



T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KAHRAMANMARAŞ, GAZİANTEP VE KİLİS  
İLLERİNDEKİ ZEYTİN ÜRETİM ALANLARINDA  
GÖRÜLEN ZEYTİN DAL KANSERİ HASTALIĞI  
ETMENİ *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*  
TANILANMASI**

**NUR SİVRİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**KAHRAMANMARAŞ 2012**

T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAHRAMANMARAŞ, GAZİANTEP VE KİLİS  
İLLERİNDEKİ ZEYTİN ÜRETİM ALANLARINDA  
GÖRÜLEN ZEYTİN DAL KANSERİ HASTALIĞI  
ETMENİ *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*  
TANILANMASI

NUR SİVRİ

Bu tez,  
Bitki Koruma Anabilim Dalında  
YÜKSEK LİSANS  
derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2012

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Nur SİVRİ tarafından hazırlanan “Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis İllerindeki Zeytin Üretim Alanlarında Görülen Zeytin Dal Kanseri Hastalığı Etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* Tanılanması” adlı bu tez, jürimiz tarafından 27 / 01 / 2012 tarihinde oy birliği ile Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Mustafa KÜSEK  
Bitki Koruma Anabilim Dalı, K.S.Ü

Doç. Dr. Nihal BUZKAN  
Bitki Koruma Anabilim Dalı, K.S.Ü

Yrd. Doç. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, K.S.Ü

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. M. Hakkı Alma  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Nur SİVRİ

Bu çalışma KSÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.  
Proje No: 2010/7-6YLS

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

**KAHRAMANMARAŞ, GAZİANTEP VE KİLİS İLLERİNDEKİ ZEYTİN ÜRETİM  
ALANLARINDA GÖRÜLEN ZEYTİN DAL KANSERİ HASTALIĞI ETMENİ  
*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* TANILANMASI  
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**NUR SİVRİ**

**ÖZ**

Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illerindeki zeytin üretim alanlarından elde edilen zeytin urlarının morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik, Biolog Sistemi ve moleküler yöntemle (PCR yöntemi) tanısı yapılmıştır. 2010 yılında çalışma kapsamında surveyler yapılmış; urlu örneklerden izolatlar elde edilmiştir. Beyaz-krem renkli düzgün gelişen 143 izolat, tütün bitkisinde Tütün aşırı duyarlılık (HR) yönünden test edilmiş; pozitif olarak belirlenen 103 izolattan seçilen 31 izolat 1 yaşındaki zeytin fidelerine inokule edilerek ur oluşumu gözlenmiştir. Temel tanı yöntemi olarak LOPAT (Levan üretimi, Oksidaz reaksiyonu, Patates Pektolitik aktivitesi, Arginin Dehidrolazı ve Tütün Aşırı Duyarlılık Testi) Testi kullanılmıştır. LOPAT sonucu tanıya uygun şekilde (- - - +) olarak bulunmuştur. Biolog Sistemiyle ile tanılamada ve moleküler yöntem olarak kullanılan PCR yöntemiyle izolatlar *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olarak belirlenmiştir. Yapılan surveylerde özellikle Gaziantep'in Nizip ilçesi, Oğuzeli ilçesi ve Antep Çıkışı (Uluyol) %100 zeytin uru hastalığı ile bulaşık olarak; Kilis ili Merkez ilçesinde bulaşıklık %80 olarak; Kahramanmaraş ili %85 olarak belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Zeytin, Zeytin Dal Kanseri, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, Tanı.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı, Ocak / 2012

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mustafa KÜSEK

Sayfa sayısı: 74

**IDENTIFICATION OF OLIVE KNOT DISEASES *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* IN KAHRAMANMARAŞ, GAZİANTEP AND KİLİS OLIVE GROWN AREAS**

**(M.Sc. THESIS)**

**NUR SİVRİ**

**ABSTRACT**

The objective of this study was to identify olive knots collected from olive grown areas in Kahramanmaraş, Gaziantep and Kilis provinces using the morphological, biochemical, physiological, Biolog System and molecular identification (PCR) methods. In 2010, bacteria were isolated from plant samples collected from these olive grown areas. All collected 143 isolates that showed well developed with white-fluid colored in medium was tested on tobacco plant to determinate Tobacco Hypersensitive Reaction (HR) for their pathogenicity. Out of these samples, 103 isolates were found to be positive in pathogenicity test and 31 of them were chosen to inoculate in one-year old olive plants for re-knots growing detection. LOPAT Test (Levan production, Oxydase reaction, Potato Pectolytic Activity, Arginine Dehydrolase ve Tobacco Hypersensitive Reaction Tests) were used as identification methods. The isolates was determined as *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* by using the Biolog System and molecular method (PCR) as well. Surveys also indicated that spatial ratio of presence of this bacteria was found to be 100% in Gaziantep (Nizip, Oğuzeli and Gaziantep entrance (Uluyol)), 80% in Kilis (City Center) and 85% in Kahramanmaraş.

**Key Words:** Olive, Olive Knot Disease, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, Identification.

Kahramanmaraş Sütçü İmam University  
Institute for Graduate Studies in Science and Technology  
Department of Plant Protection, January / 2012

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Mustafa KÜSEK

Page number: 74

**KAHRAMANMARAŞ, GAZİANTEP VE KİLİS İLLERİNDEKİ ZEYTİN ÜRETİM  
ALANLARINDA GÖRÜLEN ZEYTİN DAL KANSERİ HASTALIĞI ETMENİ  
*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* TANILANMASI**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**NUR SİVRİ**

**ÖZET**

Bu çalışmada Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illerindeki zeytin üretim alanlarından elde edilen zeytin urlarının morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik, Biolog Sistemi ve moleküler yöntemle (PCR yöntemi) tanısı yapılmıştır. 2010 yılında çalışma kapsamında surveyler yapılmış; laboratuara getirilen urlu örneklerden bakteri izolasyonu yapılarak izolatlar elde edilmiştir. Beyaz-krem renkli düzgün gelişen 143 izolat, patojenite testleri için tütün bitkisinde Tütün aşırı duyarlılık (HR) yönünden test edilmiştir. 103 izolat pozitif sonuç vermiştir. Pozitif olan izolatlardan seçilen 31 izolat, 1 yaşındaki zeytin fidelerine inokule edilerek ur oluşumu gözlenmiştir. Ur büyüklüğü 5.5 ile 17 mm arasında değişmiştir. Buna göre NZ85-2 izolatu oluşturduğu 5.5 mm çapındaki urla en patojenisitesi en düşük; NZ24-5a izolatu oluşturduğu 17 mm çapındaki urla patojenisitesi en yüksek izolat olarak belirlenmiştir. Temel tanı yöntemi olarak LOPAT (Levan üretimi, Oksidaz reaksiyonu, Patates Pektolitik aktivitesi, Arginin Dihidrolazı ve Tütün Aşırı Duyarlılık Testi) Testi kullanılmıştır. LOPAT sonucu tanıya uygun şekilde (- - - +) olarak bulunmuştur. Biolog Sistemiyle 71 farklı karbon kaynağının kullanımı ve 23 kimyasal maddeye hassasiyeti ile tanılamada 11 izolatu 10'u *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* (% 26.5 ile % 73.6 arasında değişen oranlarda) olarak; 1'i de *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* (% 55.2) olarak belirlenmiştir. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* Biolog's Microbial Identification System software programında bulunmamaktadır. Bundan dolayı en yakın tür olan *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* ile benzer bulmuştur. Moleküler yöntem olarak kullanılan PCR yöntemiyle izolatlar *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olarak belirlenmiştir. Yapılan surveylerde özellikle Gaziantep'in Nizip ilçesi, Oğuzeli ilçesi ve Antep Çıkışı (Uluyol) % 100 zeytin uru hastalığı ile bulaşık olarak; Kilis ili Merkez ilçesinde bulaşıklık % 80 olarak; Kahramanmaraş ili % 85 olarak belirlenmiştir.

**IDENTIFICATION OF OLIVE KNOT DISEASES *Pseudomonas savastanoi* pv.  
*savastanoi* IN KAHRAMANMARAŞ, GAZİANTEP AND KİLİS OLIVE GROWN  
AREAS  
(M.Sc. THESIS)**

**NUR SİVRİ**

**SUMMARY**

The objective of this study was to identify olive knots collected from olive grown areas in Kahramanmaraş, Gaziantep and Kilis provinces using the morphological, biochemical, physiological, Biolog System and molecular identification (PCR) methods. In 2010, surveys were made; samples bacteria were isolated from plant samples brought to laboratory from these olive grown areas. All collected 143 isolates that showed well developed with white-fluid colored in medium was tested on tobacco plant to determinate Tobacco Hypersensitive Reaction (HR) for their pathogenicity. Out of these samples, 103 isolates were found to be positive in pathogenicity test and 31 of them were chosen to inoculate in one-year old olive plants for re-knots growing detection. Knots size are 5.5 to 17 mm diameter. As a result NZ85-2 isolate which made 5.5 mm diameter has the low pathogenicity and NZ24-5a isolate which made 17 mm diameter has the highest pathogenicity. LOPAT Test (Levan production, Oxydase reaction, Potato Pectolytic Activity, Arginine Dehydrolase ve Tobacco Hypersensitive Reaction Tests) were used as identification methods. LOPAT Test were found the most suitable methods for identify these bacteria. LOPAT Test's results were found (- - - +) as suitable for identification. Using Biolog System tested 10 isolates of 11 isolates for 71 different carbon sources and 23 chemical inhibitory sensitivity was found *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* (similarity ratio 26.5 to 73.6 %), 1 of them *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* (similarity ratio 55.2 %). Because of not being *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in system library it shows most similar pathogens. These isolates was determined as *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* by were investigated with molecular method (PCR) as well. Surveys also indicated that spatial ratio of presence of this bacteria was found to be 100 % in Gaziantep (Nizip, Oğuzeli and Gaziantep entrance (Uluyol)), 80 % in Kilis (City Center) and 85% in Kahramanmaraş.



## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim süresince yardımlarını benden esirgemeyen danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Mustafa KÜSEK'e, teşekkürlerimi bir borç bilirim. Tezimin çeşitli aşamalarında yardımlarını aldığım hocalarıma ve arkadaşlarıma; maddi, manevi her konuda desteğini benden esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

NUR SİVRİ

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ .....	i
ABSTRACT .....	ii
ÖZET .....	iii
SUMMARY .....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	x
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	11
3. MATERYAL ve METOD .....	24
3.1. Materyal .....	24
3.2. Metod .....	24
3.2.1. Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması ve Bakteri İzolasyonu .....	24
3.2.2. Patojenisite Testleri .....	25
3.2.2.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu .....	25
3.2.2.2. Zeytin Bitkisinde Patojenisite .....	26
3.2.3. Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Testlerle Tanılama .....	26
3.2.3.1. PVF1 ve King's B Besiyerlerinde Koloni Gelişimi .....	26
3.2.3.2. Potasyum Hidroksit Testi ile Gram Reaksiyon .....	26
3.2.3.3. LOPAT Testi .....	27
3.2.4. BIOLOG Tanı Sistemi ile Tanılama .....	28
3.2.5. Moleküler Tanılama .....	30
3.2.5.1. PCR Yöntemiyle Tanılama .....	30
3.2.5.1.1. DNA İzolasyonu .....	30
3.2.5.1.2. PCR'nin Uygulanması .....	30
3.2.5.1.3. Agaroz Jel Elektroforezi .....	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	32
4.1. Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması ve Bakteri İzolasyonu .....	32
4.2. Patojenisite Testleri .....	41
4.2.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi .....	41
4.2.2. Zeytin Bitkisinde Patojenisite .....	43
4.3. Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Testlerle Tanılama .....	43
4.3.1. PVF1 ve King's B Besiyerlerinde Koloni Gelişimi .....	44

4.3.2. Potasyum Hidroksit Testi ile Gram Reaksiyon .....	44
4.3.3. LOPAT Testi .....	46
4.4. BIOLOG Tanı Sistemi ile Tanılama .....	49
4.5. Moleküler Tanılama .....	53
4.5.1. PCR Yöntemiyle Tanılama .....	53
4.5.1.1. DNA İzolasyonu .....	53
4.5.1.2. PCR'nin Uygulanması .....	53
4.5.1.3. Agaroz Jel Elektroforezi .....	53
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	55
KAYNAKLAR .....	57
ÖZGEÇMİŞ .....	62
EKLER .....	63
EK-1 BESİYERLERİ .....	63
EK-2 BİOLOG TANILAMA SİSTEMİNİN ÇIKTILARI .....	64

## SEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Dünya zeytin yetiştiricilik alanları .....	2
Şekil 1.2. Ülkemizde bölge bazında zeytin üretim alanları .....	5
Şekil 1.3. Türkiye’de 2009 yılı bölgelere göre zeytin ağaç sayısı oranı .....	5
Şekil 4.1. Survey alanındaki zeytinlerin genel görünümü .....	32
Şekil 4.2. Zeytinde zeytin dal kanseri hastalığının genel simptomları .....	33
Şekil 4.3. Bakteriyel izolasyonun yapıldığı taze urlu dokular .....	34
Şekil 4.4. King’ B besiyerine gelişen <i>P. savastoni</i> pv <i>savastoni</i> izolatının gelişimi ...	35
Şekil 4.5 Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu sonuçları oluşan kurumalar .....	41
Şekil 4.6. LOPAT testleri uygulandıktan sonra inkübatöre alınan izolatlar .....	46
Şekil 4.7. İzolatlarda patatestte pektolitik aktivite testi sonucu .....	48
Şekil 4.8. İzolatlarda arginin dehidrolaz testi sonucu .....	49
Şekil 4.9 A, B, C, D, E. Biolog Sistemi ile tanılama basamakları .....	52
Şekil 4.10. <i>Pseudomonas savastoni</i> pv. <i>savastoni</i> izolatların IAATF ve IAATR primerleri kullanılarak yapılan PCR sonucunun jelde oluşturduğu 454 bp büyüklüğündeki spesifik bantlar .....	54

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

<b>Çizelge 1.1.</b> Dünyada zeytin yetiştiriciliğinde söz sahibi ülkelerin 2008 yılı zeytin üretim miktarları.....	2
<b>Çizelge 1.2.</b> Türkiye ve dünyada 1990 yılı 2007 yılı arasında zeytin dikim alanı, verimi ve üretimi.....	3
<b>Çizelge 1.3.</b> Türkiye’de 1990-2007 yıllar arası zeytin ağaç sayısı, zeytin ve zeytinyağı üretimi.....	4
<b>Çizelge 1.4.</b> Ülkemizde 2008 yılı ve 2009 yılları itibariyle zeytin ağacı sayısı, zeytin üretimi ve zeytin verimi.....	4
<b>Çizelge 1.5.</b> Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illeri için 2009 yılı sofralık zeytin üretim verileri.....	6
<b>Çizelge 1.6.</b> Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illeri için 2009 yılı yağlık zeytin üretim verileri.....	7
<b>Çizelge 3.1.</b> Mikroplakalarda Kodlanan 94 Adet Karbon Kaynağı ve Kimyasal Listesi.....	29
<b>Çizelge 4.1.</b> Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illerinden elde edilen <i>Pseudomonas savastoni</i> pv. <i>savastoni</i> izolatları ve alındığı yerler.....	35
<b>Çizelge 4.2.</b> <i>Pseudomonas savastoni</i> pv. <i>savastoni</i> izolatlarının tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu sonuçları.....	42
<b>Çizelge 4.3.</b> Tütün aşırı duyarlılık testine pozitif reaksiyon veren <i>Pseudomonas savastoni</i> pv. <i>savastoni</i> izolatlarının zeytinde oluşturdukları ur büyüklükleri.....	44
<b>Çizelge 4.4.</b> PVF1 besiyerinde UV ışık altında floresan parlama gösteren, King’s B besiyerinde UV ışık altında floresan parlama gösteren ve göstermeyen izolatların listesi.....	45
<b>Çizelge 4.5.</b> Testlenen izolatların Levan üretimi (L), Oksidaz testi (O), Patates pektolitik aktivite testi (P), Arginin dihidrolaz testi (A) ve Tütün aşırı duyarlılık reaksiyonu (HR) testi sonuçları.....	47

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>°C:</b>	Santigrat derece
<b>% :</b>	Yüzde
<b>bp:</b>	Baz çifti
<b>BUG:</b>	Biolog Dehydrated Growth Agar
<b>cm:</b>	Santimetre
<b>cv.:</b>	Kültivar
<b>cvs.:</b>	Kültivarlar
<b>ddH<sub>2</sub>O:</b>	Double-distiled water
<b>dk:</b>	Dakika
<b>DNA:</b>	Deoksiribo nükleik asit
<b>dNTP Mix:</b>	Deoksiribonükleotid trifosfat
<b>IAA:</b>	İndol asetik asit
<b><i>iaaH:</i></b>	İndol asetik asit hidrolaz geni
<b><i>iaaM:</i></b>	İndol asetik asit monooksijenaz geni
<b>ha:</b>	Hektar
<b>HR</b>	Hipersensitif reaksiyon
<b><i>hrp:</i></b>	Hipersensitif reaksiyon ve patojenisite geni
<b>kb:</b>	Kilobaz
<b>km:</b>	Kilometre
<b>KOH:</b>	Potasyum hidroksit
<b>m:</b>	Metre
<b>M.Ö.:</b>	Milattan Önce
<b>MgCl<sub>2</sub>:</b>	Magnezyum klorür
<b>MIS:</b>	Mikrobiyal tanı sistemi
<b>mm:</b>	Milimetre
<b>µm:</b>	Mikrometre

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>µM:</b>	Mikromol
<b>NaCl:</b>	Sodyum klorür
<b>NaClOH:</b>	Sodyum hipoklorit
<b>NYA:</b>	Nutrient Yeast Extract Agar
<b>NYB:</b>	Nutrient Yeast Broth
<b>OKA:</b>	Olive Knot Agar
<b>PCR:</b>	Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>pmole:</b>	Pikomol
<b>pv.:</b>	Patovar
<b>RAPD DNA:</b>	<i>Random Amplification of Polymorphic DNA</i>
<b>Rep-PCR:</b>	Repetitive element-PCR
<b>SDS-PAGE:</b>	Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez
<b>SDS+TAE</b>	Sodyum dodesil sülfat+Tris asetik asit EDTA (Etilen diamin tetra asetik asit)
<b>SEM</b>	Tarayıcı Elektron mikroskobu
<b>sn:</b>	Saniye
<b>sp. :</b>	Tür
<b>spp. :</b>	Türler
<b>subsp.:</b>	Alttürler
<b>TBE:</b>	Tris Borat EDTA
<b>UV :</b>	Ultra viyole
<b>var. :</b>	Varyete
<b>YDC:</b>	Yeast-dextrose-CaCO <sub>3</sub> agar

## 1.GİRİŞ

Tarih öncesi devirlerden bugüne kadar gelen zeytin, kutsal kitaplarda ve birçok efsanede sağlık, güzellik, bolluk, bereket ve ölümsüzlük gibi kavramları simgeleyen bir ağaç olarak nitelendirilmektedir (Anonim, 2008a).

Zeytin Ligustrales takımı, Oleacea familyası, *Olea* cinsine dahildir. Tarımı dünyada en eski tarihlere dayanan, tipik bir Akdeniz bitkisi olan zeytinin (*Olea europaea* L.), anavatanı Anadolu'nun Mardin, Kahramanmaraş, Hatay ve Yukarı Mezopotamya Bölgesi olarak bilinmektedir (Anonim, 2008a).

Oldukça uzun ömürlü olan zeytin bitkisi, toprak ve beslenme istekleri açısından oldukça toleranslı olduğundan ülkemizde birçok bitkinin yetiştirilemediği topraklarda yetiştirilmektedir. Yine de zeytin yetiştiriciliğinde iklim sınırlayıcı bir etken olarak ortaya çıkmaktadır (Ülger, 1989).

Ham dane olarak tüketilemeyen zeytin, işlendikten sonra zeytinyağı, sofralık zeytin, prina ve sabun gibi çeşitli sektörlere hammadde olarak kullanılmaktadır (Tunalıoğlu, 1998). Ayrıca gerek zeytinin gerekse de zeytinyağının besin değeri içeriği ve gerekse de zeytinyağının presleme dışında bir işleme tabi tutulmadan elde edilen tek doğal bitkisel yağ olması sebebiyle insan sağlığı ve beslenmesi açısından son derece önemlidir (Anonim, 2008a).

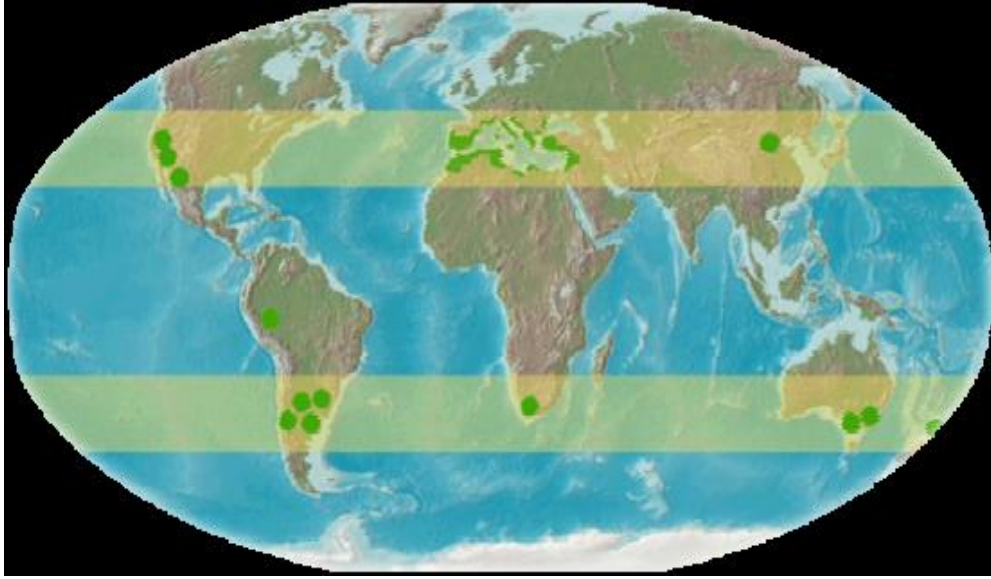
Zeytin, Suriye'den Türkiye ve Mısır'a yayılmış; tüm Akdeniz'in güney sahillerine (Tunus, Cezayir, Fas) ve İspanya'nın Akdeniz sahillerine yayılması ise Mısırlılar tarafından gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2008a).

Türkiye'de geniş bir ekolojiye yayılmış olan zeytin, büyük bir çeşit zenginliğine sahiptir. Bu çeşitlerden en az 28 tanesinin ekonomik öneminin olduğu bilinmektedir (Canözer, 1991).

Dünyada ekonomik anlamda 37 ülkede zeytin yetiştiriciliği yapılmaktadır (Anonim, 2009a). 2009 yılı verilerine göre yaklaşık 18 milyon ton olan dünya zeytin üretiminin % 98'i İspanya, İtalya, Yunanistan, Türkiye, Tunus, Suriye, Fas, Portekiz, Fransa ve Cezayir gibi Akdeniz'e kıyısı olan ülkeler tarafından üretilmektedir. Yaklaşık 13 milyon ton olan dünya dane zeytin üretiminin % 86'sı, altı tipik Akdeniz ülkesinde yoğunlaşmıştır. Akdeniz havzasındaki alanlardan elde edilen zeytinyağı, dünya zeytinyağı üretiminin % 90'ından fazlasını karşılamaktadır (Anonim, 2010a). Latin Amerika, Amerika Birleşik



Devletleri (Kaliforniya), Güney Afrika ve Avustralya dünyada zeytin yetiştiriciliğinin yapıldığı diğer ülkelerdir (Şekil 1.1).



