



Effectiveness of Boron Formulations against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Tomato Seeds[#]

Ayşegül Gür^{1,a}, Kubilay Kurtulus Bastas^{1,b,*}, Şaban Kordali^{2,c}, Ferah Yılmaz^{2,d}

¹Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Selçuk University 42130 Konya, Turkey

²Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Muğla Sıtkı Kocman University, 48000 Fethiye, Turkey

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>[#]This study was presented as an online presentation at the 2nd International Journal of Agriculture - Food Science and Technology (TURJAF 2021) Gazimağusa/Cyprus</p> <p>Research Article</p> <p>Received : 30/11/2021 Accepted : 28/12/2021</p> <p>Keywords: Tomato Bacterial speck Boron Seed Control</p>	<p><i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>, the bacterial agent for tomato speck disease, can cause serious epidemics with high leaf moisture, mild temperatures, and cultural practices allowing bacterial dissemination among host plants. Boron is an essential micro-nutrient for plant growth and health in agricultural production. In this study, the effectiveness of 14 different Boron compounds at 5 different doses (1, 5, 10, 20 and 40 mM) against <i>P. s. pv. tomato</i> at a concentration of 10⁸ CFU ml⁻¹ <i>in vitro</i> was evaluated and the most successful 4 different Boron compounds (Ammonium tetrafluoroborate, Sodium tetrafluoroborate, Zinc borate and Disodium octaborate tetrahydrate) were coated with 5 mM doses infected cv. H2274 tomato seeds to determine bacterial populations and seed emergence rates in the seeds. Among the 14 different Boron compounds used in the experiments, Disodium octaborate tetrahydrate was the most successful active ingredient 92% ratio in inhibiting <i>P. s. pv. tomato</i> populations in tomato seeds, while 39% success was achieved with sodium tetrafluoroborate applications. According to the results of the research, it is thought that some Boron compounds can be an economical, effective and environmentally friendly chemical in reducing <i>P. s. pv. tomato</i> in tomato seeds within the scope of good agricultural practices.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 9(sp): 2498-2505, 2021

Domates Tohumlarında *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya Karşı Farklı Bor Bileşiklerinin Etkililikleri

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p>Araştırma Makalesi</p> <p>Geliş : 30/11/2021 Kabul : 28/12/2021</p> <p>Anahtar Kelimeler: Domates Bakteriyel benek Bor Tohum Mücadele</p>	<p>Domates bakteriyel benek hastalığına neden olan <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>, yüksek yaprak nemi, ılıman sıcaklıklar ve bakterilerin konukçu bitkiler arasında yayılmasına neden olan kültürel uygulamalarla ciddi epidemilere neden olabilmektedir. Bor, tarımsal üretimde bitki gelişimi ve sağlığı için gerekli bir mikro besin elementidir. Bu çalışmada, 5 farklı dozda (1, 5, 10, 20 ve 40 mM) 14 farklı Bor bileşiğinin <i>in vitro</i> koşullarda 10⁸ hücre ml⁻¹ yoğunluktaki <i>P. s. pv. tomato</i>'ya karşı etkinliği değerlendirilmiş ve en başarılı bulunan 4 farklı Bor bileşiğinin (amonyum tetrafloroborat, sodyum tetrafloroborat, çinko borat ve disodyum oktaborat tetrahidrat) 5 mM dozları ile patojen enfekteli H2274 çeşidi domates tohumları kaplanarak tohumlardaki bakteriyel popülasyonlar ve tohum çıkış oranları belirlenmiştir. Denemelerde kullanılan 14 farklı Bor bileşiği arasında, domates tohumlarında <i>P. s. pv. tomato</i> popülasyonlarını engellemeye %92 oranında disodyum oktaborat tetrahidrat en başarılı etken madde olurken, sodyum tetrafloroborat uygulamaları ile %39 oranında başarı elde edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre bazı Bor bileşiklerinin iyi tarım uygulamaları kapsamında, domates tohumlarında <i>P. s. pv. tomato</i>'yu azaltmada ekonomik, etkin ve çevre dostu bir kimyasal olabileceği düşünülmektedir.</p>

^a aysegul.geduk@selcuk.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0003-0299-1701>

^b kbastas@selcuk.edu.tr

^d <https://orcid.org/0000-0002-2367-1849>

^c sabankordali@mu.edu.tr

^c <https://orcid.org/0000-0001-5669-5831>

^d yferah@mu.edu.tr

^d <https://orcid.org/0000-0003-0954-7478>



Giriş

Domates (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae), ülkemizde ve dünyada en fazla yetiştirilen sebze türleri içerisinde yer almaktadır (Wang ve ark., 2017; Tahamolkonan ve ark., 2021). Yağ ve kalorisi düşük olan domates, insan sağlığına faydalı vitaminler, β -karoten, likopen, flavonoidler, organik asitler ve klorofil gibi doğal besin kaynağı ve biyoaktif antioksidan bileşikler açısından oldukça zengindir (Quinet ve ark., 2019). Dünyada 182 milyon ton domates üretilmektedir ve Çin 59,6 milyon tonluk üretimi ile ilk sırada yer alırken, ülkemiz 12.75 milyon ton ile dünyada 3. sırada yer almaktadır. Türkiye sebze üretimi içerisinde de ilk sırada bulunan domates üretimi 2001-2017 yılları arasında %51.33 oranında artış göstermiştir (FAO, 2020).

Domates tohumları ile taşınan, dünya genelinde verim ve kaliteyi etkileyen yaygın bakteriyel etmenler, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas vesicatoria* ve *Pseudomonas corrugata*'dır. Bu patojenlerle enfekteli tohumlar ekildiğinde çevresel koşulların da uygun olması durumunda epidemiler neden olarak önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Aysan ve Saygılı, 2019).

