

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

DOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDE YETİŞTİRİLEN YUMUŞAK  
ÇEKİRDEKLİ MEYVE AĞAÇLARINDAN İZOLE EDİLEN  
PATOJENİK VE SAPROFİTİK BAKTERİYEL ORGANİZMALARIN  
KLASİK VE MOLEKÜLER METODLAR İLE TANISI VE BİYOLOJİK  
MÜCADELE İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI

121 392

Recep KOTAN

121392

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**TC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

ERZURUM  
2002

Her hakkı saklıdır

**Doç. Dr. Fikrettin ŞAHİN** danışmanlığında, **Recep KOTAN**. tarafından hazırlanan bu çalışma, **25.../07.../2002**..... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **Fitopatoloji** Anabilim Dalı'nda **DOKTORA** tezi olarak kabul edilmiştir.


Başkan: Prof. Dr. Hilmet SANCILI

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Ömer Faruk Algur

İmza : 

Üye : Doç. Dr. Zikol Demirci

İmza : 

Üye : Doç. Dr. Fikrettin ŞAHİN

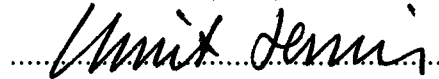
İmza : 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Medine Gülöce

İmza : 

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

(imza)



**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Doktora Tezi

### DOĞU ANADOLU BÖLGESİ'NDE YETİŞTİRİLEN YUMUŞAK ÇEKİRDEKLİ MEYVE AĞAÇLARINDAN İZOLE EDİLEN PATOJENİK VE SAPROFİTİK BAKTERİYEL ORGANİZMALARIN KLASİK VE MOLEKÜLER METODLAR İLE TANISI VE BİYOLOJİK MÜCADELE İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI

Recep KOTAN

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Fikrettin ŞAHİN

Elma, armut, ahlat, ayva, muşmula ve yenidünya; dünyanın birçok bölgesinde olduğu gibi Türkiye’de de ticari olarak yetiştiriciliği yapılan önemli yumuşak çekirdekli meyvelerdir. Bu meyvelerde, bakterilerin de içinde bulunduğu birçok patojenin sebep olduğu önemli hastalıklardan dolayı kalite ve verim kaybı olmaktadır.

Bu çalışmada; Doğu Anadolu Bölgesi’nde yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyvelerden izole edilen bütün bakteriyel organizmaların (patojenik ve saprofitik) klasik ve mikrobiyal identifikasyon sistemi (MIS), 16S-23S rDNA ve Eric-PCR gibi moleküler teknikler kullanılarak; bakteriyel strainlerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri, yağ asiti metil esterlerinin profilleri ve genetik parmak izleri belirlenmiştir.

MIS sistemi kullanılarak 36 bakteriyel cinse ait 76 farklı tür ve toplam 324 strain tanılanmıştır. 12 türe ait (40 *Erwinia amylovora*, 20 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, 6 *Erwinia rhapontici*, 4 *Pseudomonas putida*, 3 *Pseudomonas huttiensis*, 2 *Chromobacterium violaceum*, 2 *Pantoea agglomerans*, 1 *Alcaligenes piechaudii*, 1 *Bacillus pumilus* GC. Subgroup B, 1 *Enterobacter intermedius*, 1 *Pseudomonas aeruginosa* ve 1 *Pseudomonas cichorii*) toplam 82 strain yumuşak çekirdekli meyvelerde patojenik bulunmuştur. *Erwinia amylovora* ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*’nin dışındaki bu 10 türün yumuşak çekirdeklilerde patojen olduğu ilk defa bu çalışmada belirlenmiştir. 53 strainin tütünde aşırı duyarlılık testi sonucu pozitif ama patojenite testi sonucu negatif olarak tespit edilmiştir. 189 saprofitik strain *Erwinia amylovora* ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* patojenlerine karşı potansiyel biyokontrol ajan olarak *in-vitro* ve *in-vivo*’da test edilmiştir. *In-vitro*’da etkili olduğu gözlenen potansiyel biyoajanların *in-vivo* denemeleri sonucunda ise 16’sının (9 *Pantoea agglomerans*, 1 *Alcaligenes piechaudii*, 1 *Bacillus pumilus*, 1 *Chromobacterium violaceum*, 1 *Pseudomonas putida* ve 1 *Serratia liquefaciens*) ateş yanıklığı ve/veya tomurcuk yanıklığı hastalığını önlemede önemli derecede etkili olduğu belirlenmiştir.

2002 , 217 sayfa

Anahtar kelimeler: *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, MIS, PCR, Biyokontrol

## ABSTRACT

Ph. D. Thesis

### ISOLATION AND IDENTIFICATION OF PATHOGENIC AND SAPROPHYTIC BACTERIAL ORGANISMS FROM POME FRUITS GROWN IN EASTERN ANATOLIA REGION OF TURKEY BY COMMERCIAL AND MOLECULAR TECHNIQUES, AND RESEARCHES ON THE BIOLOGICAL CONTROL STRATEGIES

Recep KOTAN

Atatürk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Plant Protection

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Fikretin ŞAHİN

Apple, pear, mountain pear, quince, madlar and loquat are some of the pome fruits commercially grown in many places in the world, including Turkey. There have been a number of pathogens, some of which are bacteria, known to cause economically important diseases and reduction in the quality and yield of pome fruit production.

In the present study, all bacterial organisms (pathogenic and saprophytic) have been isolated from pome fruits grown in Eastern Anatolia Region of Turkey were identified and their morphological, physiological and biochemical characteristics, fatty acid methyl ester profiles and genetic fingerprints have been studied by using commercial and molecular techniques including Microbial Identification System (MIS), 16S-23S rDNA and Eric-PCR.

Of total 324 strains in 76 species of 36 bacterial genera were identified by MIS, 82 strains belong to 12 bacterial species (40 *Erwinia amylovora*, 20 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, 6 *Erwinia rhapontici*, 4 *Pseudomonas putida*, 3 *Pseudomonas huttiensis*, 2 *Chromobacterium violaceum*, 2 *Pantoea agglomerans*, 1 *Alcaligenes piechaudii*, 1 *Bacillus pumilus* GC. Subgroup B, 1 *Enterobacter intermedius*, 1 *Pseudomonas aeruginosa* and 1 *Pseudomonas cichorii*) were found to be pathogenic on pome fruits. With the exception of *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 10 bacterial species including were first time identified as pathogens of pome fruits in this study. 53 strains were hypersensitivity positive on tobacco plant, but not pathogenic on pome fruits tested. Evaluation of the remaining 189 saprophytic strains in order to determine potential biocontrol agents against pathogenic strains of *Erwinia amylovora* and *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in *in-vitro* and *in-vivo* tests showed that 16 test strains (9 *Pantoea agglomerans*, 1 *Alcaligenes piechaudii*, 1 *Bacillus pumilus*, 1 *Chromobacterium violaceum*, 1 *Pseudomonas putida* and 1 *Serratia liquefaciens*) have great capacity to be used as biocontrol agent for management of fire blight and shot blight diseases.

2002 , 217 pages

**Keywords:** *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, MIS, PCR, Biocontrol



## TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından desteklenmiş olup, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde yapılmıştır.

