyel benek etmeni ile enfektelenen domates fidesi 37
Şekil 4.6. CMN D-16 kodlu bakteriyofaj uygulanan domates fideleri 40

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ANOVA	: Analysis of Variance (Varyans Analizi)
cm	: Santimetre
dak	: Dakika
dev	: Devir
FAO	: Food and Agriculture Organization (Dünya Tarım ve Gıda Organizasyonu)
g	: Gram
HR	: Hipersensitive reaction (Aşırı duyarlılık reaksiyonu)
King B	: King's medium B
l	: Litre
LB	: Luria-Bertani
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
NaCl	: Sodyum Klorür
nm	: Nanometre
NYGA	: Nutrient Yeast Glycerol Agar
NYGB	: Nutrient Yeast Glycerol Broth
PFU	: Plaque Forming Unit
pH	: Hidrojen iyon konsantrasyonu
Pst	: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*
pv	: Pathovar
RPM	: Revolutions Per Minute (Dakikadaki dönüş hızı)
SAR	: Systemic Aquared Resistance (Sistemik Uyarılmış Dayanıklılık)
spp	: Species plural (türler)

TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
µl	: Mikrolitre
UV	: Ultraviole
°C	: Santigrat derece
SM Buffer	: Salt-Magnesium Buffer
YDCA	: Yeast extract-Dextrose Calcium Carbonate Agar

1. GİRİŞ

Domates, *Solanaceae* familyası içerisinde yer alan ve kökeni Güney Amerika'nın batı sahillerindeki yüksek dağların yer aldığı bölgedir. Çok sayıda yabani ve kültüre alınmış uzak akrabaları, Galapagos Adalarında olduğu kadar Peru, And Dağları, Ekvator ve Bolivya'ya uzanan bir bölgede bulunabilmektedir. Kültür domatesinin yabani akrabaları, deniz seviyesinden yüksekliğe ve enlem derecesine bağlı olarak, geniş bir çeşitlilik göstermektedir. Ayrıca yabani türler, yeni türlerin geliştirilmesi için, değerli bir gen havuzu olarak görev almaktadır (Sönmez ve Ellialtıoğlu, 2014).

Domates zamanla Amerika kıtasının tüm subtropik ve ılıman bölgelerine, Kuzey Amerika'da ise ilerleyip Teksas ile Florida'ya kadar yayılmıştır. Domatesin ilk kültüre alındığı bölgenin Meksika olduğu üzerinde bir fikir birliği vardır. Domates adının Meksika'daki Nahua yerlilerinin dilinde "tomatl" veya "xi-tomatl" sözcüğünden geldiği bildirilmektedir. Buna karşılık kültüre alındığı ilk tarih üzerinde belirsizlik bulunmaktadır. Domates daha sonra diğer ülkelere yayılmıştır. 1770'lerde önce Akdeniz Bölgesi'ne muhtemelen Adana'ya daha sonra da İstanbul ve Marmara Bölgesine geçmiş, ardından diğer bölgelerimize yayılmıştır (Abak, 2016).

Önemli bir besin maddesi olan domates, karoten, folik asit, flavonoit, A, B1, B2, C ve K vitamini, bitkisel yağlar, protein, karbonhidrat, demir, kalsiyum, potasyum ve likopen içerir. Likopen domatese kırmızı rengi veren karotenoidlerden biridir, iyi bir antioksidandır, değişik kanser türlerine ve kalp rahatsızlıklarına karşı koruyucu etkisinin olduğu bilinmektedir. Ayrıca domatesin, beyin hücrelerinin yaşlanmasını yavaşlattığı, bağışıklık sistemini güçlendirdiği, saçları ve cildi güzelleştirdiği de bilinmektedir (Anonymus, 2016a).

Fide döneminde otsu yapıdayken, zamanla odunumsu bir yapıya dönüşmektedir. Yaprakları hafif tüylü, meyve rengi değişmekle birlikte genellikle koyu kırmızı renktedir. Tropik bölgelerde çok yıllık bir bitki iken, diğer bölgelerde

tek yıllık bir kültür bitkisidir. Açıkta ve örtü altında üretilebilen, yerde ve sırık formunda askıda yetiştirilebilen, taze ve işlenmiş olarak pazarlanabilen domateste büyük bir çeşit zenginliği mevcuttur. Son elli yıl içinde domates üretimimiz büyük bir değişim göstermiş, kabuk değiştirerek modern bir görünüm kazanmıştır. Domateste sera tarımı oldukça büyümüş ve örtü altı tarımı sofralık üretimin %40'ını karşılar hâle gelmiştir (Abak, 2016).

FAO'nun 2014 yılı verilerine göre, dünyada 170.750.767 ton domates üretilmiştir. Bu üretim payı içerisinde, en fazla domates üreten ülkelerin başında; Çin, Hindistan, ABD, Türkiye, Mısır, İran, İtalya, İspanya, Brezilya ve Özbekistan gelmektedir (Çizelge 1.1). Türkiye, domates üretim miktarı olarak dünyada dördüncü ülke konumundadır (Anonymus, 2016b).

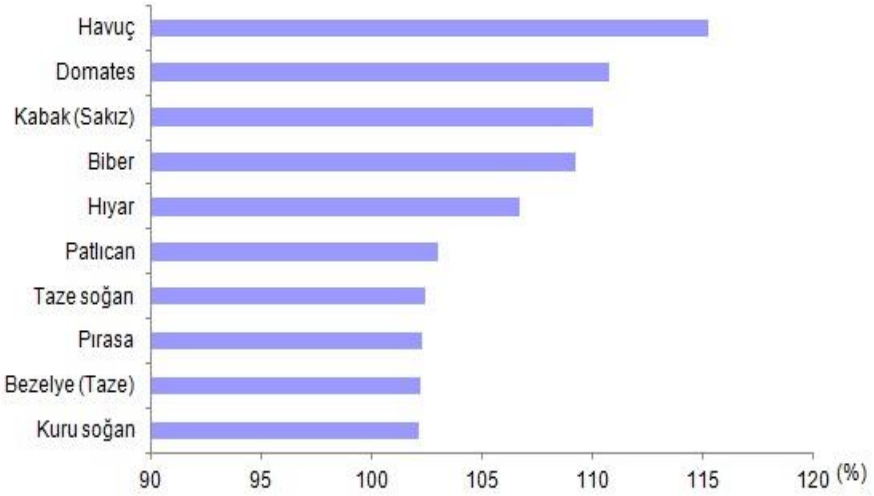
Çizelge 1.1. Dünya'daki Domates Üretim Miktarları (FAO, 2014)

SIRA	ÜLKE	ÜRETİM (TON)
1	Çin	52.722.967
2	Hindistan	18.735.910
3	ABD	14.516.060
4	**Türkiye**	**11.850.000**
5	Mısır	8.288.043
6	İran	5.973.275
7	İtalya	5.624.245
8	İspanya	4.888.880
9	Brezilya	4.302.777
10	Özbekistan	2.285.801
	Toplam	129.187.958

Türkiye'nin 2016 yılında domates üretim miktarı 12.600.000 ton olarak gerçekleşmiştir. Üretimin %68.1'lik kısmı sofralık olarak satılmış, geri kalan %31.9'luk kısmı ise salça yapımında ve kurutmalık olarak kullanılmıştır (TÜİK,

2016a). Her yıl Türkiye'de Meyvesi için yetiştirilen sebzeler grubunda, toplam sebze üretiminde en büyük paya sahip ürünlerden biri domatestir. Domatesin yurtiçindeki talebi karşılama durumu %110.8 olarak gerçekleşmiştir, yani Türkiye'de üretilen domatesler tüketicilerin tüm taleplerini karşılamıştır hatta üretim fazlalığı meydana gelmiştir (TÜİK, 2016b). Çizelge 1.2'de meyvesi için yetiştirilen sebzeler ve üretimin tüketimi karşılama oranları verilmiştir.

Çizelge 1.2. Meyvesi için yetiştirilen sebzeler ve bu sebzelerin talebi karşılama oranları (TÜİK, 2016b).



Çizelgede 1.2'de görüldüğü gibi, domates bitkisinde %10.8'lik bir arz fazlalığı mevcuttur. Bu arz fazlalığı da ihracat yapılmak suretiyle çiftçilerimize gelir getirmiştir. Türkiye ve diğer ülkelerde domates üretim miktarları her geçen yıl biraz daha fazla artış göstermektedir, fakat halen yeterli miktarda üretim yapılamamaktadır. Bunun da en önemli sebebi artan dünya nüfusudur. Bu artan nüfusa yetecek oranda, sebze üretmek için çeşitli yöntemlere başvurulabilir. Örneğin, mevcut durumdaki kullanım alanların iyileştirilmesi, topraksız tarıma geçilmesi, üretimde daha doğru bir gübreleme ile ilaçlama programlarının oluşturulması, üretimden tüketime kadar uzanan periyottaki ürün kayıplarının

azaltılabilmesi, çiftçi, bayi, üniversite ve tarım bakanlıklarına ait birimlerin ortak çalışmaları, ihracattaki sorunların azaltılarak üreticilerin güven içinde üretim yapabilmesi, hastalık ve zararlıların yönetilmesinde entegre mücadele programlarının birlikte kullanılması, üretim miktarlarında artışa sebep olacak adımlardan birkaçını oluşturmaktadır. Maalesef bu adımları atmakta sorun yaşadığımız için üretim miktarlarımızda ciddi bir artış söz konusu olmamaktadır. Özellikle fide üretimi yapan kurumlar ile çiftçilerimizin üretim aşamalarında karşılaştıkları hastalık ve zararlılar ile mücadele, yeterli kalmamaktadır. Mücadele prgramında entegre mücadele programını uygulamak yerine sadece kimyasal mücadeleyi tercih etmeleri nedeniyle başarısız olmaktadırlar. Pek çok kültür bitkisinde olduğu gibi domates üretiminde de hastalık ve zararlanmalara yol açan etmenler mevcuttur. Domates bitkisinde hastalığa neden olan pek çok fungal, bakteriyel ve viral etmen mevcuttur. *Phytophthora infestans, Alternaria* spp., Domates Sarı Yaprak Kıvırcıklık Virüsü gibi etmenlerin yanında *Pseudomonas syringae* pv. *tomato, Pseudomonas cichorii, Pseudomonas corrugata, Pseudomonas viridiflava, Pseudomonas mediterranea, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas syringae* pv. *syringae, Pseudomonas* spp., *Xanthomonas vesicatoria, Xanthomonas gardneri, Xanthomonas euvesicatoria, Xanthomonas perforans, Pectobacterium carotovorum, Ralstonia solanacearum, Rhizobium radiobacter, Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis, Dickeya chrysanthemi* gibi bakteriyel etmenler önemli kayıplara neden olmaktadır.

Bakteriler tarafından infekte edilen bitkilerde büyük ekonomik kayıplar meydana gelmektedir. Çoğu bakteriyel hastalıkla mücadele etmek ve hastalığı baskılamak zordur. Bu zorluk patojenin değişkenlik göstermesi, yüksek mutasyonların oluşu, patojendeki genlerle dayanıklı olan genlerin yer değiştirmesi gibi etkenlerden kaynaklanmaktadır. Hastalığın gelişmesi için gerekli olan optimum koşullarda patojenin yüksek üreme gücü de doğrudan etkiye sahiptir. Hastalık kontrolünde en başarılı yol entegre yönetim girişimleri ile kombine edilmiş olan uygun kültürel pratiklerdir (Jones ve ark., 2007).

Pseudomonas syringae pv. *tomato*, domates bitkilerinde bakteriyel benek hastalığına sebep olmaktadır. Bu hastalık ilk kez, 1929'da ABD'nin Wisconsin ve 1930'da Florida eyaletlerinde, 1933 yılında ise Japonya'nın Formoza adasında görülmüştür. 1931 yılında Florida'da yapılan detaylı çalışmalar sonucunda bu hastalığın yeni bir hastalık olduğu belirlenmiştir. Hastalığın varlığı 1930 yılından beri bilinmekte, ancak 1978 yılına kadar herhangi bir epidemiye rastlanmadığından bu konuyla ilgili fazla bir çalışma yapılmamıştır. Hastalık, uygun koşullarda kısa sürede, diğer bitkilere hızlı bir şekilde yayılma özelliğine sahiptir. Patojenin gelişmesi için yüksek nem ve 13-28°C sıcaklığa gereksinim vardır (Aysan ve Saygılı., 2008). Hastalık daha sonra, domates yetiştirilen tüm ülkelere yayılmıştır. Ülkemizdeki varlığı ilk kez 1970'li yılların sonunda, Batı Anadolu Bölgesinde (Saygılı, 1975) ve Akdeniz Bölgesinde (Çınar, 1977) saptanmıştır. 1980'li yıllarda bu hastalığın tohumla taşındığı belirtilmiş (Kim, 1979; Devash ve ark., 1980) ve dünyanın çeşitli bölgelerinde (Mc Carter ve ark., 1983) olduğu gibi ülkemizde de (Karaca ve Demir, 1988; Aysan ve Çınar, 2002; Geylani, 2004) yayılış nedeninin tohumlar olduğu bildirilmiştir.

Bu hastalık domates bitkisinin iletim demetleri hariç tüm toprak üstü aksamını (yaprak, çiçek, sap, gövde ve meyve) hastalandırabilmektedir. Hastalığın tipik belirtisi, 1-3 mm çapında sarı bir hale ile çevrili koyu kahverengi siyah lekelerdir. Yapraklardaki lekeler oldukça belirgindir. Bir yaprak üzerinde oldukça fazla leke görülebilir. Bu lekeler birleşerek yaprağın kısmen veya tamamen kurumasına neden olabilir. Ana gövde ve buna bağlı dallarda, yaprak saplarında kahverengi-siyah renkte uzunca ve yüzeysel lekeler görülmektedir. Hastalık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*; aerobik, gram negatif, çubuk şeklinde ve 0.69-0.97 × 1.8-2.8 mμ büyüklüğünde bir bakteridir. Bu bakteri King B besi yerinde flouresan pigment oluşturmaktadır. Oksidaz ve arginin dihidrolaz testinde negatif sonuç vermektedir. Jelâtin ve nişasta hidrolizasyonu negatiftir. Tütün yapraklarının damar aralarına 10^8 hücre/ml yoğunlukta bakteri süspansiyonu enjekte edildiğinde aşırı duyarlılık reaksiyonu pozitif sonuç vermektedir (Aysan ve ark., 1999a).

Etmen tohumla taşındığından ve tüm dünyada yaygın olduğundan ilk önlem olarak, sağlıklı tohum kullanılmalıdır. Tohumlara çeşitli fiziksel ve kimyasal uygulamalarının yapılması (Aysan ve ark., 2002) tohuma çeşitli antagonistlerin uygulanması (Aysan ve Çınar, 2002) başarı getirmektedir. Kimyasal mücadelede bakırlı preparatlar kullanılmaktadır. Ancak bakırlı preparatların yanlış kullanılması sonucu bu etmenin bakırlı preparatlara dayanıklılık kazandığı da belirlenmiştir (Benlioğlu ve Benlioğlu, 1998).

Bakteriyel hastalığın biyolojik mücadelesinde, bakteriyofajlardan yararlanılmaktadır. Bakteriyofajlar veya kısa adıyla fajlar bakteriyi enfekte eden virüslerdir ve bakterilerin doğal düşmanlarıdır. Yalnızca canlı bakteri hücreleri içinde çoğalabilmektedirler. Çıplak gözle görünmezler. Ancak elektron mikroskobuyla görülebilirler. Bakteriler dışında hiçbir canlıyı öldürmezler, biyolojik mücadele elemanları içerisinde de en güvenilir olanlardan biridir. Fajların hastalıkları baskılamada birçok avantajları vardır. Doğada yaygın olarak bulunmaları ve kendilerini yenileme kabiliyetinde olmaları nedeniyle entegre mücadelede etkin bir şekilde kullanılabilmektedirler. Genomik yapı olarak DNA veya RNA bulundururlar. Bakteriyofajlar konukçusu olan bakterileri reseptör (algılayıcı)'leri aracılığıyla bulurlar. Yaşam şekillerine göre ikiye ayrılırlar. Bunlardan ilki Litik (Eritici, Virülent) özellikteki yaşam döngüsüne sahip olan fajlardır. Bu fajlar konukçu bakteri hücrelerini enfekte edip onları lize (eriten) etmektedir. Bu tip fajlara virülent faj da denmektedir. Virülent fajların serbest kalması, faj gelişiminin "litik döngüsü" olarak isimlendirilmektedir. Virülent fajların hayat döngüsü; bakterinin hücre çeperindeki özel alıcılara (reseptörlere) bakteriyofajın tutunması, bakteri hücresine faj kalıtım materyalinin enjekte edilmesi, faj tarafından bakteri metabolizmasının fajın genomik yapısını ve faj proteinlerinin yapımına yönlendirilmesi, bakteri hücresi içerisinde yeni fajların oluşumu, fajın kendine özgü enzimi ile konukçu bakteri hücresinin parçalanması, olgunlaşmış fajların serbest hale geçmesi, oluşan fajların diğer bakterilere tutunması şeklindedir.

Bakteri hücresinin lizis'i bir şişme veya bir gerilme sonucunda olmamaktadır, yapımı faj genleri tarafından yönetilen lisin enzimi tarafından meydana gelmektedir. Bu enzim bakteri hücre duvarının bileşimindeki peptidoglikan tabakasının yıpranmasına sebep olmaktadır. Enzim, bakteri hücresi üzerindeki etkisini besi yerinde geniş bulanık halelerle ortaya koymaktadır. Bunlar faj kaynaklı plaklardır ve faj lizizi'nin hücre duvarındaki litik etkisinden dolayı meydana gelmektedir. Bu durumda çeper, iç ozmotik basınca dayanamayıp yırtılmaktadır (Gökçe, 2010).

İkinci ise Lizogenik (Ilımlı, Temperate, Virülent olmayan faj) özellikteki Yaşam Döngüsüne sahip olan fajlardır. Bu fajlar bakteri hücresine girdikten sonra bakterinin genomik yapısına entegre olarak yaşamaya başlar. Bakteri hücresi bölündüğünde yeni oluşan bakterilerdeki genomik yapıda bakteriyofajların genomik yapısı da yer alır. Bu tip ilişkilerde bakteri, canlılığını, üreme ve çoğalma yeteneğini kaybetmemektedir. Fajın, içerisinde lizojenik bir yaşam sürdürdüğü bakteriye "lizojen bakteri", bakteri genomuna entegre olmuş özgül ve bulaşıcı olmayan faja "profaj, temperent faj, ılımlı faj, gizli faj" denmektedir. Bakteri hücresinin diğer özellikleri gibi profaj da kalıtsaldır. Nadiren de olsa profaj, virülent bir faja dönüşebilmektedir. Bunun için de profajın konukçu bakteri genomundan serbest kalması gerekmektedir. Profaj spontan (kendiliğinden) olarak, UV ışığı ile muameleden sonra, mitomisin C antibiyotiğinin düşük dozdaki uygulamalarından sonra, azot gazı uygulaması, mutasyon, inkübasyon sıcaklığındaki değişim gibi olayların biri nedeniyle virülent bir faj haline gelebilir (Gökçe, 2010).