Bakteriyel benek hastalığına neden olan *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, domates üretiminde sorun olan en önemli bakteriyel hastalıklar içerisinde yer almaktadır (Yunis ve ark., 1980; Shanin, 2001; Jones ve ark., 2014). Yaklaşık 20 yıl kadar tohum yüzeyinde canlılığını sürdürebilen etmen, ülkemizde 1970'li yıllardan sonra sorun oluşturmaya başlamıştır (Bashan, 1982; Aysan ve ark., 1995). *Pst*, domates bitkilerinin yaprak, gövde ve meyve gibi tüm toprak üstü aksamında nekrotik lezyonlara neden olarak %12-23'e kadar varan verim kaybına neden olabilmektedir (Aysan ve ark., 2005). Hastalığın mücadelesinde kullanılan bakırlı preparatlar, etmende dayanıklılık oluşumu ve bitkide fitotoksosite etkilerin yanı sıra insan ve çevre sağlığı açısından da önemli sorunlara neden olmaktadır.

Bakteriyel hastalıkların mücadelesinde kullanılan kimyasallara karşı patojende oluşan dayanıklılık sorunu ve bu kimyasalların çevre ve insan sağlığına verebileceği olası zararlardan dolayı hastalık yönetiminde farklı stratejiler geliştirilmesi gerekmektedir. Bazı bitki besin elementleri, patojen üzerinde doğrudan etkiye sahipken, bazıları ise bitkinin dayanıklılık sistemini aktive ederek koruma sağlamaktadır (Reuveni ve Reuveni, 1998).

Mikro besin elementleri, bitki büyümesinde ve kalitesinde doğrudan veya dolaylı olarak rol oynayabilmektedir (Goldbachve Wimmer, 2007; Camacho-Cristobal ve ark., 2008; Xu ve ark., 2021). Bor, bitkiler tarafından BO_3^{3-} şeklinde alınır (Shelp ve ark., 1995) ve karbonhidrat metabolizması, hücre bölünmesi ve hücre duvarı yapısının korunması, çiçeklenme ve meyve tutumunda rol oynayan en önemli mikro besin elementlerinden biridir (Gupta ve Solanki, 2003). Diğer mikrobeseinlere kıyasla son derece düşük hareketliliğe sahip olan Bor, ksilem ve floemde taşınabilmektedir (Xu ve ark., 2021). Bitkiler için temel bir mikro besin maddesi olmasına rağmen, düşük konsantrasyonlarda kullanılması gerekmektedir (Nable ve ark., 1997). Fazlası bitkilerde biyokimyasal, fizyolojik ve anatomik bozukluklara neden

olabilmektedir. Bu nedenle bitkilerdeki fazla miktar bulunan bor, Bor1 ve Bor4 membranefluX proteinleri ile bitki bünyesinden atılmaktadır (Miwa ve ark., 2009).

Bor, birçok olumlu özelliği nedeni ile son yıllarda giderek dikkat çekmektedir. Dünya Bor rezervlerinin %73'üne sahip olan Türkiye 953.300.000 ton bor (B_2O_3) rezervi ile dünyada ilk sırada yer almaktadır (Erper ve ark., 2019). Doğada yaklaşık 230 çeşit Bor minerali bulunmaktadır. Dünya ve özellikle Türkiye için stratejik öneme sahip olan Bor, geniş kullanım alanına sahiptir. Özellikle ülkemizde cam ve cam elyafı, deterjan, tekstil, tarım, metalürji ve kimya sanayisi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Anonim, 2020).

Domatesin verim ve kalitesinin iyileştirilmesinde rol oynamasının yanı sıra çeşitli hastalıkların ve fizyolojik bozuklukların kontrol altına alınmasını da sağlamaktadır (Salam ve ark., 2011). Demoranville ve Deubert (1987), domatesin meyve şekli, verim ve raf ömrünün Bor noksanlığından etkilendiğini bildirmişlerdir.

Erper ve ark. (2019)'na göre, bazı Bor bileşiklerinin koruyucu ve antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Bor bileşiklerinin, mikroorganizmalardaki protein sentezini ve serin-proteaz, β -laktamaz ve amino-açıl tRNA sentetaz enzimlerinin aktivitelerini bozduğuna inanılmaktadır (Sayın ve ark., 2016). Aynı zamanda antimikrobiyal aktivitenin oluşumundan sorumlu olan Quorum Sensing mekanizmasında görev almaktadır (Yılmaz, 2012).

Bu çalışmada, domateste önemli kayıplara neden olan *Pst*'nin neden olduğu bakteriyel benek hastalığına karşı 14 farklı Bor bileşiminin etkililiği *in vitro*'da araştırılmış, yüksek etkiye sahip olduğu belirlenen bileşiklerin ise enfekteli tohumlarda *Pst*'yi önleme düzeyleri tespit edilmiştir. Bu çalışma ile farklı Bor bileşikleri ilk kez domates tohumlarında bakteriyel benek hastalığının mücadelesinde kullanılmış, etkili olan formülasyonların çevre dostu ve sürdürülebilir tarım uygulamaları içerisinde kullanımı amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Araştırmada, *Pst*'ya karşı hassas olarak bilinen H2274 domates çeşidi tohumları kullanılmıştır. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst AF2) kodlu izolatu Selçuk Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Moleküler Bakterioloji Laboratuvarı Kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Denemede kullanılan 14 farklı bor bileşikleri Prof. Dr. Şaban Kordali ve Dr. Öğretim Üyesi Ferah Yılmaz'dan (Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi) temin edilmiştir. Bor bileşikleri ve kullanım dozları Çizelge 1'de verilmiştir.