Çalışmalarında her türlü desteği sağlayan çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Fikrettin ŞAHİN'e (Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi ve Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü), tez izleme komitesi ve jürisinde görev alıp bana engin fikirleri ile yön veren Sayın Prof. Dr. Hikmet SAYGILI (Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi), Sayın Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR (Atatürk Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi), Sayın Doç. Dr. Erkol DEMİRCİ (Atatürk Üniversitesi Genel Sekreteri, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi) ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Medine GÜLLÜCE'ye (Atatürk Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi) en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bana teknik ve idari yönden her türlü desteği sağlayan Sayın hocam Prof. Dr. Hikmet ÖZBEK'e (Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölüm Başkanı) ve Sayın Doç. Dr. Yunus KARA'ya (Atatürk Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Dekan Yardımcısı ve Oltu Meslek Yüksekokulu Müdürü), sürvey çalışmaları sırasında sürekli yardımlarını gördüğüm başta Sayın Öğr. Gör. A. Kadir IŞIK (Atatürk Üniversitesi, Oltu Meslek Yüksekokulu Öğretim Elemanı), Sayın Arş. Gör. Cafer YAKUPOĞULLARI (Atatürk Üniversitesi, Oltu Meslek Yüksekokulu Öğretim Elemanı) ve Sayın Osman ŞAHİN (Atatürk Üniversitesi, Oltu Meslek Yüksekokulu Sekreteri) olmak üzere tüm Oltu Meslek Yüksekokulu çalışanlarına, örneklerin MIS sisteminde tanımlanmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Laborant Ayşe GÖKÇE'ye (Atatürk Üniversitesi, Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi) ve eğitimimin her aşamasında olağanüstü desteğini gördüğüm aileme, çalışmalarım süresince çok fazla ihmal etmek zorunda kaldığım sevgili eşim Macide ve biricik oğlumuz Onuralp'e sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

Recep KOTAN

Temmuz 2002

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Yumuşak Çekirdekli Meyveler ve Ülkemiz Ekonomisindeki Yeri .....	1
1.2. Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarında Görülen Bakteriyel Hastalıklar.....	4
1.2.1. Ateş yanıklığı ( <i>Erwinia amylovora</i> (Burrill) Bergey et al.) .....	5
1.2.2. Tomurcuk yanıklığı ( <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> van Hall.) .....	7
1.2.3. Acı benek ( <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>papulans</i> (Rose) Dhanvantari) .....	9
1.2.4. Kabuk kavlaması ( <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> van Hall.) .....	11
1.2.5. Kök kanseri ( <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (E. F. Smith & Townsend) Conn) .....	11
1.2.6. Saçak köklülük ( <i>Agrobacterium rhizogenes</i> (Riker et al.) .....	12
1.2.7. Bakteriyel yanıklık ( <i>Erwinia stewarti</i> ) .....	13
1.3. Bitki Patojeni Bakterilerin Tanılanması ve Karakterizasyonu .....	14
1.3.1. Klasik metodlar .....	14
1.3.2. Moleküler metodlar .....	15
1.3.2.1. Serolojik teknikler .....	15
1.3.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) .....	16
1.3.3.3. Mikrobiyal identifikasyon sistem (MIS) .....	17
1.3.3.4. Biolog tanı sistemi .....	18
1.4. Bakteriyel Hastalıklarla Mücadele .....	19
1.4.1. Kimyasal mücadele .....	19
1.4.2. Dayanıklılık .....	19
1.4.3. Kültürel mücadele .....	20
1.4.4. Biyolojik mücadele .....	20

1.4.4.1. Antibiyosis .....	22
1.4.4.2. Rekabet .....	22
1.4.4.3. Hiperparazitizm .....	23
1.4.4.4. Sonradan kazanılmış sistemik dayanıklılık .....	24
1.5. Bakteriyel Hastalıklar ile Mücadelede Erken Tahmin ve Uyarı	
Sistemlerinin Kullanımı .....	27
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>29</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM .....</b>	<b>53</b>
3.1. Materyal .....	53
3.1.1. Kullanılan patojen ve saprofit bakteriler .....	53
3.1.2. Kullanılan test bitkileri .....	53
3.2. Yöntem .....	54
3.2.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması .....	54
3.2.2. Bakteriyel mikroorganizmaların izolasyonu ve muhafazası .....	54
3.2.3. Bakteriyel strainlerin yağ asit profillerinin belirlenmesi ve karakterizasyonu .....	55
3.2.3.1. Tryticase soy broth agar (TSBA)'ın hazırlanması ve tanılanacak bakteri strainlerinin kültüre alınması .....	56
3.2.3.2. Yağ asidi metil esterlerinin saflaştırılması .....	56
3.2.3.3. Örneklerin mikrobiyal identifikasyon sistemi (MIS) ile analiz edilmesi .....	58
3.2.4. Tütünde aşırı duyarlılık (Hiper Sensitivite=HR) testi .....	58
3.2.5. Patojenite testlerinin yapılması .....	58
3.2.6. Potansiyel biyokontrol organizmaların <i>in-vitro</i> 'da patojene karşı test edilmesi .....	60
3.2.7. <i>In-vitro</i> 'da etkili olduğu gözlenen potansiyel biyokontrol organizmaların <i>in-vivo</i> 'da <i>P. s. pv. syringae</i> strain RK-257 ve <i>E. amylovora</i> strain RK-228'e karşı tek tek test edilmesi .....	61
3.2.8. <i>In-vitro</i> 'da etkili olduğu gözlenen potansiyel biyokontrol organizmaların <i>in-vivo</i> 'da <i>P. s. pv. syringae</i> strain RK-257 ve <i>E. amylovora</i> strain RK-228'e karşı kombinasyonlar halinde test edilmesi .....	61
3.2.9. Morfolojik ve biyokimyasal testler .....	62

3.2.9.1. Morfolojik testler .....	62
3.2.9.1.1. Hücre morfolojisi .....	62
3.2.9.1.2. Koloni morfolojisi .....	63
3.2.9.1.3.Hareketlilik testi .....	63
3.2.9.2. Biyokimyasal testler .....	64
3.2.9.2.1. Oksidaz testi .....	64
3.2.9.2.2. Gram reaksiyon testi (Potasyum hidroksil=KOH) .....	64
3.2.9.2.3. Katalaz testi .....	64
3.2.9.2.4. Arginine dehidrolase testi .....	65
3.2.9.2.5. Levan testi .....	65
3.2.9.2.6. Nitrat üretimi testi .....	65
3.2.9.2.7. Fluorescent pigment testi .....	66
3.2.10. Moleküler testler .....	66
3.2.10.1. Genomik DNA saflaştırılması .....	66
3.2.10.2. DNA konsantrasyonlarının ölçülmesi ve çalışma solüsyonlarının hazırlanması .....	68
3.2.10.3. Test strainlerinin 16S-23S rDNA genleri ve intraspacer bölgenin PCR amplifikasyonu .....	69
3.2.10.4. 16S-23S rDNA-PCR ürünü DNA'ların elektroforez jelde yürütülmesi ...	70
3.2.10.5. Test strainlerinin Eric-PCR metoduna göre genetik profillerinin belirlenmesi .....	71
3.2.10.6. Eric PCR ürünü DNA'ların elektroforez jelde yürütülmesi .....	72
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>74</b>
4.1. Sürvey sonuçları .....	74
4.2. Hastalıklı Bitki Örneklerinden İzole Edilen Bakteriyel Strainlerin Yağ Asit Profillerine Göre Tanı Sonuçları .....	76
4.3. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hiper Sensitivite=HR) ve Patojenite Test Sonuçları .....	115
4.4. Potansiyel Biyokontrol Organizmaların Patojen <i>E. amylovora</i> strain RK-228 ve <i>P. s. pv. syringae</i> strain RK-257 'ye karşı <i>In-vitro</i> ve <i>In-vivo</i> Test Sonuçları .....	128

4.5. Patojen ve Etkili Biyoajanların Morfolojik Test Sonuçları .....	142
4.6. Patojen ve Etkili Biyoajanların Biyokimyasal Test Sonuçları .....	142
4.7. 16S-23S rDNA-PCR Amplifikasyon Sonuçları .....	155
4.8. Eric PCR Amplifikasyon Sonuçları .....	159
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR .....</b>	<b>163</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>193</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>215</b>
<b>EK 1 .....</b>	<b>215</b>
<b>EK 2 .....</b>	<b>216</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>217</b>



## SİMGELER DİZİNİ

°C	: Santigrat derece
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
A	: Absorbans
bç	: Baz çifti
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleikasit
g	: Gram
kb	: Kilobaz
L	: Litre
M	: Mol
mA	: Miliamper
MIS	: Mikrobiyal Identifikasyon Sistem
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimol
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
nM	: Nanomol
PCR	: Polimerase Chain Reaction
pM	: Pikomol
rDNA	: Ribozomal DNA
RNA	: Ribonükleikasit
s	: Saniye
sa	: Saat
sH <sub>2</sub> O	: Steril su
dH <sub>2</sub> O	: Distil su
sdH <sub>2</sub> O	: Steril ve distil su
sddH <sub>2</sub> O	: Steril, distil ve deiyonize su