Bitkilerde hastalık oluşturan bakterilerin fajları üzerinde birçok araştırma yapılmış ve halen de yapılmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde; *Dickeya, Ralstonia, Erwinia, Pseudomonas, Xanthomonas, Pantoea, Pectobacterium, Clavibacter* ve *Agrobacterium* gibi genuslar üzerinde pek çok araştırmanın yapıldığını ve elde edilen bulgulardan bakteriyofajların farklı alanlarda kullanıldığını ve yararlanıldığını görmekteyiz. Fajların kullanım alanları;

bakterilerin varlığının saptanmasında, tür veya cins düzeyinde tanılanmasında, taksonomide, epidemiyolojik ve ekolojik çalışmalarda, izolatlar arası ilişkilerin incelenmesinde, bakterilerin popülasyon seviyelerinin tahmin edilmesinde, izolatların birbirinden ayırt edilmesinde, genetik çalışmalarda ve hastalıklarla mücadele (biyolojik mücadele) sayılabilir (Civerolo, 1990).

Hastalık kontrolünde bakteriyofajları kullanmanın başlıca nedenleri; fajların konukçu bakteri varlığında kendisini çoğaltabilmesi, konukçu yokluğunda ise çoğalamaması, biyosferin doğal bileşenleri olması nedeniyle bakterilerin bulunduğu topraktan, sudan, bitkilerden, hayvanlardan ve insan bedeninden kolaylıkla izole edilebilmeleri, bakteride dayanıklı hale gelen genlerin virülensliğinin azaltılmasında kullanılabilmeleri, ökaryotik hücrelere toksik olmaması, spesifik olması sayesinde sadece hedef bakteriyi elimine etmesi, doğal floranın üyelerine yararlı olması, patojen üzerindeki baskıyı arttırmak için antagonist bakterilerle uygulanabilmesi veya doğal floranın diğer üyelerine karşı istenen bir soyun teşvik edilmesinde kullanılabilmesi, hazırlanmasının oldukça kolay olması, üretiminin ucuz olması, titresinde (konsantrasyonunda) önemli bir azalma görülmediğinden +4ºC' de aylarca saklanabilmesi, uygulama işlemlerinin standart tarım ekipmanları ile yapılabilmesi, zirai kimyasalların büyük bir çoğunluğu tarafından engellenmediğinden tankta kimyasallarla birlikte uygulanabilmeleri (bakırlı ilaçlar hariç), hasattan önce şeftali meyvesinin tedavisi için ya da taze kesilmiş üretimlerde insan patojenlerinin kontrolü için kullanılabilmeleri nedeniyle kimyasal kullanıma izin verilmeyen yerlerde yasal olmaları fajların kullanılmasının başlıca nedenlerini oluşturmaktadır.

Fajların avantajlarının yanı sıra kullanımıyla ilgili birçok zorluklar da vardır. Bakteriler kolay bir şekilde mutasyona uğrayabilirler ve tek bir faja dirençli hale gelebilirler. Bu yüzden kontrol için sadece bir faj kullanmak risklidir. Çevresel faktörler, güneş radyasyonu ve özellikle UV ışınlarına maruz kalmak, kuruma, sıcaklık, ortam pH'sı ve yıkanma faj popülâsyonlarını azaltabilir. En zararlı çevresel faktörün güneş ışığının (280-400 nm) spektruma sahip olan UV-A ve UV-

B olduğu bildirilmiştir. Fajların kalıcılığını arttırmak için koruyucu formülasyonlar (süt tozu, süt tozu + şeker, jelatinize edilmiş mısır unu gibi) uygulanabilir veya taşıyıcı bir bakteri içerisinde çoğaltılabilir. Bu zararlı etkileri azaltmak için fajlar ya akşam uygulanmalı ya da sabah erkenden uygulanmalıdır. Yüksek güneş ışığı radyasyonuna maruz kalmadan işlemler bitirilmelidir. Bu basit önlemler alınırsa hedef alanda fajlar daha uzun süre kalır ve etkisi de artar. Fajların bakterilerle bir araya gelebilmesi, başlangıçtaki faj yoğunluğuna, hedef ortamda fajın yeniden çoğalma kabiliyetine, konukçu bakterinin yerine ve konsantrasyonuna, faj difüzyonu için bir ortam olarak yeterli suyun bulunması gibi faktörlere bağlıdır (Jones ve ark., 2007).

Bitki bakteri hastalıklarını kontrol etmek için spesifik fajları üreten ilk ticari şirket L.E. JACKSON tarafından 1989'da AgriPhi Inc. olarak kurulmuştur. Şirketin adı daha sonra OmniLytics Inc. olarak değişmiştir. Bu şirket bakteriyel hastalıklar ile biyolojik mücadelede ilk ticari preparatı 'Agriphage' adıyla ABD'de 2005 yılında domates üreticilerinin kullanımına sunmuştur. Bu ticari preparat, ABD'nin Florida eyaletinde, tarla ve seralardaki domates bitkilerinde *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'nın neden olduğu bakteriyel leke ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu bakteriyel benek hastalıklarına karşı entegre mücadele programı kapsamında kullanılmaktadır. Litrede 4.1×10^{12} PFU içerir (Jones ve ark., 2007).

Türkiye'de fajlar bitki sağlığında kullanılmamaktadır. Türkiye'de bitki bakteri hastalıklarında bakteriyofajlara ait ilk çalışma Saygılı ve Erkan (1987) tarafından yapılmıştır. Balıkesir, Bursa, Çanakkale, İzmir, Manisa ve Muğla illerinde yürüttükleri çalışmada hastalıklı bitki ve toprak örneklerinden, domateste hastalık etmeni olan 3 bakterinin (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) bakteriyofajlarını izole etmişlerdir. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* için 9, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* için 5, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* için 11 adet spesifik bakteriyofaj elde etmişlerdir. Bu çalışmadan

sonra yaklaşık olarak 30 yıl bakteriyofajlarla alakalı herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Türkiye'de bitki bakteri hastalıklarının biyolojik mücadelesinde bakteriyofajların kullanımı üzerine bir çalışmanın şimdiye kadar yapılmaması, tohum kökenli hastalıkları baskılamada bakteriyofajların bakırlı preparatlara bir alternatif olabilmesi, bakteriyofajların ökaryotik canlılara herhangi bir zararının olmaması, bakteriyofajların bakteri türüne spesifik olmaları ve doğada yaygın olarak bulunmaları nedeniyle bu yüksek lisans tezinin yapılmasına karar verilmiştir. Bu çalışmada; *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'yu eriten bakteriyofajların izolasyonu, saflaştırılması ve bakteriyel benek hastalığının biyolojik mücadelesinde potansiyel kullanım olanaklarının tespiti amaçlanmıştır. Çalışmada Adana ve Mersin illerinde yapılan surveyler sonucunda bakteriyel benek hastalığı ile bulaşık olan 17 tarla, 12 sera ve 4 ticari fidelikten örnekler toplanmış ve etmen ile bu etmene karşı spesifik olan bakteriyofajların izolasyonları yapılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bakteriyofajlarla ilgili ilk bilimsel çalışmalar tıp alanında yapılmıştır. Bakteriyofajlar 1896 yılında İngiliz bilim insanı Ernest Hankin tarafından gözlemlenmiştir. Hankin Hindistan'daki Ganj ve Jumma nehir sularında *Vibrio cholerae* yoğunluğunun azaldığını gözlemlemiştir. 1898 yılında ise Gamaleya'nın, *Bacillus subtilis* ile yaptığı çalışmalada elde ettiği bulgular Hankin'in verileri ile benzerlik göstermiştir (O'Flaherty ve ark., 2009). Frederick Twort adlı bilim insanı 1915 yılında, bakteriyofajların bağımsız olarak filtre edilebileceğini bildirmiştir. Ayrıca bakteriyofajları kullanarak hastalıkların azaltılabileceğini bildirmiştir (Jones ve ark., 2007). 1917'de Fransız asıllı Kanadalı Mikrobiyolog Felix d'Herelle dizanteri hastalık etmeninin, görünmez bir mikrobu olduğunu keşfetmiş ve bakteriyofaj adını vermiştir. 1919 yılında Felix d'Herelle, bakteriyofajları tedavi amaçlı olarak dizanteri vakalarında kullanan ilk bilim insanı olarak bilinmektedir (Gökçe, 2010).

Daha sonra gıda ürünlerinde ve bitki sağlığında bakteriyofajlar kullanılmaya başlanmıştır. 1990'lı yıllarda *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'nın neden olduğu domates bakteriyel leke ile mücadelede bakteriyofajların kullanılabileceği bildirilmiştir (Flaherty ve ark., 2000). 1935 yılında Thomas adlı araştırmacı mısırda *Pantoea stewartii*'nin neden olduğu solgunluk hastalığının mücadelesinde bakteriyofajları tohumlara uygulamış ve hastalığı %92 oranında baskılayabilmiştir (Jones ve ark., 2007).

Türkiye'de bitki bakteri hastalıklarında bakteriyofajlara ait ilk çalışma 1985-1987 yılları arasında Saygılı ve Erkan tarafından Balıkesir, Bursa, Çanakkale, İzmir, Manisa ve Muğla illerinde yürütülmüştür. Bu illerden alınan hastalıklı domates bitkilerinden ve hastalıkla bulaşık olan toprak örneklerinden, domateste patojen olan *Pseudomonas syringae* pv. *tomato, Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* etmenlerine karşı bakteriyofaj izolasyonları yapmışlardır. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* için 9,

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* için 5, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* için 11 adet spesifik bakteriyofajı elde etmişlerdir.

Flaherty ve ark., (2000) domates bakteriyel leke hastalığıyla (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) mücadelede H-mutant bakteriyofajları tarla ve serada kullanmışlardır. Çalışmada hastalık etmenine karşı spesifik olan bakteriyofajların etkilerini bakır/mancozeb etkileri ile karşılaştırmışlardır. 1997'de seralarda üretilen domates fidelerinde bakteriyel leke hastalığının görülme oranı %40.5 (kontrol), bakırlı preparatlar uygulanan bitkilerde %5.5, bakteriyofaj uygulanan bitkilerde %0.9 olarak belirlemişlerdir. Bakırlı preparat uygulaması hastalığı %86.4 azaltırken, bakteriyofaj uygulaması hastalığı %97.7 oranında azaltmıştır. 1998'de ise kontrol grubunda %17.4, bakırlı preparat uygulamasında %5.5, faj uygulamasında %2.7 oranında hastalık görülme oranı saptanmıştır. Sonuçta, bakterisit uygulaması hastalığı %68.4 baskılarken, faj uygulaması %84.5 oranında hastalığı baskılamıştır. Ayrıca, yapılan uygulamaların, meyve verimine olan etkisi de araştırılmıştır. Faj uygulanan domatesler, uygulama yapılmayan kontrolle kıyaslandığında 1997'de %14.9, 1998'de %24.2 oranında bir verim artışı olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışmada, hastalıklarla mücadelede bakteriyofajların sadece hastalığı baskılamakla yetinmediği bunula birlikte meyve verimine de olumlu bir katkı sağladığı ve bakırlı preparatlardan daha etkili olduğu ortaya konulmuştur.

Flaherty ve ark., (2001) sardunya (*Pelargonium× hortorum* L. H. Bailey) bakteriyel yanıklığıyla (*Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii*) biyolojik mücadelede H - mutant bakteriyofajların kullanım potansiyellerini araştırmışlardır. New Zealand, Netherlands, Florida, New York, Texas ve Utah'tan alınan 21 adet *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* izolatına karşı, Florida, Kaliforniya, Minnesota ve Utah'tan alınan toprak ve çamur örneklerinden yapılan bakteriyofaj izolasyonları sonucunda elde edilen 16 adet fajın etkinliği ile 2 ml/l olan Phyton-27® (Bakır sülfat pentahidrat) adlı bakırlı preparatın etkinliğini karşılaştırmışlardır. Saksı denemesi sonucunda, pozitif kontrolde hastalık oranı %53, on günde bir defa

uygulanan bakırlı preparatta hastalık oranı %53, haftada iki defa uygulanan faj kokteylinde hastalık oranı %50, günlük olarak uygulanan faj kokteylinde ise hastalık oranı %19 olarak saptanmıştır. Sonuçta, günlük olarak uygulanan fajlar hastalığı %64 oranında baskılarken, haftada iki defa uygulanan fajlar hastalığı %5.6 oranında baskılayabilmiştir. Phyton-27® uygulaması hastalığı baskılayamamıştır. Viyol denemeleri sonucunda günlük olarak uygulanan fajlar hastalığı %84, haftada üç kez uygulanan fajlar hastalığı %69, haftada iki kez uygulanan fajlar hastalığı %38 oranında baskılamıştır. Phyton-27® uygulaması hastalığı baskılayamamıştır. Çalışmanın sonunda, sadece günlük olarak uygulanan faj uygulamasının istatistiki olarak diğer uygulamalarla aynı grupta yer almadığını bildirmişlerdir. Fajların hedef ortamda, kısa sürede (24 saat) uzaklaşmasından dolayı uygulamaların günlük olarak yapılmasının daha etkili sonuçlar getireceğini belirtmişlerdir.

Balogh ve ark., (2003) *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'nın neden olduğu domates bakteriyel leke hastalığı ile mücadelede kullanılan bakteriyofajların yaprak yüzeyinde uzun süre kalmasını sağlayacak 3 yeni formülasyon geliştirmişlerdir. Birinci formülasyon: PCF (%0.5 jelatinize edilmiş mısır unu + %0.5 Sukroz), ikinci formülasyon: Casecrete (%0.5 Casecrete NH-400 + %0.5 Sukroz + %0.25 PCF), üçüncü formülasyon: Yağsız süt (%0.75 Yağsız süt tozu + %0.5 Sukroz) şeklindedir. Çalışmada bakır-mancozeb'te kullanılmıştır. Bütün uygulamalar, patojen izolatlar bitkiye verilmeden önce başlamış ve hasada 2 hafta kalıncaya kadar devam etmiştir. Faj uygulamalarının hepsi haftada 2 defa uygulanmıştır. Bu uygulamalardan sadece PCF'le muamele gören fajlar, sabah saatlerinde uygulanmıştır, diğer fajlar akşamüstü uygulanmıştır. Bakır-mancozeb ise haftada 1 defa uygulanmıştır. Formüle edilmeyen faj karışımı (kontrol) %1, PCF ile formüle edilen faj karışımı %30, Casecrete ile formüle edilen faj karışımı %51, Yağsız süt ile formüle edilen faj karışımı %62 oranında hastalık şiddetini azaltmıştır. Araştırmacılar, bu formülasyonlar içerisinde, hazırlanması ve uygulanması en kolay olan formülasyonun, Yağsız Süt formülasyonu olduğunu ve

akşam saatlerinde uygulanan fajların sabah güneş doğmadan yapılan faj uygulamalarından daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Obradovic ve ark., (2004) domateste bakteriyel leke hastalığı (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) ile mücadelede, bakteriyofajları, SAR uyarıcılarını (Harpin proteini, Acibenzolar-S-methyl) ve Bakır hidroksit + Mancozeb uygulamalarını farklı şekillerde kombine ederek uygulamışlardır. Yapılan uygulamalar: Bakır hidroksit + Mancozeb, Harpin, Harpin + ASM, Harpin + ASM + Bakır hidroksit + Mancozeb, ASM, Bakteriyofaj, Bakteriyofaj + Bakır hidroksit + Mancozeb, Bakteriyofaj + Harpin + ASM, Bakteriyofaj + Harpin, Bakteriyofaj + ASM şeklindedir. Denemelerde, önce uygulamalar domates bitkilerine verilmiş daha sonra patojen bakteri verilmiştir. Harpin ve ASM 14 günde 1 defa, Bakır hidroksit + Mancozeb 7 günde bir defa, Agriphage Casecrete NH-400 (5 g/l), Jelatinize edilmiş mısır unu (2.5 g/l, PCF 400) ve Sukroz (5 g/l) ile yeniden formülize edilerek 10^{10} PFU/ml olarak haftada 2 defa akşamüzeri uygulanmıştır. Kontrol olarak uygulama yapılmamış bitkiler kullanılmıştır. Bakteriyel izolat olarak, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* 'nın ırk 3'ünü (91-118) 10^8 hücre/ml yoğunlukta kullanmışlardır. Bu izolatın bakıra karşı hassas olduğu bildirilmiştir. Bakteriyel lekenin neden olduğu hastalığı azaltmada en etkili yöntemin Faj + ASM uygulaması olduğu belirlenmiştir. Faj + ASM uygulaması %42.5, Faj uygulaması %30.2, Faj + Harpin uygulaması %27.5, ASM uygulaması %24.4, Bakır hidroksit + Mancozeb uygulaması %14, Harpin uygulaması %5 oranında hastalığı azalttığını belirlemişlerdir. Ayrıca, Faj + Harpin uygulaması %22.6 oranında meyve verimini en fazla arttıran uygulama olarak ortaya çıkmıştır.

Lang ve ark., (2007) *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*'nin soğanda neden olduğu *Xanthomonas* yaprak yanıklığı hastalığının yönetilmesinde, bakteriyofajlar ile bitki aktivatörü olan Acibenzolar-S-Methyl'in birlikte kullanımı üzerine bir araştırma yapmışlardır. Soğandaki *Xanthomonas* yaprak yanıklığı hastalığının yönetilmesinde bakteriyofajların bitki aktivatörüyle birlikte kullanılmasına ilişkin ilk çalışmadır. Bakteriyofajlar AgriPhage şirketinden temin edilmiştir.

Denemelerde, kontrol, bakır hidroksit+mancozeb, bakteriyofaj (tek başına), bakteriyofaj+bakır hidroksit-mancozeb, bakteriyofaj+acibenzolar-S-methyl (Actigard 50 WG, Sygenta Crop Protection) uygulamaları yaparak uygulamalar arasındaki farkları ortaya koymuşlardır. Bakteriyofaj+acibenzolar-S-methyl uygulamasının %50, tek başına kullanılan fajların %35, bakır hidroksit+mancozeb uygulamasının %31, bakteriyofaj+bakır hidroksit-mancozeb uygulamasının %31 oranında hastalığı baskıladığını bildirmişlerdir.