Metot

In vitro denemeler

Nutrient Agar (NA) besiyerine Bor bileşikleri eklenerek pH değeri 7,0'a ayarlanıp otoklav edilmiştir (Çizelge 1). NA besiyerinde geliştirilen *Pst*'nin 48 saatlik taze kültürlerinden hazırlanan 10^8 hücre ml^{-1} yoğunluğundaki bakteriyel süspansiyonlar (Eppendorph Bioplus, OD660: 0,15), farklı bor bileşikleri içeren NA

besiyerlerine yayılarak ekimleri yapılmıştır. Petriler, 28°C’de 48-72 saat inkübe edildikten sonra besiyerlerinde gelişen koloniler sayılarak bakteriyel popülasyon yoğunlukları Klement ve ark. (1990)’na göre belirlenmiştir. Buna göre popülasyon yoğunlukları;

$$\text{Bakteri hücre sayısı (ml)} = \text{KS} \times \text{ÖSS} \times 10$$

KS = koloni sayısı

ÖSS = örneğin seyreltme serisi

Besiyerlerinde bakteriyel gelişim olmayan en düşük dozlar minimum engelleme dozu (MIC) olarak kabul edilmiştir. Bakteriyel popülasyon sayımları 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

Tohum denemeleri

In vitro denemelerde popülasyon yoğunluğu önleme ya da azaltmada başarılı olarak belirlenen 4 farklı Bor bileşiği (Amonyum tetrafloroborat, Sodyum tetrafloroborat, Çinko Borat, Etidot-67 (Di- sodium Octoborate Tetrahydrate)) tohum denemelerinde kullanılmıştır.

İnokulasyondan önce H2274 çeşidi domates tohumları %1’lik sodyum hipoklorit ile sterilize edilip laminar kabinde kurutulmuştur. NA’ da geliştirilen 48 saatlik *Pst*’nin taze kültürlerinden 10^8 hücre ml^{-1} yoğunlukta hazırlanan süspansiyona H2274 domates çeşidine ait tohumlar (yaklaşık 1000 adet tohum) eklenerek 30 dk boyunca 120 rpm’de çalkalanmıştır. Ardından gece boyunca laminar kabinde kurutulmuştur (Mirik ve Aysan, 2005). *In vitro*’da en başarılı sonuçları veren Bor bileşiklerinin MIC değerlerine göre, steril distile su içerisine tohumlar ile birlikte eklenerek 30 dk boyunca 120 rpm’de çalkalanmıştır. Bakteriyel popülasyonların ortam koşullarından etkilenmemesi amacıyla iki gün süresince %70 nispi rutubet içeren ortamda kurutulmuş tohumlardan re-izolasyonlar yapılmış, 10^{-3} oranında seyreltilen son süspansiyonlar petrilere yayılmıştır (Koch, 1884). Petriler, 25°C’ de 24-48 saat inkübe edilerek, gelişen bakteriyel popülasyon yoğunlukları Klement ve ark. (1990)’na göre belirlenmiştir. Etmenin biyokimyasal, morfolojik, fizyolojik ve moleküler tanısı Schaad ve ark. (2001)’na göre yapılmıştır (Çizelge 5). Etmenin moleküler tanısında MM5F-MM5R primerleri (5’-GAACGAGCTGAAGGA AGACA-3’ ve (5’-CAGCCTGGTTAGTCTGGTTA-3’)

kullanılmıştır (Zaccardelli ve ark., 2005). Elde edilen PCR ürünleri, elektroforeze tabi tutularak görüntüleme cihazında (Prizma) değerlendirilmiştir (Russell ve Sambrook, 2001).

Tohum çıkış oranları

Bor bileşikleri ve *Pst* ile birlikte muamele edilen domates tohumlarından 30’ar adet tohum petri ve viyollere ekilerek çıkış oranları belirlenmiştir. Ayrıca steril distile su uygulanmış kontrol bitkiler de aynı miktarlarda işleme tabi tutulmuşlardır.

İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen veriler MINITAB ver. 14 programı kullanılarak varyans analizleri ve istatistiki değerlendirmeler ise MSTAT programında Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanarak kimyasalların hastalık etmeni ile olan interaksiyonları belirlenmiştir (Düzgüneş ve ark., 1987).

Sonuçlar

Yürütülen çalışmada, domates bitkisinin verim ve kalitesini önemli düzeyde etkileyen, tohum ile taşınan bakteriyel hastalık etmenlerinden biri olan *Pst*’ye karşı 14 farklı bor bileşiklerinin *in vitro*’da bakteri popülasyonlarına etkileri ve patojenin gelişimini engellemedeki MIC değerleri belirlenmiştir. Aynı zamanda kullanılan Bor bileşiklerinin enfekteli domates tohumlarında etmene karşı etki düzeyleri belirlenmiştir.

In vitro Çalışmalar

Bu çalışmada, Bor bileşiklerinin 5 farklı dozu kullanılarak *Pst*’nin NA besiyerinde belirlenen bakteriyel popülasyon yoğunlukları ve MIC değerleri Çizelge 2’de verilmiştir. Buna göre en başarılı bor bileşikleri 5 mM kullanım dozları ile Amonyum tetrafloroborat, Sodyum tetrafloroborat, Çinko Borat, Etidot-67 (Di- sodium Octoborate Tetrahydrate)’dir. Borik asit, Sodyum Perborate Monohydrate ve Colamite bileşiklerinin 40 mM dozunda bile bakteriyel gelişimin engellenmediği belirlenmiştir. *In vitro*’da *Pst* popülasyonlarını belirlemede en başarılı 4 Bor bileşiği ve bunlara ait MIC değerlerine göre tohum denemelerinde kullanılmıştır.

Çizelge 1. Denemede kullanılan bor bileşikleri ve kullanım dozları

Table 1. Boron compounds used in the experiment and their doses

No	Bor bileşikleri	Kullanım dozları (Besi yeri (L) g^{-1})				
		1mM	5 mM	10 mM	20mM	40mM
1	Borik Asit	0,06	0,30	0,61	1,23	2,47
2	Sodiumtetra boratedecahdrate (Boraks)	0,38	1,90	3,81	7,62	15,25
3	Amonyum tetrafloroborat	0,10	0,52	1,04	2,09	4,19
4	Sodyum tetrafloroborat	0,11	0,54	1,09	2,19	4,39
5	Çinko Borat	0,31	1,56	3,13	6,27	12,55
6	Amonyum Pentaborat Tetrahydrate	0,27	1,36	2,72	5,44	10,88
7	Sodyum MetaboratTetrahydrate	0,13	0,68	1,37	2,75	5,51
8	Kalsium Meta Borate	0,11	0,80	1,61	3,23	6,46
9	Sodium PerborateMonohydrate	0,09	0,49	0,99	1,99	3,99
10	SodyumTetraborat	0,20	1,00	2,01	4,02	8,04
11	PotassiumTetrafluoroborate	0,12	0,62	1,25	2,51	5,03
12	Etidot-67 (Di-sodium Octoborate Tetrahydrate)	0,41	2,06	4,12	8,25	16,50
13	Colamite (Col)	0,20	1,02	2,05	4,11	8,22
14	Öğütülmüş üleksit	0,40	2,02	4,05	8,10	16,20