**Şekil 1.1.** Dünya zeytin yetiştiricilik alanları (Rallo ve ark., 2000).

İspanya 2008 yılında dünyada 5.475.300 ton zeytin üretimiyle lider konumda yer almış; İtalya 3.473.600 ton ile 2. sırada, Yunanistan 1.464.248 ton ile 3. sırada, Türkiye ise 1.464.248 ton ile 4. sırada, Tunus ise 1.183.000 ton zeytin üretimiyle 5. sırada yer almıştır (Çizelge 1.1).

**Çizelge 1.1.** Dünyada zeytin yetiştiriciliğinde söz sahibi ülkelerin 2008 yılı zeytin üretim miktarları (Anonim, 2010a).

Ülkeler	Ürün (ton)
İspanya	5.475.300
İtalya	3.473.600
Yunanistan	1.464.248
Türkiye	1.464.248
Tunus	1.183.000

Ülkemiz zeytin yetiştiriciliğinde 1990- 2007 yılları arasında kadar olan zeytin üretimi, zeytinyağı üretimi ve zeytin veriminde önemli dalgalanmalar meydana geldiği görülmektedir. (Çizelge 1.2, 1.3).

**Çizelge 1.2.** Türkiye ve dünyada 1990 yılı 2007 yılı arasında zeytin dikim alanı, verimi ve üretimi (Anonim, 2010a).

Yıllar	Türkiye			Dünya		
	Dikim Alanı (ha)	Verim (kg/da)	Zeytin Üretimi (ton)	Dikim Alanı (ha)	Verim (kg/da)	Zeytin Üretimi (ton)
1990	537.333	204.71	1.100.000	7.405.784	121.86	9.227.045
1991	543.467	117.76	640.000	7.439.587	172.29	12.886.128
1992	541.733	138.44	750.000	7.480.513	146.09	11.196.790
1993	544.687	100.98	550.000	7.669.949	143.59	11.047.982
1994	547.947	255.50	1.400.000	7.641.558	149.67	11.465.242
1995	542.913	94.86	515.000	7.739.643	133.58	10.365.331
1996	554.667	324.52	1.800.000	7.976.136	192.79	15.403.399
1997	571.867	89.18	510.000	7.709.051	195.97	15.132.399
1998	571.761	288.58	1.650.000	7.951.041	181.83	14.481.212
1999	580.286	100.09	580.809	8.289.369	168.70	14.211.176
2000	594.072	309.99	1.800.000	8.282.046	185.64	15.628.377
2001	599.400	100.10	600.000	8.421.122	183.83	15.480.797
2002	594.000	294.73	1.800.000	8.429.181	186.11	15.687.796
2003	625.540	138.35	854.937	8.674.606	209.98	18.215.078
2004	644.000	252.88	1.600.000	8.992.737	197.77	17.785.574
2005	662.000	186.28	1.200.000	8.799.176	174.96	15.395.738
2006	712.000	246.15	1.767.000	8.894.018	190.31	16.926.485
2007	730.000	150.00	1.076.000	9.500.000	165.50	17.000.000

Ülkemizde toplam tarım alanlarının % 2'sini; bağ-bahçe alanlarının ise % 22'sini zeytin alanları oluşturmaktadır. Yaklaşık % 75'i dağlık kır arazilerde bulunan zeytinliklerin % 8'i sulanabilmekte ve sulanan zeytinliklerin çoğunda sofralık üretim yapılmaktadır (Anonim, 2009a).

2008 yılı verilerine göre ülkemizde 1.464.248 ton zeytin üretiminin, 512.103 tonu sofralığa, 952.145 tonu da yağlığa ayrılmıştır. 2009 yılı için ise 1.290.654 ton toplam zeytin üretiminin 460.013 tonu sofralığa, 830.641 tonu yağlığa ayrılmıştır. 2009 verilerine göre Türkiye, dünya zeytin üretiminin % 10'unu karşılarken siyah zeytin üretiminde birinci, sofralık zeytin üretiminde ikinci sırada yer alan önemli bir ülke konumunda bulunmaktadır (Çizelge 1.4).

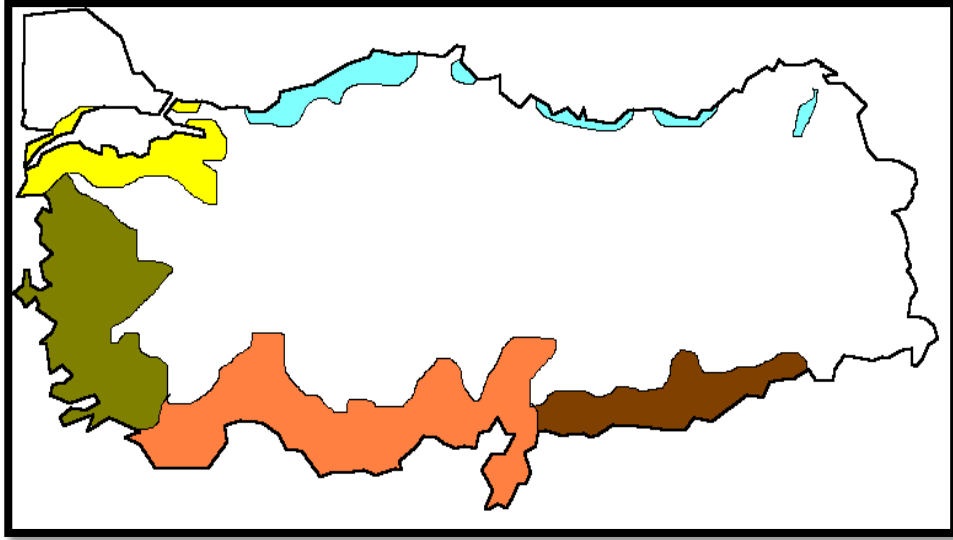
**Çizelge 1.3.** Türkiye’de 1990-2007 yıllar arası zeytin ağaç sayısı, zeytin ve zeytinyağı üretimi (Anonim, 2010a).

Yıllar	Ağaç Sayısı		Zeytin Üretimi (Ton)	Sofralığa Ayrılan (Ton)	Yağlığa Ayrılan (Ton)	Zeytinyağı Üretimi (Ton)
	Meyve veren	Meyve vermeyen				
1990	79.600.000	5.960.000	1.100.000	337.000	763.000	80.000
1991	81.520.000	6.185.000	640.000	181.000	459.000	60.000
1992	81.260.000	5.828.000	750.000	231.000	519.000	56.000
1993	81.703.000	5.460.000	550.000	200.000	350.000	48.000
1994	82.192.000	5.955.000	1.400.000	350.000	1.050.000	160.000
1995	81.437.000	6.144.000	515.000	206.000	309.000	40.000
1996	83.200.000	6.540.000	1.800.000	435.000	1.365.000	200.000
1997	85.700.000	10.000.000	510.000	200.000	310.000	40.000
1998	85.850.000	7.600.000	1.650.000	430.000	1.220.000	170.000
1999	87.130.000	8.370.000	600.000	240.000	360.000	70.000
2000	89.200.000	8.570.000	1.800.000	490.000	1.310.000	190.000
2001	90.000.000	9.000.000	600.000	235.000	365.000	65.000
2002	91.700.000	9.900.000	1.800.000	450.000	1.350.000	160.000
2003	92.250.000	10.500.000	850.000	350.000	500.000	79.000
2004	94.950.000	12.150.000	1.600.000	400.000	1.200.000	155.000
2005	96.625.000	16.555.000	1.200.000	400.000	800.000	90.000
2006	97.773.000	31.492.000	1.766.749	555.749	1.211.000	90.000
2007	102.254.394	28.338.884	1.076.000	358.666	717.334	119.556

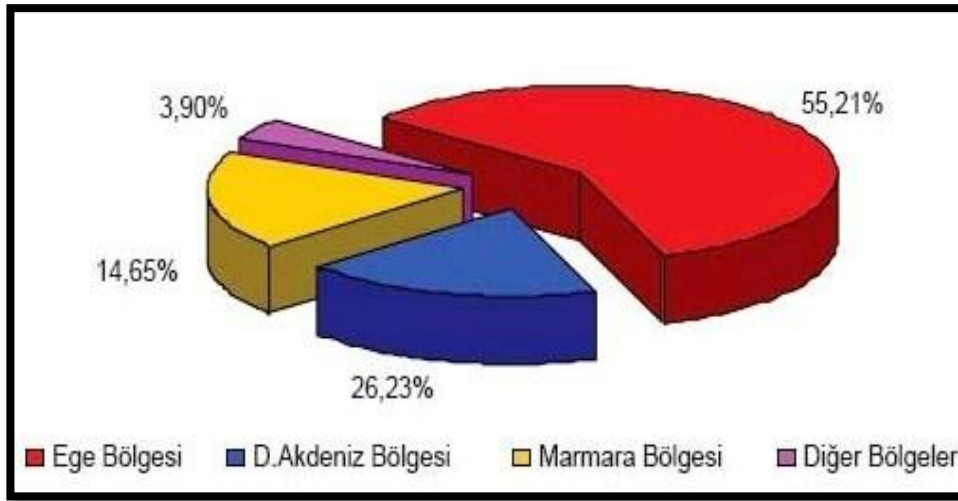
**Çizelge 1.4.** Ülkemizde 2008 yılı ve 2009 yılları itibariyle zeytin ağacı sayısı, zeytin üretimi ve zeytin verimi (Anonim, 2009b).

	2008			2009		
	Meyve Veren Ağaç Sayısı	Üretim (ton)	Verim (kg)	Meyve Veren Ağaç Sayısı	Üretim (ton)	Verim (kg)
<b>Sofralık Zeytin</b>	33.559.163	512.103	15	33.936.299	460.013	14
<b>Yağlık Zeytin</b>	72.539.733	952.145	13	75.190.470	830.641	11
<b>TOPLAM</b>	<b>106.098.896</b>	<b>1.464.248</b>	<b>28</b>	<b>109.126.769</b>	<b>1.290.654</b>	<b>25</b>

Ülger (1989), zeytinin en iyi yetiştirme imkanını, Akdeniz ikliminin görüldüğü Ege ve Akdeniz sahillerinde bulunduğunu belirtmiştir. Ege Bölgesinde denizden 250 km içerilere kadar uzanan zeytin, Akdeniz sahillerinde 850 m’ye kadar olan yüksekliklerde yetişebilmektedir. Güneydoğu Anadolu’da ise 200-250 km içerilere kadar uzanmakta ve 700 m’ye kadar olan yüksekliklerde yetişebilmektedir (Şekil 1.2, 1.3).



**Şekil 1.2.** Ülkemizde bölge bazında zeytin üretim alanları (Anonim, 1998). 1. Ege, 2. Marmara, 3. Akdeniz, 4. Güneydoğu Anadolu, 5. Karadeniz. (Numaralar bölgelerin ağaç sayısı ve üretim miktarlarına göre çoktan aza doğru verilmiştir.)



**Şekil 1.3.** Türkiye’de 2009 yılı bölgelere göre zeytin ağaç sayısı oranı (Anonim, 2010a).

Tamamen salamuralık olan Marmara Bölgesi’nin en fazla yetiştirilen çeşidi Gemliktir. Önemli yağlık çeşitleri Ege Bölgesinde Memecik ve Ayvalık; Güneydoğu Anadolu Bölgesinde ise Kilis ve Nizip çeşitleridir. Akdeniz Bölgesinde Antalya, İçel, Adana ve Hatay illerinde yerel çeşitlerin ve Ege Bölgesinin önemli çeşitlerinin yetiştiriciliği yapılmaktadır. Karadeniz Bölgesinde Artvin, Trabzon ve Samsun’da az oranda zeytin yetiştiriciliği yapılmakta ise de yetiştirilen çeşitler ekonomik bir değer taşımamaktadır (Ülger, 1989).

Uluslararası Zeytinyağı Konseyi (International Olive Oil Council) verilerine göre Türkiye’de 2010-2011 dönemi için 769000 hektarlık zeytin ekim alanı mevcuttur ve zeytin üretiminin % 28’i sofralık zeytine aittir. Üretilen sofralık zeytinlerin % 84’ü siyah zeytin tipidir ve zeytin pazarında ana çeşit Gemliktir (Anonymous, 2011a). Konsey raporuna göre ayrıca 2011-2012 dönemi için Türkiye’de 534.376 ton sofralık zeytin üretimi yapılacağı tahmin edilmektedir. Ülkemizdeki ana sofralık zeytin çeşitleri olarak da Gemlik, Domat, Edremit yağlık, Memecik, Memeli, İzmir sofralık, Çilli, Çelebi, Uslu ve Edinciksu belirtilmiştir. Ülkemizde kişi başına düşen sofralık zeytin tüketiminin 2009-2010 dönemi için 5.37 kg/kişi; 2010-2011 dönemi için de 4.48 kg/kişi olduğu bildirilmiştir (Anonymous, 2011b).

Kahramanmaraş il genelinde 2009 yılında sofralık zeytin üretiminin 24.902 dekar toplu meyvelik alanda 194.600 adet meyve veren yaşta ağaçtan, ağaç başına 7 kg ortalama verimle 1.294 ton olduğu kaydedilmiştir. Gaziantep il genelinde 2009 yılında sofralık zeytin üretiminin 62.676 dekar toplu meyvelik alanda 118.263 adet meyve veren yaşta ağaçtan, ağaç başına 8 kg ortalama verimle 1.003 ton olduğu kaydedilmiştir. Kilis ilinde sofralık zeytin üretimi mevcut değildir (Çizelge 1.5).

**Çizelge 1.5.** Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illeri için 2009 yılı sofralık zeytin üretim verileri (Anonim, 2009b).

İl	İlçe	Toplu meyveliklerin alanı (dekar)	Üretim (ton)	Ağaç başına ort. Verim (kg)	Meyve veren yaşta ağaç sayısı	Meyve vermeyen yaşta ağaç sayısı	Toplam ağaç sayısı
Kahraman-Maraş	Merkez	16.500	1.044	7	145.000	405.000	550.000
	Andırın	652	55	6	9.100	2.500	11.600
	Pazarcık	6.500	84	4	20.000	18.000	38.000
	Türkoğlu	1.250	111	5	20.500	23.600	44.100
	<b>Toplam</b>	<b>24.902</b>	<b>1.294</b>	<b>7</b>	<b>194.600</b>	<b>449.100</b>	<b>643.700</b>
Gaziantep	Şahinbey	5.000	7	23	300	4.700	5.000
	Şehitkamil	1000	97	7	13.500	16.500	30.000
	Araban	1.143	17	3	5.500	18.060	23.560
	Islahiye	6.000	332	8	39.500	100.000	139.500
	Kargamış	8.000	25	4	7.000	6.900	13.900
	Nizip	40.000	456	12	38.000	300.000	338.000
	Nurdağı	33	-	0	33	0	33
	Oğuzeli	1.500	69	5	14.430	18.100	32.530
	<b>Toplam</b>	<b>62.676</b>	<b>1.003</b>	<b>8</b>	<b>118.263</b>	<b>464.260</b>	<b>582.523</b>

Kahramanmaraş il genelinde 2009 yılında yağlık zeytin üretiminin, 549.480 adet meyve veren yaşta ağaçtan, ağaç başına 7 kg ortalama verimle 3.998 ton olduğu kaydedilmiştir. Gaziantep il genelinde 2009 yılında yağlık zeytin üretiminin 288.696 dekar toplu meyvelik alanda 2.657.200 adet meyve veren yaşta ağaçtan, ağaç başına 7 kg ortalama verimle 31.212 ton olduğu kaydedilmiştir. Kilis il genelinde 2009 yılında zeytin üretiminin 175.589 dekar toplu meyvelik alanda 2.623.510 adet toplam ağaç sayısından 1.642.100 adet meyve veren yaşta ağaçtan, ağaç başına 11 kg ortalama verimle 1.067 ton olduğu kaydedilmiştir (Çizelge 1.6).

**Çizelge 1.6.** Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illeri için 2009 yılı yağlık zeytin üretim verileri (Anonim, 2009b).

İl	İlçe	Toplu meyveliklerin alanı (dekar)	Üretim (ton)	Ağaç başına ort. Verim (kg)	Meyve veren yaşta ağaç sayısı	Meyve vermeye n yaşta ağaç sayısı	Toplam ağaç sayısı
Kahraman-Maraş	Merkez	27.000	3.003	8	385.000	50.000	435.000
	Andırın	100	14	2	7.480	12.000	19.480
	Pazarcık	550	39	3	12.000	25.250	37.250
	Türkoğlu	7.250	942	6	145.000	157.850	302.850
	<b>Toplam</b>	<b>34.900</b>	<b>3.998</b>	<b>7</b>	<b>549.480</b>	<b>245.100</b>	<b>794.580</b>
Gaziantep	Şahinbey	69.390	2.842	9	312.390	841.080	1.153.470
	Şehitkamil	5.000	788	8	101.000	40.000	141.000
	Araban	3.010	13	3	4.000	57.100	61.100
	Islahiye	9.200	701	8	83.000	21.700	104.700
	Kargamış	9.000	18	1	27.000	0	27.000
	Nizip	160.000	26.260	13	2.020.000	250.000	2.270.000
	Nurdağı	2.047	45	8	5.400	98.000	103.400
	Oğuzeli	26.360	537	5	103.310	448.340	551.650
	Yavuzeli	4.689	8	7	1.100	102.516	103.616
	<b>Toplam</b>	<b>288.696</b>	<b>31.212</b>	<b>7</b>	<b>2.657.200</b>	<b>1.858.736</b>	<b>4.515.936</b>
Kilis	Merkez	102.666	11.168	11	1.040.000	510.000	1.550.000
	Elbeyli	5.500	376	12	32.100	36.100	68.200
	Musabeyli	55.000	5.499	12	470.000	356.510	826.510
	Polateli	12.423	1.170	12	100.000	78.800	178.800
	<b>Toplam</b>	<b>175.589</b>	<b>18.213</b>	<b>11</b>	<b>1.642.100</b>	<b>981.410</b>	<b>2.623.510</b>

Zeytincilik ülkemizde 500.000 aileye doğrudan gelir sağlamaktadır. 01/01/2009-31/12/2009 tarihleri arasında ülkemizin siyah zeytin ihracatı 43.115.093.530 ton olup 52.656.554.0610 dolar gelir elde edilmiştir. Aynı dönemde yeşil zeytin ihracatı 8.041.286.320 ton olup 13.279.041.900 dolar gelir elde edilmiştir. Yine bu dönemde

zeytinyağı ihracatımız 25.550.099.937 kg olup 84.198.956.8500 dolar gelir elde edilmiştir (Anonim, 2010a).

Her ne kadar kurak ve fakir topraklarda bile az suyla yaşamını kuvvetli kökleri ve dayanıklı gövdesiyle sürdürebilmekte ise de, bu olumsuz faktörler ağacın meyvesini ve meyvenin yağ verimini etkilemektedir. Yurdumuzda zeytinliklerin yaklaşık % 75'i eğimli, dağlık ve yamaç arazilerde yer almaktadır. Bu yüzden kültürel bakım tedbirleri uygulanmamakta ve bunun sonucu olarak elde edilen ürün miktarı yıldan yıla değişmektedir (Tetik, 2005).

Ülkemizde ağaç başına verim rakip ülkelere göre oldukça düşüktür. Ülkemizde ağaç başına verimimiz 9-10 kg iken, İspanya'da 25 kg, İtalya'da 30 kg civarındadır. Ülkemiz Dünya zeytin piyasasında sayılı ülkeler arasında yer almasına rağmen üretimde yaşanan istikrarsızlıklar pozisyonunu olumsuz etkilemektedir (Anonim, 2010a). Avrupa Birliği ülkelerinden sonra zeytin üretiminde ikinci sırada olmasına ve dünyanın belli başlı zeytin bölgeleri arasında yer almasına karşın tarımsal teknik ve teknolojiye gelişmelerin zeytin ve zeytinyağı üretimine yansıtılamamıştır.

Zeytin yetiştiriciliğinde karşılaşılan temel sorunların başında, zeytinde ürün kaybına neden olan hastalık ve zararlılar gelmektedir. Bunların arasında önemli bir bakteriyel hastalık olarak *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (zeytin uru veya zeytin dal kanseri) yer almaktadır (Anonim, 2008a).

*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*; zeytin (*Olea europaea*), zakkum (*Nerium oleander*), dişbudak (*Fraxinus excelsior*) ve minör konukçu bitkileri olarak da kurtbağrı (*Ligustrum japonicum*) ve yasemin (*Jasminum* spp.) gibi bitkiler üzerinde hiperplastik semptomlara neden olan bitki patojeni bakterisidir (Garden ve ark., 1992; Young ve ark., 1996) [= *P. syringae* subsp. *savastanoi* Janse (1982)]. Zeytin uru hastalığı olarak bilinen hastalık eski zamanlardan beri bilinmekte ve dünyada zeytin yetiştirilen hemen her yerde ortaya çıkmaktadır (Janse, 1982; Surico ve ark., 1985; Surico ve Iacobellis, 1992; Iacobellis ve ark., 1998; Sisto ve ark., 2007).

Konukçu bitkilerde soğuk, dolu yoluyla açılan yaralardan giriş yaparak bitkilerin dal, gövde ve yaprak gibi kısımlarında ur denen odunsu yapılar meydana getirmektedir. Başlangıçta yeşil olan urların rengi zamanla siyahlaşır; üzeri düz süngerimsi halden pürüzlenip odunlaşarak siyah renk almaktadır (Gardan ve ark., 1992). Bakteri, konukçu

bitkilerin hücreleri arasında indol 3-asetik asit (IAA), zeatin, trans-zeatin ribozid adlı bitki büyüme hormonlarını bol miktarda salgılayarak konukçularında urların oluşmasına neden olmaktadır (Panagopoulos, 1993; Tatlı, 2004). Bitkilerdeki gal formasyonlarından bakterilerin yüksek konsantrasyonlardaki indolasetik asit (IAA) oluşturmasının neden olduğu belirtilmektedir (Smidt ve Kosuge, 1978; Comai ve ark., 1982; Surico ve ark., 1985; Surico ve Iacobellis, 1992; Iacobellis ve ark., 1994).

Patojenin gelişmesi için optimum sıcaklık 22-24 °C, maksimum sıcaklık 32 °C, minimum sıcaklık 5-10 °C'dir. Doğal enfeksiyonların genelde ekim ile haziran arasında yağmurla birlikte meydana gelmektedir. Uurlar bahar ve yaz başında oluşmaktadır (Teviotdale, 1994; Tatlı, 2004). Bakteri genellikle oluşan uurlarda yıl boyunca kalmakta ve çoğalmaktadır. Yağmur ile birlikte bakteriler yıkanarak bitkinin diğer kısımlarına yayılmaktadır (Panagopoulos, 1993; Teviotdale, 1994; Tatlı, 2004). Uurlar bitkinin besin maddesi ve su alımını engellediğinden bitki zayıf düşmekte ve sonunda kurumaktadır (Gardan ve ark., 1992).

Hastalığa karşı alınması gereken kültürel önlemler olarak zeytin dikimine uygun olmayan yerlerde, özellikle de sık sık don olaylarının meydana geldiği yerlerde zeytin dikiminden vazgeçilmesi; fazla su tutan, tabanı killi topraklara zeytin dikilmemesi; zeytinliklerin sağlıklı fidanlarla tesis edilmesi; aşı kalemlerinin hastalıktan arı fidanlardan alınması ve aşı aletlerinin temiz olması; kanserli ağaçların nemli ve yağışlı günlerde olmamak kaydıyla budanması; budama aletlerinin sık sık % 3'lük lizol eriyiği veya % 10'luk sodyum hipoklorit ile dezenfekte edilmesi; fazla azotlu gübrelemeden kaçınılması ve budama artıklarının bahçeden uzaklaştırılması sayılabilmektedir. Kimyasal mücadelede ise uurların belirgin olarak ortaya çıktığı ve patojenin inaktif hale geçtiği Temmuz-Ağustos aylarında bahçelerin kontrol edilmeli, uurlu kurumuş dallar temizlenmeli, yara yerlerine % 5'lik göztaşı eriyiği sürülmeli, kullanılan aletler dezenfekte edilmeli, aralık sonunda hasattan hemen sonra, Şubat sonunda don ve dolu zararından hemen sonra, ilkbahar yağmurları başlamadan önce ve sonbahar yağışlarından önce olmak üzere toplam 4 defa ilaçlama yapılmalıdır. İlkbahar ilaçlamasında % 1'lik, diğer ilaçlamalarda % 2'lik bordo bulamacı kullanılmalıdır (Anonim, 2008a).