Balogh ve ark., (2008) *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*'nin neden olduğu Turunçgil Bakteriyel Kanser Hastalığı ile *Xanthomonas axonopodis* pv. *citrumelo*'nun neden olduğu Turunçgil Bakteriyel Leke Hastalığı'nın entegre yönetiminde bakteriyofajların ve koruyucu formülasyonların (Yağsız süt ve Süt tozu) hastalığı engelleme durumlarını araştırmışlardır. Araştırmada bakırlı preparatlara (3 g/l Caurifix WG, 2 g/l Dithane M80, 2.5 g/l Manzate 75 DF, 3.6 g/l Kocide 2000) da yer verilmiştir. Bakırlı preparatları tek başına ve faj ile kombine ederek (faj+ bakırlı ilaçlar) hastalık etmenlerine karşı kullanmışlardır. Yapılan sera denemesi sonucunda, herhangi bir uygulama yapılmadan kokteyl halinde hazırlanıp kullanılan fajların (1. Uygulama), süt tozu ile uygulama yapılan kokteyl halindeki fajlardan (2. Uygulama) daha etkili olduğu bildirilmiştir. Fidanlık denemeleri sonunda bakırlı kimyasalların, faj + bakır formülasyonlarından daha etkili olduğu, Faj + bakır formülasyonlarının da faj formülasyonlarından etkili olduğu bildirilmiştir. Birinci fidanlıkta bakırlı bileşikler hastalığı %43.45 oranında, faj + bakırlı bileşikler %33.15 oranında, tek başına kullanılan fajlar ise %27.5 oranında baskılanmıştır. İkinci fidanlıkta sadece faj + süt tozu formülasyonları kullanılmıştır. Hastalık, Valencia çeşidinde %47.7 ve %35.2, Ruby red çeşidinde ise %16.8 oranında baskılanmıştır. Üçüncü fidanlıkta ise bakırlı bileşikler %84.27, faj + bakırlı bileşikler %83.26, tek başına kullanılan fajlar ise %49.3 oranında hastalığı baskılamıştır.

Fujiwara ve ark., (2011) bitkilerde bakteriyel solgunluğa neden olan *Ralstonia solanacearum* etmenine karşı litik (eritici) yapıda olan 3 bakteriyofajı

(ϕRSA1, ϕRSB1 ve ϕRSL1) kullanmışlardır. ϕRSB1 fajı tek başına veya diğer fajlarla birlikte uygulandığında *R. solanacearum* etmenini eritebilmişlerdir. Bu da konukçu bitkide bakteriyel hücre yoğunluğunun hızlı düşüşünden anlaşılmıştır. Kültüre ilave fajlar konulduktan yaklaşık 30 saat sonra bu fajlara dayanıklı hücreler saptanmıştır. ϕRSL1 fajı ile muamele edilen tüm domates bitkilerinde deneme periyodu boyunca hiçbir solgunluk belirtisi görülmezken, bu fajla işlem görmeyen domates bitkilerinde enfeksiyondan sonraki 18. günden itibaren tüm domates bitkilerinde solgunluk gözlenmiştir. Ayrıca ϕRSL1 fajının toprakta 37°C ile 50°C arasında, nispeten de olsa stabil olduğu bu çalışmayla gösterilmiştir. Buna ek olarak ϕRSL1 fajı partikülleri enfeksiyondan sonraki 4 ay boyunca bitki köklerinden ve topraktan izole edilebilmiştir. Bu gözlemlere dayanarak, virülensliği yüksek fajların birlikte kullanımı yerine tek bir faj (Örnek: ϕRSL1 fajı) kullanılarak alternatif bir biyolojik mücadele yapılabildiğini belirtmişlerdir.

Romero ve ark., (2012) *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*'in neden olduğu ceviz bakteriyel yanıklık hastalığı etmenini enfekte eden bakteriyofajların izolasyonu ve karakterizasyonu ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Ceviz ağaçlarının fillosfer (toprak üstü aksam) ve rizosfer (kök bölgesinin de yer aldığı toprak katmanı) bölgelerinden toplam 326 bitki materyali alınmıştır. Bu materyallerden, *Xanthomonas arboricola*'yı eriten 26 adet faj izole edilmiştir. Bu faj izolatları; konukçu çeşitliliği, plak yapısı, partikül morfolojisi temel alınarak karakterize edilmiştir. Kapsid ve kuyruk boyutları, bu bakteriyofajların çift sarmallı DNA yapısında olduğunu, Podoviridae ve Siphoviridae familyasına ait olduğunu belirlemişlerdir. Elde edilen 26 adet bakteriyofajın 16'sı hem fillosferden hem de rizosferden izole edilmiştir. Bu 16 fajın, Podoviridae familyasına ait olduğu saptanmıştır. Buna karşılık, Siphoviridae familyasına ait fajlar sadece rizosferden (10 adet faj) izole edilmiştir. Çalışmada elde edilen 26 adet faj izolatının biyolojik mücadelede kullanılabileceği düşünülmüştür. Fajlar 12 ay boyunca +4°C ve -34°C'deki buzdolaplarında depolanmıştır. Depolama sonrasında, her iki buzdolabında muhafaza edilen fajların titresinde %50'den fazla bir düşüşün olduğu

tespit edilmiştir. Ancak, -34°C'deki derin dondurucuda stabilitenin (fajın dayanımı) + 4 ^{o}C'deki buzdolabına göre daha fazla sürdüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca, farklı solüsyonlar kullanarak fajların canlılık oranlarına etkisi de araştırılmıştır. H_2O+$CHCl_3$(Kloroform), LB, LB+$CHCl_3$ ve SM (Salt-Magnesium) buffer kullanılmıştır. Fajlar bu solüsyonlar konulduktan sonra buzdolabında 12 ay boyunca muhafaza edilmiştir. Her 3 ayda bir defa olmak üzere (toplamda 4 kez) fajların konsantrasyonları ölçülmüştür. Buna göre, 12 aylık depolama sonucunda, LB, SM buffer ve H_2O+$CHCl_3$ solüsyonlarında fajların %54'ü canlılığını korurken, LB+$CHCl_3$ solüsyonunda fajların ancak %39'u canlılığını koruyabilmiştir.

Lee ve ark., (2012) *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*'un neden olduğu yumuşak çürüklük hastalığının mücadeledesinde PP1 bakteriyofajı üzerine bir çalışma yürütmüşlerdir. Araştırmada, hedef bakteriye (*Pectobacterium carotovorum*) karşı, PP1 fajının inhibisyon mekanizmasını anlayabilmek için bu fajın bütün genomu sekanslanmıştır. Buna göre genler, DNA replikasyonu/manipülasyonu, faj yapısı, faj paketlemesi (Phage packaging), konukçu erimesi, konukçu spesifikliği olmak üzere 5 grupta kategorize edilmiştir. Çalışma sonunda, Lysozyme ve Holin'i kodlayan genlerin konukçu bakterinin erimesinde önemli bir rol oynayabileceğini bildirmişlerdir.

Addy ve ark., (2012) *Ralstonia solanacearum*'un neden olduğu bakteriyel solgunluk hastalığının mücadelesinde filamentöz (ipliksi) yapıda olan ϕRSM3 fajını kullanmışlar ve *Ralstonia solanacearum* izolatlarını enfekte edebilmiştir. Ayrıca *Ralstonia solanacearum*'un virülensliğini de azaltmıştır. Daha önceden enfekte olmuş domates bitkilerinin hücrelerine, ϕRSM3 fajı inokule edilmiş ve domates bitkilerinde hiçbir bakteriyel solgunluk görülmemiştir. Bu durum PR-1a, PR-2b ve PR7 genleri ile izah edilmiştir. Ayrıca ϕRSM3 fajının koruyucu etkisinin olduğu da belirlenmiştir. Hastalıkların önlenmesi için ϕRSM3 fajının etkili dozu yaklaşık olarak 10^5 PFU/ml olarak tespit edilmiştir. ϕRSM3 fajı, patojen bakteriyi enfekte ettiğinden dolayı bitki hücreleri büyümelerine devam edebilmiştir. Ayrıca, bu faj uygun koşullar altında patojen bakteriyi enfekte etmeye devam etmesinden

dolayı ϕRSM fajı tarımda bakteriyel solgunluk hastalığı ile mücadelede etkili bir biyolojik mücadele elemanı olmuştur.

Dömötör ve ark., (2012) *Erwinia amylovora*'nın neden olduğu ateş yanıklığı hastalığının mücadelesinde PhiEaH2 fajının bütün genom sekansı üzerine bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada Macaristan'dan alınan toprak örneklerinden yapılan izolasyon sonucunda, PhiEaH2 fajı izole edilmiştir. Elde edilen bu faj laboratuvar ve bahçe denemelerinde kullanılmıştır. Denemelerde *Erwinia amylovora* etmeni yapay olarak inokule edilmemiştir. Çalışmanın sonucunda, bu fajın laboratuvar ortamında ve bahçe denemelerinde *Erwinia amylovora*'yı başarılı bir şekilde eritebildiğini bildirmişlerdir.

Azegami, (2013) *Pantoea ananatis*'in çeltikte neden olduğu bakteriyel palea esmerleşmesi üzerinde bakteriyofajların baskılayıcı etkisini araştırmıştır. *Pantoea ananatis*'in çeltikte en uygun enfeksiyon periyodu çiçeklenmenin olduğu dönemdir. Bu hastalık Japonya'da yaygın olan bir hastalık olup çeltiğin kalitesini düşürmektedir. Çevresel kontrol ölçümleri için yapılan bir araştırmada, hastalığın oranı üzerinde bakteriyofajların etkinliği incelenmiştir. Hem patojen hem de patojen olmayan *Pantoea ananatis* izolatını eritebilecek fajlar, *Miscantus sinensis*'in çiçeklerinden izole edilmiştir. Fajlardan biri çiçeklenme döneminde çeltiğe *P. ananatis* ile birlikte ve *P. ananatis* olmadan tekli olarak uygulanmıştır. Fajla, nanpatojen *Pantoea ananatis* güneş ışığında birlikte uygulanmış ve hastalığı baskıladığı görülmüştür. Fajlar LB ortamında ve çeltik bitkisi üzerinde patojenin büyümesini geciktirmiştir. Çünkü nanpatojen yapıda olan *Pantoea* izolatları çeltiğin çiçeklenme safhasındaki birleşik salkımda yeterli miktarda bulunmuştur ve bunlar fajlar için konukçu olmuştur. Bununla birlikte fajların kombine edilerek uygulanması hastalığı baskılamıştır.

Frampton ve ark., (2014) *Pseudomonas syringae* pv. *actinidae*'nin neden olduğu kivide bakteriyel kanser hastalığının biyolojik mücadelesinde bakteriyofajların kullanılması üzerine bir araştırma yapmışlardır. *Pseudomonas syringae* pv. *actinidae*'ye karşı 275 fajın 258 tanesini etkili bulmuşlardır. Konukçu

aralığını belirlemek için kivi bahçelerinden elde edilen *Pseudomonas syringae* pv. *actinidae* ve diğer *Pseudomonas* izolatları üzerinde yapılan faj uygulamasında, fajların konukçu aralığının dar olduğunu belirlemişlerdir. 24 tanesi elektron mikroskopu, elektrik alanlı jel elektroforezi ve DNA fragmentasyonu yöntemleriyle analiz edilmiştir. Caudovirales takımına ait olan bu fajlar, morfolojik yapıları ve genom boyutları esas alınarak incelendiğinde familyalarının Myoviridae, Podoviridae ve Siphoviridae olduğu görülmüştür. Myoviridae familyasına ait 21 fajda benzer morfolojik özelliklere rastlanmış olup, genom boyları arasında çok ufak farklılıklar tespit edilmiştir. Myoviridae familyasına ait olan 9 üye sekanslanmış ve her birinin kendine özgü olduğu görülmüştür.

Chae ve ark., (2014) çeltik tarlalarında *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*'yi enfekte eden bakteriyofajların çeşitliliği ve bu bakteriyofajların çeltikte bakteriyel yaprak yanıklığıyla (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) mücadele potansiyeli üzerine yaptıkları çalışmada; çeltik tarlalarındaki sulak alanlardan izole edilen 34 fajdan 29'unun Myoviridae familyasına ait olduğunu belirlemişlerdir. Sınıflandırma, plak boyutu esas alınarak yapılmıştır. Genel olarak plak boyutu ve konukçu aralığı arasında negatif bir ilişki olup, dar konukçu aralığına sahip fajların infekte etkinliği düşük bulunmuştur. Yağsız süt ile hazırlanmış bakteriyofaj karışımı bakteriyel yaprak yanıklığının oluşumunu azaltmıştır. Yapılan çalışma sonucunda *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* fajlarının alternatif mücadele yöntemi olarak kullanılmasının mücadele etkinliğini arttırdığı ve agrokimyasalların kullanımını azalttığı tespit edilmiştir.

Di Lallo ve ark., (2014) kivide bakteriyel kanser etmeni olan *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*'yi enfekte eden ϕPSA1 ve ϕPSA2 bakteriyofajların özelliklerini kıyaslamışlardır. Buna göre ϕPSA1 fajı; Siphoviridae familyası üyesi, konukçu aralığı dar, ılımlı (temperate) ve yaşam süresi uzun olan bir faj olarak karakterize edilmiştir. ϕPSA2 fajı ise Podoviridae familyası üyesi, konukçu aralığı geniş, litik (eritici) ve yaşam süresi kısa olarak karakterize edilmiştir.

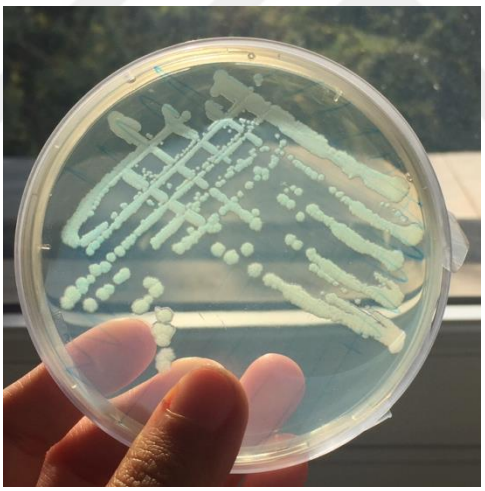
Bhunchoth ve ark., (2015) *Ralstonia solanacearum*'u enfekte eden bakteriyofajların Chiang Mai ve Tayland'daki domates tarlalarından izolasyonu ve bu fajların biyolojik mücadele elemanı olarak deneysel kullanımı adlı bir araştırma yapmışlardır. Tayland-Chiang Mai'den toplanan toprak örneklerinden yapılan izolasyonda *Ralstonia solanacearum*'u eritebilen 14 adet faj elde edilmiştir. Bu 14 faj; Thailand ve Japonya'dan izole edilmiş olan 59 *Ralstonia solanacearum* izolatlarına karşı test edilmiştir. Bu fajlar farklı konukçu aralığı göstermiştir. Toplanan bu 14 adet fajın morfolojileri temel alındığında 9 tanesinin Podovirüs, 5 tanesinin de Myovirüs olduğu tespit edilmiştir. *Ralstonia solanacearum* ile kontamine olan toprağa Podovirüs J2 ile diğer podovirüs (RSB2) birlikte uygulanmıştır. Bu uygulama sonucunda konukçu hücreler başarılı bir şekilde erimiştir. Virülensliği yüksek olan bir *Ralstonia solanacearum*'un domates bitkilerinde oluşturduğu solgunluk, Podovirüs J2 fajının uygulanmasıyla önlenmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Survey alanı, bakteri izolatları (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pectobacterium carotovorum*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas corrugata*), domates çeşitleri (PETEK112, H-2224), besi yerleri (King B, NYGA, NYGB), çeşitli kimyasallar, bakteriyoloji laboratuvarında kullanılan alet ve ekipmanlar çalışmanın ana materyallerini oluşturmuştur.

Çalışmada kullanılan 6112 kodlu *Pst* izolatı şekil 3.1'de verilmiştir. Ayrıca bakteriyel benek etmeni ile bulaşık olan seralar şekil 3.2'de, tarlalar şekil 3.3'te, fideliklerde şekil 3.4'de verilmiştir.



Şekil 3.1. 6112 kodlu *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun King B besi yerindeki koloni gelişimi



Şekil 3.2. Bakteriyel benek ile bulaşık olan seralar



Şekil 3.3. Bakteriyel kara leke ile bulaşık olan tarlalar



Şekil 3.4. Bakteriyel benek ile bulaşık olan fidelikler

3.2. Metod

3.2.1. Patojen Bakteri İzolatının Geliştirilmesi

Derin dondurucuda %20'lik gliserol içerisinde muhafaza edilen 6112 kodlu *Pst* izolatının geliştirilmesi için taze olarak hazırlanan King B (20 g Proteose peptone, 10 ml Gliserin, 1.5 g K_2HPO_4, 1.5 g $MgSO_47H2O$, 15 g Agar, 1000 ml Distile su) besi yeri kullanılmıştır (King ve ark, 1954). İçerisinde King B besi yeri bulunan petrilere üç çizgi ekim yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır ve petriler 48 saat süreyle 25°C'de inkübe edilmiştir. Gelişen bakteri kolonilerinden saflaştırma yapılarak elde edilen izolat ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere YDCA besi yerinde $+4^oC$'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Domates Tohumlarının Patojen Bakteriyle Bulaştırılması

Domates tohumları patojen bakteriyle bulaştırılmadan önce, patojen bakterinin virülensliği yükseltilmiştir. Bu amaç doğrultusunda Astona çeşidi domates fidelerine (3-5 yapraklı) 10^8 hücre/ml yoğunluktaki bakteri süspansiyonu (*Pst*), yaprakların alt yüzeyine el spreyi ile uygulanmıştır. Uygulama yapılan domates fideleri, polietilen naylon içerisinde oluşturulan nemde, bir gece bekletilmiştir. Süre sonunda naylon poşet çıkarılmıştır. Uygulamadan 7 gün sonra domates yapraklarında etrafı sarı hale ile çevrili kahverengi simptomlar ortaya çıkmıştır. Bu simptomlardan (klorotik ve nekrotik lekeler) bakterilerin izolasyonu yapılarak çalışmada kullanılmak üzere saf hale getirilmiştir.

Petektar tohumculuktan temin edilen PETEK112 çeşidi domates tohumlarına virülensliği yükseltilen 48 saatlik 6112 izolatı, steril saf su (beherde 100 ml) ortamına plastik öze ile alınmış ve iyice karıştırılmıştır. Yoğunluğu 10^8 hücre/ml olarak ayarlanmıştır. Tohumlar 155 adet olarak küçük tülbentlere sarılmıştır. Sarılı olan tohumlar beherdeki bakteri süspansiyonuna (100 ml) konulmuştur. Ardından beherin ağzı alüminyum folyo ile kapatılmıştır ve 30 dakika süreyle 200 RPM'de, çalkalayıcıda tohumlara bakteriler bulaştırılmıştır.