Çizelge 2. Farklı Bor bileşiklerinin bakteri popülasyonları üzerindeki etkileri ve MIC değerleri ($\times 10^6$)

Table 2. Effects of different Boron compounds on bacterial populations and MIC values

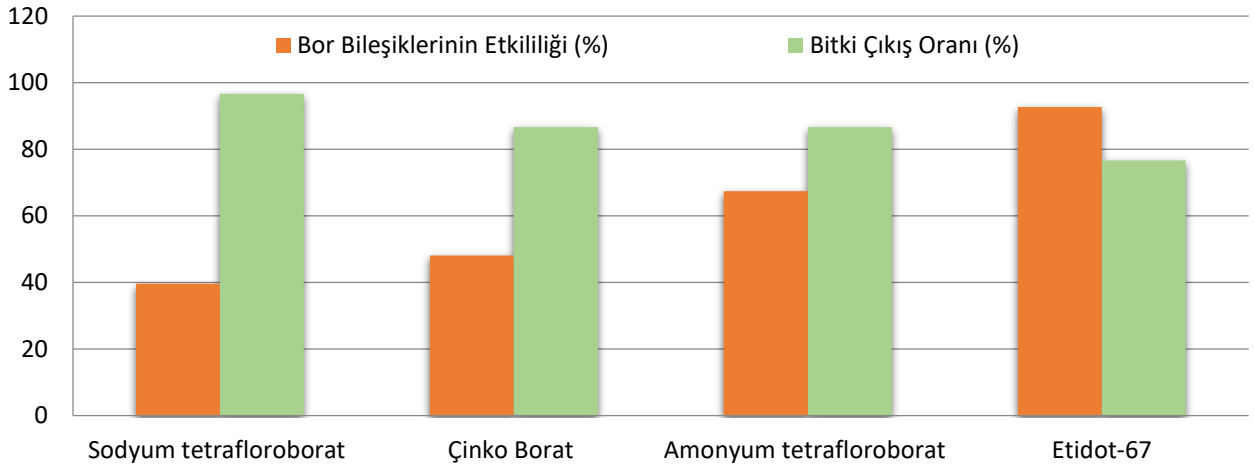
No	Bor bileşikleri	Kullanım dozları (1Lbesi yeri/g)					MIC değerleri (mM)
		1mM	5 mM	10 mM	20 mM	40mM	
K	Kontrol	1,30 ^{abcde}	0,67 ^{efghijkl}	1,69 ^{abcd}	2,02 ^{ab}	1,80 ^{abc}	-
1	Borik Asit	0,7 ^{efghijkl}	0,37 ^{hijkl}	1,66 ^{abcd}	1,27 ^{abcde}	1,08 ^{cdefghijk}	>40
2	Sodyum tetraborate decahydrate (Boraks)	1,40 ^{abcde}	0,55 ^{efghijkl}	-	-	-*	10
3	Amonyum tetrafloroborat	0,87 ^{defghijkl}	-	-	-	-	5
4	Sodyum tetrafloroborat	1,08 ^{cdefghij}	-	-	-	-	5
5	Çinko Borat	0,80 ^{defghijkl}	-	-	-	-	5
6	Amonyum Pentaborat Tetrahydrate	1,30 ^{abcde}	-	-	-	-	5
7	Sodyum Metaborat Tetrahydrate	0,94	0,35 ^{hijkl}	0,66 ^{efghijkl}	0,84 ^{defghijkl}	-	40
8	Kalsium Meta Borate	1,25 ^{abcde}	1,44 ^{efghijkl}	0,43 ^{ghijkl}	-	-	20
9	Sodyum Perborate Monohydrate	1,24 ^{abcde}	0,61 ^{efghijkl}	0,15 ^{kl}	1,12 ^{bcde}	0,62 ^{efghijkl}	>40
10	SodyumTetraborat	0,87 ^{defghijkl}	0,08	-	-	-	10
11	Potassium Tetrafluoroborate	0,94 ^{cdefghijkl}	0,50 ^{ijkl}	0,08 $\times 10^6$ ^l	-	-	20
12	Etidot-67 (Di-sodium Octoborate Tetrahydrate)	1,20 ^{bcde}	-	-	-	-	5
13	Colamite (Col)	1,043 ^{cdefghijk}	0,65 ^{efghijkl}	1,54 ^{abcde}	1,82 ^{ijkl}	1,82 ^{abc}	>40
14	Öğütülmüş Üleksit	0,79 ^{defghijkl}	0,17 ^{ijkl}	-	-	-	10

*Bakteriyel gelişim olmamıştır

Çizelge 3. Tohum denemelerinde farklı Bor bileşiklerinin bakteri popülasyonları üzerindeki etkileri

Table 3. Effects of different boron compounds on bacterial populations in seed trials

Uygulama	Bakteri popülasyonları	Bor Bileşiklerinin Etkililiği (%)
Kontrol	$4,7 \times 10^6$ ^c	-
Sodyum tetrafloroborat	$2,8 \times 10^6$ ^b	39,6
Çinko Borat	$2,4 \times 10^6$ ^b	48,1
Amonyum tetrafloroborat	$1,5 \times 10^6$ ^{ba}	67,4
Etidot-67 (Di- sodium Octoborate Tetrahydrate)	$0,3 \times 10^6$ ^a	92,7