Bu çalışma kapsamında, Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illerinde bulunan zeytin üretim alanlarından zeytin dal kanseri (*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*)



hastalığı belirtileri görülen örnekler toplanmış; elde edilen izolatların tanısı için morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine bakılmış ve moleküler yöntemler kullanılmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Zeytin uru hastalığı, M.Ö. 4. yüzyılda Yunan filozofu Theophrastus tarafından tanımlanmıştır. 1886'da Arkangeli urların içinde bulunan bakteriyi bulmuş ve Savastano 1887-1889 yılları arasında urlardan bakteriyi izole ederek ve yapay enfeksiyonlarla zeytinde karakteristik urlar meydana getirebilmiştir (Panagopoulos, 1993; Tatlı, 2004).

Hastalığın etiolojisi Erwin F. Smith ve J. B. Rorer tarafından 1904'te çalışılmış ve 1908'de Savastano'nun anısına *Bacterium savastanoi* olarak isimlendirilmiştir (Panagopoulos, 1993; Tatlı, 2004). Dışbudak (*Fraxinus excelsior* L.) bitkisinden izole edilen "*Bacterium savastanoi* var. *fraxini*" (Brown, 1932; Gardan ve ark., 1992) ve Ferraris tarafından zakkum (*Nerium oleander*) bitkisindeki urlardan izole edilen "*Bacterium tonellianum*" (Ferraris, 1926; Gardan ve ark., 1992) olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra *Pseudomonas savastanoi* var. *nerii* (Skerman ve ark., 1989; Gardan ve ark., 1992) olarak adlandırılan bakteri, Young ve ark. (1978) tarafından *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* içine dahil edilmiştir (Gardan ve ark., 1992). Janse (1992), yeni bir subspecies şeklinde *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* olarak yeniden adlandırmıştır. Gardan ve ark. (1992), nümerik taksonomi ve DNA-DNA hibridizasyonu sonuçlarına göre *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*'yi tür seviyesine yükselterek *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olarak yeniden adlandırmışlardır.

Gardan ve ark. (1992), yaptıkları çalışmada farklı konukçulardan izole ettikleri 143 adet *P. syringae* subsp. *savastanoi* strainlerini biyokimyasal ve fizyolojik testlere tabi tutmuşlar; nümerik analizler yapmışlar; DNA-DNA hibridizasyonunu belirlemişlerdir. Sonuç olarak *P. syringae* subsp. *savastanoi*'nin, *P. syringae* pv. *glycinea* ve *P. syringae* pv. *phaseolicola*'nın yer aldığı DNA yakınlık grubu içinde olduğu belirlenmiştir. Bu DNA grubunun *P. syringae* pv. *syringae*'den ayrıdır. Nümerik analiz sonuçları DNA hibridizasyonu ile desteklenmiştir. Bu yüzden *P. syringae* subsp. *savastanoi* (Janse) 1982, *P. savastanoi* pv. *savastanoi*, *P. savastanoi* pv. *glycinea* ve *P. syringae* pv. *phaseolicola*'nın yer aldığı *P. savastanoi* sp. nov. gibi tür düzeyine yükseltilmiştir.

Gardan ve ark. (1992), *P. savastanoi* pv. *savastanoi*'nin, Oleaceae familyasının çeşitli cins üyelerinde ve zakkum bitkisinde urlar, galler ve kanserler meydana getirdiğini; *P. savastanoi* pv. *glycinea*'nın da soyafasülesinde bakteriyel yanıklık hastalığına; *P.*

*savastanoi* pv. *phaseolicola* fasülyede haleli yanıklık hastalığına neden olduklarını bildirmişlerdir.

İyriboz (1941), hastalığın Türkiye’de ilk defa tespiti 1939 yılında, Ayvalık’ta dolu yağışını takip eden şiddetli salgın şeklinde yapılmıştır.

Karaca (1977), Karadeniz, Marmara, Ege, Akdeniz ve Güney Doğu Anadolu Bölgelerinde görülen hastalığın Ege ve Akdeniz Bölgelerinde daha tahripkar olduğunu bildirilmiştir.

Varvaro ve Surico (1984), yaptıkları çalışmada *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*’nin zeytin bitkisinin yapraklarında durgun fazda bulunduğunu; bu sayının tek bir bitki üzerindeki hastalığın şiddetiyle ilişkili olmadığını belirlemişlerdir. İlkbahar ve sonbahar dönemlerinde populasyon miktarının önemli düzeyde artmasının inokulum kaynağı olabileceklerini ortaya koymaktadır.

Varvaro ve Surico (1984), hastalığın zeytin ağaçlarında şiddetli yaprak dökümüne ve ölüme neden olarak şiddetli bir şekilde görülebileceğini ve ürün ve kalitede azalma, çiçek dökümüne de neden olabileceğini tespit etmişlerdir.

Varvaro ve Surico (1984), zeytin çeşitlerinin bu hastalığa karşı hassasiyeti ile ilgili olarak, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının zeytin bitkisine inokule edildikten sonra en yüksek bakteriyel populasyonun İtalyan cvs. Nocellara del Belice ve Leccino zeytin kültürvarlarında, cv. Coratina zeytin kültürvarlarındakinden daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Panagopoulos (1993); Tatlı (2004), yaşlı urların genelde koyu renkli ve kaba görünümlü yapılar şeklindedir. Genç urların ise iç kısmı yumuşak, süngerimsi yapıda, içerisinde parlak, yapışkan, sulu olduğunu, meyve enfeksiyonlarının 0.5-2.5 mm çapta dairesel, kahverengi lekeler şeklinde lentisellerden başlayarak rengin koyulaşarak siyahlaşması ve dokuya batık bir hal alması şeklinde olduğunu tespit etmiştir. Bu belirtilerin Yunanistan’da ilk defa 1958’de Zachos tarafından tarif edildiğini bildirmiştir. Ayrıca Yunanistan’da patojenin *Nerium oleander* ve *Jasminum spp.*’de doğal enfeksiyonlara neden olduğunu belirlemiştir.

Surico (1993), zeytin ve zakkumdan izole edilen *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının süspansiyonları kendi konukçuları olan zeytin ve zakkum

yapraklarına ayrı ayrı inokule edildiğinde, zakkumdan alınan izolatların hem zeytin hem de zakkumun zedelenmiş yapraklarında kansere neden olduğunu; ancak zeytin izolatlarının sadece zeytin yaprakları üzerinde bulunduğunu saptamış ve SEM (scanning electron microscop) çalışmaları ile de doğrulandığını bildirmiştir.

Varvaro ve ark. (1993), *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin virü lent (hastalık yapabilen) ve avirü lent (hastalık yapamayan) izolatlarının epifitik devamlılığı ve zeytin yaprak yüzeyine kolonize olma yeteneklerinin yapay enfeksiyondan sonra incelenmesi sonucunda, virü lent bakterilerin çoğaldığı ve yaprak yüzeyinde potansiyel inokulum kaynağı olarak bulunduğunu belirlemişlerdir. Avirü lent bakteri sayısının ise hızla azalmış olduğunu ve sonunda hiç saptanmadığını belirlemişlerdir.

Ersoy (2002), Antalya ili ve ilçelerinde (Manavgat, Serik, Aksu, Kaş, Kale, Döşemealtı) yaptığı çalışma sonucunda bu hastalığın, %80 oranında Serik yöresinde ve Edincik-su zeytin çeşidinde; %10 oranında Kaş-Dalyan yöresinde ve kan zeytini zeytin çeşidinde; çalışılan diğer yörelerde ise %15-21 arasında değişen oranlarda ortaya çıktığını tespit etmiştir.

Hall ve ark. (2004), 2003 yılında yaptıkları çalışmada *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin güney Avustralya'da ilk tespiti 2 yaşındaki zeytin kültürlerinde (*Olea europaea* cv. Barnea) yapmışlardır.

Tatlı (2004), Aydın ve Muğla illeri ve çevre köylerinde yaptığı çalışmada, zeytin uru hastalığının bu yerlerdeki varlığını ilk kez tespitini yapmıştır.

Teviotdale (1994); Tatlı (2004), patojenin zeytin bitkisinin yanı sıra diğer Oleaceae familyası üyelerinde de sürgün ve dallarında, dökülen yaprak izleri veya çeşitli şekillerde oluşan yaralarda (budama ve hasat yaraları) 1-5 cm çaplı galler oluşturduğunu bildirmişlerdir. Gallerin su ve besin maddesi iletimini engellediğini, yaprak dökümüne, sürgün ve dalların ölümüne yol açtığını tespit etmişlerdir.

Cayuela ve ark. (2006), ur gibi epifitik bakteriyel populasyon alanlarının, bakteriyel rezervuar fonksiyonu yaptıklarını bildirmiştir. Aynı araştırmacılara göre; yağmurlu sezonlarda (Nisan ve Kasım ayları arasında) su, inokulumu bitkinin odunsu dokularına transfer ettiğinde enfeksiyon meydana gelmekte ve enfeksiyon, 4-38 °C arasında meydana gelebilmekte fakat optimum sıcaklık 23-24 °C'de oluşmaktadır.

Marchi ve ark. (2006); Penvalyer ve ark. (2006)'e göre, bitkinin genotipi, bitkinin yaşı, *Pseudomonas savastanoi*'nin enfeksiyon alanındaki konsantrasyonu ve ilgili bakteri ile diğer bakteri türleri arasındaki interaksiyon gibi bir takım faktörler hastalık gelişimini etkilemektedir.

Penvalyer ve ark. (2006)'ın bildirdiğine göre, urlardaki bakterilerin göç etme kabiliyeti ile bitkilerdeki diğer dallara geçmeleri sekonder enfeksiyonları meydana getirmektedir.

Servi (2007), Aydın İlindeki dokuz ilçede (Söke, Koçarlı, Çine, Karpuzlu, Nazilli, Karacasu, Bozdoğan, Buharkent, Kuyucak) yaptığı çalışmada, il genelinde etmenin yaygınlık oranını % 44.9 olarak belirlemiştir.

Mirik ve ark. (2008), Marmara Bölgesinde Tekirdağ, Balıkesir, Bursa ve Yalova illerinde zeytin uru hastalığının Çanakkale'de gezilen bahçelerin hepsinde (% 100), Tekirdağ'da % 66'sında, Balıkesir'de %81'inde, Bursa'da % 4'ünde rastlamışlar; Yalova'da rastlamamışlardır. Bahçe içindeki yayılış oranını Çanakkale'de % 73, Balıkesir'de % 56, Tekirdağ'da % 30 ve Bursa'da % 0.6 olarak belirlemiştir.

Campos ve ark. (2009), zeytin uru hastalığının Portekiz'de birçok zeytin üretim alanında bulunduğunu bildirmişlerdir.

Marchi ve ark. (2009), *Pseudomonas savastanoi*'nin zeytin bitkisindeki sistemik yayılması üzerine histolojik araştırma yapmışlar; zeytin ve *Pseudomonas savastanoi* arasındaki interaksiyonun, urların oluşmasıyla sıkı benzerlik gösterdiğini belirlemiştir. Tespitlerine göre, bakteriyel etmen, bitkinin ksilem borularında lokalize olarak sistemik yayılımda bir potansiyel meydana getirmekte ve bitkinin farklı kısımlarında sekonder enfeksiyonlar oluşturmaktadır.

Comai ve Kosuge (1980)'nin bildirdiğine göre, *P. savastanoi*'nin ürettiği indolasetik asit (IAA) zeytin ve zakkumda ur oluşturmaktadır. L-triptofan'dan, triptofan 2-monooksijenaz enzimiyle indolasetamid oluşmakta; indolasetamid hidrolaz enzimiyle de indolasetamid'den Indolasetik asit oluşmaktadır. Palm ve ark. (1989), *Pseudomonas savastanoi*'nin triptofan monooksijenaz ve indolasetamid hidrolaz enzimleri tarafından katalizlenen reaksiyonlardan sorumlu genlerin sırasıyla *iaaM* ve *iaaH* olarak

belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar zakkum izolatlarında bu genlerin plazmidde bulunduğunu; zeytin izolatlarında ise kromozomlarda bulunduğunu bildirmişlerdir.

Varvaro ve Surico (1984), IAA üretiminin *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin epifitik canlılığıyla ilişkili olduğunu yabancı tip strainlerin zeytin bitkisinin yapraklarında çoğalırken; IAA<sup>-</sup> mutantlarının az çoğalması ya da hiç çoğalmaması ile desteklemişlerdir.

Bakteriyel gelişmeye engel teşkil eden birçok tryptofan analoglarını detoksife etmektedir (Gaffney ve ark., 1990). Ayrıca IAA üretme yeteneği bakteriye selektif özellik kazandırmaktadır.

*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* zeatin, dihidrozeatin, zeatinriboz, isopentenyl adenin, 1'-Metilzeatin gibi çeşitli sitokinler üretilmektedir (Surico ve Iacobellis, 1992). Surico ve ark. (1985), inkübasyon periyodunun azalmasına ve IAA ve sitokin üretiminin artması ur gelişimini artırmakta; sitokin miktarıyla ur boyutunun arasında pozitif bir ilişki tespit etmişlerdir.

*Pseudomonas savastanoi*'nin virülensliği ile IAA üretimi arasında direkt ilişki mevcuttur (Surico ve Iacobellis, 1992).

Surico ve Iacobellis (1992), zakkum izolatlarının, zeytin bitkisinde ur oluşturabildiğini; ancak zeytin izolatlarının zakkumda ur oluşturamadığını bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar, dışbudak izolatlarının zakkumda belirti vermezken; zeytin bitkisinde kabartılı lezyonlar meydana getirdiğini tespit etmişlerdir. Konukçu spesifikliğin *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin IAA sentezi ve ur oluşumundaki temel etken olan sitokin salgılanmasındaki farklılıktan kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Surico ve Iacobellis (1992), zakkum strainlerinde IAA'nın IAA-lisin'e ya da asetil IAA-lisin'e dönüştüğünü ve IAA-lisin'in IAA kadar aktif olabildiğini tespit etmişlerdir.

Mugnai ve ark. (1993), zeytin ve zakkum bitkilerinden elde edilen *Pseudomonas savastanoi* izolatları ile bitki büyüme hormonu üretemeyen (IAA<sup>-</sup>) mutant izolatların zakkum bitkilerine inokule edildikten sonra inokule edilen tüm izolatların çoğaldığını belirtmiştir. ancak IAA üretebilenlerin izolatların yaprak dokularında anormal çoğalmalara neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Iacobellis ve ark. (1998), hastalığın meydana getirdiği kanser symptomunun dişbudakta siğil şeklinde, zeytin ve zakkum bitkilerinde ise ur şeklinde olduğunu bildirmişlerdir. Çalıştıkları izolatların patojenik özellikleri ve farklı konukçularda gelişme özelliklerinin *Pseudomonas savastanoi*'nin üç ayrı pathovar varlığını destekler nitelikte olduğunu tayin etmişlerdir.

Willis ve ark. (1991); Sisto ve ark. (1999), bakterilerin genomlarında yer alan *hrp* (hipersensitif reaksiyon ve patojenisite) geni konukçu patojen aralarında gerçekleşecek başarılı bir ilişkisi için gerekli olduğunu belirtmiştir. *Hrp*<sup>-</sup> mutant bakterilerin konukçusu olmayan bitkilerde ve hassas konukçularının dayanıklı kültürlerinde aşırı duyarlılık reaksiyon meydana getirememişlerdir. Bonas (1994); Willis ve ark. (1991); Sisto ve ark. (1999), *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Xanthomonas* ve *Erwinia* gibi genellikle konukçu bitkilerinde nektotik semptomlara neden olan bitki patojeni bakteri cinslerinin genomlarında yer aldığını bildirmişlerdir.

Bakterilerde oldukça yaygın olarak görülen bakteriosin üretimine *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Xanthomonas* ve *Pseudomonas* cinsi bitki patojeni bakterilerde rastlanmaktadır. Protein yapısındaki bakteriosinler antimikrobiyal etkiye sahip olduklarından bakteriyel patojenlerin kontrolü için alternatif olabileceklerdir (Ersoy, 2002).

Iacobellis ve ark. (1995), altı konukçu (zeytin, zakkum, dişbudak, kurtbağrı, yasemin, akçakesme) bitkiden alınan *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarını bakteriosin üretimi yönünden incelemiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre, 78 izolatın 39'u (% 50) Nutrient Yeast Extract Agar (NYA) besiyerinde (EK-1) bakteriosin üretmiştir. Sıvı besiyeri olan NYB'de (EK-1) bakteriosin üretimi çok az gerçekleşirken; mitomisin C veya UV ışığıyla muamele etmenin üretimi artırmıştır. 31 zeytin izolatı, 13 dişbudak izolatı ve 3 yasemin izolatı bakteriosin üretmiş; zakkum, kurtbağrı ve akçakesme izolatları üretememiştir. Bu çalışma bakteriosin üretiminin konukçu ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. *Pseudomonas savastanoi*'nin ürettiği "savastanoicins" denen bakteriosinler, yüksek moleküler ağırlığa sahip, ısıya karşı hassas (80 °C, 20 dakika) proteolitik enzimlerdir. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *P. syringae* pv. *glycine* ve *P. syringae* pv. *phaseolicola*'nın gelişimini engellemeyen bakteriosinlerin aynı alt türün izolatlarının gelişmelerini engellemişlerdir.

*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin tanısı içerisinde bakteri izolasyonunu takiben morfolojik değerlendirme, fizyolojik ve biyokimyasal testler ve patojenite testleri yapılmaktadır. Tanıyı desteklemek için serolojik testler (Casano ve ark., 1987; Mirik ve ark., 2008), moleküler yöntemler (Penvalyer ve ark., 2000; Ersoy, 2002) veya tüm hücre yağ asit analizlerine dayanan mikrobiyal tanı sistemi (Wells ve ark., 1991; Mirik ve ark., 2008) kullanılabilir.

Ersoy (2002), yarı seçici besin ortamı olan PVF1 besiyerinin (EK-1) genel olarak, bitki materyalleri örneklendirildiğinde yapraklarla bağlantılı saprofitik bakterilerin gelişimini % 90 ve daha fazla engellediğini bildirmiştir. Zeytin ve zakkum bitkilerinden *P. s. pv. savastanoi*'nin izolasyonunda kullanılmasıyla bakterinin hemen hemen saf kültür olarak elde edilebileceğini belirtmiştir. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin genç dokulardan izolasyonu yapılırken, taze enfekteli bölgelerden alınan küçük parçaların saf su ya da fosfat tamponu içerisinde süspansiyon haline getirilerek petri kaplarına yayılmasıyla sağlandığını, yaşlı çatlaklardaki gallerden elde edilen *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin hem farklı özellikte, sarı pigmentli bakterilerden bulunmasından hem de canlı popülasyonunun az olmasından dolayı zor olduğunu tespit etmişlerdir.

Wilson ve ark. (1971), zeytin ve zakkum bitkilerinden elde edilen *Pseudomonas savastanoi* izolatlarının, 12 substratı oksidatif kullanımı yönünden önemli bir farklılık göstermediklerini belirlemişlerdir. Bakteri hücreleri, karbon kaynağı olarak D-glikoz içeren besiyerinde kültüre alındığında, oksijen emiliminin en fazla alanin'de olduğu, bunu fruktoz, serin, glikoz, gliserol, glutamin, asparajin ve galaktoz'un takip ettiğini tespit etmişlerdir. Sükroz, ksiloz, fenilalanin ve triptofan'da oksijen tüketimi çok az ya da hiç yoktur. Sükroz içeren tam bir besiyerinde zakkum izolatlarının çoğu gelişmiş ve ölçülebilir düzeylerde asit üretmişlerdir. Sükroz besiyerinde gelişen sükrozu okside ettiği solunum ölçüm testleriyle belirlenen bu izolatların, kazanılmış sükroz transport sistem ve kazanılmış  $\beta$ -fruktofuranosidaz sayesinde sükrozu kullanabildikleri tespit edilmiştir. Test ettikleri zeytin izolatlarının her iki sistemin kullanımdan yoksun olduklarını belirlemişlerdir.

Gardan ve ark. (1992)'in bildirdiğine göre *Pseudomonas savastanoi* (Smith) Gram(-), çubuk formda, 0.4-1.8  $\mu\text{m}$  – 1.0-3.0  $\mu\text{m}$  büyüklüğünde, 1-4 polar flagella ile hareketli bir bakteridir. Patojen oldukça yavaş gelişmektedir. Koloniler beyaz ya da krem renğinde, düzgün ve düz şekilde ve YBGA besiyerinde tırtıklı ya da tüm alanda parlama



özelliği göstermektedir. Tütün yapraklarında hipersensitif reaksiyon oluşturmaktadır. Metabolizma solunumla yapılmaktadır. Oksidaz negatiftir; nitrata indirgemez. King'B besiyerinde (EK-1) UV ışık altında mavi fluoresan pigment oluşturmaktadır. Arginin testi negatiftir. Eskulin, jelatin ve nişastayı hidrolize etmemektedir. Sükroz, L-arabinoz, glukonat, kaprilat, fumarat, DL-gliserat, L-malat, piruvat, sitrat, D- $\alpha$ -alanin ve L-prolin asimilasyonunu gerçekleştirirken; laktoz, L-xyloz, adonitol, 2-aminobütirat, DL-laktat, DL-3-hidroksibütirat, D-(-)-tartrat, L-sistein, L-metionin ve L-valin asimilasyonunu gerçekleştirilememektedir. Çalışmalarında Oleaceae familyasının çeşitli cinslerinden ve zakkum (*N. oleander*) bitkisinden elde ettikleri strainlerin levan üretmediğini; dışbudak (*F. excelsior* L.) (%21), fasulye (*Phaseolus vulgaris*) ve soya (*Glycine max* L.) bitkilerinden elde ettikleri strainlerin levan ürettiğini belirlemişlerdir.

Ercolani (1993), zeytin yapraklarından ve urlarından izole ettiği *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* izolatlarının karşılaştırmasını yapmıştır. İtalya'da cv. Coratina zeytin kültürvarlarının yetiştiriciliğinin yapıldığı zeytin plantasyonlarından 20 ağaçtan, 100 adet yaprak ve 25 urdan patojenin izolatlarını elde etmiştir. 60 karakter kullanarak nümerik analizlerini yapmış ve sonuç olarak da Ekim ve Nisan aylarında 6 aylık zeytin ağaçlarındaki urlardan izole edilen izolatların arasındaki benzerlik, Nisan ve Ekim aylarında yapraklardan elde edilen izolatların arasındaki benzerlikten daha yüksek çıkmıştır.

Mugnai ve ark. (1994), *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının patojenite testleri ile DNA restriksiyon parmak izlerini SDS-PAGE karşılaştırılmak için zeytin, zakkum ve dışbudak bitkilerinden *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarını izole etmişlerdir. *Pseudomonas syringae*'nin *savastanoi* alt türlerinin konukçu dizisi, konukçusunda meydana getirdiği belirtiler ve genomik profilleri açısından farklılık gösterdikleri tespit edilen 3 farklı ırk belirlenmiştir.