Süre sonunda tohumlar 24 saatlik kurumaya bırakılmıştır. Kuruma işlemi, oda sıcaklığında steril kurutma kağıtları üzerinde yapılmıştır. Negatif kontrol için kullanılan tohumlara herhangi bir uygulama yapılmamıştır.

3.2.3. Bakteriyofajların İzolasyonu

Bakteriyofajların izolasyonunda Saygılı ve Erkan (1985) tarafından bildirilen yöntemler esas alınmıştır. Bu yöntemlere göre, sera, tarla ve fideliklerden alınan örneklerden 5-10 g hastalıklı bitki materyali tartılmıştır ve ardından %70'lik alkol kullanılarak yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır. Daha sonra steril bir havanda havan eli yardımıyla ezilerek içerisinde steril saf su (20 ml) bulunan cam tüplere aktarılmıştır. Bir gün süreyle +4°C'deki buzdolabında muhafaza edilmiş ve ardından bu süspansiyon süzülmüştür. Elde edilen süzüntü içerisindeki bakterilerin çökeltilmesi amacıyla santrifüjde 15 dakika süreyle 4000 devirde santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda ortaya çıkan sıvı faz (süpernatant) alınarak steril bir şişeye konulmuştur. Pellet (süspansiyonun altında biriken tortu) atılmıştır. Süpernatant içerisinde kalabilen bakterilerin çökeltilmesi amacıyla şişeye alınan her 5 ml faj için 0.6 ml kloroform eklenmiştir. Kloroform eklenen bu sıvı faz 150 RPM hızda, 4-5 saat süreyle orbital çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Daha sonra bu sıvıdan 1 ml, 24 saatlik bakteri kültüründen (3.3×10^{8} hücre/ml yoğunluktaki 6112 kodlu *Pst* süspansiyonundan) de 1 ml alınarak steril boş petrilere aktarılmıştır. Üzerlerine 45°C'de olan NYGA besi yeri dökülerek hafifçe çalkalanmıştır ve petrilerin kapakları 1 saat süreyle açılarak besi yerinin kuruması sağlanmıştır. Süre sonunda petriler 27°C'de olan inkübatöre yerleştirilmiştir. 36-48 saat sonra petriler plakların varlığı veya yokluğu yönünden incelenmiştir.

3.2.4. Bakteriyofajların Saflaştırılması

İzolasyon sonucunda, petrilerde oluşan farklı yapı ve boyutlardaki plakların saflaştırılması işleminde Saygılı ve Erkan, (1985); Civerolo, (1990); Balogh ve ark, (2003)'nın uyguladıkları yöntemler esas alınmıştır. Erlenlere 100

ml NYGB sıvı besi yeri konulmuş ardından 121 ^{o}C'deki otoklavda steril edilmiştir. Steril edilen besi yerine, 24 saat öncesinden petride ekimi gerçekleştirilen ve gelişen 6112 kodlu *Pst* izolatı eklenmiştir. Erlenler bir gece boyunca orbital çalkalayıcıda 150 RPM hızda çalkalanmıştır. İzolasyon sonucunda elde edilen faj plakları steril bistirü ile kesilerek bakteri geliştirilen erlenlere eklenmiştir. Her erlene sadece bir plak konulmuştur. Daha sonra bu erlenler 150 RPM hızda, 24 saat süreyle orbital çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Süre sonunda erlenlerin renginin açıldığı görülmüştür. Ayrıca erlenlerin alt kısmında tortu birikmiştir. Erlenlerde üstte kalan sıvı süspansiyon (süpernatant) alınarak 10 dakika (4000 dev/dak) santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında ortaya çıkan sıvı faz (süpernatant) alınarak steril bir şişeye konulmuş ve konulan her 5 ml süspansiyon için 0.9 ml kloroform eklenmiştir. 24 saat önce çizilip hazır edilen 6112 izolatından 10^{8} hücre/ml yoğunlukta süspansiyon hazırlanmıştır. Bu süspansiyondan 0.1 ml alınarak içerisinde 14 ml NYGA besi yeri (45°C'de) olan cam tüplere eklenmiştir. Cam tüpler 10 saniye vortexlendikten sonra steril petrilere dökülmüştür. Petrilerdeki besi yerinin kuruması için oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. İzolasyon sonucunda elde edilen bakteriyofaj süspansiyonu, kuruyan besi ortamına, steril bir pipetle 0.1 ml alınarak aktarılmıştır. Daha sonra cam bagetle yayma işlemi yapılan petriler 27°C'de inkübasyona bırakılmıştır ve 48 saat sonra petrilerdeki bakteriyofaj plaklarının homojen olup olmadığı incelenmiştir. İnceleme sonucunda bazı petrilerde oldukça düzgün ve net görülen erime alanlarının olduğu görülmüştür. Bazı petrilerde ise farklı boyutlarda ve net olarak görülmeyen plaklar gözlenmiştir. Bu tür petriler için saflaştırma işlemi birkaç kez daha tekrarlanarak saf ve homojen yapıdaki bakteriyofaj plakları elde edilmeye çalışılmıştır.

3.2.5. Bakteriyofajların titrajlarının arttırılması

Civerolo (1990), tarafından tarif edilen yönteme göre bakteriyofajların titrajları (yoğunluk veya PFU/ml) arttırılmıştır. Yüksek titrajlı bakteriyofajları elde edebilmek için sıvı besi yerinde saf halde olan faj süspansiyonundan 100µl

alınarak, 1 gün öncesinden 6112 izolatı ile aşılanmış olan 100 ml'lik NYGB besi yerine aktarılmıştır. 24 saat sonra bu besi yerindeki sıvı solüsyon alınmıştır. 5 dakika (10000 dev/dak) süreyle santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınmış ve içerisine kloroform eklenmiştir. Çalışmada kullanılmak üzere +4°C'deki buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.2.6. Bakteriyofajların Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi

Bakteriyofajların tohum kökenli olan bakteriyel benek hastalığına etkisini saptayabilmek amacıyla tohum denemeleri kurulmuştur. Fajların sayıca fazla olması ve iş yükünün de azaltılması hesap edilerek toplamda 4 deneme yapılmıştır. Titrajı arttırılan bakteriyofajların, patojen bulaştırılan tohumlara uygulanması; 10'ar ml faj süspansiyonu alınarak erlenlere konulmuş, daha sonra steril tülbente sarılı halde olan domates tohumları konularak erlenlerin ağızları steril pamuk ve aliminyum folyo ile kapatılmıştır. Ardından, 150 RPM hıza ayarlı çalkalayıcıda 30 dakika süreyle bakteriyofajlar tohumlara inokule edilmiştir. Süre sonunda tohumlar 24 saat kurumaya bırakılmıştır. Kuruma işlemi, oda sıcaklığında steril kurutma kağıtları üzerinde yapılmıştır. Kuruyan domates tohumları iklim odasına alınarak, içerisinde steril torf bulunan plastik küvetlere tohum ekimleri yapılmıştır. Her faj izolatı için 3 adet ekim küveti kullanılmıştır. Tohumlar küvetlere 50, 50 ve 55 adet olarak konulmuştur. Daha sonra tohumların üzeri torf ile iyice kapatılmış ve ilk can suyu verilmiştir.

Denemenin kurulması: Hastalıklı bitkilerden izole edilen 47 adet fajın, tohumlardaki inokuluma etkisini saptayabilmek amacıyla iklim odasında 4 aşamadan oluşan deneme yapılmıştır. Denemede pozitif ve negatif kontrol grubuna yer verilmiştir. Pozitif kontroldeki tohumlar sadece patojen bakteriyle bulaştırılmıştır. Negatif kontroldeki tohumlara hiçbir uygulama yapılmamıştır. Birinci aşamada 10, ikinci aşamada 15, üçüncü aşamada 14, dördüncü aşamada 8 adet olmak üzere 47 bakteriyofaj izolatı test edilmiştir. 2016 yılının mayıs ayında birinci aşama, Ekim ayında ikinci ve üçüncü aşama, Kasım ayında dördüncü aşama

yapılmıştır. Her bir aşama yaklaşık olarak 1 ay sürmüştür ve her bir faj uygulaması 3 tekerrürlü ve her tekerrürde minimum 50 adet tohum olacak şekilde kurulmuştur.

Gelişen fidelerin incelenmesi: Domates fidelerinin incelenmesinde pozitif kontrol grupları esas alınmıştır. Pozitif kontrolde hastalık ortaya çıktıktan sonra (4 hafta) fideler sökülerek değerlendirilmeye alınmıştır. Değerlendirmede, bakteriyofajların domates fidelerindeki hastalık çıkışına, hastalık şiddetine ve çimlenme oranlarına etkisi incelenmiştir. Kotiledon yapraklarda herhangi bir leke varsa bitkiler hasta olarak değerlendirilmiştir. Hasta, sağlıklı ve toplam çimlenen bitki sayıları kaydedilmiştir. Her bir faj izolatı uygulamasında hasta bitki sayıları çimlenen bitki sayılarına bölünerek her tekerrürün hastalık %'si hesaplanmıştır. Daha sonra hastalık yüzdesi ortalamaları hesaplanmıştır. Hesaplanan hastalık yüzdesi ortalamaları faj izolatlarının % kaç etkili olduğunu bulmada yardımcı olmuştur. Abbott formülü (% etki= (kontrol-uygulama) /kontrol) × 100) kullanılarak yapılmıştır (Karman, 1971). Böylece fajların hastalık çıkışına etkisi % oranıyla saptanmıştır. Bakteriyel izolatın fidelerde oluşturduğu hastalık şiddetini değerlendirirken Aysan (1999b) tarafından geliştirilen 0-3 skalası (0: kotiledonlarda leke yok, 1: kotiledonlarda 1 leke var, 2: kotiledonlarda 2 veya 3 leke var, 3: kotiledonlarda 4 ve daha fazla leke var) kullanılmıştır. Elde edilen değerler, Tawsend-Heuberger formülü kullanılarak % hastalık şiddeti değerlerine dönüştürülmüştür (Karman, 1971). Bütün faj uygulamalarının % hastalık şiddeti oranları hesaplanmıştır. Faj izolatlarının hastalık şiddetini azaltma oranı Abbot formülü ile hesaplanmıştır. Çimlenen tohum sayısının, ekilen tohum sayısına oranlanmasıyla faj izolatlarının çimlenmeye etkisi hesaplanmıştır. Elde edilen hastalık çıkışı, hastalık şiddeti ve çimlenme sonuçların açısal değerleri hesaplanmış ve ardından ANOVA istatistikî programında Duncan çoklu karşılaştırma testi ile ($p \leq 0.05$) uygulamalar arasındaki farklılıklar ortaya konulmuştur.

3.2.7. Etkili Bakteriyofajların Diğer Domates Bakteriyel Etmenlerine Etkisi

Denemeler sonucunda *Pst*'ye etkili olduğu tespit edilen fajların, domateste hastalık yapan diğer bakteriyel etmenlere etkisi de araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda, hastalığı en iyi baskılayan bakteriyofajlardan (CMN 33 %100 ve CMN 34 %65.8) iki tane seçilmiştir. Seçilen bu faj izolatları domateste patojen olan (*Xanthomonas vesicatoria, Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis, Pectobacterium carotovorum, Pseudomonas viridiflava* ve *Pseudomonas corrugata)* bakteriyel izolatlarla petri ortamında test edilmiştir. Bunun için önce patojen izolatlar King B besi yerinde üç çizgi ekim yöntemi ile ekilip geliştirilmiş ve spektrofotometrede A600: 0.2 nm ölçüm değerinde bir bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Bakteriyofaj izolatlarından ve patojenlerden 1'er ml alınıp steril petrilere aktarılmıştır. Daha sonra 45°C'deki NYGA besi yeri petri kaplarına dökülmüştür. Petrideki bakteriyofajın, patojen bakteri ve besi yeriyle iyi bir şekilde karışması için petri kapları hafifçe çalkalanmıştır. Besi yerindeki nem uzaklaştıktan sonra petriler 27°C'deki inkübatöre yerleştirilmiştir. 48 saat sonra petri kapları plakların veya erime alanlarının var olup olmaması yönünden incelenerek değerlendirilmiştir.

3.2.8. Etkili Bakteriyofajların Domates Yeşil Aksamındaki ve Domates Tohumundaki Bakteri Florasına Etkisi

Etkili faj izolatlarının saprofit bakterilerle test edilebilmesi için önce domates bitkilerinden ve domates tohumlarından saprofit bakteriler izole edilmiştir. Tohum olarak thiramla muamele görmüş olan H-2224 çeşidi standart domates tohumları ile herhangi bir muamele görmemiş olan PETEK112 çeşidi hibrit sera domates tohumları kullanılmıştır. Tohumlardan ve yeşil aksamdan (domates bitkisi) saprofit bakteri elde etmek için kullanılan izolasyon yöntemleri; tohumlardan saprofit bakterileri izole etmek için 1 gr tohum tartılıp steril havanda havaneli yardımıyla ezilmiştir. Ezilen tohumlar, içerisinde 9 ml steril saline buffer (%0.85'lik NaCl) bulunan cam tüplere aktarılmıştır. Yeşil aksamdan saprofit

bakterileri izole etmek için 10 gr bitki parçası (gövde, yaprak, çiçek, sap) tartılıp havanda havaneli yardımıyla ezilmiştir. Daha sonra içerisinde 90 ml steril saline buffer bulunan cam şişelere aktarılmıştır. Örnekler, 3 saat süreyle 150 RPM hızdaki orbital çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Daha sonra bu sıvı solüsyonlardan 1 ml alınmış ve içerisinde 9 ml steril saline buffer bulunan cam tüplere -6'ya kadar seyreltme serileri yapılmıştır. Her bir seyreltme serisini, içerisinde King B besi yeri olan 3 adet petriye 100µl konularak yayma ekim yöntemi ile ekimler yapılmıştır. Ekimi yapılan petriler 25°C'deki inkübatöre yerleştirilmiştir. 48 saat inkübe edildikten sonra petri ortamında farklı renk ve büyüklükte olan bakterilerden saflaştırma yapılmıştır. Saflaştırılan bakteri izolatları spektrofotometrede 10^{8} hücre/ml yoğunlukta hazırlanmış ardından enjektör yardımıyla tütün bitkisinin yaprak aralarına verilerek HR testi gerçekleştirilmiştir. 24 saat sonra tütün bitkisi kontrol edilmiştir. Yaprak damar aralarında kuruma olanlar, patojen olarak değerlendirilmiş ve çalışmaya dâhil edilmezken, diğer izolatların tamamı çalışmaya dâhil edilmiştir.

Etkili bakteriyofaj izolatlarının, domates bitkisi ve tohumlarındaki saprofitik bakteri florasına etkisini saptamak amacıyla petri denemeleri yapılmıştır. Seçilen bakteriyofajlar, saprofit bakterilerle tek tek uygulanarak testlenmiştir. Bakteriyofaj ve saprofit bakteri solüsyonlarından 1'er ml alınıp steril boş petrilere aktarılmıştır. Daha sonra 45°C'deki NYGA besi yeri 16 ml olacak şekilde petriye dökülmüştür, ardından, ortamdaki bakteriyofaj, saprofit bakteri ve besi yerinin karışması için petri kapları hafifçe çalkalanmış ve petriler 27°C'deki inkübatöre yerleştirilmiştir. 48 saat sonra petri kapları plakların varlığı veya yokluğu yönünden incelenmiştir.

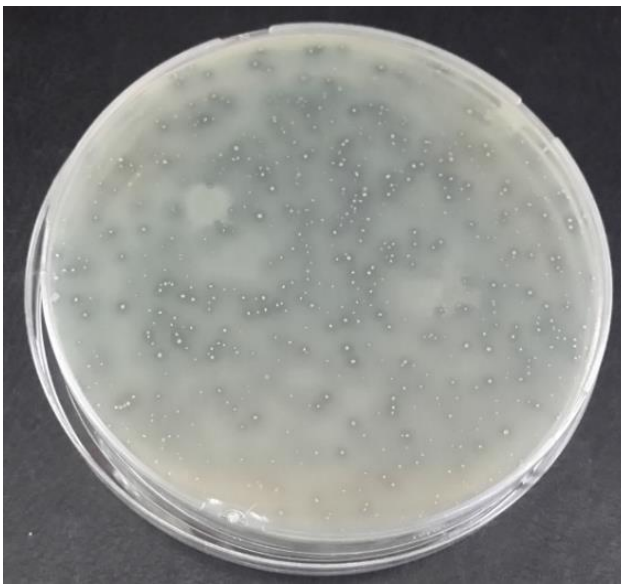
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Patojen Bakteri İzolatının Geliştirilmesi

Ekimi yapılan *Pst* izolatı, 48 saatlik inkübasyon sonunda, petrilerde rüzgârda savrulmuş gibi görünen ve floresan pigment üreten bakterilerin geliştiği görülmüştür.

4.2. Bakteriyofajların İzolasyonu

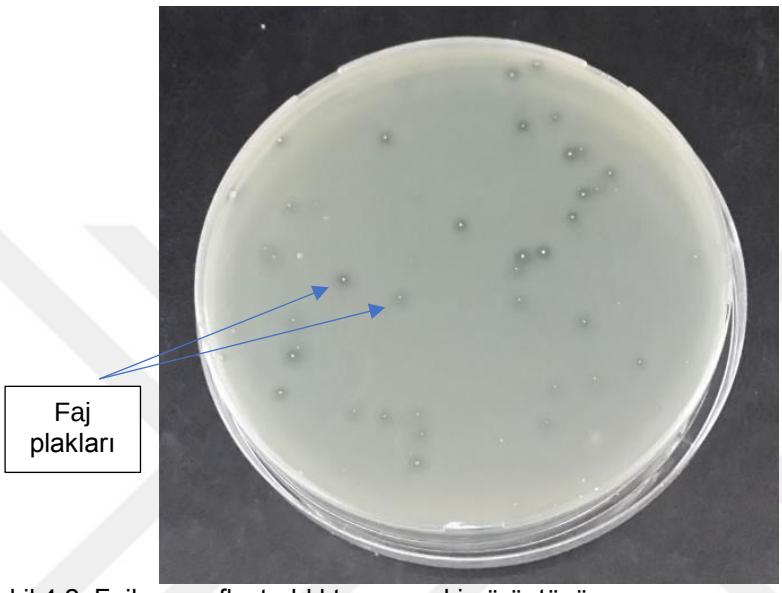
Adana ve Mersin illerinden toplanmış olan hasta domates bitkilerinden yapılan bakteriyofaj izolasyonu sonucunda toplam 47 adet faj izolatı elde edilmiştir. Bu fajların 20 tanesi Adana'daki domates tarlalarından, 27 tanesi ise Mersin ilindeki domates seralarından elde edilmiştir. Fideliklerden toplanan örneklerden yapılan faj izolasyonları sonucunda herhangi bir faj elde edilememiştir. İzolasyonlar sonucunda petride görülen plak alanları Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Faj izolasyonu sonucunda oluşan erime alanları veya plakları

4.3. Bakteriyofajların Saflaştırılması

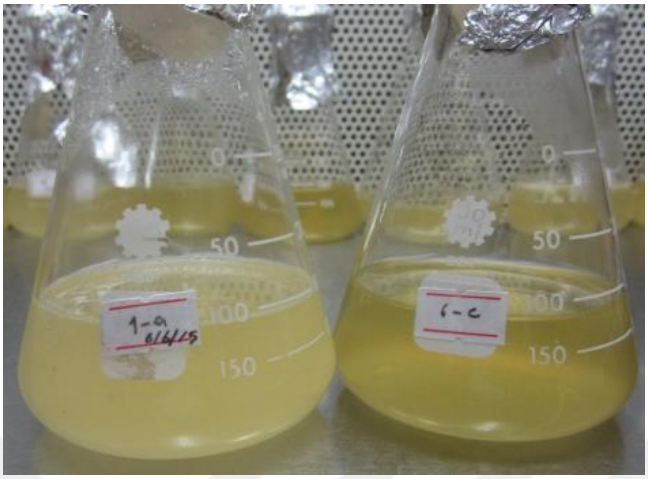
İzolasyon sonucunda petride şeffaf halde görülen faj plakları alınmış ve saf hale getirilmiştir. Şekil 4.2'de saf haldeki faj plakları görülmektedir.