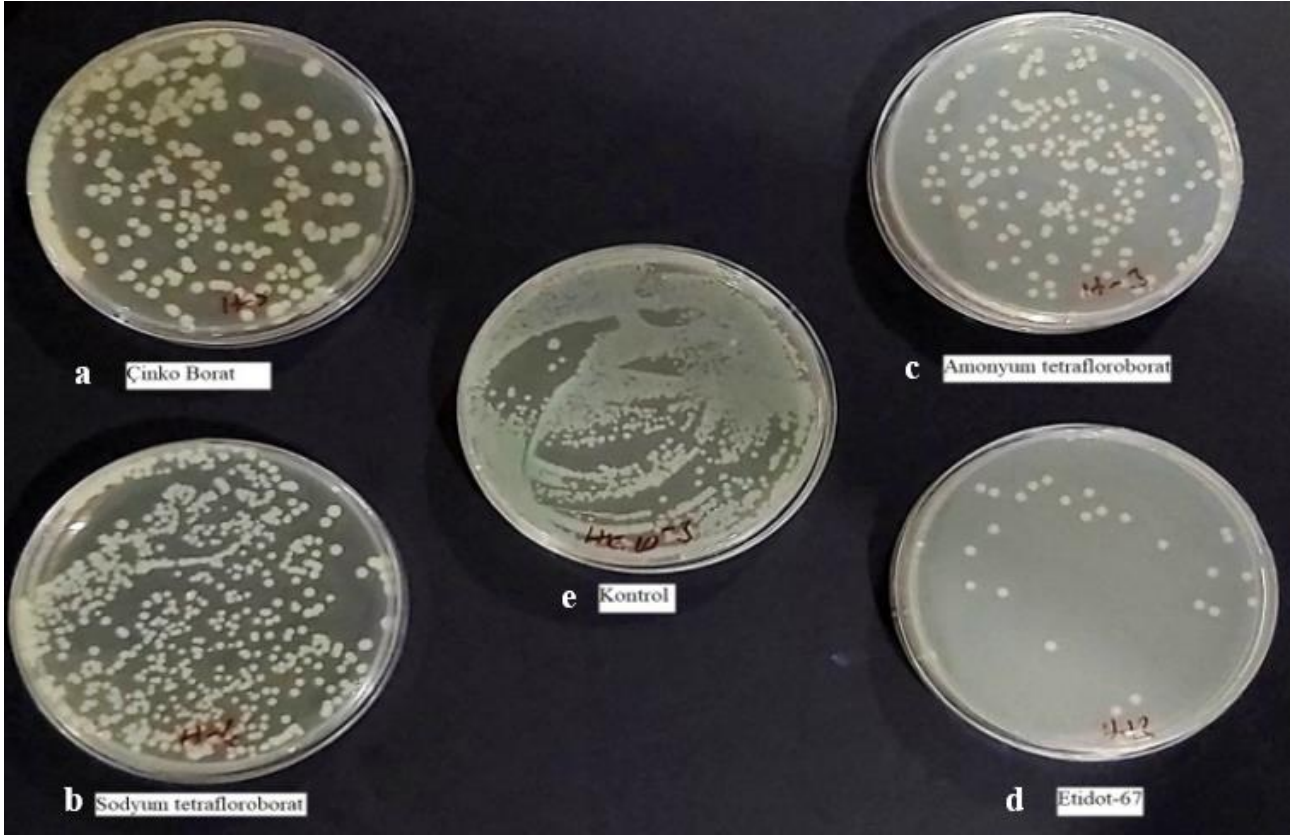
Şekil 1. Tohum denemelerinde kullanılan farklı Bor bileşiklerinin bakteri popülasyonu ve tohum çıkış oranları üzerine etkileri

Figure 1. The effects of different boron compounds used in seed experiments on bacterial population and seed emergence rates

Tohum Denemelerinde Elde Edilen Bulgular

In vitro denemelerde en yüksek başarıya sahip olan Amonyum tetrafloroborat, Sodyum tetrafloroborat, Çinko Borat, Etidot-67 (Di- sodium Octoborate Tetrahydrate) bileşiklerinin *in vitro* çalışmada belirlenen 5 mM'lık MIC dozları tohum denemelerinde kullanılmıştır. Buna göre; kontrole oranla ($4,7 \times 10^6$), H2274 çeşidi domates tohumlarındaki $0,3 \times 10^6$ hücre ml^{-1} bakteriyel yoğunluk ile en düşük *Pst* popülasyonunu sağlayan Etidot-67

uygulaması, %92,7 etkililiğe sahip olmuştur (Çizelge 3, Şekil 2). Bunu, Amonyum tetrafloroborat (% 67,4) ve Çinko Borat (% 48,15) takip ederken en düşük etkililiğe sahip olan Bor bileşiği ise Sodyum tetrafloroborat (%39,6) olarak belirlenmiştir. Tohumlara uygulanan Bor bileşikleri içerisinde, *in vivo* koşullarda en fazla tohum çıkışını teşvik eden bileşik Sodyum tetrafloroborat olmuştur (Çizelge 4, Şekil 1).



Şekil 2. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ile enfekteli H2274 çeşidi domates tohumlarına yapılan farklı Bor uygulamalarından (a. Çinko Borat b. Sodyum tetrafloroborat, c. Amonyum tetrafloroborat, d. Etidot-67, e. kontrol) sonra tohumlardaki bakteriyel popülasyon yoğunlukları

Figure 1. Bacterial population densities in the seeds after different boron treatments (a. Zinc Borate b. Sodium tetrafluoroborate, c. Ammonium tetrafluoroborate, d. Etidot-67, e. control) on tomato seeds of the H2274 variety infected with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.