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Ateş yanıklığı ( <i>Erwinia amylovora</i> )'nın elma ağacındaki genel görünümü .....	75
Şekil 4.2. Ateş yanıklığı ( <i>Erwinia amylovora</i> )'nın elma sürgünündeki semptomu .....	75
Şekil 4.3. Ateş yanıklığı ( <i>Erwinia amylovora</i> )'nın armut meyvesindeki semptomu .....	75
Şekil 4.4. Ateş yanıklığı ( <i>Erwinia amylovora</i> )'nın armut sürgünündeki semptomu .....	75
Şekil 4.5. Aşırı duyarlılık (HR) testi sonucu. A <sub>1</sub> : <i>Erwinia amylovora</i> strain RK-228 ve A <sub>2</sub> : <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> strain RK-257 (HR + = pozitif), B <sub>1</sub> : <i>Pantoea agglomerans</i> strain RK-79 ve B <sub>2</sub> : Negatif kontrol sdH <sub>2</sub> O (HR - =negatif) .....	117
Şekil 4.6. Golden elma çeşidi sürgünlerinde yapılan patojenite test sonucu. A: kontrol (sdH <sub>2</sub> O), B: <i>Erwinia amylovora</i> strain RK-228, C: <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> strain RK-257 .....	117
Şekil 4.7. Golden elma çeşidi sürgün kesitlerinde yapılan patojenite test sonucu. A: <i>Alcaligenes piechaudii</i> (RK-155), B: Kontrol (sdH <sub>2</sub> O), C: <i>Pantoea agglomerans</i> (RK-86), D: <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B (RK-194), E: <i>Erwinia amylovora</i> (RK-228), F: <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> (RK-257) ve G: <i>Bacillus pumilus</i> (RK-106) .....	118
Şekil 4.8. <i>Serratia liquefaciens</i> RK-98'in <i>Erwinia amylovora</i> strain RK-228'e karşı <i>in-vitro</i> 'da etkisizliği .....	130
Şekil 4.9. <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A strain RK-240'ın <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> strain RK-257'e karşı <i>in-vitro</i> 'da antibiyotik etkisi .....	130
Şekil 4.10. <i>Pantoea agglomerans</i> strain RK-160'ın <i>Erwinia amylovora</i> strain RK-228'e karşı <i>in-vitro</i> 'da hiperparazitik etkisi .....	130
Şekil 4.11. Etkili potansiyel biyoajanların <i>in-vivo</i> test sonuçları: A: Etkili biyoajan ( <i>Pantoea agglomerans</i> strain RK-86+ <i>Erwinia amylovora</i> strain RK-228), B: ( <i>Pantoea agglomerans</i> strain RK-86+ <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> strain RK-257), C: Negatif kontrol (sdH <sub>2</sub> O), D: Pozitif kontrol ( <i>Erwinia amylovora</i> strain RK-228),E: Pozitif kontrol ( <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> strain RK-257) .....	131
Şekil 4.12. Etkisiz potansiyel biyoajanların <i>in-vivo</i> test sonuçları: A: Etkisiz biyoajan ( <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> strain RK-7+ <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> strain RK-257), B: Negatif kontrol (sdH <sub>2</sub> O), C: Etkisiz biyoajan ( <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B strain RK-194+ <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> strain RK-257), D: Pozitif kontrol ( <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> strain RK-257) .....	131
Şekil 4.13. Potansiyel biyoajanların sürgün kesitindeki <i>in-vivo</i> test sonuçları: A: Negatif kontrol (sdH <sub>2</sub> O), B: Pozitif kontrol ( <i>Erwinia amylovora</i> strain RK-228), C: (RK-105, RK-103, RK-114, RK-164, RK-79 ve	



- RK-142 kombinasyonu+ *Erwinia amylovora* strain RK-228),  
D: (*Pantoea agglomerans* strain RK-86+ *Erwinia amylovora* strain  
RK-228), E: (*Pantoea agglomerans* strain RK-44+ *Erwinia  
amylovora* strain RK-228) ve F: (*Pantoea agglomerans* strain  
RK-44+ *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257) .....132
- Şekil 4.14. Etkili potansiyel biyoajanların kombinasyonunun (RK-105,  
RK-103, RK-114, RK-164, RK-79 ve RK-142) *in-vivo*'da kontrole  
göre (A) *Erwinia amylovora* strain RK-228 (B) ve *Pseudomonas  
syringae* pv. *syringae* strain RK-257 (C)'ye etkinliği .....132
- Şekil 4.15. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin  
NAS (Nutrient Agar+%5 Sukroz)'daki levan koloni yapısı .....144
- Şekil 4.16. *Erwinia amylovora* ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*  
dışındaki bakterilerin NAS (Nutrient Agar+%5 Sukroz)'daki koloni  
yapısı .....144
- Şekil 4.17. Arginin testi; A: Arginin + (pozitif), B: Kontrol, C: Arginin –  
(negatif) .....144
- Şekil 4.18. Nitrat Testi; A: Nitrat + (pozitif), B: Kontrol, C: Nitrat – (negatif) .....144
- Şekil 4.19. King's B (KB) besiyerinde pigment üretimi testi. *Erwinia amylovora*  
strain RK-228, KB– (negatif) .....145
- Şekil 4.20. King's B (KB) besiyerinde pigment üretimi testi. *Pseudomonas  
syringae* pv. *syringae* strain RK-257, KB + (pozitif) .....145
- Şekil 4.21. Etkili biyoajanların King's B (KB) besiyerinde pigment üretimi  
testi. A: *Pseudomonas fluorescens* RK-165, KB + (pozitif),  
B: *Erwinia rhapontici* RK-135, KB– (negatif) .....145
- Şekil 4.22. HR ve patojenite pozitif bütün farklı türlerin 16S-23S rDNA-PCR  
elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *Alcaligenes piechaudii* (RK-  
155), 2. hat: *Bacillus pumilus* (RK-106), 3. hat: *Chromobacterium  
violaceum* (RK-231), 4. hat: *Enterobacter intermedius* (RK-90),  
5. hat: *Erwinia amylovora* (RK-228), 6. hat: *Erwinia rhapontici*  
(RK-219), 7. hat: *Pantoea agglomerans* (RK-87), 8. hat:  
*Pseudomonas aeruginosa* (RK-168), 9. hat: *Pseudomonas cichorii*  
(RK-166), 10. hat: *Pseudomonas huttiensis* (RK-260), 11. hat:  
*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (RK-257), 12. hat: *Pseudomonas  
putida* (RK-28) ve K: Kontrol (-) .....157
- Şekil 4.23. Farklı bölge ve konukçulardan izole edilen *Erwinia amylovora*,  
*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Erwinia rhapontici* ve  
*Pseudomonas huttiensis* strainlerinin 16S-23S rDNA-PCR  
elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *E. amylovora* strain RK-5,  
2. hat: RK-214, 3. hat: RK-271, 4. hat: RK-9, 5. hat: RK-291, 6. hat:  
RK-226, 7. hat: RK-268, 8. hat: *P. s.* pv. *syringae* RK-14, 9. hat: RK-47,  
10. hat: RK-257, 11. hat: RK-321, 12. hat: *E. rhapontici* strain RK-219,  
13. hat: *P. huttiensis* strain RK-260 ve K: Kontrol (-) .....157
- Şekil 4.24. Aynı bölge ve konukçu, farklı bölge ve konukçulardan izole  
edilen *Erwinia amylovora* strainlerinin 16S-23S rDNA-PCR  
elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *E. amylovora* strain RK-9,  
2. hat: RK-18, 3. hat: RK-19, 4. hat: RK-225, 5. hat: RK-291, 6. hat:  
RK-312, 7. hat: RK-217, 8. hat: RK-270, 9. hat: RK-268, 10. hat:



- RK-232, 11. hat: RK-218, 12. hat: RK-216, 13. hat: RK-271 ve  
K: Kontrol (-) ..... 158
- Şekil 4.25. Aynı bölge ve konukçu, farklı bölge ve konukçulardan izole edilen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strainlerinin 16S-23S rDNA-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *P. s.* pv. *syringae* strain RK-21, 2. hat: RK-53, 3. hat: RK-258, 4. hat: RK-318, 5. hat: RK-316, 6. hat: RK-318, 7. hat: RK-319, 8. hat: RK-47, 9. hat: RK-264, 10. hat: RK-265, 11. hat: RK-266, 12. hat: RK-14, 13. hat: RK-204 ve  
K: Kontrol (-) ..... 158
- Şekil 4.26. HR ve patojenite pozitif bütün farklı türlerin Eric-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *Alcaligenes piechaudii* (RK-155), 2. hat: *Bacillus pumilus* (RK-106), 3. hat: *Chromobacterium violaceum* (RK-231), 4. hat: *Enterobacter intermedius* (RK-90), 5. hat: *Erwinia amylovora* (RK-228), 6. hat: *Erwinia rhapontici* (RK-219), 7. hat: *Pantoea agglomerans* (RK-87), 8. hat: *Pseudomonas aeruginosa* (RK-168), 9. hat: *Pseudomonas cichorii* (RK-166), 10. hat: *Pseudomonas huttiensis* (RK-260), 11. hat: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (RK-257), 12. hat: *Pseudomonas putida* (RK-28) ve K: Kontrol (-)..... 161
- Şekil 4.27. Aynı bölge ve konukçu, farklı bölge ve konukçulardan izole edilen *Erwinia rhapontici*-*Erwinia amylovora* ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*-*Pseudomonas huttiensis* strainlerinin Eric-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *E. rhapontici* strain RK-189, 2. hat: RK-208, 3. hat: RK-219, 4. hat: RK-227, 5. hat: RK-234, 6. hat: RK-243, 7. hat: *E. amylovora* strain RK-228, 8. hat: *P. s.* pv. *syringae* strain RK-257, 9. hat: *P. huttiensis* strain RK-260, 10. hat: RK-261, 11. hat: RK-262 ve K: Kontrol(-) ..... 161
- Şekil 4.28. Aynı bölge ve konukçu, farklı bölge ve konukçulardan izole edilen *Erwinia amylovora* strainlerinin Eric-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *E. amylovora* strain RK-9, 2. hat: RK-18, 3. hat: RK-19, 4. hat: RK-225, 5. hat: RK-291, 6. hat: RK-312, 7. hat: RK-217, 8. hat: RK-270, 9. hat: RK-268, 10. hat: RK-232, 11. hat: RK-218, 12. hat: RK-216, 13. hat: RK-271 ve K: Kontrol (-) ..... 162
- Şekil 4.29. Farklı bölge ve konukçulardan izole edilen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strainlerinin Eric-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *P. s.* pv. *syringae* strain RK-21, 2. hat: RK-53, 3. hat: RK-258, 4. hat: RK-318, 5. hat: RK-316, 6. hat: RK-318, 7. hat: RK-319, 8. hat: RK-47, 9. hat: RK-264, 10. hat: RK-265, 11. hat: RK-266, 12. hat: RK-14, 13. hat: RK-204 ve K: Kontrol (-) ..... 162

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünya, Türkiye ve Doğu Anadolu'daki bazı illerde toplam meyve ve yumuşak çekirdekli meyve üretim değerleri ve ağaç sayıları (Anonymous 1996, Anonymous 2001a, Anonymous 2001b) .....	2
Çizelge 4.1. Bakteriyel strainlerin yağ asitlerine göre (MIS) tanı sonuçları .....	78
Çizelge 4.2. İzole edilen bakteri türlerinin konukçu ve yerlere göre dağılımı.....	90
Çizelge 4.3. Patojen bakterilerin içerdikleri yağ asidi çeşidi ve yüzde oranları .....	95
Çizelge 4.4. Patojen bakterilerin içerdikleri yağ asidi çeşitlerinin aritmetik ortalaması ve standart sapması .....	111
Çizelge 4.5. Bakteriyel strainlerin aşırı duyarlılık ve patojenite testi sonucu .....	119
Çizelge 4.6. Patojen oldukları belirlenen bakteri türlerinin konukçu ve yerlere göre dağılımı .....	127
Çizelge 4.7. İzole edilen potansiyel biyolojik ajan bakteriyel türlerin <i>Erwinia amylovora</i> strain RK-228 ve <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> strain RK- 257 'ye karşı <i>in-vitro</i> ve <i>in-vivo</i> testlere göre antagonistik etkinlikleri ....	133
Çizelge 4.8. <i>In-vitro</i> 'da etkili potansiyel biyoajanların değişik kombinasyonlar halinde <i>Erwinia amylovora</i> RK-228 ve <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> RK- 257 'ye karşı <i>in-vivo</i> 'daki etkinliği .....	142
Çizelge 4.9. Aşırı duyarlılık ve patojenite testleri sonucunda patojen oldukları tespit edilen bakteriyel strainlerin biyokimyasal ve morfolojik test sonuçları .....	146
Çizelge 4.10. <i>In-vitro</i> 'da ve/veya <i>iv-vivo</i> 'da etkili oldukları saptanan potansiyel biyoajanların biyokimyasal ve morfolojik test sonuçları .....	152

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Yumuşak Çekirdekli Meyveler ve Ülkemiz Ekonomisindeki Yeri

Yumuşak çekirdekli meyveler grubunda yer alan; elma (*Malus communis* L.), armut (*Pyrus communis* L.), ahlat (*Pyrus pyrifolia* Burm.) Nakai), ayva (*Cydonia oblonga* Mill.), muşmula (*Mespilus germanica* L.) ve yenidoğya (*Eriobotrya japonica* L.), dünyada sıcak iklim şartlarının hakim olduğu bölgelerde yetiştirilen çok yıllık bitkilerdir (Lamey and Stack 1993). Sofralık, konserve, meyve suyu, reçel, marmelat, turşu ve endüstriyel alanda çeşitli amaçlarla kullanılan bu meyveler ülkemizde de yaygın olarak yetiştirilmektedirler.

Toplam meyve üretimi, yumuşak çekirdekli meyve üretimi ve ağaç sayıları ile ilgili istatistiki bilgiler çizelge 1.1'de verilmiştir. Dünyada toplam meyve üretimi 432.296.000 ton olup, Türkiye bu üretimde 13.933.034 ton ile küçümsenemeyecek bir öneme sahiptir (Anonymous 2001a,b). Dünyada yumuşak çekirdekli meyve üretim değeri 76.365.107 ton olup bunun 2.921.500 tonu Türkiye'de üretilmektedir. Türkiye, toplam yumuşak çekirdekli meyve üretiminin 2.450.000 tonunu elma, 360.000 tonunu armut, 95.000 tonunu ayva, 11.500 tonunu yenidoğya, 5.000 tonunu muşmula ve diğerleri oluşturmaktadır (Anonymous 2001b). Doğu Anadolu Bölgesi'nde yer yer meyvecilik yapılan önemli tarım alanları mevcut olup 1996 verilerine göre 2.060.733.722 ton olan Türkiye bitkisel üretim değeri içerisindeki bu bölgenin payı 77.080.873 ton ile küçümsenemeyecek bir yerdedir (Anonymous 1996). Bu bölgede özellikle Ardahan, Artvin, Erzincan, Erzurum, Iğdır ve Kars'taki bazı mikro klima alanlarında ekonomik anlamda meyvecilik yapılmaktadır. Bu alanlarda yapılan yumuşak çekirdekli meyve üretim değerleri incelenecek olursa özellikle elma ve armut üretiminde bu bölgelerin önemli bir potansiyelinin olduğu görülmektedir (çizelge 1.1). Türkiye'de toplam meyve ağacı sayısı 593.804.700 olup, bunun 55.549.300'ünü yumuşak çekirdekli meyveler oluşturmaktadır. Ancak, bu değerin 46.856.000'ünü meyve veren 8.693.300'sını ise meyve vermeyen yumuşak çekirdekli oluşturmaktadır (çizelge 1.1) (Anonymous 2001a,b).