Azad ve Cooksey (1995), zakkum bitkisinden elde ettikleri *Pseudomonas savastanoi* izolasyonu için "zakkum ur agar" (OKA) adını verdikleri yeni bir besiyeri kullanmışlardır. Farklı coğrafik alanlardan elde ettikleri 39 *Pseudomonas savastanoi* izolatını OKA besiyerinde geliştirmişler; % 5.7'den % 93.6 arasında değişen gelişme aralıkları (ortalama % 43.6) tespit etmişlerdir. BCBRVB, M-71, KBBC, MSP, Prolin agar ve PVF1 besiyerleriyle kıyaslandığında OKA'nın daha seçici özellikte olduğu kaydedilmiştir. % 89- % 96.7 arasında zakkum dokularındaki diğer saprofitik bakterilerin

gelişimini engellediğini belirlemişlerdir. Test edilen diğer bitki patojeni bakterilerin % 44'ü OKA'da gelişme gösterememiş; % 13'ü de az gelişme göstermiştir.

Alvarez ve ark. (1998), zeytin, yabani zeytin, zakkum, dişbudak ve katırtırnağı bitkilerinden elde edilen 160 *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* izolatının ve diğer patojenlerin 4 tip izolatının, biyokimyasal özellikler, farklı karbon kaynaklarının kullanımı, antibiyotiğe hassasiyet ya da dayanıklılık ve IAA üretimini içeren 102 fenotipik özellik açısından analizlerini yapmışlar ve dendogramlar oluşturmuşlardır. Farklı coğrafik alanlardan aynı türün üzerinden alınan urların 15 özelliğinin çevresel faktörlerden etkilendiğini; aynı alandan farklı konukçulardan elde edilen izolatları patojenisite testleriyle karakterize ederek farklı pathovarlar olarak değerlendirdiklerini yayınlamışlardır.

Braun ve ark. (2001), fitopatojenik pseudomonadların bitkilerde farklı belirtileri içeren kanserler; geriye doğru ölümler, çiçek, sürgün, yaprak ya da çekirdekte yanıklıklar; yaprak lekeleri (*Pseudomonas syringae* patovarları), yumuşak ya da kahverengi çürüklükler (*P. viridiflava*, *P. marginalis* patovarları), tümör ya da urlar (*P. savastanoi* patovarları) ve mantar yanıklıkları (*P. tolaasii*, *P. agarici*) gibi hastalıklara neden olduğunu bildirmişlerdir. Pseudomonasların çoğu bitkinin yeşil aksamında epifit olarak bulunduğunu ya da rizosferde yer aldığını; tek tanılama yönteminin karmaşık olabileceğini; seçici besiyeri kullanımı, biyokimyasal/besinsel, patojenisite ve genetik testlerin kombinasyonu önerilmektedir. Bununla birlikte birçok patojen pseudomonadın tanısı basit ve birkaç test ile yapılabileceği bildirilmiştir.

Ersoy (2002), Antalya ili ve ilçelerinde (Manavgat, Serik, Aksu, Kaş, Kale, Döşemealtı) yaptığı çalışmada PVF1, King's B ve NSA (Nutrient Sakkaroz Agar) yarı seçici besiyerlerinde (EK-1) elde ettikleri izolatların tanısı ile ilgili olarak NSA ortamında levan oluşumu, oksidaz testi, patates çürüklük testi, arginine dihidrolaz testi ve tütünde aşırı duyarlılık reaksiyon testlerini (LOPAT) uygulamış; patojenisitesini zeytin bitkilerinde gerçekleştirmiş; moleküler olarak PCR yöntemiyle etmenin kesin tanısını yapmış; alkaline lizis yöntemi ile plazmid içeriklerini belirlemiş ve Rep-PCR yöntemiyle toplanan izolatlar arasındaki genomik farklılıkları tespit etmiştir.

Bertolini ve ark. (2003), *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'yi tespit etmek için tek bir kapalı tüp içinde "iç içe geçmiş PCR" dedikleri bir moleküler yöntem

geliştirmişlerdir. İç içe geçmiş PCR, dot-blot hibridizasyon yöntemi ile birleştirildiğinde zeytin ekstraktının bir ml'sindeki bir hücre tespit edilebilmiş ve bu şekilde de daha önceden rapor edilmiş tespit yöntemleriyle kıyaslandığında en fazla hassasiyete sahip olduğunu bildirmişlerdir. Daha önceki teknikler (bakteriyel izolasyon ve tek PCR) uygulandığında örneklerin 50'sinde; iç içe geçmiş PCR tekniğiyle ise 82'sinde *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi* tespit edilmiştir.

Tatlı (2004), Aydın ve Muğla illeri ve çevre köylerinde yaptığı çalışmada, bakteri izolasyonlarını King's B ve PVF1 besiyerlerinde yapmış; elde ettiği izolatların patojenite ve virülenslik testlerinde 62 izolatın 58 tanesi zeytin dallarında değişen boyutlarda urlara neden olduğunu, zakkum izolatları dışında hiçbir zeytin izolatının zakkumda ur oluşturmadığını tespit etmiştir. 58 izolatın 41 tanesinin King's B besiyerinde fluoresan pigment oluşturduğunu; testlenen tüm izolatların sorbitol, xyloz ve gliserol'ü kullandığını; hepsinin tütünde aşırı duyarlılık reaksiyon verdiğini; arginin, jelatin, eskulin hidrolizi, nitrat redüksiyonu, 37 °C'de gelişme, % 5 nütrient sakkaroz agar'da levan oluşturma, indol ve trehaloz, erythritol, sellobioz, raffinoz'dan yararlanma testlerinin tüm izolatlarda negatif reaksiyon verdiğini; meso-tartarat, L-tartarik ve malonik asitten yararlanma testlerinde değişen sonuçlar elde ettiğini bildirmiştir. Zeytin izolatları bakteriosin üretmiş; zakkum izolatları üretememiştir. 22 *Pseudomonas savastanoi* izolatının SDS-PAGE yöntemi ile tüm proteinleri incelemiş ve zeytin izolatları arasında farklılık tespit etmemiştir.

Marchi ve ark. (2005), 'ın bildirdiğine göre, zeytin uru hastalığı etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, uzun süredir fluoresan *Pseudomonas* cinsleri için kullanılan LOPAT testleri ile (Levan üretimi, oksidaz testi, pektinolitik ve arginin dihidrolaz aktivitesi, tütün aşırı duyarlılık reaksiyonu) fitopatojenik altgrup 1b içine dahil edilmiştir. *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi* altgrup 1a içinde yer alan pseudomonadlardan levan üretiminin olmamasıyla ayrılmaktadır. 1990 yılında İtalya'da zeytin urunun yaygınlığını araştırdıkları çalışmalarında, iki zeytin ağacından elde ettikleri *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının levan pozitif olduklarını belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar birkaç yıl sonra *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* popülasyonlarının levan üretim yaygınlığını belirlemek için çalışmalarına rastgele seçtikleri 39 zeytin bahçesini ilave etmişlerdir. Bu alanların yaklaşık % 38'inde levan pozitif bakteriler kaydedilmiştir. Fenotipik, genotipik ve patojenik karakterizasyonlar sonucunda bu bakterilerin *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi* olduğu teyit edilmiştir. Levan pozitif ve levan

negatif *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi*'lerin aynı bitki üzerinde *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'ye ait altpopulasyonlar olarak bir arada bulduklarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar çalışmanın verilerine dayanarak LOPAT tanılayıcı şemasında yer alan altgrup 1a ve 1b'nin birleştirilmesini ve *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin hem levan pozitif hem de levan negatif olabilen bir bakteri türü olarak düşünülmesi gerektiğini önermişlerdir.

Marchi ve ark. (2006), İtalya'nın merkezinde zeytin uru hastalığı için yaptıkları çalışmada sörveylerden elde ettikleri urların % 70'inde *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi* ile *Pantoea agglomerans* arasında ilişki olduğunu belirlemişlerdir. Bu iki bakterinin 1 yaşındaki zeytin bitkilerinin gövdesine inokule edilmesiyle yaptıkları patojenisite çalışmasında gelişen *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populasyonlarının *P. agglomerans*'ın gelişimini açıkça desteklemiştir. Bununla birlikte inokulasyon alanındaki baskın bir *P. agglomerans* populasyonunun yer ve besin rekabeti, *P. agglomerans*'ın antibiyotik üretmesi gibi nedenlerden dolayı *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* gelişimini baskılamıştır. Aralarındaki diğer bir ilişki de *P. agglomerans*'ın ürettiği IAA'nın (sitokinin üretmemektedir) *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin oluşturduğu urların boyutunu küçülttüğü aynı araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir.

Mirik ve ark. (2008), Marmara Bölgesinden aldıkları örneklerden 208 bakteriyi King's B ve PVF-1 besiyerinde izole etmişler; patojenisite testlerinde 38 izolatu, zeytin fidanlarına inokule etmişler ve patojenlerin urlar meydana getirdiğini tespit etmişlerdir. Urlardan reizolasyonlar yaparak elde ettikleri 88 izolatu tanıısında; hepsinin, oksidaz testi, patates çürüklük testi, levan üretim testi, arginine dehidrolaz testine negatif reaksiyon verdiklerini; tütün aşırı duyarlılık reaksiyonunun pozitif olduğunu belirtmişlerdir. Tanıyı doğrulamak için izolatları BIOLOG, Spesifik PCR ve yağ asit analizlerine dayanan mikrobiyal tanı sistemini (MIS) kullanmışlardır. Zeytin, zakkum, sarı yasemin, mersin ve cılbırtı çalışından elde ettikleri *Pseudomonas savastanoi* izolatlarının yağ asidi kompozisyonuna göre karşılaştırılması sonucunda fenotipik olarak % 96.7, BOX-PCR'a dayanan küme analizlerine göre de % 97.4 oranında benzer olduklarını tayin etmişlerdir.

Krid ve ark. (2009), 58 adet Tunus'tan elde ettikleri ve 21 adet dünyanın farklı yerlerinden elde ettikleri *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi* izolatının RAPD DNA metodu ile genetik ayrımını çalışmışlardır. 3 gruba ayırdıkları izolatlardan 1. grupta Tunus'un güneydoğusundan ve Avrupa'dan alınan izolatlar; 2. grupta Tunus'un

kuzeyinden elde edilen izolatlar; 3. grupta ise Tunus'un merkezinden alınan izolatlar yer almıştır.

Servi (2009), Aydın İlindeki dokuz ilçede (Söke, Koçarlı, Çine, Karpuzlu, Nazilli, Karacasu, Bozdoğan, Buharkent, Kuyucak) yaptığı çalışmada, etmenin tanılanmasında başlıca PVF1 ve King's B besiyerlerinde gelişim, NSA'da levan oluşumu, 37°C' de gelişim, oksidaz testi, esculin hidrolizi, pektolitik aktivite testi, arginine dehidrolaz testi, jelatinin hidrolizi, tütün yaprağında aşırı duyarlılık reaksiyonu, nitrat redüksiyonu, üreaz aktivitesi, erythritol, mannitol, sorbitol ve sakkaroz kullanımı, D-arabinoz, nitrat indirgenmesi, IAA üretimi, yumurta sarısı testi testlerini kullanmıştır. Patojenin moleküler tanısında, PCR tekniği ile *iaal* ve *hrc* gen bölgelerini çoğaltmıştır. Patojenisite testleri zeytin ve zakkum fidanlarının sürgünlerinde gerçekleştirilmiş, altı izolat hariç *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının tümünün ur oluşturma kabiliyetinde oldukları gözlenmiştir. Surveyler sonucunda elde edilen 125 bakteriyel izolattan 85'i, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olarak tanılanmıştır.

Rodriguez-Moreno ve ark. (2009), *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin zeytin gövdesindeki endofitik fazı ve zeytin urlarının histogenesi üzerinde yaptıkları çalışmada yeşil fluoresan proteine sahip bir plasmid vektör *in vitro*da zeytine inokule etmişler; *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* infeksiyonunu real-time görüntülemesi, açık renkli alanların oluşması, epifluoresan ve elektron mikroskobu ile tespit etmişlerdir. Gövde dokularında oluşan hipertrofinin, bakteriyel agregatlaşma, mikrokoloniler ve çok katlı biyofilm tabakasından kaynaklandığını ve sonuçta hipertrofiye uğramış dokuların dış katmanlarının parçalanmasıyla sonuçlandığını tespit etmişlerdir. Gövde vasküler sistemiyle bağlantılı olan ksilem borularında patojenik yayılma enfeksiyonun son safhalarını oluşturmaktadır.

Quesada ve ark. (2010), *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin epifitik popülasyonlarının dört yılın üzerinde aynı üretim alanında inokule edilmemiş bitkiler aracılığıyla urlarla inokule edilmiş bitkilerle ilişkisini görüntülemek için çalışma yapmışlardır. Hem inokule edilmiş hem de inokule edilmemiş kontrol ağaçlarında hastalık şiddetini ölçmüşlerdir. Ortalama *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* popülasyonunun inokule edilmiş ağaçlarda fazla olmuş; epifitik *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* popülasyonları inokule edilmiş ağaçlardan inokule edilmemiş ağaçlara doğru olmuştur.

Çalışmanın sonucunda zeytin uru hastalığı şiddeti yüksek bir seviyeye ulaşmıştır. Moleküler tiplendirme ile inokule edilmemiş kontrol ağaçlarındaki epifitik *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının inokule edilmiş izolatlarla aynı olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak da *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin zeytin bahçelerinde bir baştan öbür başa yayılım gösteren epifitik bakterilerin kısa mesafelerde hareket ettiğini ve epifitik *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin varlığıyla ağaçlardaki ur sayısı arasında ilişki olduğunu kaydetmişlerdir.

Kavak ve Üstün (2009), 2007-2008 yıllarında Şanlıurfa'da yaptıkları çalışmada bazı zakkum bitkilerinde bir ur hastalığı tespit etmişlerdir. Birinci yıl meydana gelen gallerin bitkinin ana gövdesinin alt kısımlarında daha büyük boyutlarda tekrar çoğaldığını; yeni enfektelenen bitkilerin tepe kısımlarındaki urların benzer olduklarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları biyokimyasal ve patojenisite testlerin sonucunda bitki patojeni bu bakterinin *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* olduğunu tespit etmişlerdir.

### **3. MATERYAL VE METOD**

#### **3.1. Materyal**

Bu çalışmada materyal olarak, Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illerindeki zeytin üretim alanları, bu alanlardan zeytin uru hastalığı simptomsu gösteren zeytin, yasemin ve zakkum bitki örnekleri, urlardan inokule edilen bakteri izolatları, patojenisite ve biyokimyasal testlerde pozitif kontrol olarak kullanılan referans bakteri izolatları, PCR çalışmalarında kullanılan primerler, patojenisite testleri için kullanılan 1 yaşındaki zeytin fidanları ve saksılar, tütün hipersensitif reaksiyonu testlerinde kullanılan *Nicotiana tabacum* cv. Samsun çeşidi tütün bitkileri, bakteriyel izolasyonda gerekli olan cam petriyeler, hazır besiyerleri ve bazı besiyerlerinin içeriğinde yer alan kimyasallar, izolatların tanısında kullanılan morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerde kullanılan bazı kimyasallar ve laboratuvar alet ve malzemeleri kullanılmıştır.

#### **3.2. Metod**

##### **3.2.1. Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması ve Bakteri İzolasyonu**

Bu çalışmada, bölümlü örnek yöntemi kullanılarak ve farklı özellik gösteren bölgelerden rastgele seçilerek Haziran- Ağustos ayları arasında surveyler gerçekleştirilmiştir. Çalışma alanı olarak belirlenen illerdeki zeytin plantasyonlarına göre ilçe ve köylerdeki örnekleme sıklığı belirlenmiştir.

Ziyaret edilen zeytinliklerde, yetiştirme alanı (dekar), örneğin alındığı yer, üretici adı ve yetiştirilen zeytin çeşidi not edilmiştir. Kahramanmaraş ilinde Merkez (Bahçelievler, Üngüt yolu, Tekerek yolu, Çitosan, Bozdere), Türkoğlu (Merkez, Balıkalanı, Açık cezaevi, Yeşilyöre), Kapıçam; Gaziantep ilinde Merkez (Yolağzı, Gedikli köyü, Bağyeri), Islahiye (Tahtaköprü barajı), Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol, Mercanlı, Akçaköy, Güveçli köyü), Nizip (Uluyatır köyü, Aydınkavak köyü), Oğuzeli (Çıkış, Sekili kasabası); Kilis ilinde Merkez (Beşikköyü, Başkale köyü, Kocabey köyü)'den hastalıklı bitki örnekleri toplanmıştır. Zakkum örnekleri ise Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Avşar Kampüsü'nden ve Gaziantep ili Islahiye ilçesinden elde edilmiş, yasemin örneği de Kahramanmaraş ili Türkoğlu ilçesinden elde edilmiştir.

Zeytin bahçeleri kontrol edilip ur belirtisi gösteren bahçe oranı, bahçe içindeki hastalıklı ağaçların oranı ve hastalık şiddeti belirlenmiştir.

Zeytin üretim alanlarındaki incelemelerde gövde ve dallarda ur oluşumunu gösteren yumuşak dokuya sahip, açık renkli ve sertleşmemiş urlardan örnek alınmıştır. Taze urlara sahip hasta bitki parçaları gazete kâğıdına sarıldıktan sonra naylon torbalara yerleştirilerek buz kutusunda laboratuara getirilmiştir.

Hasta bitki örneklerinden etmenlerin izolasyonu Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Alınan yumuşak urlara sahip örnekler önce % 1'lik NaClOH içerisinde 3 dakika bekletilerek yüzeysel sterilizasyon yapılmıştır. Uurların üst kısmındaki kabuk tabaka bisturi yardımıyla alınarak uzaklaştırılmıştır. Daha sonra bir bisturi ile 3-5 mm büyüklüğünde küçük bir parça çıkarılarak bir steril havan içerisinde iyice ezilmiş ve üzerine 1-2 ml steril su ilave edilmiştir. Havan içerisinde 15-20 dk. ile 1-2 saat arasında bekletildikten sonra bir öze yardımı ile havan içindeki solüsyondan, King's B (King ve ark., 1954) ve PVF-1 (Surico ve Lavermicocca, 1989) (EK-1) besiyerlerine ekim yapılmıştır. Petri kapları, 25°C'de 2 gün inkübasyondan sonra, buzdolabında 2-3 gün bekletilmiştir. Daha sonra PVF-1 besi yerlerinde gelişen kolonilerden floresan renge sahip veya King's B besiyerinde zayıf floresan tipte, beyaz-krem renge, küçük, yuvarlak ve kabarık olmayan tipte gelişen koloniler seçilerek saflaştırılmıştır. Tütün aşırı duyarlılık reaksiyonu pozitif olan izolatlar, patojenisite ve diğer tanı testlerinde kullanılmak üzere eğiş cam tüplerde, YDC besiyerinde (EK-1) geliştirilerek +4 °C ve % 20 gliserin içerisinde -80 °C'de saklanmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

### 3.2.2. Patojenisite Testleri

#### 3.2.2.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illerinden elde edilen bakteri izolatlarının patojenisiteleri, iklim odasında yapılmıştır. Tütünde aşırı duyarlılık testleri için NA (EK-1) besiyerinde 1-2 gün süreyle geliştirilen bakteri izolatlarının 10<sup>8</sup> hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyonu, *Nicotiana tabacum* cv. Samsun bitkilerinin yapraklarının alt kısmından iki yan damar arasına enjektör yardımıyla enjekte edilmiş, 25 °C'de iklim odasında muhafaza edilmiştir. Ortalama 24-48 saat sonra yapılan kontrollere göre değerlendirme yapılmıştır



(Klement, 1963). Pozitif kontrol olarak GSPB 483 kodlu *P. syringae* pv. *tomato* izolatu kullanılmıştır.

### **3.2.2.2. Zeytin Bitkisinde Patojenisite**

Elde edilen bakteri izolatlarının zeytin bitkisinde patojenisiteleri, iklim odasında, 1 yaşında zeytin fidanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Maraş Yağlık çeşidine ait olduğu bilinen tüplü zeytin fidanları Kahramanmaraş'ta fidan satıcılardan temin edilmiştir. İnokulasyonlar, 24 saat Nutrient agar besiyerinde geliştirildikten sonra  $10^7$  hücre/ml yoğunluğunda süspanse edilen bakteri izolatlarının, sağlıklı zeytin fidanlarının sürgün ya da ince dallarına steril bisturi kullanılarak 2-3 mm derinliğinde açılan yaralara bir injektör yardımıyla inokule edilmiştir. İnokulasyon işlemini takiben açılan yaralar nemli pamuk ve parafilm ile sarılarak 24 saat süreyle, 25 °C sıcaklıkta ve % 80 nemde iklim odasında bekletilmiştir. Daha sonunda parafilm ve pamuk çıkarılmıştır. Negatif kontrol olarak steril su, pozitif kontrol olarak CFPB 1672 kodlu *Pseudomonas savastanoi* izolatu kullanılmıştır. İzolatların virülenslik düzeyleri, pozitif kontrolle bulaşık bitkilerde gözle görülür ur (2-3 ay sonra) belirtilerini oluşuktan sonra urların çapı ve uzunluğu ölçülerek belirlenmiştir. Belirtilen bitkilerden tekrar etmen izole edilerek re-izolatlar elde edilmiştir (Janse, 1981).

### **3.2.3. Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Testlerle Tanılama**

Bakteri izolatlarının morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal tanısında besiyerlerinde PVF-1'de ve King's B'de koloni gelişimi, KOH ile gram reaksiyonu ve LOPAT (L: levan oluşumu, O: oksidaz testi, P: patatestte pektolitik aktivite, A: arginin dehidrolaz aktivitesi, T: tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu) testleri kullanılmıştır (Schaad ve ark., 2001).

#### **3.2.3.1. PVF1 ve King's B Besiyerlerinde Koloni Gelişimi**

PVF1 ve King's B besiyerine çizilen bakteri 25 °C'de 2 gün geliştirildikten sonra UV ışık altında florasan pigment oluşturup oluşturmadığı kontrol edilmiştir.

#### **3.2.3.2. Potasyum Hidroksit Testi ile Gram Reaksiyon**

% 3'lük potasyum hidroksit solüsyonundan lam üzerine bir damla alındıktan sonra 48 saat geliştirilen bakteri izolatları öze yardımıyla lam üzerinde yayılmış ve öze yavaşça

kaldırıldığında 1 cm'den daha fazla bir sünme meydana geliyorsa Gram- olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (GSPB 382) kullanılmıştır (Sands, 1990).

### 3.2.3.3. LOPAT Testi

**Levan Oluşumu:** Bakteri izolatları % 5 oranında sakaroz içeren Nutrient sakkaroz agar besiyerine (NSA) çizgi ekim yapıldıktan sonra ve 25 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmış ve bakteri morfolojileri değerlendirilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987). Pozitif kontrol olarak *Erwinia amylovora* izolatu kullanılmıştır.

**Oksidaz Testi:** Bakteri izolatları % 1 glikoz içeren nutrient agar besiyerinde 24-48 saat geliştirildikten sonra % 1'lik tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride solüsyonu damlatılmış kurutma kağıdının üzerine sürülmüştür (Kovacs, 1956). Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas cichorii* (GSPB 2097) kullanılmıştır.