Çizelge 4. Bor bileşikleri ve *P. s. pv. tomato* ile muamele edilen domates tohumlarının çıkış oranları

Table 4. The emergence rates of tomato seeds treated with boron compounds and *P. s. pv. tomato*

Uygulama	Bitki Çıkış Oranı (%)
Sodyum tetrafloroborat	96,6 ^a
Etidot-67 (Di- sodium Octoborate Tetrahydrate)	86,6 ^a
Çinko Borat	86,6 ^a
Amonyum tetrafloroborat	76,6 ^{ab}
Kontrol (Pst)	56,6 ^b

Çizelge 5. Patojenin re-izolasyonundan sonra yapılan biyokimyasal ve moleküler tanılama test sonuçları

Table 5. Results of biochemical and molecular diagnostic tests performed after re-isolation of the pathogen

Testler	Referans izolat (Pst AF2)	Re-izolasyon sonucu elde edilen izolatlar
Gram reaksiyon	-	-
Oksidaz	-	-
Levan oluşumu	+	+
KBZ besiyerinde küçük, yassı ve pembe renkli koloni oluşumu	+	+
35 °C'de gelişim	-	-
KB Besiyerinde fluoresan pigment oluşumu	+	+
Katalaz	+	+
Arginin dehidrolaz	-	-
Tütün	+	+
MM5F-MM5R primerleri kullanılarak PCR testi (532 bp büyüklüğünde fragment oluşumu)	+	+

(+) pozitif reaksiyon, (-) negatif reaksiyon

Patojenin Tohumlardan Re-İzolasyonu ve Tanısı

Tohum uygulamalarından sonra patojenin varlığını doğrulamak ve Koch postülatlarını yerine getirmek amacıyla patojenin tohumlardan re-izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Çizelge 5'de verilen biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler tanı testleri ile elde edilen etmenin *P. s. pv. tomato* olduğu belirlenmiştir.

Tartışma

Bor bileşiklerinin mikroorganizmalardaki protein sentezini ve serin-proteaz, β -laktamaz ve amino-açıl tRNA sentetaz enzimlerinin aktivitelerini bozduğuna ve mikroorganizmalar için önemli bir mekanizma olan Quorum Sensing mekanizmasının bozulmasında rol oynadığı bilinmektedir (Chen ve ark., 2002; Lowery ve ark., 2010; Yılmaz, 2012; Sayın ve ark., 2016). Ayrıca mikroorganizmalarda, bitkilerde, hayvanlarda ve insanlarda stimülasyon, stabilizasyon veya inhibisyonda yer alan çeşitli enzimler bor bileşikleri ile etkileşime girmektedir.

Bazı araştırmalarda, Bor bileşiklerinin bitki fungal hastalıklarına karşı koruyucu özelliğe sahip olduğu bildirilmekte ve ayrıca Bor'un bakteri hücre zarının lipid bileşenleri ile de etkileşime girdiği, bu yolla bakteriyel gelişimin engellenmesine neden olabildiği ifade edilmektedir (Ahmed ve ark., 2017; Yılmaz, 2012).

Power B ve Boraks formülasyonlarının etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, şeftalide *Monilinia laxa*'ya karşı Boraks, Power B'den önemli ölçüde daha az etkili bulunmuştur (Thomidis ve Exadaktylou, 2010). Yürütülen bu çalışmada da Boraks formülasyonunun 10 mM'lık kullanım dozu bakteriyel gelişimi tamamen engellemiştir. Erper ve ark. (2019), elmada mavi küf hastalığına neden olan *Penicillium expansum*'a karşı Etidot-67 ve Boraks dekahidratın etkinliğini hem *in vitro* hem de *in vivo* denemelerle değerlendirmişlerdir. Hastalık gelişimi, Etidot-67 ve Boraks uygulamalarıyla sırasıyla %92,8 ve %78,9 oranında önemli derecede azalmıştır. Webster ve Dixon (1991), lahanalarda *Plasmodiophora brassicae*'ya karşı Bor'un 20 ve 30 ppm'lik kullanım dozunun patojen gelişimini önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca fasulyede Tobacco Mosaic Virüs, *Fusarium solani*, domateste Tomato Yellow Leaf Curl Virüs, buğdayda *Gaeumannomyces graminis* üzerinde Bor etkisi bildirilmiştir (Graham ve Webb, 1991).

Bitki patojeni bakterilere karşı bor bileşiklerinin etkinliğine ilişkin araştırmalar son derece sınırlıdır. Ahmed ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, domateste hasat sonrası *Pectobacterium carotovorum*'a karşı potassium tetraborate tetrahydrate uygulamışlar, 100 mM ve pH 7,0'da etmenin gelişimi tamamen engellenmiştir. Mary ve Hanan (1999) kavun bitkisinin hücre duvarının bozulmasına neden olan yumuşak çürüklük etmeni *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*'a karşı farklı kalsiyum ve bor tuzlarının etkisini incelemişlerdir. Kalsiyum tuzları ve sodyum tetraborat karışımlarının, borat ve kalsiyum sülfat karışımına göre daha etkili olduğu bildirilmiştir.

Gedük ve ark. (2020), fasulye bakteriyel adi yaprak yanıklığı hastalığına neden olan *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*'ye karşı farklı Bor bileşiklerinin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda önemli düzeyde etkili olduğunu

bildirmişlerdir. Çalışmada *in vitro* düzeyde fasulye bakteriyel adi yaprak yanıklığı hastalığına karşı 5 mM dozda başarılı bulunan bileşikler Amonyum tetrafloroborat, Sodyum tetrafloroborat, Potassium tetrafluoroborate ve Etidot-67 iken, bu çalışmada domateste bakteriyel benek hastalığına karşı 5 mM dozda en etkili bileşikler ise Amonyum tetrafloroborat, Sodyum tetrafloroborat, Çinko Borat, Etidot-67 olarak belirlenmiştir. Yine Gür ve ark. (2020) çalışmalarında, Çinko borat bileşiğinin 1 mM'lık kullanım dozunu fasulyede *X. a. pv. phaseoli*'ye karşı etkili bulmuşlar ancak çalışmamızda ise *Pst*'ye karşı Çinko Borat'ın 5 mM'lık dozu aynı etkiye sahip olmuştur. Bu durum aynı Bor bileşiğinin farklı bakteriyel patojenler üzerinde kullanım dozlarının belirlenme zorunluluğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamız kapsamında, domates tohumlarında taşınan *Pst* gelişimini engellemede en yüksek etkiye sahip Bor bileşiğinin hem *in vitro* hemde tohum denemelerinde 5 mM kullanım dozu ile Etidot-67 olduğu, Borik asit, Sodium Perborate Monohydrate ve Colamite bileşiklerinin ise 40 mM dozda bile etkisiz oldukları ortaya konmuştur. Benzer şekilde *X. a. pv. phaseoli*'ye karşı Etidot-67 kullanımının *in vitro* düzeyde yüksek etkililiğe sahip olduğu ancak fasulye bitkilerinde ise daha düşük başarıya sahip olduğu ve yine çalışmamıza paralel olarak Borik asidin kullanımının oldukça düşük etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Gedük ve ark., 2020).