Şekil 4.2. Fajların saflaştırıldıktan sonraki görüntüsü

4.4. Bakteriyofajların Titrajının Arttırılması

Saf hale getirilen fajlar sıvı besi ortamında çoğaltılarak konsantrasyonları arttırılmıştır. Sıvı besi yerine bakteri ekildikten sonra ortam tamamen koyu sarı bir hale gelmiştir. Daha sonra ortama konulan faj plağı çoğaldıktan sonra besi yerinin renginde şeffaflaşmalar görülmüştür. Şekil 4.3'te sıvı besi yerinde çoğalan bakteriyel izolat ile sıvı besi yerinde gelişen fajlar görülmektedir.



Şekil 4.3. 1-a adlı erlende gelişen 6112 izolatı (kontrol), 6-c adlı erlende gelişen bakteri izolatlarının, bakteriyofaj izolatı tarafından eritilmesi sonucu oluşan şeffaf görüntü

4.5. Bakteriyofajların Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, bakteriyofajların hastalık çıkışını %1-100 arasında engellediği, bununla birlikte, çimlenmeyi %1-21 arasında arttırdığı saptanmıştır. Ancak bazı bakteriyofajlar hastalık çıkışını %1.0-45.6 arasında engellerken, çimlenmeyi ise %1.7-17.9 arasında azaltmıştır.

On farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi: Bakteriyofajların *Pst*'ye etkisini, ilk aşamada 10 adet bakteriyofaj, 1 adet pozitif kontrol ve bir adet de negatif kontrol olmak üzere toplam 12 uygulama yapılmıştır. Pozitif kontrole sadece patojen verilmiş ancak negatif kontrole herhangi bir uygulama yapılmamıştır. ANOVA istatistikî programa göre, uygulanan tüm bakteriyofajların kontrole göre etkili olduğu belirlenmiştir. Bu denemedeki bakteriyofajlar hastalık çıkışını %6.2–39.1 arasında baskılarken çimlenmeyi %8.6–13.4 arasında arttırmıştır. Hastalığı en iyi baskılayan bakteriyofaj %39.1'lik oranla CMN 17 kodlu bakteriyofaj olurken çimlenmeyi en fazla arttıran bakteriyofaj ise %19.7'lik oranla CMN 10 kodlu bakteriyofaj olmuştur. Eld edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1. On farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi

Fajlar	Hastalık Çıkışı Ortalaması	% Etki	Hastalık Şiddeti Ortalaması	% Etki	Çimlenme Ortalaması	% Etki
CMN 17	58.2 ^{d}	39.1	27.0 ^{d}	51.4	76.7 ^{ab}	13.4
CMN 11	75.6 ^{c}	20.8	45.0 ^{bc}	19.4	79.6 ^{a}	16.5
CMN 41	79.2 ^{bc}	17.0	38.5 ^{c}	31.1	77.5 ^{ab}	14.2
CMN 14	79.4 ^{bc}	16.9	44.8 ^{bc}	19.9	78.8 ^{ab}	18.6
CMN 29	81.8 ^{bc}	14.1	42.9 ^{bc}	23.1	78.2 ^{ab}	15.0
CMN 10	82.8 ^{bc}	13.1	40.9 ^{bc}	26.6	82.7 ^{a}	19.7
CMN 25	87.1 ^{b}	8.9	41.2 ^{bc}	26.3	74.2 ^{ab}	10.5
CMN 9	88.3 ^{b}	7.5	47.0 ^{abc}	15.6	71.7 ^{ab}	7.4
CMN 27	88.5 ^{b}	7.3	43.0 ^{bc}	22.9	78.9 ^{ab}	15.8
CMN 26	89.7 ^{b}	6.2	50.9 ^{ab}	8.6	72.7 ^{ab}	8.6
POZİTİF KONTROL	95.6 ^{a*}		55.8 ^{a*}		66.4 ^{b*}	

a*: ANOVA istatistiki program sonucunda hastalık çıkışında pozitif kontrol a grubunda yer almıştır. Pozitif kontrolle aynı harfte olanlar etkisiz olarak değerlendirilmiştir. Burada en etkili faj d grubunda yer alan CMN 17 fajıdır. Hastalık şiddetinde a grubu yine pozitif kontrol olarak yer alırken fajların çimlenmeye etkisine baktığımızda pozitif kontrol b grubunda yer almıştır.

On beş farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi değerlendirildiğinde, bakteriyofajlar hastalık çıkışını %5.3–100 arasında baskılarken çimlenmeyi %3.6–21.1 arasında arttırmıştır. Hastalığı en iyi baskılayan bakteriyofaj %100'lük oranla CMN 33 kodlu bakteriyofaj olurken çimlenmeyi en fazla arttıran bakteriyofaj %21.1'lik oranla CMN 34 kodlu bakteriyofaj olmuştur. Sonuçlar ANOVA istatistikî programa göre değerlendirildiğinde, uygulanan 15 adet bakteriyofajın 11'i pozitif kontrolle aynı grupta yer almazken 4 adet bakteriyofaj pozitif kontrolle aynı grupta yer alarak etkisiz olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.2'de özetlenmiştir. Bakteriyofaj uygulaması yapılan tohumlardan gelişen fideler ile uygulama yapılmayan pozitif kontrol fideleri şekil 4.4'de verilmiştir.

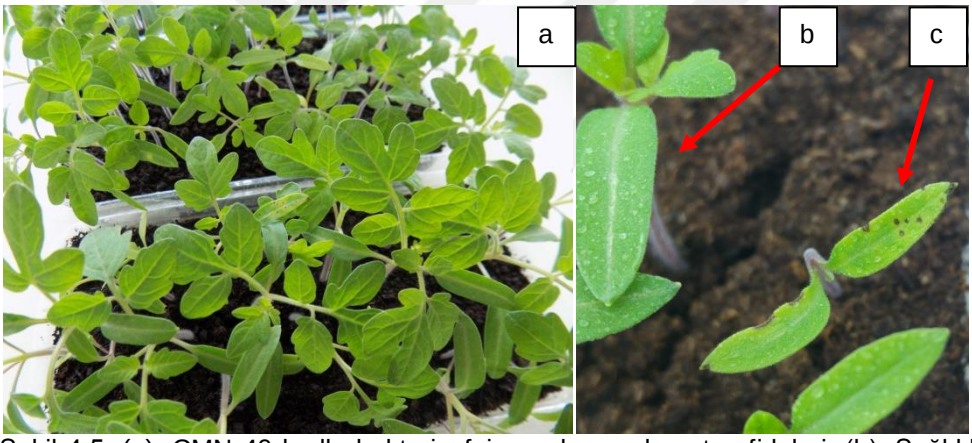
Çizelge 4.2. On beş farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi

Fajlar	Hastalık Çıkışı Ort.	% Etki	Hastalık Şiddeti Ort.	% Etki	Çimlenme Ort.	% Etki
CMN 33	0.0 ^{h}	**100.0**	0.0 ^{j}	**100.0**	71.0 ^{abcde}	**14.6**
CMN 30	17.4 ^{g}	76.4	9.1 ^{i}	84.0	71.6 ^{abcd}	15.3
CMN 34	25.1 ^{fg}	65.8	18.0 ^{gh}	68.3	76.9 ^{a}	21.1
CMN 16	29.9 ^{bc}	59.6	17.0 ^{h}	70.0	72.7 ^{abc}	16.6
CMN 38	30.6 ^{ef}	58.8	18.8 ^{gh}	66.8	64.6 ^{defg}	6.2
CMN 13	37.1 ^{def}	49.7	21.7 ^{fgh}	61.8	63.3 ^{fg}	4.1
CMN 24	38.6 ^{de}	47.8	19.5 ^{gh}	65.3	68.8 ^{bcdef}	11.8
CMN 46-e	48.1 ^{cd}	34.9	31.7 ^{cde}	43.8	70.0 ^{abcdef}	13.3
CMN 46-b	50.1 ^{cd}	32.3	33.0 ^{cde}	41.8	63.0 ^{fg}	3.6
CMN 7	51.4 ^{cd}	31.0	27.0 ^{efg}	52.2	69.0 ^{bcdef}	12.1
CMN 35	59.2 ^{bc}	19.9	30.3 ^{def}	46.5	64.0 ^{efg}	5.2
CMN 46-c	61.1 ^{abc}	17.3	39.2 ^{bcd}	30.5	69.8 ^{bcdef}	13.1
CMN 15	61.2 ^{abc}	17.2	38.0 ^{bcd}	32.8	66.5 ^{cdefg}	8.8
CMN 39	62.8 ^{abc}	15.1	42.1 ^{bc}	25.4	74.4 ^{ab}	18.5
CMN 1	70.0 ^{ab}	5.3	46.0 ^{b}	18.5	71.1 ^{abcde}	14.6
POZİTİF KONTROL	74.0 ^{a}		56.3 ^{a}		60.7 ^{g}	



Şekil 4.4. (a), Bakteriyofaj uygulanmayan bitkiler (Pozitif kontrol 1.tekerrür), (b), Bakteriyofaj uygulanan bitkiler (1.tekerrür), (c), Bakteriyofaj uygulanmayan bitkiler (Pozitif kontrol 1. 2. ve 3. tekerrür), (d) Bakteriyofaj uygulanan bitkiler (1. 2. ve 3.tekerrür)

On dört farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi: Bu aşamada 14 adet bakteriyofaj, 1 adet pozitif kontrol ve bir adet de negatif kontrol olmak üzere toplam 16 uygulama yapılmıştır. ANOVA istatistikî programa göre, uygulanan 14 adet bakteriyofajın 7'si pozitif kontrolle aynı grupta yer almazken 7'si pozitif kontrolle aynı grupta yer almıştır. Bu denemedeki bakteriyofajlar hastalık çıkışını %4.3–35.8 arasında baskılarken çimlenmeyi %1.3–28.2 arasında arttırmıştır. Hastalığı en iyi baskılayan bakteriyofaj %35.8'lik oranla CMN 40 kodlu bakteriyofaj olurken çimlenmeyi en fazla arttıran bakteriyofaj %28.2'lik oranla CMN 3 kodlu bakteriyofaj olmuştur. CMN 40 fajı uygulanan bitkiler şekil 4.5'te verilmiştir. Bulgular çizelge 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.5. (a), CMN 40 kodlu bakteriyofaj uygulanan domates fideleri, (b), Sağlıklı domates fidesi (c), Bakteriyel benek etmeni ile enfektelenen domates fidesi

Çizelge 4.3. On dört farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi

Fajlar	Hastalık Çıkışı Ortalaması	% Etki	Hastalık Şiddeti Ortalaması	% Etki	Çimlenme Ortalaması	% Etki
CMN 40	60.1 ^{c}	35.8	37.5 ^{d}	44.3	67.2 ^{bc}	15.4
CMN 20	73.9 ^{bc}	20.8	51.6 ^{c}	23.2	48.2 ^{e}	-17.9
CMN 2	76.8 ^{bc}	17.7	51.6 ^{c}	22.8	66.7 ^{bc}	14.7
CMN 60	76.8 ^{bc}	17.6	49.8 ^{c}	25.8	59.3 ^{cde}	4.2
CMN 6	77.9 ^{bc}	16.4	52.6 ^{c}	21.0	57.6 ^{cde}	1.3
CMN 4	78.1 ^{b}	15.8	64.7 ^{ab}	3.1	61.3 ^{cde}	7.3
CMN 3	79.3 ^{b}	14.9	51.6 ^{c}	22.9	79.2 ^{a}	28.2
CMN 21	80.3 ^{ab}	13.7	54.6 ^{bc}	18.0	62.9 ^{cd}	9.7
CMN 37	80.3 ^{ab}	13.6	52.6 ^{c}	21.9	52.2 ^{de}	-8.8
CMN 36	80.6 ^{ab}	13.3	52.0 ^{c}	21.7	64.2 ^{bcd}	11.4
CMN 12	81.1 ^{ab}	12.8	57.9 ^{abc}	14.1	75.3 ^{ab}	24.5
CMN 31	81.5 ^{ab}	12.5	55.4 ^{bc}	17.6	69.5 ^{abc}	18.2
CMN 28	84.1 ^{ab}	9.9	54.3 ^{bc}	19.1	64.8 ^{bcd}	12.3
CMN 19	89.2 ^{ab}	4.3	65.4 ^{ab}	1.8	62.4 ^{cd}	9.0
POZİTİF KONTROL	93.2 ^{a}		67.5 ^{a}		56.9 ^{cde}	

Sekiz farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi: Bu aşamada 8 adet bakteriyofaj, 1 adet pozitif kontrol ve bir adet de negatif kontrol olmak üzere toplam 10 uygulama yapılmıştır. Uygulama bulguları ANOVA istatistikî programa yüklenmiştir. ANOVA istatistikî programa göre, uygulanan 8 adet bakteriyofajın 2'si pozitif kontrolle aynı grupta yer almazken, 6 adet bakteriyofaj pozitif kontrolle aynı grupta yer almıştır. Bu denemedeki bakteriyofajlar hastalık çıkışını %1.0–50.9 arasında baskılarken çimlenmeyi arttırma noktasında olumlu bir katkı sağlamamışlardır. Hastalığı en iyi baskılayan bakteriyofaj %50.9'luk oranla CMN-

D16 kodlu bakteriyofaj olmuştur. Bu bakteriyofaj Doğankent'ten izole edilmiştir. Şekil 4.6'te CMN-D16 fajı uygulanan tohumlardan gelişen domates fideleri görülmektedir. Sonuçlar çizelge 4.4'te özetlenmiştir.

Çizelge 4.4. Sekiz farklı fajın bakteriyel benek hastalığına etkisi

Fajlar	Hastalık Çıkışı Ortalaması	% Etki	Hastalık Şiddeti Ortalaması	% Etki	Çimlenme Ortalaması	% Etki
CMN – D16	30.9 ^{b}	50.9	15.6^{c}	59.1	71.6 ^{ab}	0.0
CMN 9-a	34.2 ^{b}	45.6	18.9 ^{c}	50.5	70.4 ^{ab}	-1.7
CMN 23	47.8 ^{ab}	23.9	26.0 ^{abc}	31.9	64.6 ^{b}	-9.8
CMN 46-a	47.9 ^{ab}	23.8	23.1 ^{bc}	39.3	63.3 ^{b}	-13.2
CMN 9-b	54.5 ^{a}	13.4	31.8 ^{ab}	16.5	62.4 ^{b}	-14.9
CMN 32	59.0 ^{a}	6.2	35.9 ^{a}	5.9	67.8 ^{b}	-5.6
CMN 47	62.2 ^{a}	1.1	36.5 ^{a}	4.2	78.1 ^{a}	8.3
CMN 5	62.4 ^{a}	1.0	35.2 ^{a}	7.6	68.6 ^{b}	-4.5
POZİTİF KONTROL	63.0 ^{a}		38.1 ^{a}		71.6 ^{ab}	



Şekil 4.6. CMN D-16 kodlu bakteriyofaj uygulanan domates fideleri

Elde edilen bulguların tamamı tek tablo halinde çizelge 4.5.'te sunulmuştur. Çizelge de 47 farklı bakteriyofajın, hastalık çıkışına, hastalık şiddetine ve çimlenme gücüne % etkileri verilmiştir.

Çizelge 4.5. 47 adet fajın hastalık çıkışına, hastalık şiddetine ve çimlenmeye etkisi

	Fajlar	Has. Çıkış. % Etkisi	Has. Şid. % Etkisi	Çimlenmeye % Etkisi
1	**CMN 33**	**100.0**	**100.0**	**14.6**
2	**CMN 30**	76.4	84.0	15.3
3	**CMN 34**	65.8	68.3	21.1
4	**CMN 16**	59.6	70.0	16.6
5	**CMN 38**	58.8	66.8	6.2
6	**CMN – D16**	50.9	59.1	0.0
7	**CMN 13**	49.7	61.8	4.1
8	**CMN 24**	47.8	65.3	11.8
9	**CMN 9-a**	45.6	50.5	-1.7
10	**CMN 17**	39.1	51.4	13.4
11	**CMN 40**	35.8	44.3	15.4
12	**CMN 46-e**	34.9	43.8	13.3
13	**CMN 46-b**	32.3	41.8	3.6
14	**CMN 7**	31.0	52.2	12.1
15	**CMN 23**	23.9	31.9	-9.8
16	**CMN 46-a**	23.8	39.3	-13.2
17	**CMN 11**	20.8	19.4	16.5
18	**CMN 20**	20.8	23.2	-17.9
19	**CMN 35**	19.9	46.5	5.2
20	**CMN 2**	17.7	22.8	14.7
21	**CMN 60**	17.6	25.8	4.2
22	**CMN 46-c**	17.3	30.5	13.1
23	**CMN 15**	17.2	32.8	8.8
24	**CMN 41**	17.0	31.1	14.2
25	**CMN 14**	16.9	19.9	18.6
26	**CMN 6**	16.4	21.0	1.3
27	**CMN 4**	15.8	3.1	7.3
28	**CMN 39**	15.1	25.4	18.5
29	**CMN 3**	14.9	22.9	28.2
30	**CMN 29**	14.1	23.1	15.0
31	**CMN 21**	13.7	18.0	9.7
32	**CMN 37**	13.6	21.9	-8.8
33	**CMN 9-b**	13.4	16.5	-14.9
34	**CMN 36**	13.3	21.7	11.4
35	**CMN 10**	13.1	26.6	19.7
36	**CMN 12**	12.8	14.1	24.5
37	**CMN 31**	12.5	17.6	18.2
38	**CMN 28**	9.9	19.1	12.3
39	**CMN 25**	8.9	26.3	10.5
40	**CMN 9**	7.5	15.6	7.4
41	**CMN 27**	7.3	22.9	15.8
42	**CMN 26**	6.2	8.6	8.6
43	**CMN 32**	6.2	5.9	-5.6
44	**CMN 1**	5.3	18.5	14.6
45	**CMN 19**	4.3	1.8	9.0
46	**CMN 47**	1.1	4.2	8.3
47	**CMN 5**	1.0	7.6	-4.5

4.6. Etkili Bakteriyofajların Diğer Domates Bakteriyel Etmenlerine Etkisi

Yapılan çalışmalar sonucunda bakteriyofajlar içerisinden CMN 33 ve CMN 34 faj izolatları seçilmiştir. CMN 33 fajının seçilme nedeni hastalığı tamamen baskılaması, CMN 34 fajının seçilme nedeni ise hastalığı azaltmakla birlikte çimlenmeyi daha fazla teşvik etmesidir. Bu fajlar domateste patojen olan (*Xanthomonas vesicatoria*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pectobacterium carotovorum*, *Pseudomonas viridiflava* ve *Pseudomonas corrugata*) diğer bakteriyel izolatlara karşı petri ortamında test edilmiştir. Yapılan testlemeler sonucunda CMN 33 ve CMN 34 fajlarının petri ortamında erime (plak) oluşturmadığı gözlenmiş ve seçilen bu fajların bakteriyel benek etmenine karşı spesifik (monophage, monofaj) olduğu saptanmıştır.