**Çizelge 1.1. Dünya, Türkiye ve Doğu Anadolu'daki bazı illerde toplam meyve ve yumuşak çekirdekli meyve üretim değerleri ve ağaç sayıları (Anonymous 1996, Anonymous 2001a, Anonymous 2001b)**

TOPLAM ÜRETİM (TON) VE AĞAÇ SAYILARI	DÜNYA	TÜRKİYE	%	ARDAHAN	ARTVİN	ERZİNCAN	ERZURUM	İĞDIR	KARS
Meyve üretimi	432.296.000	13.933.034	32	2.483	115.564	60.808	16.546	20.016	7.928
Yumuşak çekirdekli meyve üretimi	76.365.107	2.921.500	3.8	2.090	10.081	22.264	8.039	5.632	2.186
Armut Üretimi	15.311.675	360.000	2.3	1.172	3.165	9.344	1.782	527	400
Ayva üretimi	364.050	95.000	26	19	765	240	503	-	24
Elma üretimi	56.975.313	2.450.000	4.3	899	6.108	12.680	5.585	5.105	1.762
Muşmula üretimi	?	5.000	?	-	36	-	169	-	-
Yenidünya üretimi	?	11.500	?	-	7	-	-	-	-
Meyve ağacı sayısı	?	593.804.700	?	112.975	3.819.888	2.225.966	569.317	263.706	194.164
Yumuşak çekirdekli meyve ağacı sayısı	?	55.549.300	?	68.225	451.860	715.521	264.396	58.956	63.345
Meyve veren ağaç sayısı	?	46.856.000	?	43.970	357.573	548.293	215.056	45.370	51.291
Meyve vermeyen ağaç sayısı	?	8.693.300	?	24.255	94.287	167.228	49.340	13.586	12.054

Günümüzde tarım ürünlerinde görülen verim ve kalite kayıplarının en önemli sebeplerinden birisi bitki hastalıklarıdır. Kötü çevre koşulları (don, dolu, rüzgar, kuraklık vs.) ve/veya patojenik mikroorganizmaların (fungus, bakteri, virüs, viroid, fitoplazma vs.) saldırısına maruz kalan bitkilerin normal hayatsal faaliyetlerindeki bozulma ve buna bağlı olarak meydana gelen, doğrudan veya dolaylı zararlanmalar bitki hastalığı olarak tanımlanmaktadır. Food and Agriculture Organization (FAO) tarafından yayınlanan 1993 yılı istatistiklerine göre, her yıl dünya tarım ürünlerinin en az %12'lik bir bölümü (tarla ve depo şartlarında) patojen mikroorganizmaların neden olduğu bitki hastalıklarından dolayı kaybedilmekte; bu oran az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde daha da fazla olmaktadır (Anonymous 1993). Yapılan araştırmalar, bitki hastalıklarına %60-75 oranında fungus ve bakteriler, %10-15 oranında virüs ve viroidler, %10 oranında ise diğer patojenler ve çevresel faktörlerin sebep olduğunu göstermektedir (Agrios 1997). 1996 yılı istatistiklerine göre 432.296.000 ton olan toplam dünya meyve üretimindeki hastalık, böcek ve yabancı otlardan dolayı meydana gelen kayıp 113 milyon ton olup, bu kayıplar içerisinde hastalıklar 61 milyon ton kayıpla önemli bir yere sahiptir (Agrios 1997). Yine aynı araştırmacıya göre meyve üretiminde hastalıklardan dolayı %12.6, böceklerden dolayı %7.8 ve yabancı otlardan dolayı ise %3.0 olmak üzere toplam %23.4 oranında bir kayıp söz konusudur. Yumuşak çekirdekli meyvelerde görülen en önemli bakteriyel hastalıklardan kabul edilen ateş yanıklığı hastalığının şiddetli enfeksiyon yaptığı durumlarda, armut üretiminde %50, elma üretiminde ise %20'lere varan kayıplara sebep olduğu belirtilmektedir (Anonymous 2000a).

Yumuşak çekirdekli meyvelerde de; biyotik etmenlerin (böcekler, funguslar, bakteriler, virüsler, nematotlar, mikoplazmalar vs.) ve abiyotik faktörlerin (sıcaklık, nem, besin elementleri, toprak şartları, don, dolu, rüzgar, kuraklık vs.) sebep olduğu birçok hastalık ve zarar söz konusudur (Jones and Aldwinckle 1991, Lamey and Stack 1993, Anonymous 2001c). Hastalık düzeyi konukçunun duyarlılığı, patojenin saldırganlığı ve çevre şartlarına bağlı olarak değişmektedir. Ancak, kültürel uygulamalar, genetik tolerans, ağacın olgunluğu, stres şartları, ekim sıklığı, dormansi periyodu hastalıkların epidemiyolojisinde anahtar rol oynayan diğer faktörlerdir (Goldberg 2000). Bütün

bu faktörlere bağlı olarak bitkinin kök, kök boğazı, gövde, ana dallar ve yan dallar, sürgün, yaprak, tomurcuk ve meyvelerinde zararlanmalar ve verim kaybı olmaktadır.

Ülkemizde yumuşak çekirdekli meyvelerde görülen bakteriyel hastalıkların belirlenmesine yönelik birçok çalışma yapılmıştır (Momol 1990, Momol vd 1991, Demir ve Gündoğdu 1991, Momol *et al.* 1992, Momol and Yeğen 1993, Turan ve Tokgönül 1993, Anonymous 1994, Tokgönül ve ınar 1991, Maden vd 1995, Mirik 2000). Ancak, ekonomik öneme sahip bazı meyvelerin yetiştirildiği Doğu Anadolu Bölgesi'nde görülen bakteriyel hastalıkların belirlenmesine yönelik herhangi bir çalışma yapılmadığı dikkati çekmektedir. Bu alışma ile, Doğu Anadolu Bölgesi'nde ekonomik anlamda yetiştiriciliği yapılan meyve bahçelerinde;

- 1) Yumuşak çekirdekli meyve ağaçları üzerinde epifitik ve endofitik olarak bulunan patojenik veya saprofitik bakteriyel organizmaların izolasyonu,
- 2) Klasik metodlara ilaveten moleküler yöntemler kullanılarak izolasyonu yapılan organizmaların tanısı,
- 3) Bu patojenlere karşı biyolojik mücadelede kullanılabilir biyolojik ajanların belirlenmesi,
- 4) Bölgede ekonomik zarara neden olan hastalık etmeni bakterilerin populasyon karakterlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## **1.2. Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarında Görülen Bakteriyel Hastalıklar:**

Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında yaygın olarak görülen en önemli bakteriyel hastalıklar; bakteriyel ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* (Burrill) Bergey *et al.*), bakteriyel acı benek (*Pseudomonas syringae* pv. *papulans* (Rose) Dhanvantari), bakteriyel tomurcuk yanıklığı ve kabuk kavlaması (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall.), kök kanseri (*Agrobacterium tumefaciens* (E. F. Smith & Townsend) Conn), saçak kök (*Agrobacterium rhizogenes* (Riker *et al.*)), bakteriyel dal yanıklığı (*Erwinia stewartii*)'dır (Jones and Aldwinckle 1991).



### 1.2.1. Ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* (Burrill) Bergey *et al.*)

*E. amylovora*'nın sebep olduğu ateş yanıklığı hastalığı, bakteriyel bir etmen tarafından meydana getirildiği saptanan ilk bitki hastalığıdır (Smith 1920, Beer and Opgenorth 1976). Bu bakterinin, Rosaceae familyasına ait 39 farklı cins ve 128 türe ait bitkilerde hastalık yaptığı belirtilmektedir (Beer and Opgenorth 1976). Elma, armut ve ayva başta olmak üzere yenedünya, muşmula gibi birçok yumuşak çekirdekli meyve ağaçları dışında, dağ muşmulası, ateş dikenini, üvez ve birçok süs bitkisi ile orman florasının da bu patojenin konukçuları arasında olduğu bilinmektedir (Van der Zwet and Keil 1979, Van der Zwet *et al.* 1988, Collman 2000). *E. amylovora*; Enterobacteriaceae familyasında, gram negatif, fakültatif anaerobik, sukroz içeren besi ortamlarında yayvan koloniler oluşturan, birçok şeker, organik asit ve şeker alkollerini karbon kaynağı olarak kullanabilen ancak, büyüme faktörü olarak nitrojen ve nikotinic asitlerin amino kaynaklarına ihtiyaç duyan, optimum gelişme sıcaklığının 27°C, peritrik kamçılı ile hareket edebilen ve çubuk şeklinde bir bakteridir (Agrios 1997).