Çalışmamızda, Amonyum tetrafloroborat, Sodyum tetrafloroborat, Potassium tetrafluoroborate, Amonyum pentaborattetrahydrate ve Etidot-67 kullanımı ile *in vitro*'da bakteriyel gelişim olmamıştır. İki amonyumlu Bor bileşiğinden, 1 mM'da en düşük bakteriyel popülasyon gelişimine neden olan Amonyum tetrafloroborat, tohum uygulamaları için seçilmiştir. Bu bileşik tohum uygulamalarında oldukça başarılı bir şekilde Etidot-67'den sonra ikinci sırada etkiye sahip olmuştur. Amonyum Pentaborattetrahydrate bileşiğinin ileriki çalışmalarda denenmesi önerilmektedir. Ayrıca Boraks ve Öğütülmüş Üleksit bileşiklerinin de 10 mM dozda bakteriyel gelişimi engellemeleri de dikkate alınarak incelenmeleri gerekmektedir.

Tohum uygulamalarında, Sodyum tetrafloroborat domates çıkış oranları üzerinde hiçbir olumsuz etki göstermezken Amonyum tetrafloroborat kullanımının ise farklı domates çeşitleri ve farklı patojenler ile tohuma etkililiği yeniden belirlenmelidir.

Eti Maden tarafından 2010 yılında geliştirilen ve %20,8 oranında bor içeren Etidot-67, meyve ve bitki kalitesi artırmasının yanı sıra bitki patojenleri üzerinde oldukça başarılı bulunmuştur (Anonim, 2021). Bizim çalışmamızda da Etidot-67 domates tohumlarında *P. s. pv. tomato*'ya karşı 5 mM dozda %92,7 oranında başarılı olurken bitki çıkış oranlarında düşük seviyede bir kayba neden olmuştur. Bu araştırma ile denemeye alınan Bor'lu bileşikler içerisinde Etidot-67'nin domates bakteriyel benek hastalığının mücadelesinde oldukça önemli düzeyde başarıya sahip olduğu ortaya konulmuştur.

İleriki çalışmalarda, Bor'lu bileşiklerin farklı konukçular ve patojenler üzerindeki etkililikleri, tek başına ve kombinasyonları şeklinde *in vitro* ve *in vivo* koşullarda denenmelidir. Hassas bitkiler üzerindeki Bor toksisitesi dikkate alınarak seçilen konukçuların farklı çeşitleri üzerinde denemeler yürütülmelidir.