**Patateste Pektolitik Aktivite:** Steril kurutma kağıtları yerleştirilen ve steril saf su ile nemlendirilen petrilere, deterjanlı suda fırçalanarak yıkanmış; % 1'lik NaOCl'de 3 dakika bekletilmiş; steril saf su ile durulanmış; steril bisturi ile kabukları soyulup 7-8 mm kalınlığında dilimlenmiş patatesler yerleştirilmiştir. Nutrient agar besiyerinde (EK-1) 25 °C'de, 48 saatlik inkübasyonla elde edilen bakteri izolatları, her bir dilime öze ile inokule edilmiştir. Pozitif kontrol için GSPB 435 kodlu *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* izolatu kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

**Arginin Dehidrolaz Testi:** Thorney 2A besiyeri (EK-1) her bir tüpe 3 ml ilave edilerek otoklavda sterilize edilmiştir (121 °C'de, 15 dakika). Tüplere bakteri izolatları inokule edilmiş ve 2 ml sıvı parafin ve vazelin karışımı eklenmiş ve 7-10 gün süreyle 27 °C'de inkübe edilmiştir (Thornley, 1960). Besiyerinde pembe kırmızı renge dönüştüren izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. Karşılaştırma izolatu olarak GSPB 1224 kodlu *Pseudomonas corrugata* kullanılmıştır.

**Tütünde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu:** Tütünde aşırı duyarlılık testleri için NA besiyerinde 1-2 gün süreyle geliştirilen bakteri izolatlarının  $10^8$  hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyonu, *Nicotiana tabacum* cv. Samsun bitkilerinin yapraklarının alt kısmından iki yan damar arasına enjektör yardımıyla enjekte edilmiş; 25 °C'de iklim odasında muhafaza edilmiştir. Ortalama 24-48 saat sonra yapılan kontrollere göre değerlendirme yapılmıştır

(Klement, 1963). Pozitif kontrol olarak GSPB 483 kodlu *P. syringae* pv. *tomato* izolatu kullanılmıştır. LOPAT testleri sıralamasında son sırada yer alan tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu testi uygulama sırasına göre bakteriyel izolasyonu takiben yapılmıştır.

#### **3.2.4. BIOLOG Tanı Sistemi ile Tanılama**

Biolog Sistemi (The Biolog GEN III MicroPlate), bir mikroorganizmayı 71 farklı karbon kaynağının (Çizelge 3.1) kullanımı ve 23 kimyasal hassasiyeti (inhibe edici kimyasallara dayanıklılık) testinden oluşan 94 fenotipik test yönünden analiz etmektedir. Çalışmanın bu aşamasında her bölgeyi temsil edecek şekilde tesadüfi olarak seçilen bakteri izolatları kullanılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan The Biolog GEN III MicroPlate plakaları (BIOLOG 21124 Cabot Blvd. Hayward, CA 94545), Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerin tür seviyesinde tanılanması için 94 biyokimyasal testin kullanıldığı, standart bir mikrometod sistemidir (Bochner, 1989a; Bochner, 1989b).

Metabolik profillerin belirlenip tanılanmada kullanma prosedürüne göre; tanısı yapılacak izolatlar Biolog Dehydrated Growth Agar (BUG) besiyerinde (EK-1) 26 °C'de 16-24 saat inkübe edilmiş; BIOLOG IF-A tampon çözeltisinde süspansiyon hazırlanmıştır. Standart turbidity tüpünde, bakteri konsantrasyonu turbidimetre ile % 92-98 olarak ayarlanmıştır. Yoğunlukları ayarlanan bakteriyel süspansiyonları mikropalakardaki her bir çukura 100 µl konulmuş; 32 °C'de 4-24 saat inkübe edilmiştir (Anonymous, 2008b).

Çizelge 3.1. Mikroplakalarda Kodlanan 94 Adet Karbon Kaynağı ve Kimyasal Listesi (Anonymous, 2008b).

<b>A1:</b> Negatif Kontrol	<b>A2:</b> Dextrin	<b>A3:</b> D-Maltose	<b>A4:</b> D-Trehalose	<b>A5:</b> D-Cellobiose	<b>A6:</b> Gentiobiose	<b>A7:</b> Sucrose	<b>A8:</b> D-Turanose	<b>A9:</b> Stachyose	<b>A10:</b> Positive Control	<b>A11:</b> pH 6	<b>A12:</b> pH 5
<b>B1:</b> D-Raffinose	<b>B2:</b> $\alpha$ -D-Lactose	<b>B3:</b> D-Melibiose	<b>B4:</b> $\beta$ -Methyl-D-Glucoside	<b>B5:</b> D-Salicin	<b>B6:</b> N-Acetyl-D-Glucosamine	<b>B7:</b> N-Acetyl- $\beta$ -D-Mannosamine	<b>B8:</b> N-Acetyl-D-Galactosamine	<b>B9:</b> N-Acetyl-Neuraminic Acid	<b>B10:</b> %1 NaCl	<b>B11:</b> %4 NaCl	<b>B12:</b> %8 NaCl
<b>C1:</b> $\alpha$ -D-Glucose	<b>C2:</b> D-Mannose	<b>C3:</b> D-Fructose	<b>C4:</b> D-Galactose	<b>C5:</b> 3-Methyl Glucose	<b>C6:</b> D-Fucose	<b>C7:</b> L-Fucose	<b>C8:</b> L-Rhamnose	<b>C9:</b> inosine	<b>C10:</b> %1 Sodium Lactate	<b>C11:</b> Fustic Acid	<b>C12:</b> D-Serine
<b>D1:</b> D-Sorbitol	<b>D2:</b> D-Mannitol	<b>D3:</b> D-Arabitol	<b>D4:</b> myo-Inositol	<b>D5:</b> Glycerol	<b>D6:</b> D-Glucose-6-Phosphate	<b>D7:</b> D-Fructose-6-Phosphate	<b>D8:</b> D-Aspartic Acid	<b>D9:</b> D-Serine	<b>D10:</b> Trolezandomycin	<b>D11:</b> Rifamycin SV	<b>D12:</b> Minocycline
<b>E1:</b> Gelatin	<b>E2:</b> Glycyl-L-Proline	<b>E3:</b> L-Alanine	<b>E4:</b> L-Arginine	<b>E5:</b> L-Aspartic Acid	<b>E6:</b> L-Glutamic Acid	<b>E7:</b> L-Histidine	<b>E8:</b> L-Pyroglutamic Acid	<b>E9:</b> L-Serine	<b>E10:</b> Lincomycin	<b>E11:</b> Guanidine HCl	<b>E12:</b> Niaproof 4
<b>F1:</b> Pectin	<b>F2:</b> D-Galacturonic Acid	<b>F3:</b> L-Galactonic Acid Lactone	<b>F4:</b> D-Gluconic Acid	<b>F5:</b> D-Gluconic Acid	<b>F6:</b> Glucoronamide	<b>F7:</b> Mucic Acid	<b>F8:</b> Quinic Acid	<b>F9:</b> D-Saccharic Acid	<b>F10:</b> Vanco-mycin	<b>F11:</b> Tetrazolium Violet	<b>F12:</b> Tetrazolium Blue
<b>G1:</b> p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	<b>G2:</b> Methyl Pyruvate	<b>G3:</b> D-Lactic Acid Methyl Ester	<b>G4:</b> L-Lactic Acid	<b>G5:</b> Citric Acid	<b>G6:</b> $\alpha$ -Keto-Glutaric Acid	<b>G7:</b> D-Malic Acid	<b>G8:</b> L-Malic Acid	<b>G9:</b> Bromo-Succinic Acid	<b>G10:</b> Nalidixic Acid	<b>G11:</b> Lithium Chloride	<b>G12:</b> Potassium Tellurite
<b>H1:</b> Tween 40	<b>H2:</b> $\gamma$ -Amino-Butyric Acid	<b>H3:</b> $\alpha$ -Hydroxybutyric Acid	<b>H4:</b> $\beta$ -Hydroxy-D,L-Butyric Acid	<b>H5:</b> $\alpha$ -Keto-Butyric Acid	<b>H6:</b> Acetoacetic Acid	<b>H7:</b> Propionic Acid	<b>H8:</b> Acetic Acid	<b>H9:</b> Formic Acid	<b>H10:</b> Aztreonam	<b>H11:</b> Sodium Butyrate	<b>H12:</b> Sodium Bromate

### **3.2.5. Moleküler Tanılama**

#### **3.2.5.1. PCR Yöntemiyle Tanılama**

Bakteri izolatlarının PCR testi ile tanısında izolatların içerisinde her bölgeyi temsil edecek şekilde tesadüfi seçilecek izolatların PCR ile tanısı gerçekleştirilmiştir. Seçilen izolatlar nutrient broth sıvı besiyerinde geliştirilerek saflaştırılmış genomik DNA'lar PCR çalışmalarında kullanılmıştır.

##### **3.2.5.1.1. DNA İzolasyonu**

PCR çalışmalarında kullanılacak DNA'ların izolasyonu De Boer ve Ward (1995)'a göre yapılmıştır. DNA izolasyonu için 1 ml sıvı Nutrient glikoz besiyerinde 27°C'de, 24 saat boyunca çalkalanmış bakteri izolatları, 1.5 ml santrifüj tüpüne alınmıştır. 14.000 devir/dakikada 20 dakika santrifüj sonucunda oluşan çökeltinin üst sıvı kısmı boşaltılmıştır. Çökeltinin üzerine 100 µl hücre parçalayıcı solüsyon (% 1'lik SDS+TAE tamponu) eklenmiştir. Hücre içinde çözülünceye kadar mikropipetle karıştırılmıştır. Hücreleri parçalamak için 50 °C'de, 3 saat sıcak su banyosu içerisinde bekletilmiştir. 1/2 kat 7.5 M Amonyum asetat eklenmiş ve vorteksle karıştırılmıştır. Daha sonra 14.000 devir/dakikada 20 dakika santrifüj edilmiştir. Üst fazda toplanan sıvı kısım ölçülerek yeni bir tüpe alınmıştır. Buna eşit oranda izopropanol eklenmiştir. DNA yığını görülünceye kadar tüpler yavaşça karıştırılmış ve -20 °C'de 45 dakika bekletilmiştir. Tüpler derin dondurucudan çıkartılarak 10.000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilmiştir. Tüpün üst kısım atılarak dipte toplanan DNA 100 µl %70'lik etil alkolle eklenerek yıkanmıştır. Etil alkolü uzaklaştırmak için 10.000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilmiştir. Kurutma kağıdında ters çevrilen tüpler 10-15 dakika bekletilip kurutulmuştur. Kuruduktan sonra tüp içerisine 50 µl steril saf su eklenmiştir. DNA'lar +4 °C'de saklanmıştır.

##### **3.2.5.1.2. PCR'nin Uygulanması**

Bu aşamada **IAALF** (5'-GGC ACC AGC GGC AAC ATC AA-3') ve **IAALR** (5'-CGC CCT CGC AAC TGC CAT AC-3') primerleri kullanılmıştır (Penyalver ve ark., 2000).

PCR çalışmalarında bakteri izolatlarının DNA'ları kullanılarak reaksiyon karışımı 50 µl (30.25 µl ddH<sub>2</sub>O, 5 µl 10X ViBuffer, 7.5 µl MgCl<sub>2</sub> (10 µM), 1.25 µl dNTP Mix (10

$\mu\text{M}$ ), 1.0  $\mu\text{l}$  IAALF primeri (10 pmole), 1.0  $\mu\text{l}$  IAALR primeri (10 pmole), 2.0  $\mu\text{l}$  Vivantis DNA Polymerase ve 2  $\mu\text{l}$  bakteri DNA'sı) olarak hazırlanmıştır. dNTP Mix için (100  $\mu\text{M}$ 'den 10  $\mu\text{M}$ 'e seyreltildi) 10'ar  $\mu\text{M}$  Adenin, Guanin, Sitozin ve Timin nükleotid ve 60  $\mu\text{M}$  saf su karışımı hazırlanmıştır.

IAALF ve IAALR primerleri için kullanılan PCR programı 94 °C'de 2 dk (ilk denatürasyon), 94 °C'de 30 sn (denatürasyon), 62 °C'de 30 sn (hibridizasyon), 72 °C'de 30 sn (uzatma) olarak 35 döngü ve son olarak final uzatma 72 °C'de 7 dk olacak şekilde uygulanmıştır (Penyalver ve ark., 2000).

### **3.2.5.1.3. Agaroz Jel Elektroforezi**

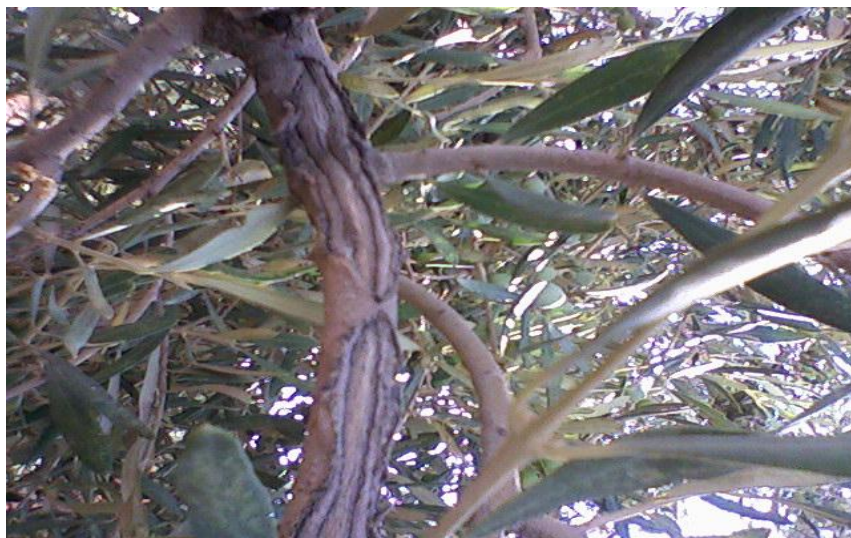
Reaksiyon sonucunda DNA örnekleri Agaroz jel elektroforezinde kullanılmıştır. 2 g agaroz 100 ml 0.5X TBE tamponuna konulup eritildikten sonra jel tepsisine dökülmüştür. Jel tankının içine 0.5X TBE tamponu eklenmiştir. Taraklar dikkatlice çıkarılmış; agaroz jel çukurlarına 10  $\mu\text{l}$  PCR ürünü ve 2  $\mu\text{l}$  yükleme tamponu karışımı mikropipet ile inokule edilmiştir. 100 bp marker kullanılarak 70 Volt'ta 3-4 saat koşturulmuştur. Bant görüntüleme 10 dk Ethidium Bromid (10 mg/ml) ile boyanmış; 15 dakika saf su ile yıkanmış ve oluşan bantların görüntülemesi UV ışığı altında yapılmıştır (Mirik ve ark., 2008).

**4. BULGULAR VE TARTIŞMA****4.1. Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması ve Bakteri İzolasyonu**

Bu çalışmada, Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illerindeki zeytin üretim alanlarında, bölümlü örnek yöntemi kullanılarak ve farklı özellik gösteren bölgelerden rastgele seçilerek Haziran- Ağustos ayları arasında surveyler gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.1, 4.2).



**Şekil 4.1.** Survey alanındaki zeytinlerin genel görünümü



**Şekil 4.2.** Zeytinde zeytin dal kanseri hastalığının genel simptomları



Ziyaret edilen zeytinliklerde, yetiştirme alanı (dekar), örneğin alındığı yer not edilmiştir. Kahramanmaraş ilinden zeytin bitkisinden 77, zakkum bitkisinden 3, yasemin bitkisinden de 1 olmak üzere toplam 81 izolat elde edilmiştir. Gaziantep ilinden zeytin bitkisinden 123 izolat ve zakkum bitkisinden de 1 izolat olmak üzere toplam 124 izolat elde edilmiştir. Kilis ilinden zeytin bitkisinden 63 izolat elde edilmiştir (Çizelge 4.1). Yapılan surveyler sonunda Kahramanmaraş ilinde gezilen yerlerde hastalığın yaygınlık oranı % 85 olarak tespit edilmiş; % 90 ile en bulaşık ilçesinin Merkez ilçesi olduğu belirlenmiştir. Gaziantep ilinde gezilen yerlerde hastalığın yaygınlık oranı % 90 olarak belirlenmiş; Nizip ilçesi, Oğuzeli ilçesi ve Antep Çıkışı (Uluyol) % 100 bulaşık oranıyla en bulaşık ilçeler olarak tespit edilmiştir. Kilis ilinde gezilen yerlerde bulaşıklık % 80 olarak belirlenmiş; Merkez ilçesinin % 85 ile en bulaşık ilçe olduğu tespit edilmiştir. Alınan urlu bitki örnekleri (Şekil 4.3) bakteriyel izolasyon (Şekil 4.4) yapmak için laboratuara getirilmiştir. Elde edilen izolat listesi Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.3.** Bakteriyel izolasyonun yapıldığı taze urlu dokular



Şekil 4.4. King' B besiyerine gelişen *P. savastoni* pv *savastoni* izolatının gelişimi

Çizelge 4.1. Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illerinden elde edilen *Pseudomonas savastoni* pv. *savastoni* izolatları ve alındığı yerler

İzolat No	Yer
NZ1-1	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Açık cezaevi)
NZ1-2	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Açık cezaevi)
NZ1-3	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Açık cezaevi)
NZ1-4	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Açık cezaevi)
NZ1-5	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Açık cezaevi)
NZ1-6	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Açık cezaevi)
NZ1-7	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Açık cezaevi)
NZ1-8	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Açık cezaevi)
NZ1-9	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Açık cezaevi)
NZ1-10	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Açık cezaevi)
NZ2-1	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Yeşilyöre)
NZ2-2	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Yeşilyöre)
NZ3	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Yeşilyöre)
NZ4-1	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Yeşilyöre)
NZ4-2	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Yeşilyöre)
NZ4-3	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Yeşilyöre)
NZ5-1	Kahramanmaraş-Merkez (Dadalı Köyü)
NZ5-2	Kahramanmaraş-Merkez (Dadalı Köyü)
NZ5-3	Kahramanmaraş-Merkez (Dadalı Köyü)
NZ5-4	Kahramanmaraş-Merkez (Dadalı Köyü)
NZ6-1	Kilis-Merkez (Martavan)
NZ6-1a	Kilis-Merkez (Martavan)
NZ6-2	Kilis-Merkez (Martavan)
NZ6-3	Kilis-Merkez (Martavan)
NZ6-4	Kilis-Merkez (Martavan)
NZ7	Kilis-Merkez (Martavan)
NZ8	Kilis-Merkez 1
NZ9	Kilis-Merkez (Kocabey Köyü)

NZ10	Kilis-Merkez (Kocabey Köyü)
NZ11-1	Kilis-Merkez 2
NZ11-2	Kilis-Merkez 2
NZ11-2a	Kilis-Merkez 2
NZ11-2b	Kilis-Merkez 2
NZ11-2c	Kilis-Merkez 2
NZ12-1	Kilis-Merkez (Başkale Köyü)
NZ12-2	Kilis-Merkez (Başkale Köyü)
NZ13	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu 1
NZ14	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu 1
NZ15	Kilis-Merkez 2
NZ16-1	Kilis-Merkez 3
NZ16-2	Kilis-Merkez 3
NZ17	Kilis-Merkez 3
NZ18-1	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu 1
NZ18-2	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu 1
NZ19-1	Kilis-Merkez (Kocabey Köyü)
NZ19-2	Kilis-Merkez (Kocabey Köyü)
NZ20	Kilis-Merkez (Beşik Köyü)
NZ20-1	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Balıkalanı Köyü)
NZ21	Gaziantep-Merkez (Gedikli Köyü)
NZ22	Gaziantep-Merkez (Bağyeri)
NZ23	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu 1
NZ24-1a	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ24-1b	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ24-1	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ24-2a	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ24-3	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ24-3a	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ24-3b	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ24-4	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ24-4a	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ24-5a	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ25-1	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ25-2	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ25-3	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ26	Kilis-Merkez (Beşik Köyü)
NZ27-1	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ27-2	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ27-3	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ28	Kilis-Merkez (Beşik Köyü)
NZ29-1	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ29-2	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ30	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Akçaköy)
NZ30-1	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Akçaköy)
NZ31-1	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Mercanlı)
NZ31-2	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Mercanlı)
NZ31-2	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Mercanlı)

NZ32-1	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Balıkalanı Köyü)
NZ32-2	Kahramanmaraş-Türkoğlu (Balıkalanı Köyü)
NZ33	Gaziantep-Merkez (Gedikli Köyü)
NZ34	Gaziantep-Merkez (Gedikli Köyü)
NZ34-1	Gaziantep-Merkez (Gedikli Köyü)
NZ35	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ35-1	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ35-1a	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ35-2a	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ35-2b	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ35-2c	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ35-3	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ35-4a	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ35-5a	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ35-5	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ35-6	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ35-6a	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ36-1	Gaziantep-Merkez (Bağyeri)
NZ36-2	Gaziantep-Merkez (Bağyeri)
NZ37	Gaziantep-Nizip (Uluyatır)
NZ38-1	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Mercanlı)
NZ38-1a	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Mercanlı)
NZ38-2	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Mercanlı)
NZ39	Gaziantep-Merkez (Bağyeri)
NZ40	Kilis-Merkez (Beşik Köyü)
NZ41	Kilis-Merkez (Kocabey Köyü)
NZ42	Gaziantep-Nizip (Uluyatır)
NZ43	Kahramanmaraş-Merkez
NZ44	Kilis-Merkez (Başkale Köyü)
NZ45	Kilis-Merkez 2
NZ46	Gaziantep-Merkez (Bağyeri)
NZ47	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Mercanlı)
NZ48	Kilis-Merkez 2
NZ49	Gaziantep-Merkez (Bağyeri)
NZ50	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Mercanlı)
NZ51	Gaziantep-Nizip (Uluyatır)
NZ52	Kilis-Merkez 2
NZ53	Gaziantep-Nizip (Aydıncavak Köyü)
NZ54	Kilis-Merkez 2
NZ55	Kilis-Merkez (Beşik Köyü)
NZ56	Gaziantep-Nizip (Uluyatır)
NZ57	Gaziantep-Nizip (Aydıncavak Köyü)
NZ58	Kilis-Merkez 3
NZ59	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ60	Kilis-Merkez (Kocabey)
NZ61	Kahramanmaraş-Merkez (Bahçelievler)
NZ61-1	Kahramanmaraş-Merkez (Bahçelievler)
NZ61-2	Kahramanmaraş-Merkez (Bahçelievler)

NZ61-3	Kahramanmaraş-Merkez (Bahçelievler)
NZ61-4	Kahramanmaraş-Merkez (Bahçelievler)
NZ62	Kahramanmaraş-Çitosan 1
NZ62-1	Kahramanmaraş-Çitosan 1
NZ62-2	Kahramanmaraş-Çitosan 1
NZ62-3	Kahramanmaraş-Çitosan 1
NZ63	Kahramanmaraş-Çitosan 2
NZ63-1	Kahramanmaraş-Çitosan 2
NZ63-2	Kahramanmaraş-Çitosan 2
NZ64	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ64-1	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ65	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ65-1	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ66	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ67	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ68	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ69	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ69-1	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ69-2	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ69-3	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ70	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ70-1	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ70-2	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ71	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ72	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ73	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ74	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ75	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ76	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ77	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ78	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ79	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ79-1	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ79-2	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ79-3	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ80	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ81	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ82	Gaziantep-Oğuzeli 1
NZ83-1	Gaziantep-Oğuzeli (Sekili)
NZ83-2	Gaziantep-Oğuzeli (Sekili)
NZ83-3	Gaziantep-Oğuzeli (Sekili)
NZ84	Kilis-Merkez (Kocabey Köyü)
NZ85	Kilis-Merkez 3
NZ85-1	Kilis-Merkez 3
NZ85-2	Kilis-Merkez 3
NZ85-3	Kilis-Merkez 3
NZ85-4	Kilis-Merkez 3
NZ85-5	Kilis-Merkez 3