4.7. Etkili Bakteriyofajların Domates Yeşil Aksamındaki ve Domates Tohumundaki Bakteri Florasına Etkisi

Fajların saprofitik floraya etkisini belirleyebilmek için fidelik, tarla ve seralardan getirilen örneklerden saprofit bakteri izolasyonu yapılmıştır. Ayrıca thiramla muamele görmüş olan ve herhangi bir uygulama yapılmamış olan domates tohumlarından da saprofit bakteri izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon sonucunda fidelikten 10, tarladan 8, seradan 1, tohumdan 9 adet olmak üzere toplamda 28 adet saprofit bakteri izole edilmiştir. Elde edilen saprofit bakterilerle CMN 33 ve CMN 34 fajları petri ortamında test edilmiştir. Değerlendirme sonucunda hiçbir petride plak veya erime alanları (zon) görülmediğinden kullanılan bakteriyofaj izolatlarının sadece *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya spesifik olduğu belirlenmiştir.

Pseudomonas syringae pv. *tomato* domateste bakteriyel benek hastalığına sebep olmaktadır. Çiçeklerdeki yoğun enfeksiyonu sonucu domateste ciddi verim kayıpları meydana getirmektedir. Bu etmen diğer bakteriyel patojenlerle karışık enfeksiyonlara da neden olabilmektedir. Örneğin yapılan bu tez çalışmasında alınan örneklerin bir kısmında hem bakteriyel benek etmeni hem de bakteriyel leke etmeni izole edilmiştir. Bu şekilde olan bitkilerde hastalık, çok daha şiddetli

şekilde görülmektedir. Güneş (2017) tarafından yapılan çalışmada, gezilen 63 seranın 16'sında bakteriyel hastalıkların olduğu, bu hastalıklar içerisinde bakteriyel benek etmeninin 11 serada sorun olduğu bildirilmiş ve arazi çalışmalarımızla elde ettiğimiz sonuçlarla paralellik göstermiştir. Ayrıca, bakteriyel benek etmeni ile öz nekrozu etmeninin 1 serada, bakteriyel benek etmeni ile gövde çürüklüğü etmeninin 2 serada karışık halde enfeksiyon oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu etmenle mücadelede ilk yapılacak iş, tohumların temiz olarak alınmasıdır. Tohum kökenli olması nedeniyle fideliklere, seralara ve tarlalara yayılmasının kontrol edilmesi gerekmektedir. Yapılan surveylerde görülmüştür ki, bakteriyel enfeksiyon çiftçilere fideliklerden yayılmıştır. Hali hazırda birçok fidelikte bu enfeksiyon sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Kullanılan bakırlı bileşikler hastalığı baskılayamadığından hem fidelikte hem de diğer üretim alanlarında patlak vermektedir. Mücadelede, sıcak su uygulamaları, hypo, bakteriyofajlar gibi uygulamalar mevcuttur.

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen bulgular, bakterilere spesifik olan bakteriyofajların (monofaj) bakterilerle mücadelede etkin rol oynayabileceğini ortaya koymuştur. Ayrıca, fajların sadece bakterileri ortamdan uzaklaştırma ile yetinmeyerek çimlenmeyi de olumlu yönde teşvik ettiği tespit edilmiştir. Bu bakteriyofajların etkisi birbirinden farklı düzeyde olmuştur. Bazı bakteriyofajlar hastalığı %60 oranında baskılarken, bazı bakteriyofajlar hastalığı %100 oranında baskılayabilmiştir. Bakteriyofajların birbirinden farklı düzeyde hastalığı baskılamasının pek çok sebebi olabilir. Bunlar; bakteriyofajların genomik yapısına, yer aldığı familyaya, morfolojik yapısına, konsantrasyonuna, hedef organizmanın duyarlılığına, bakteriyofaj ile bakterinin aynı ortamda bulunmasına, bakteriyofajların uygulanma zamanına, çalışan kişinin hassasiyetine ve ortamın temizliğine göre fajların etkinliği değişebilir.

Civerolo (1990)'ya göre bakteriyofajlarla çalışmak kolaydır ve üretim maliyetleri de düşüktür. Bu avantaj, kimyasal mücadelenin pahalı olmasından ve bakterilerin direnç kazanmasından ötürü ortaya çıkmıştır. Bunun yanında

bakteriyofajlarla çalışmak riskli ve sonuçlar itibariyle de farklılıklar arz edebilmektedir. Çalışma sonucunda elde edilen fajlar çok etkili olabileceği gibi, etkisiz de olabilir. Sadece elektron mikroskobuyla görülebilmesi ve özelliklerinin tespit edilmesi gerektiğinden gerekli alet ve donanımların olmayışı, çalışmanın seyrini de değiştirebilmektedir. Ayrıca, çalışmada kullanılan kloroform, çalışan kişinin zehirlenmesine de yol açabileceğinden çok dikkatli bir şekilde kullanılmalıdır. Bununla birlikte, bakterilerin bakteriyofajlara karşı direnç geliştirebilme durumu da belirsizliğini korumaktadır. Bir diğer risk ise bakteriyofajların konsantrasyonlarının hızlı düşüşüdür. Bu da çalışmanın istenilen şekilde veya istenilen programda ilerlemesini ciddi bir şekilde etkilemektedir. Bakteriyofajların konsantrasyonlarının korunması ile alakalı çalışmalar halen devam etmektedir. Bunların yanı sıra bakteriyofajların hedef ortamda daha uzun bir süre kalmasını sağlayacak bazı çalışmalar da yapılmıştır. Özellikle koruyucu bazı formülasyonlar geliştirilmiştir. Balogh ve ark., (2003) yaptıkları domates bakteriyel leke hastalığıyla (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) mücadelede yeni formülize edilen bakteriyofajların etkinliklerinin arttırılması çalışmasında, Casecrete (%0.5 + Casecrete NH-400 + %0.5 Sükroz + %0.25 PCF) ile uygulama gören bakteriyofajlar, Casecrete ile uygulama görmeyen bakteriyofajlara göre 1000 kat daha etkili bulunmuştur. Balogh ve ark., (2008)'nın yaptıkları turunçgil bakteriyel leke hastalığı ve turunçgil kanser hastalığının mücadelesinde bakteriyofajların etkisi çalışmasında koruyucu formülasyonların bakteriyofajları ortamdan uzaklaştırdığından ötürü etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Bu bilgiler ışığında, bakteriyofajları hedef ortamda tutmak için geliştirilen bazı koruyucu formülasyonlar bakteriyel hastalığa göre farklı seyir edebildiği söylenebilir.

Elde edilen bulgular sonucunda CMN 33 fajının hastalık çıkışını %100 baskıladığı, hastalık şiddetini %100 azalttığı, çimlenmeyi %14.6 oranında arttırdığı belirlenmiştir. CMN 34 fajının ise hastalık çıkışını %65.8 baskıladığı, hastalık şiddetini %65.3 azalttığı, çimlenmeyi %21.1 oranında arttırdığı belirlenmiştir. Uygulanan fajların, tohumdaki bakteriyel benek etmenine, tohumun çimlenme

gücüne, domateste patojen olan diğer bakterilere ve saprofit bakteri florasına etkisi incelendiğinde, CMN 33 ve CMN 34 faj izolatlarının sadece *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya spesifik olduğu ve bu yüzden biyolojik mücadelede başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Pseudomonas syringae pv. *tomato*, domateste bakteriyel benek hastalığına neden olan gram negatif, çubuk şeklinde, King B besi yerinde floresan pigment üreten bir bakteridir. Bakteri, tohumla taşınmakta ve tohum kabuğu üzerinde yıllarca yaşayabilmektedir. Tohumlar çimleneceği zaman, kabuktaki bakteriler popülasyonlarını arttırarak çimlenen kotiledon yapraklarına geçerler ve doğal açıklıklar ya da yaralardan bitki hücrelerine giriş yaparlar. Bitkinin hücreleri arasındaki boşluklarda çoğalırlar. Daha sonra virülenslik faktörü olarak koronatin toksini üreterek, domates fideleri yapraklarında kloroz ve nekroz alanları meydana getirirler. Böylece bakteri, bitkilerde hastalık meydana getirmiş olur. Bu etmenle mücadele edebilmek için bakırlı preparatlardan yararlanılmakta ise de istenilen başarı sağlanamamaktadır. Ayrıca, kalıntı sorununa neden olmakta ve kullanılan kimyasallar çevreyi kirletmektedir. Bu etmenle mücadele ederken, kalıntı sorunu oluşturmayan, çevreci olan ve çimlenmeyi teşvik eden bakteriyofajlar kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında, bakteriyofajların izolasyonu, saflaştırılması, titrajlarının arttırılması ve bakteriyel benek hastalığıyla biyolojik mücadelede kullanım olanaklarının tespiti amaçlanmıştır. Tez sonucunda, 47 adet bakteriyofaj izole edilmiş olup saflaştırılmaları ve titrajlarının arttırılma işlemleri yapılmıştır. Bakteriyel benek etmenine karşı, bakteriyofajların kullanım olanaklarını belirlemek için de tohum denemeleri kurulmuştur. Yapılan denemeler sonucunda, bakteriyofajların farklı düzeyde hastalığı baskıladığı görülmüştür. Otuz üç adet fajın %1-25 arasında, 9 adet fajın, %26-50 arasında, 3 adet fajın %51-75 arasında, 2 adet fajın %76-100 arasında hastalığı baskıladığı tespit edilmiştir. Ayrıca fajların bakteriyel benek etmenine spesifik olduğu yapılan çalışmalarla (domateste patojen olan 5 etmen ile saprofit bakterilerden 28 adet izolat kullanılarak) ortaya konulmuştur. Elde edilen veriler, bakteriyel benek hastalığı ile biyolojik mücadelede kullanılan bakteriyofajların ne kadar etkili olduğunu göstermiştir.

Bakteriyofajların tanılanması, bakteriyofajların etkili veya etkisiz olmasındaki faktörler, bakteriyofajların çimlenmeyi teşvik etmesindeki ana faktörler, bakteriyofajların hedef ortamda uzun süre kalmasını sağlayacak koruyucu formülasyonların tespit edilmesi, bakteriyofajların yeşil aksama uygulanması, bakteriyofajları, titrajları düşmeden dolapta uzun süre saklamak için koruyucu formüllerin geliştirilmesi, bakteriyofajların titrajlarının hesaplamasında yeni yöntemlerin geliştirilmesi, bakteriyofajların elektron mikroskobunda görülmesini sağlayacak yöntemlerin izahı, bakteriyofajların tarla, sera, fidelik ve iklim odasında denemeler kurularak bakteriyel hastalıklara etkisinin kıyaslanması, bakteriyofajların antibiyotikler, bakırlı bileşikler ve fiziksel uygulamalar yapılarak uygulanan yöntemlerin hangisinin daha etkili olduğunun saptanması gibi çalışmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Abak, K., 2016. Türkiye'de Domatesin Dünü, Bugünü ve Yarını. In: Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi Sayı 17 (Erciyas, M., Bağcı, A. S. Edits.) s: 8-13. Koza Yayın Dağıtım AŞ Ankara.

Addy, H. S., Askora, A., Kawasaki, T., Fujie, M., Yamada, T., 2012. Utilization of Filamentous Phage ϕRSM3 to Control Bacterial Wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. Plant Disease 96(8): 1204-1209.

Anonymus, 2016a. https://tr.wikipedia.org/wiki/Domates/. Erişim tarihi Ocak 2016.

Anonymus, 2016b. http://faostat3.fao.org/compare/E. Erişim tarihi Ocak 2016.

Aysan, Y., 1999b. Domates Bakteriyel Kara Leke Hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)'nın Tanımı, Irklarının Tespiti, Domates Tohumlarında Saptanması ve Kimyasal Savaşıma Alternatif Yöntemlerin Araştırılması Üzerine Çalışmalar. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 106 Sayfa.

Aysan, Y., Çınar, Ö., Nabizadeh-Ardekani, F., Rudolph, K., 1999a. Identification of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (PST) on Tomatoes by ELISA and PCR, and Determination of Races of PST in Turkey. Journal of Turkish Phytopathologhy 28 (1-2) 45-54.

Aysan, Y., Ülke, G., Çınar, Ö., 2002. Domates Tohumlarında *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya Karşı Tohum Uygulamaları. Türkiye I. Tohumculuk Kongresi.167-171. 11-13 Eylül, İzmir.

Aysan, Y., Saygılı, H., 2008. Domates Bakteriyel Kara Leke Hastalığı, Domates Bakteriyel Benek Hastalığı. In: Fitobakteriyoloji (Saygılı, H., Şahin, F., Aysan, Y. Edits.) 123-126. Mete Basım Matbaacılık Hizmetleri İzmir.

Aysan, Y. Çınar, Ö., 2002. Tohum Kökenli *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya Karşı Antagonistlerin Etkisi. Türkiye V. Biyolojik Mücadele Kongresi. 4-7 Eylül, Erzurum.

Azegami, K., 2013. Suppressive Effect of Bacteriophage on Bacterial Palea Browning of Rice Caused by *Pantoea ananatis*. Journal of General Plant Pathology 79(2): 145-154.

Balogh, B., Canteros, B. I., Stall, R. E., Jones, J. B., 2008. Control of Citrus Canker and Citrus Bacterial Spot with Bacteriophages. Plant Dis. 92(7): 1048-1052.

Balogh, B., Jones, J. B., Momol, M. T., Olson, S. M., Obradovıc, A., King, P., Jackson, L. E. 2003. Improved Efficacy of Newly Formulated Bacteriophages for Management of Bacterial Spot on Tomato. Plant Dis. 87: 949-954.

Benlioğlu, K., Benlioğlu, S., 1998. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya Karşı Bakır Dayanıklılığı Üzerinde Çalışmalar. 8. Türkiye Fitopatoloji Kongresi. 52-56. 21-25 Eylül Ankara.

Bhunchoth, A., Phironrit, N., Leksomboon, C., Chatchawankanphanich, O., Kotera, S., Narulita, E., Kawasaki, T., Fujie, M., Yamada, T., 2015. Isolation of *Ralstonia solanacearum*-Infecting Bacteriophages from Tomato Fields in Chang Mai, Thailand, and Their Experimental Use as Biocontrol Agents. Journal of Applied Microbiology 118(4): 1023-1033.

Chae, J. C., Hung, N. B., Yu, S. M., Lee, H. K., Lee, Y. H., 2014. Diversity of Bacteriophages Infecting *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Paddy Fields and Its Potential to Control Bacterial Leaf Blight of Rice. Journal of Microbiology and Biotechnology 24(6): 740-747.

Civerolo, 1990. Bacteriophages. In: Methods in Phytobacteriology (Klement, Z., Rudolph, K., and Sands, D. C. Edits.) 205-213. Akademia Kiado, Budapest 1990.

Çınar, Ö., 1977. Doğu Akdeniz Bölgesi Domateslerinde Görülen Bakteriyel Kara Leke Hastalığı Etmeni (*Pseudomonas tomato* Okabe)'nin Biyokimyasal Yöntemlerle Tanımı. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yıllığı 8 (4) 288-296.

Devash, Y., Okon, Y., Henis, Y., 1980. Survival of *Pseudomonas tomato* in Soil and Seeds. Phytopath. Zeitsch. 99: 175-185.

Devres, O., 2014. Geçmişten Günümüze Domatesin Yolculuğu. (http://www.gastronomi.com.tr/haberler/gecmisten-gunumuze-domatesin-yolculugu-h2184.html. Erişim tarihi 20 Nisan 2017.

Di Lallo, G., Evangelisti, M., Mancuso, F., Ferrante, P., Marcelletti, S., Tinari, A., Superti, F., Migliore, L., D'Addabbo, P., Frezza, D., Scortchini, M., Thaller, M. C., 2014. Isolation and Partial Characterization of Bacteriophages Infecting *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, Causal Agent of Kiwifruit Bacterial Canker. Journal of basic microbiology 54(11): 1210-1221.

Dömötör, D., Becsagh, P., Rakhely, G., Schneider, G., Kovacs, T., 2012. Complete Genomic Sequence of *Erwinia amylovora* Phage PhiEaH2. Jounal of Virology 86(19): 10899-10900.

FAO, 2014. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC. Erişim Tarihi 30 Nisan 2017.

Flaherty, J. E., Harbaugh, B. K., Jones, J. B., Somodi, G. C., Jackson, L. E., 2001. H-mutant Bacteriophages as a Potential Biocontrol of Bacterial Blight of Geranium. Hortscience 36(1): 98–100.

Flaherty, J. E., Jones, J. B., Harbaugh, B. K., Somodi, G. C., Jackson, L. E., 2000. Control of Bacterial Spot on Tomato in the Greenhouse and Field with H-mutant Bacteriophages. Hortscience 35(5): 882–884.

Frampton, R. A., Taylor, C., Moreno, A. V. H., Visnovsky, S. B., Petty, N. K., Pitman, A. R., Fineranan, P. C., 2014. Identification of Bacteriphages for Biocontrol of the Kiwifruit Canker Phytopathogen *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. Applied and Environmental Microbiology 80(7): 2216-2228.

Fujiwara, A., Fujisawa, M., Hamasaki, R., Kawasaki, T., Fujie, M., Yamada, T., 2011. Biocontrol of *Ralstonia solanacearum* by Treatment with Lytic Bacteriophages. Applied and Environmental Microbiology, 77(12): 4155–4162.