Türkiye, Bor kaynakları bakımından dünyanın en büyük rezervlerine sahiptir. Bu sebeple hem maliyetinin düşük olması hem de çevre dostu bir yaklaşım olmasından dolayı Bor'lu bileşiklerin bitki patojenlerine karşı kullanımı önem arz etmektedir. Domateste bakteriyel benek hastalığının mücadelesinde kullanılan bakırlı preparatların, hastalık etmeninde dayanıklılık oluşumuna ve bitkilerde fitotoksisite sorununa neden olduğu bilinmektedir (Saygılı ve ark., 2008). Yürütülen çalışmamızda, farklı Bor bileşiklerinin ilk kez domates tohumları ile taşınan *P. s. pv. tomatovora*'nın mücadelesinde etkililikleri belirlenmiş olup önemli düzeydeki etkileri nedeniyle çevre dostu ve sürdürülebilir tarım uygulamaları içerisinde, bazı Bor bileşiklerinin kullanılabilirliği düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Ahmed AF, Arif M, Alvarez MA. 2017. Antibacterial effect of potassium tetraborate tetrahydrate against soft rot disease agent *Pectobacterium carotovorum* in tomato. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1728. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01728>
- Anonim, 2020. Türkiye'nin Yükselen Değeri: Bor, <http://www.etimaden.gov.tr>, (Erişim tarihi: 16.09.2020).
- Anonim, 2021. Bitkiler İçin Bor Mucizesi. <https://www.etimaden.gov.tr/etidot-67>, (Erişim tarihi: 10.11.2021).
- Aysan Y, Erkiç A, Çınar Ö, Abak K. 1995. Domates bakteriyel kara leke hastalığına karşı dayanıklı çeşit ile toprak solarizasyonunun hastalık gelişimi ve verim üzerine etkileri. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 26-9.
- Aysan Y, Mirik M, Çetinkaya RY, Küsek M. 2005. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun yayılmasında tohum kökenli inokulumun rolü. Türkiye II. Tohumculuk Kongresi, 353.
- Aysan Y, Saygılı H. 2019. Domates Bakteriyel Kara Leke Hastalığı, Domates Bakteriyel Benek Hastalığı, Bitki Bakteri Hastalıkları, Editörler: Saygılı H., Şahin F., Aysan Y., Soylu S. ve Mirik M., Toprak Ofset Matbaacılık, Tekirdağ, 159-166.
- Bashan Y. 1982, Long term survival of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in tomato and pepper seeds. *Phytopathology*, 72: 1143.
- Camacho-Cristóbal JJ, Rexach J, González-Fontes A. 2008. Boron in plants: Deficiency and toxicity. *J. Integr. Plant Biol.*, 50: 1247-1255. [CrossRef]
- Chen X, Schauder S, Potier N, Van Dorsselaer A, Pelczar I. 2002. Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. *Nature*; 415: 545-9.
- Demoranville C, Deubert KH. 1987. Effect of commercial calcium-boron and manganese-zinc formulations on fruit set of cranberries. *J. Hart. Sci.* 62: 163-169.
- Düzgüneş O, Kesici T, Gürbüz F. 1983. İstatistik Metodları. AÜZF Yayınları No:861. Ankara.
- Erper İ, Kalkana Ç, Kaçara G, Türkkanc M. 2019. Elmada mavi küfe neden olan *Penicillium expansum*'a karşı bazı bor tuzlarının antifungal etkisi, *Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J AgrSci*, 34. DOI: 10.7161/omuanajas.515031
- FAO, 2020. Tomato production quantities. Erişim tarihi 24.02.2021. Erişim adresi, www.faostat.fao.org
- Gedük A, Bastas KK, Yılmaz F. 2020. Fasulye Bakteriyel Adı Yaprak Yanıklığı Hastalığına Karşı Farklı Bor Bileşiklerinin Etkileri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8: 226-233.
- Geylani E. 2004. Domates'te Tohumla Taşınan Bakterilerin Tanınması Üzerinde Çalışmalar, (Yayınlanmamış Yüksek tezi), Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Goldbach HE, Wimmer MA. 2007. Boron in plants and animals: Is there a role beyond cell-wall structure? *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 170: 39-48. [CrossRef]
- Graham DR, Webb MJ. 1991. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plants. In: Mortvedt, J.J., F.R. Cox, L.M. Shuman and R.M. Welch, (Eds.), *Micronutrients in Agriculture* (second ed), Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, USA, pp. 329-370. DOI: <https://doi.org/10.2136/sssabookser4.2ed.c10>
- Gupta U, Solanki H. 2013. Impact of boron deficiency on plant growth. *Int. J. Bioassays*, 2: 1048-1050.
- Jones JB, Zitter TA, Momol TM., Miller SA, 2014. In: *Compendium of Tomato Diseases and Pests*, Second Edition, APS Press, Minnesota, USA, 50-70p.
- Klement Z, Rudolph K, Sands D. 1990. *Methods in Phytobacteriology*, Akademiai Kiado, p.112.
- Koch R. 1884. Die Aetiologie der Tuberkulose. *Mitt Kaiser Gesundh.* 2: 1-88.
- Lowery CA, Salzameda NT, Sawada D, Kaufmann GF, Janda KD. 2010. Medicinal chemistry as a conduit for the modulation of quorum sensing. *J Med*; 53: 7467-89.
- Mary SK., Hanan, M. 1999. Influence of different calcium and boron salts on cell wall degradation of melon plants caused by *Erwinia carotovora* var. *carotovora*.
- Mirik M, Aysan Y. 2005. Effect of some plant extracts as seed treatments on bacterial spot disease of tomato and pepper. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 34(1-3): 9-16.
- Miwa H, Ahmed I, Yokota A, Fujiwara T. 2009. *Lysinibacillus parviboronicapiens* sp. nov., a low-boron-containing bacterium isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59: 1427-1432. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65455-0>
- Nable RO, Bañuelos GS, Paull JG. 1997. Boron toxicity. *Plant Soil*, 193: 181-198. [CrossRef]
- Quinet M, Angosto T, Yuste-Lisbona FJ, Blanchard-Gros R, Bigot S, Martinez JP, Lutts S. 2019. Tomato fruit development and metabolism. *Frontiers in plant science*, 10: 1554.
- Reuveni R, Reuveni M. 1998. Foliar-fertilizer therapy, a concept in integrated pest management. *Crop Protection*. 17: 111-118. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(97\)00108-7](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(97)00108-7)
- Russell DW, Sambrook J. 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual* (Vol. 1, p. 112). Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory.
- Salam MA, Siddique MA, Rahim MA., Goffar MA. 2011. Quality of tomato as influenced by boron and zinc in presence of different doses of cowdung. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 36(1): 151-163.
- Saygılı H, Şahin F, Aysan Y. 2008. Bitki Bakteri Hastalıkları. Meta Basım, İzmir, 61- 68: 177-178.
- Sayın Z, Ucan US, Sakmanoglu A. 2016. Antibacterial and antibiofilm effects of boron on different bacteria. *Biological trace element research*, 173(1): 241-246.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W. 2001. *Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria*. Ed. 3, American Phytopathological Society (APS Press).
- Shanin F. 2001. Severe outbreak of bacterial speck, caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* on field-grown tomatoes in the eastern anatolia region of Turkey. *Plant Pathol* 50:799. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00622.x>
- Shelp BJ, Marentes E, Kithaka AM, Vivekanandan P. 1995. Boron mobility in plants. *Physiol. Plant.*, 94: 356-361. [CrossRef]
- Tahamolkonan M, Ghahsareh AM, Ashtari MK, Honarjoo N. 2021. Tomato (*Solanum lycopersicum*) growth and fruit quality affected by organic fertilization and ozonated water. *Protoplasma*, 1-9. [CrossRef]
- Thomidis T, Exadakytlou E. 2010. Effect of boron on the development of brown rot (*Monilinia laxa*) on peaches. *Crop protection*, 29(6): 572-576.

- Wang X, Xing, Y. 2017. Evaluation of the effects of irrigation and fertilization on tomato fruit yield and quality: A principal component analysis. *Sci. Rep.*, 7: 350. [CrossRef]
- Webster MA, Dixon GR. 1991. Boron, pH and inoculum concentration influencing colonization by *Plasmodiophora brassicae*. *Mycological research*, 95(1): 74-79.
- Xu W, Wang P, Yuan L, Chen X, Hu X. 2021. Effects of application methods of boron on tomato growth, fruit quality and flavor. *Horticulturae*, 7(8): 223.
- Yilmaz MT. 2012. Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of boron compounds against several bacterial strains. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 42(Sup. 2): 1423-1429.
- Yunis H, Bashan Y, Okon Y, Henis Y. 1980. Weather dependence, yield losses, and control of bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas tomato*. *Plant Dis* 64:937-939. <https://doi.org/10.1094/PD-64-937>
- Zaccardelli M., Spasiano A, Bazzi C, Merighi M. 2005. Identification and in planta detection of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* using PCR amplification of *hrpZ* Pst. *European Journal of Plant Pathology*, 111(1): 85-90.