NZ86	Kilis-Merkez (Gülbaba Köyü)
NZ86-1	Kilis-Merkez (Gülbaba Köyü)
NZ86-2	Kilis-Merkez (Gülbaba Köyü)
NZ86-3	Kilis-Merkez (Gülbaba Köyü)
NZ86-4	Kilis-Merkez (Gülbaba Köyü)
NZ87	Kahramanmaraş-Merkez 1
NZ87-1	Kahramanmaraş-Merkez 1
NZ87-2	Kahramanmaraş-Merkez 1
NZ87-3	Kahramanmaraş-Merkez 1
NZ88	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ88-1	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ88-2	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ88-3	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ88-4	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ88-5	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ89	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ90	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ90-1	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ90-2	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ90-3	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ90-4	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ90-5	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ91	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ91-1	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ91-2	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ91-3	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ91-4	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ91-5	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ92	Kahramanmaraş-Merkez 2
NZ92-1	Kahramanmaraş-Merkez 2
NZ92-2	Kahramanmaraş-Merkez 2
NZ92-3	Kahramanmaraş-Merkez 2
NZ92-4	Kahramanmaraş-Merkez 2
NZ93	Gaziantep-Oğuzeli 3
NZ93-1	Gaziantep-Oğuzeli 3
NZ93-2	Gaziantep-Oğuzeli 3
NZ93-3	Gaziantep-Oğuzeli 3
NZ94	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ94-1	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ94-2	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ94-3	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ94-4	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ94-5	Gaziantep-Oğuzeli 2
NZ95	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ95-1	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ95-2	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ95-3	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ95-4	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)

NZ95-5	Kahramanmaraş-Merkez (Tekerek yolu)
NZ96	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ96-1	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ96-2	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ96-3	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ96-4	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ96-5	Kahramanmaraş-Merkez (Üngüt yolu)
NZ97	Kahramanmaraş-Merkez (Bozdere)
NZ97-1	Kahramanmaraş-Merkez (Bozdere)
NZ97-2	Kahramanmaraş-Merkez (Bozdere)
NZ97-3	Kahramanmaraş-Merkez (Bozdere)
NZ97-4	Kahramanmaraş-Merkez (Bozdere)
NZ98	Kilis-Merkez 3
NZ98-1	Kilis-Merkez 3
NZ98-2	Kilis-Merkez 3
NZ98-3	Kilis-Merkez 3
NZ98-4	Kilis-Merkez 3
NZ99	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ99-1	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ99-2	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ99-3	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ100	Kilis-Merkez (Beşikköyü)
NZ100-1	Kilis-Merkez (Beşikköyü)
NZ100-2	Kilis-Merkez (Beşikköyü)
NZ100-3	Kilis-Merkez (Beşikköyü)
NZ100-4	Kilis-Merkez (Beşikköyü)
NZ100-5	Kilis-Merkez (Beşikköyü)
NZ100-6	Kilis-Merkez (Beşikköyü)
NZ101	Kilis-Merkez 3
NZ102	Kilis-Merkez 1
NZ102-1	Kilis-Merkez 1
NZ102-2	Kilis-Merkez 1
NZ103	Gaziantep-Nizip (Uluyatır)
NZ103-1	Gaziantep-Nizip (Uluyatır)
NZ103-2	Gaziantep-Nizip (Uluyatır)
NZ103-3	Gaziantep-Nizip (Uluyatır)
NZ104	Gaziantep-Merkez (Gedikli Köyü)
NZ104-1	Gaziantep-Merkez (Gedikli Köyü)
NZ104-2	Gaziantep-Merkez (Gedikli Köyü)
NZ105	Gaziantep-Kilis Yolu (Güveçli)
NZ105-1	Gaziantep-Kilis Yolu (Güveçli)
NZ106	Gaziantep-Kilis Yolu (Mercanlı1)
NZ106-1	Gaziantep-Kilis Yolu (Mercanlı1)
NZ106-2	Gaziantep-Kilis Yolu (Mercanlı1)
NZ106-3	Gaziantep-Kilis Yolu (Mercanlı1)
NZ107	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ107-1	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ107-2	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)

NZ107-3	Gaziantep-Antep çıkışı-Kilis yolu (Uluyol)
NZ108	Gaziantep-Kilis Yolu (Akçaköy)
NZ108-1	Gaziantep-Kilis Yolu (Akçaköy)
NZ109	Gaziantep-Kilis Yolu (Mercanlı2)
NZ109-1	Gaziantep-Kilis Yolu (Mercanlı2)
NY1	Türkoğlu (Yeşilyöre) (Yasemin)
NZa1	Islahiye (Zakkum)
NZa2	KSÜ Avşar Kampüsü (Zakkum)
NZa3	KSÜ Avşar Kampüsü (Zakkum)
NZa4	KSÜ Avşar Kampüsü (Zakkum)

## 4.2. Patojenisite Testleri

### 4.2.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi

Zeytin dal kanserinden izole edilen bakteriler tütün yaprak damarları arasına inokule edildikten sonra 24-48 saat sonra yapılan kontrollerde inokulasyon yapılan bölgede meydana gelen kahverengi nekrotik ya da derimsi görünüm pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.5) (Klement, 1963).



Şekil 4.5. Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu sonuçları oluşan kurumalar



Ersoy (2002), LOPAT testini uyguladıkları izolatların tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonuna pozitif sonuç verdiklerini belirlemiştir. Tatlı (2004), elde ettiği 69 izolatın 62'sinin tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonunun pozitif olduğunu belirlemiştir. Mirik ve ark. (2008), testledikleri 88 izolatın hepsinin tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonuna pozitif sonuç verdiğini tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada elde edilen 268 izolatın 143'ü tütün aşırı duyarlılık reaksiyonu için test edilmiş ve 103'ü tütünde aşırı duyarlılık testine pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2.** *Pseudomonas savastoni* pv. *savastoni* izolatlarının tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu sonuçları

İzolat Adı	Tütünde HR Sonucu	İzolat Adı	Tütünde HR Sonucu	İzolat Adı	Tütünde HR Sonucu
NZ1-1	HR-	NZ31-2	HR-	NZ86-1	HR+
NZ1-2	HR+	NZ32-1	HR-	NZ86-2	HR+
NZ1-3	HR-	NZ34-1	HR-	NZ86-3	HR+
NZ1-4	HR-	NZ35-1	HR+	NZ86-4	HR+
NZ1-5	HR+	NZ35-1a	HR+	NZ87-1	HR+
NZ1-6	HR-	NZ35-2	HR-	NZ87-2	HR+
NZ1-7	HR-	NZ35-2a	HR+	NZ88-1	HR+
NZ1-8	HR-	NZ35-2b	HR+	NZ88-2	HR+
NZ1-9	HR-	NZ35-2c	HR+	NZ88-3	HR+
NZ1-10	HR+	NZ35-3	HR+	NZ88-4	HR+
NZ2-1	HR-	NZ35-4a	HR+	NZ88-5	HR+
NZ3	HR-	NZ35-5a	HR+	NZ89-1	HR+
NZ4-1	HR-	NZ35-6	HR+	NZ89-2	HR+
NZ4-2	HR+	NZ36-1	HR+	NZ89-3	HR+
NZ4-3	HR+	NZ36-2	HR+	NZ90-1	HR+
NZ5-1	HR-	NZ38	HR-	NZ90-2	HR+
NZ5-2	HR-	NZ43-1	HR-	NZ90-3	HR+
NZ5-3	HR-	NZ43-2a	HR+	NZ90-4	HR+
NZ5-4	HR-	NZ61-1	HR+	NZ90-5	HR+
NZ6-1a	HR+	NZ61-2	HR-	NZ91-1	HR+
NZ6-3	HR+	NZ61-3	HR+	NZ91-2	HR+
NZ7-1	HR-	NZ61-4	HR-	NZ92-1	HR+
NZ8	HR-	NZ62-1	HR+	NZ92-2	HR+
NZ9	HR-	NZ62-2	HR+	NZ92-3	HR+
NZ10	HR+	NZ62-3	HR-	NZ92-4	HR+
NZ11-1	HR+	NZ63-1	HR+	NZ92-5	HR+
NZ11-2	HR-	NZ63-2	HR+	NZ93-1	HR+
NZ11-2a	HR-	NZ64-1	HR+	NZ93-2	HR+
NZ11-2b	HR+	NZ65-1	HR+	NZ93-3	HR+
NZ11-2c	HR+	NZ65-2	HR+	NZ94-1	HR+
NZ12-1	HR-	NZ69-2	HR+	NZ94-2	HR+
NZ12-2	HR-	NZ69-3	HR+	NZ94-3	HR+

NZ16-1	HR-	NZ70-1	HR+	NZ94-4	HR+
NZ18-1	HR-	NZ70-2	HR+	NZ94-5	HR+
NZ18-2	HR-	NZ70-3	HR+	NZ98-3	HR+
NZ19-1	HR-	NZ79-1	HR+	NZ100-3	HR+
NZ24-1a	HR+	NZ79-2	HR+	NZ100-5	HR-
NZ24-1b	HR+	NZ79-3	HR+	NZ101-4	HR+
NZ24-2a	HR+	NZ79-4	HR+	NZ102-1	HR-
NZ24-3	HR+	NZ81-1	HR+	NZ102-2	HR+
NZ24-3a	HR+	NZ82-4	HR+	NZ103-2	HR+
NZ24-4a	HR+	NZ83-1	HR+	NZ104-1	HR+
NZ24-5a	HR+	NZ83-3	HR+	NZ105-1	HR+
NZ25-1	HR+	NZ85-1	HR+	NZ106-3	HR+
NZ27-2	HR-	NZ85-2	HR+	NZ108-1	HR+
NZ27-3	HR-	NZ85-3	HR+	NZ109-1	HR+
NZ29-1	HR-	NZ85-4	HR+	NZa1	HR-
NZ30-1	HR+	NZ85-5	HR+		

#### 4.2.2. Zeytin Bitkisinde Patojenisite

Tütünde aşırı duyarlılık testine pozitif reaksiyon veren izolatlar 1 yaşındaki zeytin fidanlarına inokule edilmiştir. İzolatların virülenslik düzeyleri, pozitif kontrolle inokule edilmiş bitkilerde gözle görülür ur (2-3 ay sonra) simptomları oluşuktan sonra urların uzunluğu ölçülerek belirlenmiştir (Çizelge 4.3) (Janse, 1981). Ur büyüklüğü 5,5 ile 17 mm arasında değişmiştir. Buna göre NZ85-2 izolatu oluşturduğu 5.5 mm çapındaki urla en patojenisitesi en düşük; NZ24-5a izolatu oluşturduğu 17 mm çapındaki urla patojenisitesi en yüksek izolat olarak belirlenmiştir. Tatlı (2004), 62 izolattan 58'inin 3 ile 23 mm arasında değişen çaplarda urlar meydana getirdiğini bildirmiştir. Mirik ve ark. (2008)'in bildirdiğine göre patojenisitelerini testledikleri 33 izolat zeytin fidanlarında urlar oluşturmuştur. Yaptığımız çalışmada testlediğimiz 43 izolat zeytin fidanlarında farklı çaplarda urlar meydana getirmiştir (Çizelge 4.3). Zeytin uru hastalığında konukçu spesifikliği mevcuttur.

#### 4.3. Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Testlerle Tanılama

Bakteri izolatlarının morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal tanısında besiyerlerinde PVF-1'de ve King's B'de koloni gelişimi, KOH ile gram reaksiyonu ve LOPAT (L: levam oluşumu, O: oksidaz testi, P: patatestte pektolitik aktivite, A: arginin dehidrolaz aktivitesi, T: tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu) testleri kullanılmıştır (Schaad ve ark., 2001).

**Çizelge 4.3.** Zeytin dal kanserinden izole edilen *Pseudomonas savastoni* pv. *savastoni* izolatlarının zeytinde oluşturdukları ur büyüklükleri

İzolat Adı	Zeytinde oluşturduğu ur büyüklüğü (mm)	İzolat Adı	Zeytinde oluşturduğu ur büyüklüğü (mm)	İzolat Adı	Zeytinde oluşturduğu ur büyüklüğü (mm)
NZ1-2	7.5	NZ36-1	14	NZ85-4	6
NZ11-2	13	NZ64-1	11	NZ88-2	11
NZ24-1a	9	NZ65-1	15	NZ88-3	10
NZ24-5a	17	NZ70-3	17	NZ90-1	12.5
NZ25-1	11	NZ79-1	11	NZ90-3	10
NZ30-1	14	NZ79-2	13	NZ90-4	12
NZ35-1	11.5	NZ79-3	16	NZ102-2	10
NZ35-1a	10	NZ79-4	9	NZ103-2	10.5
NZ35-2a	11	NZ81-1	8	NZ104-1	11
NZ35-2b	14	NZ82-4	15.5	NZ105-1	9
NZ35-2c	12	NZ83-1	8	NZ106-3	8
NZ35-3	11.5	NZ83-3	6	NZ108-1	8.5
NZ35-4a	11	NZ85-1	7	NZ109-1	9
NZ35-5a	10.5	NZ85-2	5.5		
NZ35-6	16	NZ85-3	9		

#### 4.3.1. PVF-1 ve King's B Besiyerlerinde Koloni Gelişimi

PVF-1 besi yerlerinde gelişen kolonilerden floresan renge sahip veya King's B besiyerinde zayıf floresan tipte, beyaz-krem renge, küçük, yuvarlak ve kabarık olmayan tipte gelişen koloniler seçilerek saflaştırılmıştır. Her iki besiyerinde gelişen bakteri izolatlarından 90 tanesi UV ışık altında floresan parlama göstermiş; 13 tanesi ise göstermemiştir (Çizelge 4.4). Ersoy (2002) testlediği izolatların King's B besiyerinde PVF1 besiyerine nazaran daha özel koloniler meydana getirdiğini ve UV ışık altında parlama özelliği gösterdiğini bildirmiştir. Tatlı (2004)'nın bildirdiğine göre izolatlar flurosan parlama özelliği yönünden değişkenlik göstermiştir.

#### 4.3.2. Potasyum Hidroksit Testi ile Gram Reaksiyon

Zeytin urlarından izole edilen ve tütünde HR pozitif olan bakteri izolatları % 3'lük KOH ile Gram reaksiyonları belirlenmiştir. Bunun için bir mikroskop lamı üzerine bir damla % 3'lük KOH damlatılmış ve taze gelişmiş bakteri kolonisinden bir öze yardımıyla bir miktar alınarak bu damla içerisinde iyice karıştırılmıştır. Daha sonra öze yavaşça yukarı kaldırıldığında bir sünme meydana geliyorsa Gram negatif olarak değerlendirilmiştir.

Testlenen izolatların hepsi Gram-negatif olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde Mirik ve ark (2004), KOH ile Gram reaksiyonu testi sonucunda tüm izolatları Gram negatif olarak bulmuşlardır.

**Çizelge 4.4.** PVF-1 besiyerinde UV ışık altında floresan parlama gösteren, King's B besiyerinde UV ışık altında floresan parlama gösteren ve göstermeyen izolatların listesi

İzolat Adı	Parlama reaksiyonu	İzolat Adı	Parlama reaksiyonu	İzolat Adı	Parlama reaksiyonu
NZ1-2	+	NZ62-2	+	NZ89-1	+
NZ1-5	+	NZ63-1	-	NZ89-2	+
NZ1-10	+	NZ63-2	-	NZ89-3	-
NZ4-2	-	NZ64-1	-	NZ90-1	+
NZ4-3	-	NZ65-1	+	NZ90-2	+
NZ6-1a	+	NZ65-2	+	NZ90-3	+
NZ6-3	+	NZ69-2	+	NZ90-4	+
NZ10	+	NZ69-3	+	NZ90-5	+
NZ11-1	+	NZ70-1	+	NZ91-1	+
NZ11-2b	+	NZ70-2	+	NZ91-2	+
NZ11-2c	+	NZ70-3	+	NZ92-1	+
NZ24-1a	+	NZ79-1	+	NZ92-2	-
NZ24-1b	+	NZ79-2	+	NZ92-3	-
NZ24-2a	+	NZ79-3	+	NZ92-4	+
NZ24-3	+	NZ79-4	+	NZ92-5	+
NZ24-3a	+	NZ81-1	+	NZ93-1	+
NZ24-4a	+	NZ82-4	+	NZ93-2	+
NZ24-5a	+	NZ83-1	+	NZ93-3	+
NZ25-1	-	NZ83-3	+	NZ94-1	+
NZ30-1	+	NZ85-1	+	NZ94-2	+
NZ35-1	+	NZ85-2	+	NZ94-3	+
NZ35-1a	+	NZ85-3	+	NZ94-4	+
NZ35-2a	+	NZ85-4	+	NZ94-5	+
NZ35-2b	+	NZ85-5	+	NZ98-3	-
NZ35-2c	+	NZ86-1	+	NZ100-3	+
NZ35-3	+	NZ86-2	+	NZ101-4	+
NZ35-4a	+	NZ86-3	+	NZ102-2	+
NZ35-5a	+	NZ86-4	+	NZ103-2	+
NZ35-6	+	NZ87-1	-	NZ104-1	+
NZ36-1	-	NZ87-2	+	NZ105-1	+
NZ36-2	-	NZ88-1	+	NZ106-3	+
NZ43-2a	+	NZ88-2	+	NZ108-1	+
NZ61-1	+	NZ88-3	+	NZ109-1	+
NZ61-3	+	NZ88-4	+		
NZ62-1	+	NZ88-5	+		

### 4.3.3. LOPAT Testi

İzolatların, LOPAT Testi (Şekil 4.6), sonuçlarına göre (- - - - +) (Çizelge 4.5) LOPAT 1b grubunda yer aldıkları tespit edilmiştir. İzolatların LOPAT testi sonucu birçok araştırmacı tarafından (- - - - +) olarak tespit edilmiştir (Ersoy, 2002; Tatlı, 2004; Mirik,2008).



Şekil 4.6. LOPAT testleri uygulandıktan sonra inkübatöre alınan izolatlar

**Levan Oluşumu:** SNA besiyerinde kubbemsi ve mukoid gelişme gösteren bakteri izolatları pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987). Zeytin dal kanserinden izole edilen bakteriler SNA besiyerinde (EK-1) levan olmayan tipte koloniler meydana getirmişlerdir (Çizelge 4.5). Ancak Marchi ve ark. (2005), çalıştıkları zeytin üretim alanların yaklaşık % 38'inde levan pozitif bakteriler bulunduğunu belirlemiştir. Bu sonuca göre zeytin uru hastalığı etmeninin levan üretimi yönünden her zaman negatif olmadığını, değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

**Oksidaz Testi:** Bakteri izolatları % 1 glikoz içeren nutrient agar besiyerinde 24-48 saat geliştirildikten sonra % 1'lik tetra methyl-p-phenyldiamine dihydrochloride solüsyonu damlatılmış kurutma kağıdının üzerine sürülmüş ve 10 sn içinde morumsu maviye dönen izolatlar pozitif, 10-60 sn içinde morumsu maviye dönen izolatlar geç pozitif, 60 sn'ye kadar renk değiştirmeyen izolatlar ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Kovacs, 1956). Testlenen izolatların tamamı oksidaz negatif olarak belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.5'de verilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Testlenen izolatların Levan üretimi (L), Oksidaz testi (O), Patates pektolitik aktivite testi (P), Arginin dihidrolaz testi (A) ve Tütün aşırı duyarlılık reaksiyonu (HR) testi sonuçları

İzolat Adı	L	O	P	A	T	İzolat Adı	L	O	P	A	T
NZ1-2	-	-	-	-	+	NZ83-1	-	-	-	-	+
NZ1-5	-	-	-	-	+	NZ83-3	-	-	-	-	+
NZ1-10	-	-	-	-	+	NZ85-1	-	-	-	-	+
NZ4-2	-	-	-	-	+	NZ85-2	-	-	-	-	+
NZ4-3	-	-	-	-	+	NZ85-3	-	-	-	-	+
NZ6-1	-	-	-	-	+	NZ85-4	-	-	-	-	+
NZ6-1a	-	-	-	-	+	NZ85-5	-	-	-	-	+
NZ6-3	-	-	-	-	+	NZ86-1	-	-	-	-	+
NZ10	-	-	-	-	+	NZ86-2	-	-	-	-	+
NZ11-1	-	-	-	-	+	NZ86-3	-	-	-	-	+
NZ11-2	-	-	-	-	+	NZ86-4	-	-	-	-	+
NZ24-1a	-	-	-	-	+	NZ87-1	-	-	-	-	+
NZ24-1b	-	-	-	-	+	NZ87-2	-	-	-	-	+
NZ24-2a	-	-	-	-	+	NZ88-1	-	-	-	-	+
NZ24-3	-	-	-	-	+	NZ88-2	-	-	-	-	+
NZ24-3a	-	-	-	-	+	NZ88-3	-	-	-	-	+
NZ24-4a	-	-	-	-	+	NZ88-4	-	-	-	-	+
NZ24-5a	-	-	-	-	+	NZ88-5	-	-	-	-	+
NZ25-1	-	-	-	-	+	NZ89-1	-	-	-	-	+
NZ30-1	-	-	-	-	+	NZ89-2	-	-	-	-	+
NZ35-1	-	-	-	-	+	NZ89-3	-	-	-	-	+
NZ35-1a	-	-	-	-	+	NZ90-1	-	-	-	-	+
NZ35-2a	-	-	-	-	+	NZ90-2	-	-	-	-	+
NZ35-4a	-	-	-	-	+	NZ90-3	-	-	-	-	+
NZ35-5a	-	-	-	-	+	NZ90-4	-	-	-	-	+
NZ35-2b	-	-	-	-	+	NZ90-5	-	-	-	-	+
NZ35-2c	-	-	-	-	+	NZ91-1	-	-	-	-	+
NZ35-3	-	-	-	-	+	NZ91-2	-	-	-	-	+
NZ35-6	-	-	-	-	+	NZ91-5	-	-	-	-	+
NZ36-1	-	-	-	-	+	NZ92-1	-	-	-	-	+
NZ36-2	-	-	-	-	+	NZ92-2	-	-	-	-	+
NZ43-2a	-	-	-	-	+	NZ92-3	-	-	-	-	+
NZ61-1	-	-	-	-	+	NZ92-4	-	-	-	-	+
NZ61-3	-	-	-	-	+	NZ92-5	-	-	-	-	+
NZ62-1	-	-	-	-	+	NZ93-1	-	-	-	-	+
NZ62-2	-	-	-	-	+	NZ93-2	-	-	-	-	+
NZ63-1	-	-	-	-	+	NZ93-3	-	-	-	-	+
NZ63-2	-	-	-	-	+	NZ94-1	-	-	-	-	+
NZ64-1	-	-	-	-	+	NZ94-2	-	-	-	-	+
NZ65-1	-	-	-	-	+	NZ94-3	-	-	-	-	+
NZ65-2	-	-	-	-	+	NZ94-4	-	-	-	-	+
NZ69-2	-	-	-	-	+	NZ98-3	-	-	-	-	+
NZ69-3	-	-	-	-	+	NZ100-3	-	-	-	-	+

NZ70-1	-	-	-	-	+	NZ101-4	-	-	-	-	+
NZ70-2	-	-	-	-	+	NZ102-2	-	-	-	-	+
NZ70-3	-	-	-	-	+	NZ103-2	-	-	-	-	+
NZ79-1	-	-	-	-	+	NZ104-1	-	-	-	-	+
NZ79-2	-	-	-	-	+	NZ105-1	-	-	-	-	+
NZ79-3	-	-	-	-	+	NZ106-3	-	-	-	-	+
NZ79-4	-	-	-	-	+	NZ108-1	-	-	-	-	+
NZ81-1	-	-	-	-	+	NZ109-1	-	-	-	-	+
NZ82-4	-	-	-	-	+						

**Patateste Pektolitik Aktivite:** Bakteriye izolatlar dilimlenmiş patateslere inokule edilmiş ve 24 saat inkübasyon sonra meydana gelen yumuşama pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (De Boer ve ark., 2001). Testlenen izolatlar pektolitik enzimlere sahip olmadığından patateste yumuşama meydana getirmemişlerdir (Şekil 4.7). İzolatların patateste pektolitik aktivite testi sonuçları Çizelge 4.5’te gösterilmiştir.