Geylani, E., 2004. Domateste Tohumla Taşınan Bakterilerin Tanılanması Üzerinde Çalışmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 93 s.

Gökçe, Ö., 2010. *Lactobacillus delbrueckii* Bakteriyofajı Ll-H'nin Konakçı Spektrumu. Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, 69 s.

Güneş, M., 2017. Mersin İli Erdemli İlçesinde Seralarda Yetiştirilen Domateslerde Görülen Bakteriyel Etmenlerin Tanısı ve Yaygınlığı. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 80s. Adana.

Jones, J. B., Jackson, L. E., Balogh, B., Obradovic, A., Iriarte, F. B., Momol, M. T., 2007. Bacteriophages for Plant Disease Control. Annual Review of Phytopathology. 45: 245-262.

Karaca, İ., Demir, G., 1988. Investigations on Seed Borne Bacterial Pathogens in Some Plants. Doğa-Turkish Journal of Agricultural and Foresty 12: 120-131.

Karman, M., 1971. Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler, Demelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. T. C. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, 279 s.

Kim, S. H., 1979. Dissemination of Seed Borne *Pseudomonas tomato* by transplants. Phytopathology 79: 535.

King, E. O., Ward, M. K. and Raney, D. E., 1954. Two Simple Media for the Demonstration of Pyocyanin and Fluorescin. J. Lab. Clin. Med. 44:301-307.

Lang, J. M., Gent, D. H., Schwartz, H, F., 2007. Management of *Xanthomonas* Leaf Blight of Onion with Bacteriophages and a Plant Activator. The American Phytopathological Society, Plant Disease 91(7): 871-878.

Lee, J. H., Shin, H., Ji, S., Malhotra, S., Kumar, M., Ryu, S., Heu, S., 2012. Complete Genome Sequence of Phytopathogenic *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Bacteriophage PP1. Journal of Virology 86(16): 8899-8990.

Lelliot, R. A., Stead, D. E., 1987. Media and Methods. (R. Lelliot and D. E. Stead Editors). Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. Oxford London s. 216.

Mc Carter, S. M., Jones, J. B., Gitaitis, R. D., Smitley, D. R., 1983. Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Association with Tomato Seed, Soil, Host Tissue, and Epipytic Weed Hosts in Georgia. Phytopathology 73: 1393-1398.

Obradovic, A., Jones, J. B., Momol, M. T., Balogh, B., Olson, S. M., 2004. Management of Tomato Bacterial Spot in the Field by Foliar Applications of Bacteriophages and SAR Inducers. Plant Disease 88(7): 736-740.

O'Flaherty, S., Ross, R. P., Coffey, A., 2009. Bacteriophages and Their Lysins for Elimination of Infectious Bacteria. Fems microbiol Rev, 33: 801-819.

Romero-Suarez, S., Jordan, B., Heinemann, J. A., 2012. Isolation and Characterization of Bacteriophages Infecting *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis*, the Causal Agent of Walnut Blight Disease. World Journal of Microbiolgy and Biotechnolgy 28(5): 1917–1927.

Saygılı, H., 1975. Investigation on New Bacterial Diseases of Tomatoes in Ege. The Journal of Turkish Phytopathology 4: 83-88.

Saygılı, H., Erkan, S., 1985. Bakteriyofajların İzolasyonu ve Saflaştırılması. In: Domateslerde Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Bakteriyofajlarının İzole Edilmesi ve Tanılamada Kullanılması Üzerine Araştırmalar 9-11. Bornova, İzmir 1985.

Sönmez, K., Ellialtıoğlu, Ş. Ş., 2014. Domates, Karotenoidler ve Bunları Etkileyen Faktörler Üzerine Bir İnceleme. Derim, 2014, 31 (2): 107-130.

Thomas, R. C., 1935. A Bacteriophage in Relation to Stewart's Disease of Corn. Phytopathology 25: 371- 372.

TÜİK, 2016a. (http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001). Erişim Tarihi Mayıs 2017.

TÜİK, 2016b. http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=24586#). Erişim Tarihi Mayıs 2017.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Van'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Van'da tamamladı. 2010 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünü kazandı. 2013 yılında Agromar Brand Seeds'te (Karacabey/BURSA) staj eğitimini tamamladı. 2014 yılında lisans eğitimini tamamladı. 2015 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde Bakteriyoloji dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı.

EKLER

EK-1. Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Hastalık Çıkışı Üzerine Etkisi (10 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Nov 8, 2016 4:32:27 pm
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	1754.0295394	10	175.40295394	8.5642881619	.0000 ***
Error	450.57626667	22	20.480739394		
Total	2204.6058061	32			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 20.480739394
Degrees of freedom = 22
Significance level = 5%
LSD .05 = 7.6631858428

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	Pozitif kontrol	80.09	3	a
2	CMN 26	71.343333333	3	b
3	CMN 27	70.22	3	b
4	CMN 9	70.01	3	b
5	CMN 25	69.286666667	3	b
6	CMN 10	65.84	3	bc
7	CMN 29	65.06	3	bc
8	CMN 14	63.093333333	3	bc
9	CMN 41	62.88	3	bc
10	CMN 11	60.423333333	3	c
11	CMN 17	49.78	3	d

Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Hastalık Şiddeti Üzerine Etkisi (10 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Nov 9, 2016 10:10:51 am
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P	
Main Effects	580.02602424	10	58.002602424	4.8652146406	.0010	***
Error	262.2818	22	11.9219			
Total	842.30782424	32				

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 11.9219
Degrees of freedom = 22
Significance level = 5%
LSD .05 = 5.8466793918

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	Pozitif Kontrol	48.64	3	a
2	CMN 26	45.516666667	3	ab
3	CMN 9	43.266666667	3	abc
4	CMN 11	42.12	3	bc
5	CMN 14	41.996666667	3	bc
6	CMN 27	40.98	3	bc
7	CMN 29	40.883333333	3	bc
8	CMN 25	39.92	3	bc
9	CMN 10	39.706666667	3	bc
10	CMN 41	38.32	3	c
11	CMN 17	31.133333333	3	d

Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Çimlenmeye Etkisi (10 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Nov 9, 2016 10:43:36 am
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	300.27878788	10	30.027878788	1.5973527262	.1726 ns
Error	413.5676	22	18.798527273		
Total	713.84638788	32			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 18.798527273
Degrees of freedom = 22
Significance level = 5%
LSD .05 = 7.3417307908

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	CMN 10	65.916666667	3	a
2	CMN 11	64.13	3	a
3	CMN 27	62.676666667	3	ab
4	CMN 14	62.61	3	ab
5	CMN 29	62.186666667	3	ab
6	CMN 41	61.656666667	3	ab
7	CMN 17	61.28	3	ab
8	CMN 25	59.533333333	3	ab
9	CMN 26	58.59	3	ab
10	CMN 9	57.87	3	ab
11	Pozitif Kontrol	54.59	3	b

Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Hastalık Çıkışı Üzerine Etkisi (15 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Nov 9, 2016 2:05:01 pm
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	9910.8102146	15	660.72068097	31.121455098	.0000 ***
Error	679.37253333	32	21.230391667		
Total	10590.182748	47			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 21.230391667
Degrees of freedom = 32
Significance level = 5%
LSD .05 = 7.6632005427

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	Pozitif Kontrol	59.326666667	3	a
2	CMN 1	56.793333333	3	ab
3	CMN 39	52.486666667	3	abc
4	CMN 15	51.47	3	abc
5	CMN 46-c	51.436666667	3	abc
6	CMN 35	50.33	3	bc
7	CMN 7	45.776666667	3	cd
8	CMN 46-b	45.043333333	3	cd
9	CMN 46-e	43.92	3	cd
10	CMN 24	38.413333333	3	de
11	CMN 13	37.38	3	def
12	CMN 38	33.366666667	3	ef
13	CMN 16	32.826666667	3	ef
14	CMN 34	29.843333333	3	fg
15	CMN 30	24.163333333	3	g
16	CMN 33	0	3	h

Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Hastalık Şiddeti Üzerine Etkisi (15 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Nov 10, 2016 9:15:32 am
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	6356.3439	15	423.75626	32.981835741	.0000 ***
Error	411.14146667	32	12.848170833		
Total	6767.4853667	47			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 12.848170833
Degrees of freedom = 32
Significance level = 5%
LSD .05 = 5.9614490848

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	Pozitif Kontrol	52.346666667	3	a
2	CMN 1	42.71	3	b
3	CMN 39	40.436666667	3	bc
4	CMN 46-c	38.75	3	bcd
5	CMN 15	37.993333333	3	bcd
6	CMN 46-b	34.886666667	3	cde
7	CMN 46-e	34.25	3	cde
8	CMN 35	33.28	3	def
9	CMN 7	31.263333333	3	efg
10	CMN 13	27.506666667	3	fgh
11	CMN 24	26.233333333	3	gh
12	CMN 38	25.52	3	gh
13	CMN 34	24.87	3	gh
14	CMN 16	24.18	3	h
15	CMN 30	17.28	3	i
16	CMN 33	0	3	j

Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Çimlenmeye Etkisi (15 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Nov 10, 2016 9:25:19 am
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	357.81186458	15	23.854124306	4.409273611	.0002 ***
Error	173.11966667	32	5.4099895833		
Total	530.93153125	47			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 5.4099895833
Degrees of freedom = 32
Significance level = 5%
LSD .05 = 3.8683824321

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	CMN 34	61.253333333	3	a
2	CMN 39	59.676666667	3	ab
3	CMN 16	58.576666667	3	abc
4	CMN 30	57.83	3	abcd
5	CMN 1	57.496666667	3	abcde
6	CMN 33	57.44	3	abcde
7	CMN 46-e	56.91	3	abcdef
8	CMN 46-c	56.7	3	bcdef
9	CMN 7	56.186666667	3	bcdef
10	CMN 24	56.046666667	3	bcdef
11	CMN 15	54.626666667	3	cdefg
12	CMN 38	53.55	3	defg
13	CMN 35	53.14	3	efg
14	CMN 13	52.703333333	3	fg
15	CMN 46-b	52.506666667	3	fg
16	Pozitif Kontrol	51.166666667	3	g

Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Hastalık Çıkışı Üzerine Etkisi (14 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Nov 16, 2016 4:20:38 pm
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	1177.8173244	14	84.129808889	2.2521487922	.0304 *
Error	1120.6605333	30	37.355351111		
Total	2298.4778578	44			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 37.355351111
Degrees of freedom = 30
Significance level = 5%
LSD .05 = 10.19164909

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	Pozitif Kontrol	75.183333333	3	a
2	CMN 19	71.11	3	ab
3	CMN 28	67.143333333	3	ab
4	CMN 31	64.7	3	ab
5	CMN 12	64.57	3	ab
6	CMN 37	64.16	3	ab
7	CMN 36	64.083333333	3	ab
8	CMN 21	64.08	3	ab
9	CMN 3	62.993333333	3	b
10	CMN 4	62.656666667	3	b
11	CMN 6	62.156666667	3	bc
12	CMN 2	61.463333333	3	bc
13	CMN 60	61.27	3	bc
14	CMN 20	59.783333333	3	bc
15	CMN 40	50.99	3	c

Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Hastalık Şiddeti Üzerine Etkisi (14 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Nov 16, 2016 4:46:18 pm
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	776.49276444	14	55.463768889	4.0668086431	.0006 ***
Error	409.14466667	30	13.638155556		
Total	1185.6374311	44			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 13.638155556
Degrees of freedom = 30
Significance level = 5%
LSD .05 = 6.1580877122

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	Pozitif Kontrol	55.31	3	a
2	CMN 19	54.033333333	3	ab
3	CMN 4	53.556666667	3	ab
4	CMN 12	49.56	3	abc
5	CMN 31	48.173333333	3	bc
6	CMN 21	47.623333333	3	bc
7	CMN 28	47.483333333	3	bc
8	CMN 37	46.523333333	3	c
9	CMN 6	46.52	3	c
10	CMN 36	46.143333333	3	c
11	CMN 20	46.07	3	c
12	CMN 2	45.94	3	c
13	CMN 3	45.933333333	3	c
14	CMN 60	44.866666667	3	c
15	CMN 40	37.666666667	3	d

Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Çimlenmeye Etkisi (14 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Nov 16, 2016 5:09:17 pm
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P	
Main Effects	1018.4311244	14	72.745080317	4.3143994962	.0004	***
Error	505.82993333	30	16.860997778			
Total	1524.2610578	44				

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 16.860997778
Degrees of freedom = 30
Significance level = 5%
LSD .05 = 6.8471475431

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	CMN 3	62.92	3	a
2	CMN 12	60.473333333	3	ab
3	CMN 31	56.49	3	abc
4	CMN 40	55.153333333	3	bc
5	CMN 2	54.783333333	3	bc
6	CMN 28	53.663333333	3	bcd
7	CMN 36	53.293333333	3	bcd
8	CMN 21	52.516666667	3	cd
9	CMN 19	52.223333333	3	cd
10	CMN 4	51.59	3	cde
11	CMN 60	50.416666667	3	cde
12	CMN 6	49.44	3	cde
13	Pozitif Kontrol	48.963333333	3	cde
14	CMN 37	46.293333333	3	de
15	CMN 20	43.956666667	3	e

Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Hastalık Çıkışı Üzerine Etkisi (8 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Dec 14, 2016 2:40:38 pm
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	1234.0428741	8	154.25535926	4.5899153539	.0035 **
Error	604.93413333	18	33.607451852		
Total	1838.9770074	26			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 33.607451852
Degrees of freedom = 18
Significance level = 5%
LSD .05 = 9.944480493

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	Pozitif Kontrol	52.636666667	3	a
2	CMN 5	52.216666667	3	a
3	CMN 47	52.14	3	a
4	CMN 32	50.23	3	a
5	CMN 9-b	47.57	3	a
6	CMN 46-a	43.796666667	3	ab
7	CMN 23	43.75	3	ab
8	CMN 9-a	35.536666667	3	b
9	CMN-D16	33.676666667	3	b

Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Hastalık Şiddeti Üzerine Etkisi (8 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Dec 14, 2016 2:49:29 pm
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	741.25226667	8	92.656533333	5.3197208436	.0016 **
Error	313.516	18	17.417555556		
Total	1054.7682667	26			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 17.417555556
Degrees of freedom = 18
Significance level = 5%
LSD .05 = 7.1590914458

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	Pozitif Kontrol	38.046666667	3	a
2	CMN 47	37.123333333	3	a
3	CMN 32	36.756666667	3	a
4	CMN 5	36.38	3	a
5	CMN 9-b	34.27	3	ab
6	CMN 23	30.533333333	3	abc
7	CMN 46-a	28.61	3	bc
8	CMN 9-a	25.273333333	3	c
9	CMN-D16	23.116666667	3	c

Bakteriyofajların Tohum Uygulaması Olarak Çimlenmeye Etkisi
(8 Farklı Bakteriyofaj)

ONE WAY ANOVA COMPLETELY RANDOMIZED
Dec 14, 2016 2:55:47 pm
Using: C:\DOCUME~1\BELGEL~1\ANOVAA~1\COSTAT\ÇEMEN.DT
Variable:

Source	SS	df	MS	F	P
Main Effects	233.74907407	8	29.218634259	3.1536748822	.0205 *
Error	166.76906667	18	9.2649481481		
Total	400.51814074	26			

Duncan's Multiple Range Test
Factor:
Error mean square = 9.2649481481
Degrees of freedom = 18
Significance level = 5%
LSD .05 = 5.2213860459

Rank	Trt#	Mean	n	Non-significant ranges
1	CMN 47	62.123333333	3	a
2	CMN-D16	58.066666667	3	ab
3	Pozitif Kontrol	57.82	3	ab
4	CMN 9-a	57.076666667	3	ab
5	CMN 5	55.916666667	3	b
6	CMN 32	55.46	3	b
7	CMN 23	53.523333333	3	b
8	CMN 46-a	52.703333333	3	b
9	CMN 9-b	52.196666667	3	b

EK-2. Fajların Hastalık Çıkışına Etkisi (10 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Lekeli fide	Hastalık %'si	Hastalık %'sinin Ort.	Ortalama % Etki
Pozitif kontrol	50	32	32	100.0	95.60a	
	50	34	32	94.12		
	55	41	38	92.68		
CMN 17	50	35	21	60.00	58.23d	39.11
	50	41	27	65.85		
	55	43	21	48.84		
CMN 11	50	47	35	74.47	75.56c	20.83
	50	36	26	72.22		
	55	40	32	80.00		
CMN 41	50	39	30	76.92	79.18bc	17.04
	50	39	32	82.05		
	55	42	33	78.57		
CMN 14	50	41	33	80.49	79.39bc	16.86
	50	39	29	74.36		
	55	42	35	83.33		
CMN 29	50	40	29	72.50	81.79bc	14.14
	50	40	35	87.50		
	55	41	35	85.37		
CMN 10	50	46	36	78.26	82.82bc	13.14
	50	39	31	79.49		
	55	43	39	90.70		
CMN 25	50	36	32	88.89	87.07b	8.91
	50	39	36	92.31		
	55	40	32	80.00		
CMN 9	50	37	32	86.49	88.28b	7.51
	50	36	32	88.89		
	55	38	34	89.47		
CMN 27	50	40	35	87.50	88.52b	7.28
	50	41	36	87.80		
	55	41	37	90.24		
CMN 26	50	34	31	91.18	89.66b	6.17
	50	35	32	91.43		
	55	44	38	86.36		
Negatif kontrol	50	36	0	0.00	0.00	
	50	39	0	0.00		
	55	41	0	0.00		

Fajların Hastalık Şiddetine Etkisi (10 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Tekrar	Skala Ortalaması	% Hastalık Şiddeti	% Hastalık.Şidd. Ortalaması	Ortalama % Etki
Pozitif Kontrol	1	1.57	53.00	56.33a	
	2		57.00		
	3		59.00		
CMN 17	1	0.81	18.33	27.00d	51.75
	2		29.33		
	3		33.33		
CMN 41	1	1.15	36.67	38.45c	31.57
	2		39.00		
	3		39.67		
CMN 10	1	1.23	34.67	40.89bc	27.60
	2		37.67		
	3		50.33		
CMN 25	1	1.24	35.00	41.22bc	26.47
	2		43.33		
	3		45.33		
CMN 29	1	1.29	37.33	42.89bc	23.19
	2		39.00		
	3		52.33		
CMN 27	1	1.29	42.67	43.00bc	23.51
	2		43.00		
	3		43.33		
CMN 14	1	1.34	41.67	44.78bc	20.46
	2		43.33		
	3		49.33		
CMN 11	1	1.35	39.67	45.00bc	20.24
	2		47.33		
	3		48.00		
CMN 9	1	1.41	39.33	47.00abc	16.25
	2		50.00		
	3		51.67		
CMN 26	1	1.53	44.67	50.89ab	9.71
	2		49.33		
	3		58.67		
Negatif Kontrol	1	0.00	0.00	0.00	
	2		0.00		
	3		0.00		