Hastalığın belirtileri Van der Zwet ve Keil (1979)'de şöyle özetlenmektedir: Hastalık, ismini yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarının üzerindeki hastalıklı dokulara (çiçek, yaprak, sürgün, dal ve gövdeler) ateşten yanmış gibi bir görünüm veren belirtiler almaktadır. Hastalığın ilk belirtileri ilkbaharda çiçek demetlerinde ve taze sürgünlerde görülür. Hastalıklı çiçek ve sürgünler önce solgunlaşarak, sıcak suda haşlanmış gibi bir görünüm alır. Sonra kahverengileşerek zamanla siyahlaşmaktadırlar. Enfeksiyonlar floem dokusundan yayılır ve şartlar uygun olduğu takdirde genç sürgünlerde hastalığın ilerleme hızı bir günde 10-20 cm'yi bulur. Siyahlaşan sürgünlerin uç kısmından geriye doğru kıvrılma görülmekte ve hastalığın ağaçta yayılma şekli geriye doğru ölüm şeklinde olmaktadır. Yapraktaki ilk belirtiler ise, ana damardaki siyahlaşma ve solgunluktur. Şiddetli enfeksiyonlarda bu yapraklar kahverengileşerek ve siyahlaşarak dallar üzerinde asılı kalmaktadır. Dal ve gövdede kahverengileşerek içeri doğru çöken belirtiler kanser olarak adlandırılmaktadır. Nemli havalarda, kanserli dokuların yüzeyinde krem renkli bakteriyel akıntı olmakta ve bu akıntular kurduğunda kahverengileşip yapışkan bir görünüm almaktadır ki bu da hastalığın bir başka tipik

belirtisi olarak ortaya çıkmaktadır. Patojen, bütün konukçularda benzer semptomlara sebep olmakta ancak, en ağır enfeksiyonlar armutlarda görülmektedir. Hastalık etmeni, kışı bir önceki yıldan kalan dal ve gövdelerdeki kanserli dokuların kenarlarındaki kabuk dokusu içinde geçirmektedir (Van der Zwet and Keil 1979). İlkbaharda sıcakların yükselmesi ile kanserli dokuların etrafında çoğalan bakteriler, böcek, rüzgar ve yağmurların yardımıyla yeni oluşan çiçek ve sürgünlere taşınmakta ve ilk enfeksiyonların başladığı belirtilmektedir (Momol 1990). Çiçeklenme döneminde yüksek rutubet ve 18-24°C sıcaklık ilk dönem enfeksiyonlar için ideal şartlar olup hastalığın meydana getirdiği enfeksiyonlar içinde en yaygını da çiçek enfeksiyonları olmaktadır (Benlioğlu ve Özakman 1992). Primer enfeksiyonlardan sonra hastalık, iletim demetleri kanalı ile ağaçta dallara doğru ilerlemekte ve sekonder enfeksiyonları başlatmaktadır. *E. amylovora*'nın birkaç hücresinin vascular sistemden giriş yapmasının sistemik enfeksiyon için yeterli olabileceği belirtilmektedir (Crosse *et al.* 1972). Sekonder enfeksiyonlar sezon boyunca devam edebilmekte ve sürgünlerde, yapraklarda, meyvelerde veya dallarda oluşan bakteriyel eksudat (akıntı) ve iplikçikler önemli inokulum kaynağını teşkil etmektedirler (Momol 1990). Yaralanmış dokuların bakteri için uygun giriş noktaları olduğu vurgulanmaktadır (Van der Zwet and Keil 1979). Ayrıca, yıl içerisindeki hastalıklı dokular yüzeyinde oluşan bakteriyel akıntılar yağmur, rüzgar, böcekler, kuşlar ve budama ile yeni bitkilere taşınarak sekonder enfeksiyonları oluşturmaktadır (Öktem ve Benlioğlu 1988a, Momol vd. 1991). Enfeksiyonlar sonbahar sonlarında iyice yavaşlar, patojen kışın lokalize olur ancak, ilkbaharda tekrar aktif hale geçer (Benlioğlu ve Özakman 1992). Bakteri hücrelerinin Rosaceae familyası içinde yer alan bu konukçu bitkilerde epifitik olarak bulunduğu ve epifitik populasyonların ise ilkbaharda meydana gelecek olan enfeksiyonlar için önemli inokulum kaynağı oluşturdukları kaydedilmektedir (Van der Zwet and Keil 1979, Van der Zwet *et al.* 1988).

Hastalığın yayılmasında özellikle bal arılarının büyük rol oynadığı, afitler ve armut psylla'sı gibi sokucu-emici ağız yapısına sahip böceklerin etmeni taşımakla kalmayıp, aynı zamanda dokuya girişi için de yara açtıkları ve patojen için giriş delikleri oluşturdukları kaydedilmektedir (Van der Zwet *et al.* 1988). Patojen bakterinin bitkilere



girişini doğal açıklıklardan (lentisel ve stomalar) olmasına rağmen, sürgün ve dallardaki enfeksiyonlar genellikle yaralardan olmaktadır (Öktem ve Benlioğlu 1988b, Momol 1990). Yapılan bir çalışmada patojenin çiçeklerde kolonize olduğu ve stigmalar üzerinde predominant bir şekilde bulunduğu, yağmurlarla stigmalara ve diğer çiçek kısımlarına taşındığı ve burada enfeksiyonun gerçekleştiği, özellikle %20-30'dan daha düşük nemli şartlarda bakteri popülasyonunun azaldığı tespit edilmiştir (Thomson 1986).

Ateş yanıklığı hastalığı; Avrupa'da ilk defa 1957 yılında İngiltere'de görülmüş ve çok kısa sürede Avrupa'ya yayılmıştır (Van der Zwet and Keil 1979). Van der Zwet and Keil (1979)'e göre; bu hastalık dünyada yer yer önemli zararlara neden olmuş, Kuzey Amerika'da ilk görüldüğü yıllarda İllinois elma endüstrisine büyük zarar vermiş, Kaliforniya'nın Kings bölgesinde 1902'de 43.700 armut ağacı sayısı 1904'de sıfıra inmiştir. Doğu Akdeniz'de 1982'de Mısır'ın Nil deltasında armutlarda şiddetli bir ateş yanıklığı epidemisi ortaya çıkmış 1984'de Kıbrıs'ta kayıt edilmiş, 1985 yılında ise İsrail'de görülmüştür (Beer *et al.* 1986). Hastalığın Türkiye'de ilk kez 1985 yılında Orta Anadolu bölgesinde, Afyon ili Suntandağ İlçesi'nde armut ağaçlarında gözlemlendiği bildirilmektedir (Öktem and Benlioğlu 1988a). Ülkemizde yapılan birçok çalışmalar sonucunda bu hastalığın yumuşak çekirdekli meyve yetiştiriciliği yapılan hemen her bahçede bulunduğu ve en önemli bakteriyel hastalık olduğu 1985'de başlayan epideminin günümüzde önemli boyutlara ulaştığı belirtilmektedir (Momol 1990, Momol vd. 1991, Demir ve Gündoğdu 1991, Tokgönül 1991, Turan ve Tokgönül 1993, Anonymous 1994, Mirik 2000).