**Şekil 4.7.** İzolatlarda patateste pektolitik aktivite testi sonucu

**Arginin Dehidrolaz Testi:** Testin sonucunda besiyerinde kırmızı renkte olması reaksiyonun negatif olduğunu göstermiştir (Şekil 4.8). Besiyerinde pembe kırmızı renkte olması ise reaksiyonun pozitif olduğunu göstermektedir (Lelliot ve Stead, 1987). Sonuçlar Çizelge 4.5’de gösterilmiştir. Testlenen izolatların tamamı arginin dehidrolaz negatif olarak bulunmuştur.



Şekil 4.8. İzolatlarda arginin dehidrolaz testi sonucu

#### 4.4. BIOLOG Tanı Sistemi ile Tanılama

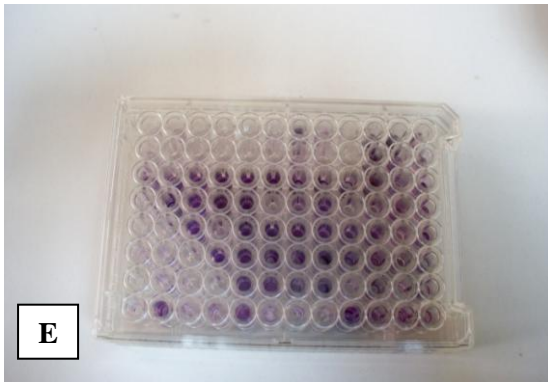
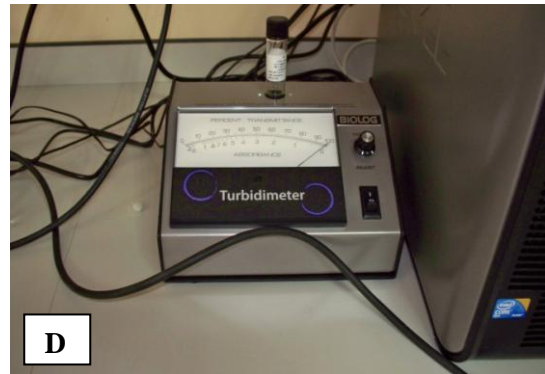
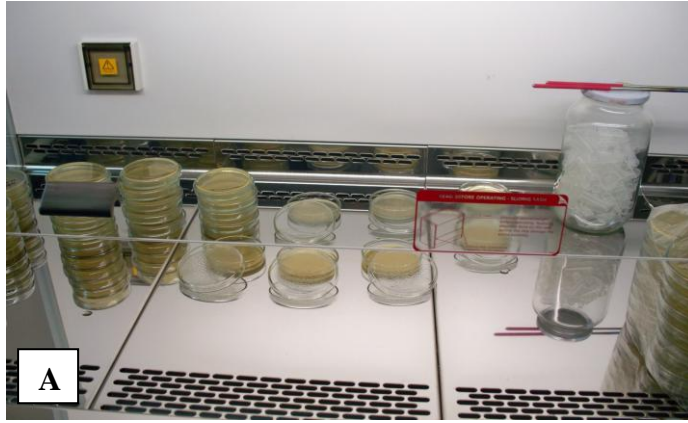
Biolog's Microbial Identification System software programı kullanılarak bakterilerin metabolik reaksiyon profilleri elde edilmiştir. Sistemin kütüphanesinde bulunan metabolik profilleri bilinen izolatlarla, zeytin dal kanserinden izole edilen izolatlarımızla karşılaştırılmış ve 7 bakteri türüyle (*Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini*, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* ve *Pseudomonas syringae* pv. *delphinii*, *Pseudomonas syringae* pv. *aceris*, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) farklı oranlarda benzer olduğu belirlenmiştir. Yapılan tanılamaya göre çalıştığımız 12 izolatın 11'i *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* (% 26.5 ile % 73.6 arasında değişen oranlarda) olarak; 1'i de *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* (% 55.2) olarak belirlenmiştir. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* Biolog's Microbial Identification System software programında bulunmamaktadır. Bundan dolayı en yakın tür olan *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* ile benzer bulmuştur.

Biolog Tanı Sistemine göre NZ1-10 izolatının kullandığı karbon kaynakları: Myo-inositol, L-aspartik asit, Glukoronamid, D-malik asit, Quinik asit, L-malik asittir. İzolatın dayanıklı olduğu inhibitör etkili kimyasalların Lincomycin, Vancomycin, pH 6, Rifamycin SV, Tetrazolium violet, Niaproof 4, Tetrazolium blue, Potasyum tellurit olduğu tespit edilmiştir. İzolat, % 55.2 benzerlik oranıyla *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* olarak belirlenmiştir. NZ62-1 izolatının kullandığı karbon kaynakları: Pektin, Myo-inositol, D-glukonik asit, Gliserol, L-aspartik asit, Sitrik asit, L-glutamik asit, Sukroz, Musik asit, Quinik asit, L-malik asit, D-sakkarik asittir. İzolatın dayanıklı olduğu inhibitör etkili kimyasallar Vancomycin, Tetrazolium violet, Tetrazolium blue olarak tespit edilmiştir.



İzolat, % 78.3 benzerlik oranıyla *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* olarak belirlenmiştir. NZ62-2 izolatının kullandığı karbon kaynakları: Pektin, Myo-inositol, D-glukonik asit, Gliserol, L-aspartik asit, Sitrik asit, L-glutamik asit, Sukroz, Musik asit, Quinik asit, L-malik asit, D-sakkarik asit olarak tespit edilmiştir. İzolatın dayanıklı olduğu inhibitör etkili kimyasallar Lincomycin, Vancomycin, pH 6, Rifamycin SV, Tetrazolium violet, Tetrazolium blue olarak belirlenmiştir. İzolatın % 58.4 benzerlik oranıyla *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* olduğu tespit edilmiştir. Kullandığı karbon kaynaklarının, D-glukonik asit, Gliserol, L-aspartik asit, Sitrik asit, L-glutamik asit, Sukroz, Quinik asit, L-malik asit, D-sakkarik asit olduğu belirlenmiştir. Dayanıklı olduğu inhibitör etkili kimyasallarının Vancomycin, pH 6, Tetrazolium violet olduğu belirlenen NZ63-1 izolatı % 73.6 benzerlik oranıyla *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* olarak belirlenmiştir. Myo-inositol, L-aspartik asit, Glukoronamid, Asetoasetik asit, Sukroz, Musik asit, Quinik asit, L-malik asit, D-sakkarik asit izolatın kullandığı karbon kaynakları olduğu; Lincomycin, Vancomycin, Rifamycin SV, Tetrazolium violet, Tetrazolium blue izolatın dayanıklı olduğu inhibitör etkili kimyasallar olduğu NZ64-1 izolatı, % 62.7 benzerlik oranıyla *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* olarak tanımlanmıştır. NZ65-2 izolatının kullandığı karbon kaynakları: Myo-inositol, L-aspartik asit, L-glutamik asit, Musik asit, Quinik asit, L-malik asit, D-sakkarik asit; dayanıklı olduğu inhibitör etkili kimyasallarının Rifamycin SV, Tetrazolium violet, Tetrazolium blue olduğu tespit edilmiştir. NZ65-2 izolatı % 52.5 benzerlik oranıyla *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* olduğu tespit edilmiştir. NZ69-2 izolatının kullandığı karbon kaynakları: Myo-inositol, L-aspartik asit, L-glutamik asit, Asetoasetik asit, Sukroz, Musik asit, Quinik asit, L-malik asit, D-sakkarik asittir. Lincomycin, Vancomycin, Rifamycin SV, Tetrazolium violet, Niaproof 4, Tetrazolium blue izolatın dayanıklılık gösterdiği inhibitör etkili kimyasallarıdır. % 71.2 benzerlik oranıyla izolatının *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* olduğu tayin edilmiştir. NZ70-1 izolatının kullandığı karbon kaynakları: Pektin, Myo-inositol, Gliserol, L-aspartik asit, Sitrik asit, L-glutamik asit, Glukoronamid, Asetoasetik asit, Sukroz, Musik asit, Quinik asit, L-malik asit, D-sakkarik asit; Vancomycin, Rifamycin SV, Tetrazolium violet izolatın dayanıklı olduğu inhibitör etkili kimyasallarıdır. % 72.8 benzerlik oranıyla NZ70-1 izolatının *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* olduğu tespit edilmiştir. Gliserol, L-aspartik asit, L-glutamik asit, Sukroz, Quinik asit, L-malik asit, kullandığı karbon kaynakları olarak belirlenen NZ70-2 izolatının dayanıklılık gösterdiği inhibitör etkili kimyasallarının Lincomycin, Vancomycin, pH 6, Rifamycin SV, Tetrazolium violet, Tetrazolium blue olduğu tespit edilmiştir. İzolat,

% 56.3 benzerlik oranıyla *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* olarak tanımlanmıştır. NZ79-1 izolatının kullandığı karbon kaynakları: Pektin, Gelatin, Gliserol, Gentiobiyoz, D-fruktoz, D-glukonik asit, L-aspartik asit, Sitrik asit, L-glutamik asit, Glukoronamid, Sukroz, D-fruztoz-6-fosfat, Musik asit, Quinik asit, L-malik asit, D-sakkarik asittir. İnhibitör etkili kimyasalları Lincomycin, Vancomycin, Rifamycin SV, Tetrazolium violet, Potasyum tellurit'tir. NZ79-1 izolatının *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* ile benzerlik oranı % 26.5 olarak belirlenirken; izolatın tanımlaması yapılamamıştır. Myo-inositol, L-aspartik asit, Sitrik asit, L-glutamik asit, Asetoasetik asit, Sukroz, Musik asit, Quinik asit, L-malik asit, D-sakkarik asit, kullandığı karbon kaynakları olarak belirlenen NZ79-4 izolatının inhibitör etkili kimyasallarının Lincomycin, Vancomycin, Rifamycin SV, Tetrazolium violet, Tetrazolium blue, Potasyum tellurit olduğu belirlenmiştir. İzolatın, %53.3 benzerlik oranıyla *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* olduğu tespit edilmiştir (EK-2).



Şekil 4.7 A. Biolog Sisteminde testlenecek izolatların besiyerine ekiminin yapılması  
B. Mikroplakaların hazırlanması C. IF-A tampon çözeltisinde süspansiyon hazırlanması  
D. Turbidimetre’de bakteri konsantrasyonunun ayarlanması  
E. Mikroplakadaki çukurcuklarda renk değişimi meydana gelmesi

**4.5. Moleküler Tanılama**

Zeytin dal kanserinden izole edilen ve zeytinde patojenite sonucu pozitif olan izolatlardan 27 tanesi rast gele seçilmiştir.

**4.5.1. PCR Yöntemiyle Tanılama**

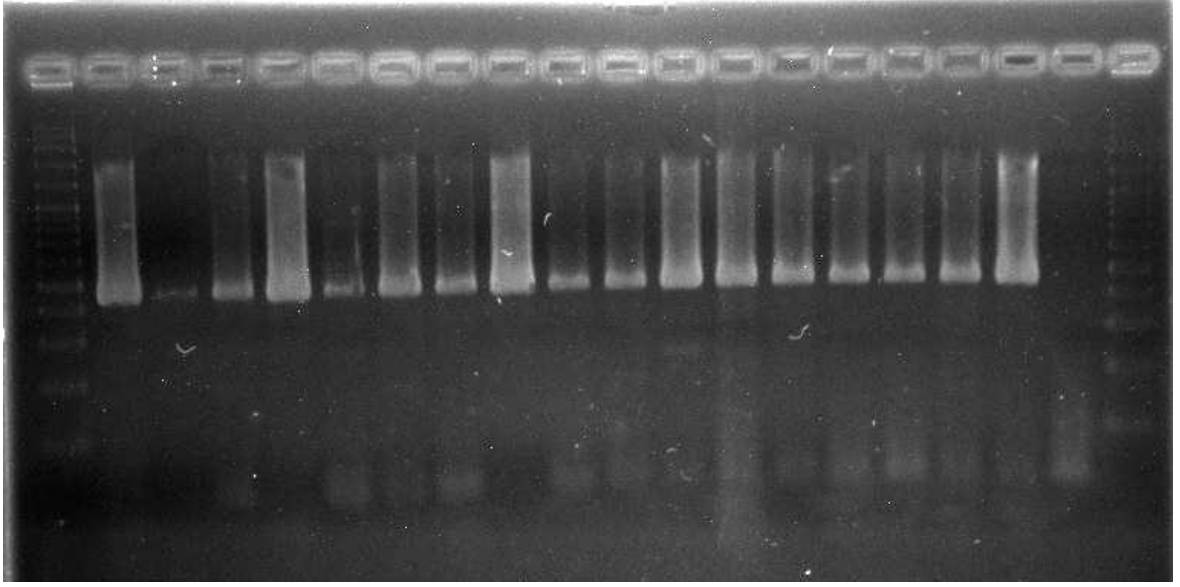
Rastgele seçilen 26 izolatların *Pseudomonas savastoni* pv. *savastoni* olduğunu teyit etmek için IAALF ve IAALR primerleri PCR çalışmasında kullanılmıştır.

**4.5.1.1. DNA İzolasyonu**

PCR çalışması için kullanılan izolatların DNA'sı De Boer ve Ward (1995)'a göre izole edilmiştir.

**4.5.1.2. PCR'nin Uygulanması**

Zeytin dal kanserinden izole edilen ve Zeytinde patojenite sonucu ur oluşturabilen izolatlardan rast gele seçilen 26 izolat IAALF ve IAALR primerleri ile PCR çalışması yapılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda PCR çalışmasında kullanılan tüm izolatların agaroz jelde 454 bp büyüklüğünde spesifik bant oluşturduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.8).



**Şekil 4.8.** *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatların IAATF ve IAATR primerleri kullanılarak yapılan PCR sonuunun jelde oluşturduğu 454 b büyüklüğündeki spesifik bantlar; **1. ve 20. Çukur** 100 b büyüklüğünde marker, **2-18. Çukur** zeytin dal kanserinden izole edilen bakteriyel izolatlar, **19. Çukur** negatif kontrol

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illerindeki zeytin üretim alanlarında yapılan incelemeler sonucunda hastalığın varlığı ve yaygınlık oranıyla ilgili tespitlerde bulunulmuştur. Özellikle Gaziantep'in Nizip ilçesi, Oğuzeli ilçesi ve Antep Çıkışı (Uluyol) %100 zeytin uru hastalığı ile bulaşık olarak; Kilis ili Merkez ilçesinde bulaşıklık % 80 olarak; Kahramanmaraş ilinde % 85 olarak belirlenmiştir. Özellikle dondan dolayı zarar görmüş ağaçlarda hastalık tespit edilmiştir. Genç zeytin fidanlarında hastalığa fazla rastlanılmamıştır. 50 yaşından fazla olan zeytin ağaçlarında ur miktarı ve hacmi fazladır. Özellikle Gaziantep çıkışı-Kilis yolu arasındaki zeytin üretim alanlarındaki zeytin ağaçlarının yaşlarının fazla olduğu ve ağaçlarda budama haricinde herhangi bir kültürel işlem uygulanmadığı tespit edilmiş; ve % 100'lere varan oranlarda bulaşıklık saptanmıştır. Budama yaralarından ve rüzgar, dolu zararından ve Yağlık çeşitlerde sıırıyla hasat yapılması sonucunda oluşan yaralardan etmenin kolaylıkla giriş yapabildiği gözlenmiştir. Kahramanmaraş ili Merkez ilçesinde yapılan surveylerde zeytin urlarının yabancı tip zeytin ağaçlarında oldukça yaygın olduğu belirlenmiştir.

Üzerinde sert odunsu tabaka meydana gelen yaşlı urlardan yapılan izolasyonlar sonucunda petrilere bulaşma meydana gelmiştir. Bu sebeple üzerinde yeşil-gri sertleşmemiş tabaka bulunan taze urlardan izolasyonlar gerçekleştirerek hedeflenen patojen geliştirilebilmiştir.

Morfolojik olarak beyaz krem renkli, düzgün koloniler *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin tanısı için ilk adımı oluşturmuştur. Daha sonra tütün bitkilerine inokule edilmiş ve Tütün aşırı duyarlılık reaksiyonu testi uygulanmıştır. LOPAT Testinin diğer testleri uygulanmış ve LOPAT'ın tanılamada güvenli olduğu kanısına varılmıştır. LOPAT 1b'de yer alan *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* belirtildiği gibi Levan negatif, Oksidaz negatif, Patates çürüklük negatif, Arginin dihidrolaz negatif, Tütün aşırı duyarlılık pozitif olarak belirlenmiştir. Marchi ve ark. (2005)'in tespit ettiği gibi Levan üreten izolatlar rastlanmamıştır. Patojenisite çalışmalarında zeytin fidanlarına inokule edilen izolatlarımızın çoğu zeytin fidanlarında ur oluşturmuştur; ancak zakkumlardan izole edilen ve Tütünde aşırı duyarlılık testine de negatif sonuç veren izolatlar zeytin fidanlarını hastalandırmamıştır. BIOLOG Tanı Sistemiyle ve Moleküler Yöntem olarak kullanılan PCR Yöntemiyle izolatlarımız referans *Pseudomonas savastanoi* izolatıyla yüksek oranlarda benzerlik göstermiştir.

Ülkemizde Zeytin dal kanseri ile ilgili ilk tespiti İyriboz (1941) yapmıştır. Yapılan kapsamlı çalışmalar Ege Bölgesinde Azeri (1993), Batı Akdeniz Bölgesinde Ersoy (2002), Aydın ve Muğla'da Tatlı (2004), Doğu Akdeniz Bölgesinde Mirik ve ark.(2004), Aydın ilinde Servi (2007), Marmara Bölgesinde Mirik ve ark. (2008) tarafından yapılmıştır.

## KAYNAKLAR

- ALVAREZ, F., GARCIA DE LOS RIOS, J.E., JIMENEZ, P., ROJAS, A., RECHE, P. ve TROYA, M.T., 1998. Phenotypic variability in different strains of *Pseudomonas syringae* subsp.*savastanoi* isolated from different hosts. European Journal of Plant Pathology, 104:603-609.
- ANONİM, 1998. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı , Zeytincilik Araş.Ens.Yayımları, Bornova/İzmir No.61, 21s.
- ANONİM, 2008a. Zeytin Yetiştiriciliği. Hasad Yayıncılık, No:246, 206p.
- ANONİM, 2008b. BIOLOG Gen III Microplate Instruction for Use.
- ANONİM, 2009a. <http://www.zae.gov.tr/ekonomi/1.asp> ve [2.asp](http://www.zae.gov.tr/ekonomi/2.asp)
- ANONİM, 2009b. <http://www.tuik.gov.tr>.
- ANONİM, 2010a. <http://www.gemlikzeytini.net/>.
- ANONİM, 2010b. <http://www.fao.org>.
- ANONYMOUS, 2011a. International Olive Oil Council-IOOC, NewsletterOctober\_2011English.
- ANONYMOUS, 2011b. <http://www.internationaloliveoil.org/documents/viewfile/5496-the-profile-of-the-table-olives-consumer-in-turkey-by-mehmet-ertas/1>.
- AZAD, H.R., ve COOKSEY, D.A., 1995. A semiselective medium for detecting epiphytic and systemic populations of *Pseudomonas savastanoi* from oleander. Phytopathology 85:740-745.
- AZERİ, T., 1993. Reseach on olive leaf spot, olive knot and verticillium wilt of olive in Turkey, EPPO Bulletin 23, 437-440.
- BASIM, H. ve ERSOY, A., 2001. Batı Akdeniz Bölgesinde zeytin ağaçlarında *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* tarafından oluşturulan bakteriyel dal kanseri hastalığının yayılışı ve hastalık etmeninin tanısı, Türkiye 1. Zeytincilik Sempozyumu, 6-9 Haziran 2000, Bursa, p:310-315.
- BERTOLINI, E., PENYALVER, R., GARCIA, A., OLMOS, A., QUESADA, J.M., CAMBRA, M. ve LOPEZ, M.M., 2003. Highly sensitive detection of *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi* in asymptomatic olive plants by nested-PCR in a single closed tube. Journal of Microbiological Methods, 52 (2003) 261-266.
- BOCHNER, B.R., 1989a. Sleuthing out Bacterial Identities. Nature 339:157-158.
- BOCHNER, B.R., 1989b. "Breathprints" at the Microbial Level. ASM News 55:536-539.



- BRAUN-KIEWNICK, A ve SANDS, D.C., 2001. Gram-Negative Bacteria. 84-120p. İn: Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Third Edition, SCHAAD, N.W., JONES, J.B. ve CHUN, W. For the Bacteriology Committee of the American Phytopathological Society APS Press, Minnesota.
- COMAI, L. ve KOSUGE, T., 1980. Involvement Of Plasmid Deoxyribonucleic Acid Indolacetic Acid Synthesis in *Pseudomonas savastanoi*. Journal of Bacteriology, 950-957.
- CAMPOS, A., DA COSTA, G., COELHO, A.V. ve FEVEREIRO, 2009. Identification of bacterial protein markers and enolase as a plant response protein in the infection of *Olea europaea* subsp. *europaea* by *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi* PsEur. J. Plant Pathol, 125:603-616.
- CANÖZER, Ö. 1991. Standart Zeytin Çeşitleri Katalogu. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Yayın Dairesi Başkanlığı Mesleki Yayınlar, Genel: 334, Seri: 16. Ankara.
- CAYUELA, J.A., RADA, M., RIOS, J.J., ALBI, T. ve GUINDA, A., 2006. Changes in phenolic composition induced by *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi* infection olive trees: presence of large amounts of verbascoside in nodules of tuberculosis disease. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 5363-5368.
- ERCOLANI, G.L., 1993. Comparison of strains of *Pseudomonas syringae* pv.*savastanoi* from olive leaves and knots. Letters in Applied Microbiology 1993, 16, 199-202.
- ERSOY, A., 2002. Batı Akdeniz Bölgesinde zeytin ağaçlarında görülen *Pseudomonas savastanoi* pv.*savastanoi* nin neden olduğu bakteriyel dal kanseri hastalığının yayılışı, etmenin moleküler tanısı, izolatlarının elde edilmesi ve moleküler karakterizasyonu. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Bölümü Yüksek Lisans tezi.72p.
- GAFFNEY, T.D., DA COSTA, O., SILVA, E., YAMADA, T. ve KOSUGE, T., 1990. Indolacetic acid operon of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* : Transcription analysis and promoter identification. Journal of Bacteriology. 172(10): 5593-5601.
- GARDAN, L., BOLLET, C., ABU GHORRAH, M., GRIMONT, F., ve GRIMONT, P.A.D., 1992. DNA Relatedness among the pathovar strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* Janse (1982) and Proposal of *Pseudomonas savastanoi* sp. nov. International Journal of Systematic Bacteriology, 606-612.
- HALL, B.H., COTHER, E.J., WHATTAM, M., NOBLE, D., LUCK, J. ve CARTWRIGHT, D., 2004. First report of olive knot caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* on olives (*Olea europaea*) in Australia. Australasian Plant Pathology, 33(3) :433-436 p. doi:10.1071/AP04031.
- IACOBELLIS, N.S., CONTESINI, A.M., ve SURICO, G., 1995. Bacteriosin production by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*. Phytopatological Mediterranea, 34:1, 15-22p.