Fajların Çimlenmeye Etkisi (10 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Çimlenme %'si	Çimlenme Ortalaması	Çimlenmedeki artış (%)
Pozitif kontrol	50	32	64.00	66.42b	
	50	34	68.00		
	55	37	67.27		
CMN 10	50	46	92.00	82.73a	19.71
	50	39	78.00		
	55	43	78.18		
CMN 11	50	47	94.00	79.58a	16.53
	50	36	72.00		
	55	40	72.73		
CMN 27	50	41	82.00	78.85ab	15.76
	50	40	80.00		
	55	41	74.55		
CMN 14	50	41	82.00	78.79ab	18.61
	50	39	78.00		
	55	42	76.36		
CMN 29	50	40	80.00	78.18ab	15.04
	50	40	80.00		
	55	41	74.55		
CMN 41	50	39	78.00	77.45ab	14.24
	50	39	78.00		
	55	42	76.36		
CMN 17	50	35	70.00	76.73ab	13.43
	50	41	82.00		
	55	43	78.18		
CMN 25	50	36	72.00	74.24ab	10.53
	50	39	78.00		
	55	40	72.73		
CMN 26	50	34	68.00	72.67ab	8.59
	50	35	70.00		
	55	44	80.00		
CMN 9	50	37	74.00	71.70ab	7.35
	50	36	72.00		
	55	38	69.09		
Negatif kontrol	50	36	72.00	74.85	
	50	39	78.00		
	55	41	74.55		

Fajların Hastalık Çıkışına Etkisi (15 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Lekeli fide	Hastalık %'si	Hastalık %'sinin Ort.	% Etkinin Ortalaması
Pozitif kontrol	50	33	25	75.76	73.97a	
	50	37	27	72.97		
	55	41	30	73.17		
CMN 33	50	36	0	0.00	0.00h	100.00
	50	36	0	0.00		
	55	38	0	0.00		
CMN 30	50	39	5	12.82	17.40g	76.40
	50	37	4	10.81		
	55	35	10	28.57		
CMN 34	50	39	6	15.38	25.14fg	65.84
	50	39	12	30.77		
	55	41	12	29.27		
CMN 16	50	43	14	32.56	29.90ef	59.62
	50	35	6	17.14		
	54	35	14	40.00		
CMN 38	50	36	15	41.67	30.59ef	58.82
	50	29	6	20.69		
	53	34	10	29.41		
CMN 13	50	33	11	33.33	37.14def	49.73
	50	34	9	26.47		
	53	31	16	51.61		
CMN 24	50	33	12	36.36	38.61de	47.75
	50	35	14	40.00		
	54	38	15	39.47		

Fajların Hastalık Çıkışına Etkisi (15 Farklı Bakteriyofaj'ın devamı)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Lekeli fide	Hastalık %'si	Hastalık %'sinin Ort.	% Etkinin Ortalaması
CMN 46-e	50	41	19	46.34	48.12cd	34.90
	50	30	14	46.67		
	54	37	19	51.35		
CMN 46-b	50	35	19	54.29	50.11cd	32.32
	50	30	11	36.67		
	54	32	19	59.38		
CMN 7	50	35	18	51.43	51.35cd	30.56
	50	34	17	50.00		
	55	38	20	52.63		
CMN 35	50	31	18	58.06	59.24bc	19.88
	50	35	20	57.14		
	53	32	20	62.50		
CMN 46-c	50	36	20	55.56	61.11abc	17.27
	50	36	23	63.89		
	55	36	23	63.89		
CMN 15	50	34	20	58.82	61.19abc	17.21
	50	33	21	63.64		
	55	36	22	61.11		
CMN 39	50	37	23	62.16	62.78abc	15.07
	50	35	25	71.43		
	53	42	23	54.76		
CMN 1	50	36	24	66.67	69.97ab	5.32
	50	37	27	72.97		
	55	37	26	70.27		
Negatif kontrol	50	29	0	0.00	0.00	
	50	39	0	0.00		
	55	40	0	0.00		

Fajların Hastalık Şiddetine Etkisi (15 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Tekrar	Skala Değeri Ortalamaları	% Hastalık Şiddeti	% Hastalık. Şidd.Ort.	Ort. % Etki
Pozitif Kontrol	1	1.57	60.00	62.67a	
	2		63.00		
	3		65.00		
CMN 33	1	0.00	0.00	0.00j	100.00
	2		0.00		
	3		0.00		
CMN 30	1	0.27	5.40	9.09i	85.64
	2		8.54		
	3		13.33		
CMN 16	1	0.50	11.42	16.99h	73.07
	2		18.60		
	3		20.95		
CMN 34	1	0.53	12.82	17.95gh	71.57
	2		16.26		
	3		24.78		
CMN 38	1	0.56	12.64	18.79gh	70.22
	2		20.58		
	3		23.14		
CMN 24	1	0.58	18.42	19.54gh	68.82
	2		20.00		
	3		20.20		
CMN 13	1	0.65	14.70	21.67fgh	65.71
	2		20.20		
	3		30.10		
CMN 7	1	0.81	24.50	26.97efg	57.04
	2		25.71		
	3		30.70		
CMN 35	1	0.90	22.91	30.26def	51.95
	2		32.38		
	3		35.48		

Fajların Hastalık Şiddetine Etkisi (15 Farklı Bakteriyofaj'ın devamı)

Uygulamalar	Tekrar	Skala Değeri Ortalamaları	% Hastalık Şiddeti	% Hastalaık Şidd.Ort.	Ort. % Etki
CMN 7	1	0.81	24.50	26.97efg	57.04
	2		25.71		
	3		30.70		
CMN 35	1	0.90	22.91	30.26def	51.95
	2		32.38		
	3		35.48		
CMN 46-e	1	0.95	26.66	31.74cde	49.45
	2		32.52		
	3		36.03		
CMN 46-b	1	0.98	22.22	32.98cde	47.71
	2		37.14		
	3		39.58		
CMN 15	1	1.13	35.29	37.91bcd	39.56
	2		37.03		
	3		41.41		
CMN 46-c	1	1.17	36.11	39.19bcd	37.53
	2		38.88		
	3		42.59		
CMN 39	1	1.26	37.30	42.10bc	32.95
	2		42.34		
	3		46.66		
CMN 1	1	1.37	39.66	46.03b	26.79
	2		42.59		
	3		55.85		
Negatif kontrol	1	0.00	0.00		
	2		0.00		
	3		0.00		

Fajların Çimlenmeye Etkisi (15 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Çimlenme %'si	Çimlenme Ortalaması	Çimlenmedeki artış (%)
Pozitif Kontrol	50	29	58.00	60.67g	
	50	32	64.00		
	55	33	60.00		
CMN 34	50	39	78.00	76.85a	21.06
	50	39	78.00		
	55	41	74.55		
CMN 39	50	37	74.00	74.42ab	18.48
	50	35	70.00		
	53	42	79.25		
CMN 16	50	35	70.00	72.73abc	16.58
	50	35	70.00		
	55	43	78.18		
CMN 30	50	35	70.00	71.64abcd	15.31
	50	37	74.00		
	55	39	70.91		
CMN 1	50	36	72.00	71.09abcde	14.66
	50	37	74.00		
	55	37	67.27		
CMN 33	50	36	72.00	71.03abcde	14.59
	50	36	72.00		
	55	38	69.09		
CMN 46-e	50	30	60.00	69.98abcdef	13.30
	50	37	74.00		
	54	41	75.93		
CMN 46-c	50	36	72.00	69.82bcdef	13.11
	50	36	72.00		
	55	36	65.45		
CMN 7	50	34	68.00	69.03bcdef	12.12
	50	35	70.00		
	55	38	69.09		

Fajların Çimlenmeye Etkisi (15 Farklı Bakteriyofaj'ın devamı)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Çimlenme %'si	Çimlenme Ortalaması	Çimlenmedeki artış (%)
CMN 24	50	33	66.00	68.79bcdef	11.81
	50	35	70.00		
	54	38	70.37		
CMN 15	50	33	66.00	66.48cdefg	8.75
	50	34	68.00		
	55	36	65.45		
CMN 38	50	29	58.00	64.64defg	6.15
	50	34	68.00		
	53	36	67.92		
CMN 35	50	31	62.00	64.01efg	5.23
	50	32	64.00		
	53	35	66.04		
CMN 13	50	31	62.00	63.27fg	4.12
	50	33	66. 00		
	55	34	61.82		
CMN 46-b	50	30	60.00	62.94fg	3.61
	50	32	64.00		
	54	35	64.81		
Negatif Kontrol	50	29	58.00	69.58	
	50	39	78.00		
	55	40	72.73		

Fajların Hastalık Çıkışına Etkisi (14 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Lekeli fide	Hastalık %'si	Hastalık %'sinin Ort.	Ortalama % Etki
Pozitif kontrol	50	26	24	92.31	93.20a	
	50	32	29	90.63		
	50	30	29	96.67		
CMN 40	50	34	17	50.00	60.06c	35.79
	50	29	16	55.17		
	53	40	30	75.00		
CMN 20	50	20	12	60.00	73.89bc	20.86
	50	24	18	75.00		
	53	30	26	86.67		
CMN 2	50	35	25	71.43	76.83bc	17.68
	50	30	22	73.33		
	50	35	30	85.71		
CMN 60	50	29	21	72.41	76.79bc	17.63
	50	34	26	76.47		
	52	27	22	81.48		
CMN 6	50	26	18	69.23	77.91bc	16.38
	50	34	28	82.35		
	53	28	23	82.14		
CMN 4	50	28	24	85.71	78.11b	15.84
	50	34	29	85.29		
	55	30	19	63.33		
CMN 3	50	39	30	76.92	79.33b	14.87
	50	42	33	78.57		
	53	40	33	82.50		
CMN 21	50	34	25	73.53	80.32ab	13.65
	50	30	27	90.00		
	50	31	24	77.42		

Fajların Hastalık Çıkışına Etkisi (14 Farklı Bakteriyofaj'ın devamı)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Lekeli fide	Hastalık %'si	Hastalık %'sinin Ort.	Ortalama % Etki
CMN 37	50	30	27	90.00	80.26ab	13.62
	50	22	18	81.82		
	55	29	20	68.97		
CMN 36	50	36	29	80.56	80.62ab	13.29
	50	31	27	87.10		
	53	31	23	74.19		
CMN 12	50	38	34	89.47	81.05ab	12.84
	50	42	34	80.95		
	50	33	24	72.73		
CMN 31	50	34	30	88.24	81.46ab	12.50
	50	36	28	77.78		
	54	37	29	78.38		
CMN 28	50	34	28	82.35	84.12ab	9.88
	50	34	26	76.47		
	53	31	29	93.55		
CMN 19	50	30	26	86.67	89.21ab	4.31
	50	30	26	86.67		
	52	35	33	94.29		
Negatif kontrol	50	36	0	0.00	0.00	
	50	38	0	0.00		
	55	41	0	0.00		

Fajların Hastalık Şiddetine Etkisi (14 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Tekrar	Skala Ortalaması	% Hastalık Şiddeti	% Hast. şidd.Ort.	Ort. % Etki
Pozitif Kontrol	1	2.02	73.07	67.48a	
	2		59.37		
	3		70.00		
CMN 40	1	1.12	32.35	37.45d	44.31
	2		33.33		
	3		46.66		
CMN 60	1	1.49	49.42	49.77c	25.80
	2		48.03		
	3		51.85		
CMN 20	1	1.54	48.33	51.57c	23.15
	2		48.61		
	3		57.77		
CMN 3	1	1.54	56.66	51.63c	22.86
	2		52.99		
	3		45.23		
CMN 2	1	1.55	46.66	51.64c	22.81
	2		51.11		
	3		57.14		
CMN 36	1	1.55	46.29	51.99c	21.71
	2		58.06		
	3		51.61		
CMN 6	1	1.57	42.30	52.64c	20.97
	2		54.90		
	3		60.71		
CMN 37	1	1,58	60.00	52.63c	21.88
	2		48.48		
	3		49.42		
	2		0.00		

Fajların Hastalık Şiddetine Etkisi (14 Farklı Bakteriyofaj'ın devamı)

Uygulamalar	Tekrar	Skala Ortalaması	% Hastalık Şiddeti	% Hast. şidd.Ort.	Ort. % Etki
CMN 28	1	1.62	53.92	54.32bc	19.13
	2		50.98		
	3		58.06		
CMN 21	1	1.63	50.98	54.55bc	17.97
	2		60.00		
	3		52.68		
CMN 31	1	1.66	66.66	55.43bc	17.56
	2		53.70		
	3		45.94		
CMN 12	1	1.73	64.91	57.88abc	14.08
	2		53.17		
	3		55.55		
CMN 4	1	1.94	61.90	64.70ab	3.12
	2		66.66		
	3		65.55		
CMN 19	1	1.96	58.88	65.44ab	1.81
	2		68.88		
	3		68.57		
Negatif Kontrol	1	0.00	0.00	0.00	
	2		0.00		
	3		0.00		

Fajların Çimlenmeye Etkisi (14 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Çimlenme %'si	Çimlenme Ortalaması	Çimlenmedeki artış (%)
Pozitif kontrol	50	26	52.00	56.85cde	
	50	32	64.00		
	55	30	54.55		
CMN 3	50	39	78.00	79.16a	28.18
	50	42	84.00		
	53	40	75.47		
CMN 12	50	38	76.00	75.33ab	24.54
	50	42	84.00		
	50	33	66.00		
CMN 31	50	34	68.00	69.51abc	18.21
	50	36	72.00		
	54	37	68.52		
CMN 40	50	34	68.00	67.16bc	15.35
	50	29	58.00		
	53	40	75.47		
CMN 2	50	35	70.00	66.67bc	14.73
	50	30	60.00		
	50	35	70.00		
CMN 28	50	34	68.00	64.83bcd	12.31
	50	34	68.00		
	53	31	58.49		
CMN 36	50	36	72.00	64.16bcd	11.40
	50	31	62.00		
	53	31	58.49		
CMN 21	50	34	68.00	62.93cd	9.66
	50	30	60.00		
	51	31	60.78		
CMN 19	50	30	60.00	62.44cd	8.95
	50	30	60.00		
	52	35	67.31		

Fajların Çimlenmeye Etkisi (14 Farklı Bakteriyofaj'ın devamı)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Çimlenme %'si	Çimlenme Ortalaması	Çimlenmedeki artış (%)
CMN 4	50	28	56.00	61.33cde	7.31
	50	34	68.00		
	50	30	60.00		
CMN 60	50	29	58.00	59.31cde	4.15
	50	34	68.00		
	52	27	51.92		
CMN 6	50	26	52.00	57.61cde	1.32
	50	34	68.00		
	53	28	52.83		
CMN 37	50	30	60.00	52.24de	-8.82
	50	22	44.00		
	55	29	52.73		
20-TA	50	20	40.00	48.20e	-17.94
	50	24	48.00		
	53	30	56.60		
Negatif kontrol	50	36	72.00	74.85	
	50	39	78.00		
	55	41	74.55		

Fajların Hastalık Çıkışına Etkisi (8 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Lekeli fide	Hastalık %'si	Hastalık %'sinin Ort.	Ortalama % Etki
Pozitif Kontrol	50	36	26	72.22	62.89a	
	50	36	17	47.22		
	55	39	27	69.23		
CMN-D16	50	41	14	34.15	30.90b	50.86
	50	31	11	35.48		
	55	39	9	23.08		
CMN 9-a	50	37	12	32.43	34.21b	45.61
	50	35	17	48.57		
	55	37	8	21.62		
CMN 23	50	31	14	45.16	47.83ab	23.95
	50	35	20	57.14		
	55	34	14	41.18		
CMN 46-a	50	31	16	51.61	47.95ab	23.75
	50	33	12	36.36		
	55	34	19	55.88		
CMN 9-b	50	30	18	60.00	54.45a	13.42
	50	29	17	58.62		
	55	38	17	44.74		
CMN 32	50	33	19	57.58	59.01a	6.18
	50	36	19	52.78		
	55	36	24	66.67		
CMN 47	50	39	28	71.79	62.19a	1.12
	50	40	24	60.00		
	55	42	23	54.76		
CMN 5	50	35	24	68.57	62.35a	0.85
	50	36	19	52.78		
	55	35	23	65.71		

Fajların Hastalık Şiddetine Etkisi (8 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Tekrar	Skala Ortalaması	% Hastalık Şiddeti	% Hastalık Şidd.Ort.	Ort. % Etki
Pozitif Kontrol	1	1.14	39.31	38.10a	
	2		29.62		
	3		45.37		
CMN-D16	1	0.463	19.51	15.58c	59.11
	2		11.11		
	3		16. 12		
CMN 9-a	1	0.56	14.41	18.86c	50.49
	2		30.47		
	3		11.71		
CMN 46-a	1	0.69	25.80	23.14bc	39.27
	2		16.16		
	3		27.45		
CMN 23	1	0.77	26.88	25.97abc	31.85
	2		31.42		
	3		19.60		
CMN 9-b	1	0.95	31.11	31.80ab	16.54
	2		37.93		
	3		26.35		
CMN 5	1	1.05	36.19	35.20a	7.61
	2		37.03		
	3		32.38		
CMN 32	1	1.07	35.35	35.86a	5.89
	2		31.48		
	3		40.74		
CMN 47	1	1.09	40.17	36.51a	4.17
	2		40.00		
	3		29.36		

Fajların Çimlenmeye Etkisi (8 Farklı Bakteriyofaj)

Uygulamalar	Ekilen Tohum	Çimlenen Tohum	Çimlenme %'si	Çimlenme Ortalaması	Çimlenmedeki artış (%)
Pozitif kontrol	50	36	72.00	71.64ab	
	50	36	72.00		
	55	39	70.91		
CMN 47	50	39	78.00	78.12a	8.30
	50	40	80.00		
	55	42	76.36		
CMN D16	50	41	82.00	71.64ab	0.00
	50	31	62.00		
	55	39	70.91		
CMN 9-a	50	37	74.00	70.42ab	-1.72
	50	35	70.00		
	55	37	67.27		
CMN 5	50	35	70.00	68.55b	-4.51
	50	36	72.00		
	55	35	63.64		
CMN 32	50	33	66.00	67.82b	-5.63
	50	36	72.00		
	55	36	65.45		
CMN 23	50	31	62.00	64.61b	-9.81
	50	35	70.00		
	55	34	61.82		
CMN 46-a	50	31	62.00	63.27b	-13.22
	50	33	66.00		
	55	34	61.82		
CMN 9-b	50	30	60.00	62.36b	-14.87
	50	29	58.00		
	55	38	69.09		