### 1.2.2. Tomurcuk yanıklığı (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall.)

*P. s. pv. syringae*'nin sebep olduğu tomurcuk yanıklığı hastalığının sert ve yumuşak çekirdekli meyvelerle birlikte sebze ve birçok tarla bitkisi türlerinde patojen olarak bulunduğu ve geniş bir konukçu dizisine sahip olduğu vurgulanmaktadır (Jones *et al.* 1981, Canfield *et al.* 1986, Romantschuk and Bamford 1986). Ancak, *P. syringae*

strainlerinin konukçu spesifik hastalıklara neden olduğu bu nedenle farklı bitki türleri üzerinde hastalık oluşturan *P. s. pv. syringae* strainleri arasında patojenite özelliklerinin farklı olduğu bilinmektedir (Endert and Ritchie 1984). Bu patojenin İtalya'da Latium Bölgesi'nin kuzeyindeki geniş bir alanda kivi (*Actinidia deliciosa* A. Chev) meyve ağaçlarında da çiçek tomurcukları üzerinde kahverengi ve koyu nekrotik lekelerle sebep olduğu tespit edilmiştir (Balestra and Varvaro 1997). *P. s. pv. syringae*, Enterobacteriaceae familyasında, gram negatif, oksidaz negatif, aerobik, sukroz içeren besi ortamlarında yayvan koloniler oluşturan, demir içermeyen besi ortamlarında floresant pigment üreten, çoğu strainleri buz nükleasyon pozitif, jelatini 3 gün içinde hidrolize edebilen, polar kamçıları ile hareket edebilen ve çubuk şeklinde bir bakteridir (Agrios 1997).

Hastalık belirtileri Jones ve Aldwinckle (1991)'de şöyle özetlenmiştir. Enfekte olmuş armut tomurcuklarının petal ve sepal yaprakları üzerinde patlama ve pörsümler gözlenmekte, iklim koşulları uygun olursa hastalık yayılmasını devam ettirmekte, çiçek ve çiçek sapının önce kahverengi bir renk almasına, daha sonraki dönemlerde ise siyahlaşmasına neden olmaktadır. Genç sürgünlerin ucunda kuruyan bu tomurcuk ve yaprakların ağaç üzerinde asılı kalması ise tipik bir hastalık belirtisidir. Hastalığın ileri dönemlerinde meyvedeki belirtilerini görmek mümkün olup meyvede oluşan nekrotik lezyonlar zamanla tüm meyveyi kaplamakta, hatta meyve sapını da içine alan bir siyahlaşma oluşmaktadır. Olgunlaşmamış meyvelerde meyve dökülmesine sebep olmakta, yapraklarda da nadir olmakla birlikte nekrotik lekeler şeklinde hastalığın belirtileri kendini göstermektedir.

Patojen kışı, tomurcuk ve yaprak yaralarında geçirmekte, erken ilkbaharda yaprak ve çiçeklerdeki kolonizasyon için buralar inokulum kaynağı oluşturmakta, patojen yağmur, sulama suyu ve böceklerle taşınarak kutikuladaki mikroskobik yaralar ve doğal açıklıklardan penetrasyon yapmaktadır (Doidge 1917, Panagopoulos and Crosse 1964, Mansvelt and Hattingh 1989, Hattingh *et al.* 1989). Patojen rüzgar, yağmur ve böcekler yardımıyla daldan dala hatta ağaçtan ağaca taşınmakta, bu hastalıkla enfekteli bitkilerde

diğer bakteriyel bitki hastalıklarından dolayı oluşan kabuk kavlaması gelişimi teşvik edilmektedir (Mansvelt and Hattingh 1986ab).

Hattingh *et al.* (1989), bu patojenin, zayıf bir patojen olarak sadece konukçunun stres şartlarında bulunduğu zaman hastalığa sebep olduğu, konukçu bitki dokusu üzerinde epifitik olarak kolonize olduğu ve konukçu bitkiler arasında sistemik olarak yayıldığını belirtmektedirler. Yapılan elektron mikroskopu çalışmalarında, patojenin yaprak dokusuna başta stoma olmak üzere diğer doğal açıklıkları da kullanarak girdiği, patojenin yaprak ve tomurcuklarda kolonize olduğu, patojen olmayan strainlerin ise tomurcuklarda kolonize olmayı başaramadığı tespit edilmiştir (Mansvelt and Hattingh 1989). Ilık ve kuru havaların hastalığın gelişimini sınırladığı, patojenin enfeksiyon yapabilmesi için düşük sıcaklık ve nemin gerekli olduğu bildirilmektedir (Teviotdale and Gubler 2000).

Tomurcuk yanıklığı hastalığı; ilk olarak 1914 yılında İngiltere’de Barker ve Grove (1914) tarafından armutlarda tespit edilmiş olup, günümüzde armut yetiştiriciliği yapılan birçok bölgeye yayıldığı tahmin edilmektedir (Jones and Aldwinckle, 1991). Montesinos ve Vilar dell (1990)’e göre bu hastalık İngiltere’ye ilave olarak İspanya, İtalya, Yunanistan, Fransa, Yeni Zelanda, Güney Afrika, Şili, Kanada ve Amerika Birleşik Devletleri’nde de kayıt edilmiştir. Daha çok Malling 9 (*Malus domestica* Borkh)’un anaç olarak kullanıldığı elmalarda şiddetli zarara sebep olan bu hastalığın 1987 ve 1988 yıllarında British Kolombiya ve Fraser Valley’de ağaçlarda %60’lara varan ölümlere sebep olduğu belirtilmektedir (Jones and Aldwinckle 1991). Türkiye’de ise bu hastalıkla ilgili herhangi bir kayıt bulunmamaktadır.

### 1.2.3. Acı benek (*Pseudomonas syringae* pv. *papulans* (Rose) Dhanvantari)

*P. s.* pv. *papulans*’ın sebep olduğu acı benek hastalığı; daha çok elmalarda problemlere neden olmakta ve 25 elma varyetesinin bu patojene karşı hassas olduğu belirtilmektedir (Jones and Aldwinckle, 1991). *P. s.* pv. *papulans*; Enterobacteriaceae familyasında,

gram negatif, oksidaz negatif, aerobik, sukroz içeren besi ortamlarında yayvan koloniler oluşturmayan, demir içermeyen besi ortamlarında floresant pigment üreten, çoğu strainleri buz nükleasyon aktif, polar kamçıları ile hareket edebilen ve çubuk şeklinde bir bakteridir (Agris 1997).

Jones ve Aldwinckle (1991) tarafından hastalığın simptomları şöyle özetlenmiştir. Haziranın başlarında meyve yüzeyindeki su emmiş şeklinde görülen küçük yeşil lekeler, zamanla gelişerek özellikle hasada yakın bir dönemde çok sayıda, çapı 1-5 mm'yi bulan yüzeysel lezyonlara dönüşmekte, lekelerin çoğunluğu düzenli bir şekilde olup tek bir meyve üzerinde 100'e yakın leke görülebilmektedir. Patojen odun dokusu üzerindeki kanser tipi hastalıkları teşvik edebilmekte olup, meyveler stoma enfeksiyonlarına karşı çok hassastırlar (Owings 1996). Jones ve Aldwinckle (1991), *P. s. pv. papulans*'ın kışı elma ağaçlarının tomurcuklarında, bahçe toprağında ve enfekteli meyveler üzerinde geçirdiğini belirtmektedirler. Aynı araştırmacılara göre; İlkbaharda genç yaprak ve tomurcuklar görülmeye başladığı zaman; etmen yaprak, çiçek ve meyveler üzerine, yağmur ve böcekler yardımıyla, diğer yapraklara ve ağaçlara yayılmaya başlamakta, ılık ve nemli havalar hastalığın yayılmasını hızlandırırken bakteri popülasyonunda önemli artışlara sebep olduğu, hastalığın meyvelerde ölüme ve ciddi anlamda bir verim kaybına sebep olmadığı ancak, meyvelerin pazar değerini önemli ölçüde düşürdüğü vurgulanmaktadır (Ellis and Madden 2000).

Hastalığın Amerika Birleşik Devletleri'nde Mutsu (Crispin) elma varyetelerinde önemli kayıplara sebep olduğu belirtilmekte, Fuji ve RedCort varyeteleri üzerinde de son zamanlarda azda olsa görülmesine rağmen Mutsu dışındaki varyetelerde ekonomik anlamda zarar vermediği kaydedilmektedir (Burr and Hurwitz 1981). Aynı çalışmada, bu hastalığın Kanada, İtalya ve Amerika Birleşik Devletleri'nde kaydedildiği ancak, Mutsu varyetesinin ticari olarak önemli olduğu bilinen Japonya'da hastalığa rastlanmadığı belirtilmektedir. Mutsu elma varyetesi ile bitişik olarak bulunan Golden Delicious varyetesinde de bu hastalığın önemli derecede zarara neden olduğu rapor edilmiştir (Van der Zwet *et al.* 2001). Türkiye'de ise bu hastalıkla ilgili herhangi bir kayıt bulunmamaktadır.