- IACOBELLIS, N.S., CAPANERO, A., ve EVIDENTE, A., 1998. Characterization of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* strains isolated from ash. Plant Pathology, 45:73-83.
- JANSE, J.D., 1981. The bacterial diseases of ash (*Fraxinus excelsior*) caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* pv. *fraxini*, II etiology and taxonomic considerations, Eur. J. Forest Pathol. 11, 425-438p.
- KAVAK, H. ve ÜSTÜN, N., 2009. Oleander knot diseases caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* in Turkey. Journal of Plant Pathology, 91(3), 701-703.
- KING, E.O., WARD, M.K. ve RANEY, D.E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluoresin. J. Lab. Clin. Med. 44: 301-307p.
- KLEMENT, Z., 1963. Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic pseudomonas. Nature, 199: 299-300p.
- KRID, S., RHOUMA, A., OUESADA, J.M., PENYALVER, R. ve GARGOURI, A., 2009. Delineation of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* strains isolated in Tunisia by random-amplified polymorphic DNA analysis. Journal of Applied Microbiology 106 (2009) 886-894.
- LELLIOTT, R.A. ve STEAD, D.E., 1987. Methods for diagnosis of bacterial diseases of plants. Blackwell Scientific Publications, 216pp.
- MARCHI, G., VITI, C., GIOVANNETTI, L., ve SURICO, G., 2005. Spread of levan-positive populations of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, the causal agent of olive knot, in central Italy. European Journal of Plant Pathology, 112:101-112.
- MARCHI, G., SISTO, A., CIMMINO, A., ANDOLFI, A., CIPRIANI, M.G., EVIDENTE, A., ve SURICO, G., 2006. Interaction between *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* and *Pantoea agglomerans* in olive knots. Plant Pathology. 55(5):614-624.
- MARCHI, G., MORI, B., POLLACCI, P., MENCUCCINI, M., ve SURICO, G., 2009. Systemic spread of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive explants. Plant Pathology 58, 152-158.
- MİRİK, M., AYSAN, Y., ÇINAR, O., ve ŞAHİN, F., 2004. Türkiye’de çeşitli bitkilerden izole edilen *Pseudomonas savastanoi* izolatlarının fenotipik karakterizasyonu, Türkiye 1. Bitki Koruma Kongresi, Samsun, (2004), pp:139.
- MİRİK, M., AYSAN, Y., BÜYÜKYILMAZ, M., 2008. Tekirdağ ve Çevresinde Zeytin Üretim Alanlarından *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* İzolatlarının Elde Edilmesi, İzolatlarının Karakterizasyonları ve farklı bitkilerden izole edilen izolatlarla fenotipik ve genotipik olarak karşılaştırılması. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Tarım, Ormancılık ve Veterinerlik Araştırma Grubu Proje No:106 O 196 68 s.
- MUGNAI, L., SURICO, G. ve IACOBELLIS, N.S., 1993. Response of explants and cultured cells of oleander to inoculation with strains of *Pseudomonas syringae*

- subsp. *savastanoi*. Petria, 3:1,27-39, 20 ref.
- MUGNAI, L., GIOVANETTI, L., VENTURA, S., ve SURICO, G., 1994. The grouping of strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* by DNA restriction fingerprinting. Journal of Phytopathology. 142:3-4, 209-218p.
- PENYALVER, R., GARCIA, A., FERRER, A., BERTOLINI, E., ve LOPEZ, M.M., 2000. Detection of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive plants by enrichment and PCR. Applied and Environmental Microbiology, 66(6), 2673-2677.
- PENYALVER, R., GARCIA, A., FERRER, A., BERTOLINI, E., QUESADA, J.M., SALCEDO, C.I., ve ark., 2006. Factors affecting *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* plant inoculations and their use for evaluation of olive cultivar susceptibility. Phytopathology, 96, 313-319.
- RALLO, P., DORADO, G., ve MARTIN, A., 2000. Development of Simple Sequence Repeats (SSRs) in Olive Tree (*Olea europaea* L.). Theor. Appl. Genet. (2000), 101: 984-989 p.
- RODRIGUEZ-MORENO, L., JIMENEZ, A.J., ve RAMOS, C., 2009. Endopathogenic lifestyle of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive knots. Microbial Biotechnology 2(4),476-488.
- QUESADA, J.M., PENYALVER, R., PEREZ-PANADES, C.I. SALCEDO, CARBONELL, E.A., ve LOPEZ, M.M., 2010. Dissemination of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populations and subsequent appearance of olive knot disease. Plant Pathology (2010) 59, 262-269.
- SANDS, D.C., 1990. Physiological criteria-determinate tests. In Methods in Phytobacteriology, ed: Klement, Z., Rhudolp, K., Sands, D.C., Academia Kiado, Budapest, Hungary.
- SERVİ, D., 2007. Aydın ilinde zeytin dal kanseri hastalığının (*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*)'in yaygınlığının belirlenmesi ve pcr ile tanısı. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Bölümü.
- SISTO, A., MOREA, M., ZACCARO, F., PALUMBO, G., ve IACOBELLIS, N.S., 1999. Isolation and characterization of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* mutants defective in hypersensitive response elicitation and pathogenicity. Journal of Phytopathology 147, 321-330.
- SISTO, A., CIRIANI, M.G., TEGLI, S., CERBONESCHI, M., STEA, G., ve SANTILLI, E., 2007. Genetic characterization by fluorescent AFLP of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* strains isolated from different host species. Plant Pathology 56, 366-372.
- SURICO, G., COMAI, L. ve KOSUGE, T., 1984. Pathogenicity of strains of *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* and their indoleacetic acid-deficient mutants on olive and oleander. Phytopathology. 74(4):490-493.

- SURICO, G., IACOBELLIS, N.S., ve SISTO, A., 1985. Studies on the role of indole-3-acetic acid and cytokinins in the formation of knots on olive and oleander plants by *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*. *Physiological Plant Pathology*; 78:185-190.
- SURICO, G., IACOBELLIS, N.S.,1992. Phytohormones and olive knot diseases. *Molecular Signals In Plant-Microbe Communications*. Ed. Desh Pal S. Verma, Ph. D., FRSC., CRC Press. 209-227.
- SURICO, G., 1993. Scanning electron microscopy of olive end oleander leaves inoculated with *Pseudomas syringae* subsp. *savastanoi* and scannig electron microscopy of infections. *Petria*, 3.2, 117-127p.
- TETİK, H.D., 2005. Sofralık Zeytin İşleme Teknikleri. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın No: 53, 5.Baskı, Emre Basımevi, İzmir, 136 s.
- THORNLEY, M.J., 1960. The differantation of *Pseudomonas* from other gram negative bacteria on the basis of arginin metabolism. *Journal of Applied Bacteriology* 23: 37-52p.
- TUNALIOĞLU, R., 1998. Türkiye Zeytinciliğinin Genel Durumu. Zeytin Yetiştiriciliği Kursu Kitabı, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, İzmir.
- ÜLGER, S., 1989. Farklı Ortamlarda, Hormon Kullanımıyla, Değişik Zeytin Çeşitlerinin Köklendirilmesi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Bölümü. 56s.
- VARVARO, L., ve SURICO, G., 1984. Epiphytic survival of *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* and its multiplication in host tissues. U.S. Workshop/Seminar "Plant Pathology and Quarantine" Roma (Italy), 17-21 September.
- WILSON, E.E., HESKETT, M.S., JOHNSON, M.L., ve KOSUGE, T., 1971. Metabolic behaviour of *Pseudomonas savastanoi* isolates from olive and oleander on certain carbohydrate and amino substrates. *Phytopathology* 62:349-355.

## ÖZGEÇMİŞ

**Kişisel Bilgiler**

Adı, soyadı : Nur SİVRİ  
Doğum tarihi ve yeri : 21.12.1983 /İSTANBUL

**Eğitim**

<b>Derece</b>	<b>Eğitim Birimi</b>	<b>Mezuniyet Tarihi</b>
Yüksek lisans	KSÜ / Bitki Koruma Bölümü	2012
Lisans	OMÜ/ Bitki Koruma Bölümü	2008
Lise	Üsküdar Kız LİSESİ (YDA)	2001

**İş**

<b>Unvan</b>	<b>Yer</b>	<b>Tarih</b>
Araştırma Görevlisi	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	2010-2011
Ziraat Mühendisi	Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tekirdağ Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü	2011-Halen

**Yabancı Dil**

İngilizce

**Hobiler**

Müzikle ilgilenmek, kitap okumak.

## **EK-1**

### **BESİYERLERİ**

#### **King's B** (King ve ark., 1954)

Proteose Pepton	20.0 g
Gliserin	10.0 ml
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.5 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1.5 g
Agar	15.0 g
Saf Su	1000 ml

#### **Nutrient Broth Sıvı Besiyeri** (Lelliot ve Stead, 1987)

Nutrient broth	8.0 g
Saf Su	1000 ml

#### **PVF1 Besiyeri** (Lelliot ve Stead, 1987)

Glikoz	30.0 g
Gliserin	10.0 ml
Difco casiminoacid	2.5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.96 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.4 g
SDS	0.4 g
Agar	15.0 g
Saf suda	1000 ml

#### **SNA Besiyeri** (Lelliot ve Stead, 1987)

Nutrient broth	13.0 g
Sukroz	50.0 g
Saf Su	1000 ml

#### **Thorney 2A besiyeri** (Lelliot ve Stead, 1987)

Peptone	1 g
NaCl	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.3 g
Phenol red	0.01 g
L-arginine	10 g/l
Agar	3.0 g
Saf su	1000 ml

#### **YDC (Yeast Dekstroz Karbonat) Agar** (Lelliot ve Stead, 1987)

Yeast extract	10.0 g
Dekstroz	20.0 g
Kalsiyum karbonat	20.0 g
Agar	15.0 g
Saf su	1000 ml

Besiyerleri hazırlandıktan sonra 121 °C'de 15 dk. otoklav edilmiştir.

## EK-2

### BİOLOG TANILAMA SİSTEMİNİN ÇIKTILARI

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
Project ML5  
File Name Nur Sivri.W5E.D5E  
User < unrestricted >  
Instrument MicroStation 2 Reader  
Instrument S/N 0  
Incubation Hours 26.00  
Plate Number 1  
Plate Type GEN III  
Protocol A

Sample ID N79-1  
Operator Mustafa KUSEK  
Date 22.03.2011  
Group Savastanoi

Date & Time of Read Mar 22 2011 2:14 PM  
Biolog ID DB Biolog GEN III DB.I5G  
User ID Database Cronyog.I5G

Result	No ID Yet
Comment	
Notice	Continue Incubation

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	---	0.265	5.655	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv nerii
2	---	0.237	5.696	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv pisi
3	---	0.102	5.981	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv fraxini
4	---	0.076	6.088	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv delphinii

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

#### Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	35	58	76	59	61	< 118	- < 128	59	59	< 217	{ 158	56
B	62	52	53	61	61	53	65	54	55	{ 148	51	42
C	{ 106	84	< 126	- { 107	66	{ 104	{ 97	62	82	57	79	51
D	61	{ 106	75	+ { 100	< 112	69	< 119	43	56	86	< 199	55
E	< 119	- 60	{ 96	59	< 142	< 130	76	54	70	< 198	99	{ 135
F	< 128	72	48	< 120	79	< 122	- < 155	< 125	- < 175	< 207	< 215	{ 135
G	41	52	53	41	< 141	68	{ 110	< 145	52	61	45	< 201
H	59	{ 86	49	50	52	70	45	45	47	97	54	58

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name Nur Sivri.W5E.D5E  
 User < unrestricted >  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 26.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A

Sample ID N63-1  
 Operator Mustafa KUSEK  
 Date 22.03.2011  
 Group Savastanoi

Date & Time of Read Mar 22 2011 2:21 PM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III DB.I5G  
 User ID Database Cronyog.I5G

Result	Species ID: Pseudomonas savastanoi pv nerii
Comment	
Notice	

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.963	0.736	4.039	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv nerii
2	0.028	0.019	5.317	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv fraxini
3	0.006	0.004	5.895	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv phaseolicola
4	0.003	0.002	6.085	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv glycinea

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	39	70	41	43	51	51	< 130	45	43	< 182	< 138	43
B	52	71	42	43	43	41	52	41	43	72	41	34
C	{ 90	{ 100	48	69	54	73	69	56	40	52	62	42
D	76	{ 100	81 +	{ 96	< 147	53	76	45	55	38	{ 114	48
E	43	46	37	45	< 183	< 179	63	48	69	{ 131	89	88
F	51	59	45	< 155	68	{ 94	< 218	< 138	< 127	< 146	< 175	{ 127
G	33	61	44	43	< 153	56	{ 90	< 142	69	54	43	57 +
H	48	46	33	39	25	48	26	{ 93	38	65	54	52



Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name Nur Sivri.W5E.D5E  
 User < unrestricted >  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 26.00  
 Plate Number 26  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 Sample ID N70-2  
 Operator Mustafa KUSEK  
 Date 22.03.2011  
 Group Savastanoi  
  
 Date & Time of Read Mar 22 2011 2:24 PM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III DB.I5G  
 User ID Database Cronyog.I5G

Result	Species ID: Pseudomonas savastanoi pv nerii
Comment	
Notice	

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.702	0.563	3.802	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv nerii
2	0.261	0.200	4.158	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv glycinea
3	0.034	0.024	4.897	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv fraxini
4	0.003	0.002	5.728	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv delphinii

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	36	57	36	50	39	47	< 119	47	42	< 186	< 158	50
B	40	37	38	40	40	43	47	42	43	68	45	34
C	70	76	77	62	51	59	58	48	46	52	67	43
D	61	63 +	54	{ 89	< 98	43	61	42	44	54	< 151	52
E	40	43	48	39	< 112	< 134 -	63	45	61	< 147	56	{ 137
F	63	53	41	66	55	{ 86	{ 87	< 113 -	{ 89	< 157	< 184	< 164
G	33	38	38	37	{ 85 -	46	63	< 118	43	54	41	{ 134
H	49	73	31	36	35	49	43	43	43	55	52	52

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name Nur Sivri.W5E.D5E  
 User < unrestricted >  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 26.00  
 Plate Number 25  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 Sample ID 65-2  
 Operator Mustafa KUSEK  
 Date 22.03.2011  
 Group Savastanoi  
  
 Date & Time of Read Mar 22 2011 2:30 PM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III DB.I5G  
 User ID Database Cronyog.I5G

Result	Species ID: Pseudomonas savastanoi pv nerii
Comment	
Notice	

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.687	0.525	4.152	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv nerii
2	0.280	0.214	4.476	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv fraxini
3	0.030	0.021	5.277	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv glycinea
4	0.003	0.002	6.056	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv pisi

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	35	77	41	44	41	50	< 109	43	40	< 217	{ 136	49
B	43	35	41	43	42	44	46	39	40	93	46	37
C	73	79	78	58	52	73	72	49	44	53	71	46
D	57	62 +	54	< 162	79	45	75	43	43	67	< 169	54
E	39	41	47	48	< 141 -	< 109	71	47	56	{ 158	72	{ 135
F	72	55	44	75	57	84	< 108	< 125 -	< 104	{ 160	< 202	< 168
G	32	46	38	37	66 +	51	80	< 184	44	56	43	{ 146
H	44	72	34	38	33	70	42	46	41	67	53	52

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name Nur Sivri.W5E.D5E  
 User < unrestricted >  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 26.00  
 Plate Number 24  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 Sample ID N1-10  
 Operator Mustafa KUSEK  
 Date 22.03.2011  
 Group Savastanoi  
  
 Date & Time of Read Mar 22 2011 2:35 PM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III DB.I5G  
 User ID Database Cronyog.I5G

Result	Species ID: Pseudomonas savastanoi pv fraxini
Comment	
Notice	

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.760	0.552	4.822	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv fraxini
2	0.120	0.082	5.489	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv nerii
3	0.106	0.073	5.533	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv glycinea
4	0.015	0.010	6.245	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv aceris

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, xx: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	39	61	37	43	41	52	{ 91	50	41	< 188	< 162	59
B	42	41	42	43	39	43	43	40	40	113	53	35
C	65	69	70	61	48	65	69	52	48	57	78	51
D	43	59 +	56	< 144	80	42	68	43	49	69	< 164	54
E	40	37	51	37	< 126	{ 90	68	47	59	< 145	90	< 147
F	74	52	37	66	55	< 106 -	75	< 159	{ 85 -	< 157	< 181	< 158
G	34	48	43	36	62	47	< 106 -	< 156	49	92	48	< 174
H	54	69 +	35	41	35	76	40	43	45	97	49	56

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name Nur Sivri.W5E.D5E  
 User < unrestricted >  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 26.00  
 Plate Number 24  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 Sample ID N79-4  
 Operator Mustafa KUSEK  
 Date 22.03.2011  
 Group Savastanoi  
  
 Date & Time of Read Mar 22 2011 2:36 PM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III DB.I5G  
 User ID Database Cronyog.I5G

Result	Species ID: Pseudomonas savastanoi pv nerii
Comment	
Notice	

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.664	0.533	3.567	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv nerii
2	0.257	0.196	3.910	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv fraxini
3	0.061	0.047	4.429	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv glycinea
4	0.018	0.013	4.859	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv pisi

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	32	59	28	37	59	46	< 109	35	35	< 215	{ 159	48
B	39	32	39	44	42	40	44	40	35	123	47	40
C	74	80	58	75	48	61	66	58	43	54	67	52
D	57	65 +	63 +	< 127	76	42	65	47	38	48	< 195	59
E	37	40	65	41	< 124 -	< 106	70	54	70	< 185	62	{ 157
F	78	52	36	72	57	79	< 116	< 127 -	< 121	< 194	< 181	< 198
G	27	45	39	39	< 95	57	65	< 183	48	62	45	< 191
H	55	80	28	37	33	< 102	41	41	61	69	54	54

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name Nur Sivri.W5E.D5E  
 User < unrestricted >  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 26.00  
 Plate Number 24  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A

Sample ID N69-2  
 Operator Mustafa KUSEK  
 Date 22.03.2011  
 Group Savastanoi

Date & Time of Read Mar 22 2011 2:38 PM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III DB.I5G  
 User ID Database Cronyog.I5G

Result	Species ID: Pseudomonas savastanoi pv nerii
Comment	
Notice	

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.887	0.712	3.381	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv nerii
2	0.093	0.071	4.193	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv fraxini
3	0.016	0.012	4.827	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv glycinea
4	0.003	0.002	5.381	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv pisi

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	34	66	32	38	51	41	< 150	43	38	< 200	{ 151	50
B	39	38	35	39	37	37	42	36	43	100	43	37
C	77	74	59	53	47	57	61	45	48	50	62	51
D	60	61 +	57	< 113	73	43	67	41	33	52	< 181	59
E	39	43	52	38	< 112	< 95	71	47	62	< 171	56	< 153
F	72	54	39	54 +	58	77	< 105	< 120	< 108	< 193	< 202	< 191
G	31	43	39	37	81	52	53	< 163	43	58	44	{ 151
H	49	61	31	39	34	< 93	38	52	61	63	55	55

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name Nur Sivri.W5E.D5E  
 User < unrestricted >  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 26.00  
 Plate Number 24  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 Sample ID N70-1  
 Operator Mustafa KUSEK  
 Date 22.03.2011  
 Group Savastanoi  
  
 Date & Time of Read Mar 22 2011 2:39 PM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III DB.I5G  
 User ID Database Cronyog.I5G

Result	Species ID: Pseudomonas savastanoi pv nerii
Comment	
Notice	

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.908	0.728	3.291	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv nerii
2	0.077	0.059	4.180	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv fraxini
3	0.008	0.006	4.989	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv delphinii
4	0.007	0.005	5.042	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv glycinea

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	39	61	39	41	40	46	< 125	71	43	< 258	{ 189	57
B	40	36	43	43	43	37	43	38	44	114	44	35
C	79	87	80	72	48	60	65	54	58	56	67	48
D	68	69 +	61 +	< 161	< 118	47	80	40	57	51	< 198	57
E	39	45	60	42	< 144	< 126	75	54	90	{ 186	63	{ 178
F	< 116	60	43	77	61	< 111	< 144	< 119	< 168	< 202	< 204	{ 180
G	34	47	40	39	< 166	43	63	< 195	45	54	43	151
H	54	83	32	37	35	< 121	37	47	49	59	52	53

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name Nur Sivri.W5E.D5E  
 User < unrestricted >  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 26.00  
 Plate Number 24  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A

Sample ID N62-2  
 Operator Mustafa KUSEK  
 Date 22.03.2011  
 Group Savastanoi

Date & Time of Read Mar 22 2011 2:40 PM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III DB.I5G  
 User ID Database Cronyog.I5G

Result	Species ID: Pseudomonas savastanoi pv nerii
Comment	
Notice	

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.764	0.584	4.285	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv nerii
2	0.229	0.166	4.720	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv fraxini
3	0.006	0.004	6.047	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv glycinea
4	0.001	0.001	6.730	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv delphinii

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	38	74	35	44	40	48	< 134	42	39	< 222	< 216	47
B	49	36	39	41	38	38	43	37	40	{ 156	43	36
C	86	89	44	54	55	65	{ 94	53	37	52	68	50
D	71	82	71 +	< 140	< 145	48	71	39	62	38	< 175	56
E	41	36	43	43	< 159	< 164	61	48	78	< 172	121	{ 146
F	< 122	59	40	< 141	63	{ 98	< 190	< 144	< 169	< 181	< 225	< 211
G	31	65	43	38	< 143	54	61	< 197	{ 93	57	42	70 +
H	56	44	33	41	27	68	25	79	38	< 246	50	51

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name Nur Sivri.W5E.D5E  
 User < unrestricted >  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 26.00  
 Plate Number 24  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 Sample ID N62-1  
 Operator Mustafa KUSEK  
 Date 22.03.2011  
 Group Savastanoi  
  
 Date & Time of Read Mar 22 2011 2:44 PM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III DB.I5G  
 User ID Database Cronyog.I5G

Result Species ID: *Pseudomonas savastanoi* pv *nerii*  
 Comment  
 Notice

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.975	0.783	3.135	GN-Nent	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv <i>nerii</i>
2	0.023	0.018	4.480	GN-Nent	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv <i>fraxini</i>
3	0.001	0.001	5.553	GN-Nent	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>glycinea</i>
4	0.000	0.000	6.134	GN-Nent	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>pisi</i>

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	40	75	35	44	45	44	< 136	43	37	< 176	{ 112	45
B	48	38	38	43	39	40	43	38	39	75	42	34
C	{ 92	{ 93	45	54	52	59	65	52	40	52	65	43
D	71	81 +	62 +	< 120	< 122	50	68	41	57	37	{ 128	55
E	43	40	43	41	< 139	< 143	60	47	68	{ 132	87	{ 115
F	< 110	59	41	< 124	64	{ 88	< 183	< 107	< 120	< 146	< 186	< 156
G	31	63	43	39	< 148	57	65	< 188	60	54	45	63 +
H	50	45	33	41	28	44	26	73	35	65	52	52



Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name Nur Sivri.W5E.D5E  
 User < unrestricted >  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 26.00  
 Plate Number 24  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A

Sample ID N64-1  
 Operator Mustafa KUSEK  
 Date 22.03.2011  
 Group Savastanoi

Date & Time of Read Mar 22 2011 2:46 PM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III DB.I5G  
 User ID Database Cronyog.I5G

Result	Species ID: Pseudomonas savastanoi pv nerii
Comment	
Notice	

Rank	PROB	SIM	DIST	Organism Type	Species
1	0.781	0.627	3.572	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv nerii
2	0.192	0.147	4.078	GN-Nent	Pseudomonas savastanoi pv fraxini
3	0.022	0.016	4.855	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv glycinea
4	0.005	0.004	5.385	GN-Nent	Pseudomonas syringae pv aceris

Key: <x: positive, x: negative, <x: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

Plate	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	35	65	36	45	45	43	< 122	43	41	< 202	{ 134	52
B	39	35	42	39	43	39	43	41	41	90	44	36
C	65	73	65	60	48	61	68	52	51	54	72	44
D	54	59 +	54	< 103	83	49	73	38	42	69	< 178	55
E	36	38	53	50	< 113	74	65	45	57	< 163	85	{ 141
F	79	53	36	65 +	66	< 94	< 92	< 99 -	< 104	< 173	< 195	< 157
G	33	44	39	40	{ 83 -	44	58	< 217	50	58	42	{ 146
H	44	65	31	37	32	< 90	43	48	37	65	51	51