#### 1.2.4. Kabuk kavlaması (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall.)

*P. s.* pv. *syringae*'nin neden olduğu kabuk kavlaması hastalığı, dünyanın pek çok yerinde elmalarda önemli zararlara sebep olmaktadır (Jones and Aldwinckle 1991). Tomurcuk yanıklığına da sebep olan bu patojenin bazı morfolojik ve biyokimyasal özellikleri daha önceki bölümde bahsedilmiştir.

Hastalık, ilkbaharda kabuk üzerinde hafif kabarık güneş yanığı şeklinde görülmekte, ilk önce 4-5 mm çapında olan bu lekeler zamanla büyüyerek bütün dalın etrafını sarmakta, zamanla nekroza dönüşen bu simptomların dal ve sürgünlerin birleşme yerlerinde, tomurcuk ve budama sonucu oluşan yara mahallinde de görüldüğü belirtilmektedir. Hastalıklı meyve üzerinde de benzer bir kabarıklık ve tomurcuklarda ölümü takiben kahverengileşme ve kararma, şiddetli enfeksiyonlarda yaz sonuna doğru sürgünlerde geriye doğru ölüm ve ağacın tümünden ölümüne sebep olmaktadır. Patojenin kışlaması ve yayılması ile ilgili bilgiler daha önce açıklanan tomurcuk yanıklığı hastalığındakilerle aynıdır. Patojenin özellikle sıcak iklime sahip birçok bölgede elma ağaçları üzerinde epifitik olarak bulunduğu ve Güney Afrika'nın elma yetiştirilen bütün bölgelerinde mevcut olduğu belirtilmektedir (Jones and Aldwinckle 1991). İtalya'da 1996 yılında bu hastalığın özellikle kumlu topraklarda tesis edilmiş meyve bahçelerinde 2500 elma ağacının ölümüne sebep olduğu belirtilmektedir (Scortichini and Morone 1997). Türkiye'de ise bu hastalıkla ilgili herhangi bir kayıt bulunmamaktadır.

#### 1.2.5. Kök kanseri (*Agrobacterium tumefaciens* (E. F. Smith & Townsend) Conn)

*A. tumefaciens* 93 familyaya ait odunsu bitkiler ve yabancı otlar üzerinde kök kanserine sebep olmaktadır (Moore and Cooksey 1981). *A. tumefaciens*; Rhizobiaceae familyasında, gram negatif, aerobik, potato dexrose agarda beyaz krem renkli ve konveks koloniler oluşturan, Ti plazmid olarak adlandırılan ekstra kromozomal yapıya sahip, 6 peritrik kamçıları ile hareket edebilen ve çubuk şeklinde bir bakteridir (Agrios 1997). Amerika Birleşik Devletleri'nde Pasifik Kuzeybatı'da elma ve armut gallerinden

ve rhizosferden yaygın olarak izole edilen *Agrobacterium*'un biovar 1 ve biovar 2 olmak üzere iki straini tanımlanmış ancak, bunlardan sadece biovar 2'nin patojen olduğu tespit edilmiştir (Moore and Cooksey 1981). Daha sonraki yıllarda yapılan bir çalışmada ise asmalarda patojen olduğu görülen biovar 3 tanımlanmıştır (Burr *et al.* 1987).

Patojen toprak rutubetine bağlı olarak toprakta hareket edebilmekte, sulama suyu, böcekler ve bahçe aletleri ile yayılabilmekte ve enfeksiyon için mutlaka yaraların gerekli olduğu belirtilmektedir (Moore and Cooksey 1981). Gloyer (1934)'e göre bakteri duyarlı bir bitki dokusunu enfekte ettikten sonra, sıcaklığın da 20°C'nin üzerinde olması durumunda 2-4 hafta sonra küçük galler oluşabilmekte ancak, sıcaklığın 15°C ve daha aşağısına düşmesi durumunda gal oluşumu durmakta, hatta 3-4 yıl belirtiler latent bir durumda kalabilmektedir (Moore and Cooksey 1981).

Hastalığın meyve bahçesi ve fidanlıklarda önemli bir yayılım alanına sahip olduğu, elmada diğer yumuşak çekirdekli meyvelere göre daha önemli zarara sebep olduğu ve yer yer Türkiye'de de bu hastalıkla bulaşık alanların olduğu kaydedilmektedir (Demir 1995, Turan ve Tokgönül 1993).

#### **1.2.6. Saçak köklülük (*Agrobacterium rhizogenes* (Riker *et al.*))**

*A. rhizogenes*'in neden olduğu saçak köklülük hastalığı; daha çok elmada görülen aşırı bir saçak kök oluşumu ile karakterize edilmekte olup, yaygın ve bir o kadar da karmaşıktır. Hastalık semptomunun bakteri tarafından oluşturulabildiği gibi, bitkinin bir çeşit özelliği de olabileceği belirtilmektedir (Moore *et al.* 1980). *A. rhizogenes*; Rhizobiaceae familyasında, gram negatif, aerobik, potato dextrose agar (PDA)'da beyaz krem renkli ve konveks koloniler oluşturan, Ri plazmid olarak adlandırılan ekstra kromozomal yapıya sahip, peritrik kamçıları ile hareket edebilen ve çubuk şeklinde bir bakteridir (Agrios 1997).



Bu bakterideki patojenite genlerini taşıyan ekstra kromozomal yapının Ri plazmid olarak adlandırıldığı, Ri plazmidin kök hücresine nakli ile hücreye transfer edilmesi sonucu bitki hormonlarının aşırı üretimine (özellikle auxin) ve sonuçta bitkinin hormon üretimindeki dengesinin bozulması ile saçak kök oluşumuna sebep olduğu belirtilmektedir (White *et al.* 1982). *A. rhizogenes*'in morfolojik ve biyokimyasal özellikleri *A. tumefaciens*'e çok benzeyen ve birbirinin birçok açıdan aynı olan iki hastalıktır. Bu benzerlik gerek hastalığın oluşumu ve gerekse epidemiolojisi açısından mevcut olduğu için mücadele metodu olarak *A. tumefaciens* için önerilen yöntemler bu hastalık için de önerilmektedir. Dünyada üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış bir hastalık değildir. Türkiye'de de bu hastalık ile ilgili her hangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

#### 1.2.7. Bakteriyel yanıklık (*Erwinia stewarti*)

*E. stewarti*'nin sebep olduğu bakteriyel yanıklık hastalığı ateş yanıklığına çok benzemekte olup elma, muşmula, armut ve diğer yakın akraba türlerde görülmektedir (Pataky 2000). *E. stewarti*, Enterobacteriaceae familyasında, gram negatif, fakültatif anaerobik, hareketsiz, nitrat üretemeyen, sarı pigment oluşturan ve çubuk şeklindedir (Schaad 1994).

Genellikle ılık ve nemli havalarda görülen bu hastalık yaprak, kabuk ve odun dokusunda normal yeşil renkten kolayca ayırt edilebilen yanmış görünümü ile tipik olup sürgün, yaprak ve tomurcuklarda yanıklığa, dal ve sürgün uçlarında ölümlere sebep olmaktadır (Pataky 2000). Tomurcuk enfeksiyonu yaprak ve gövde enfeksiyonlarına göre daha yaygındır. İleri dönemlerde kahverengi ve siyaha dönüşen lekeler ateş yanıklığına çok benzemekte olup bu lekelerin sağlıklı dokudan kesin hatlarla ayrılması ayırt edici ve tipik bir özellik olarak görülmektedir (Pataky 2000). Bu hastalığın epidemiolojisine ait çok detaylı bilgi bulunmamakta olup Türkiye'de de herhangi bir kayda rastlanmamıştır.

### 1.3. Bitki Patojeni Bakterilerin Tanılanması ve Karakterizasyonu

Dünyada sürekli artış gösteren insan nüfusuna paralel olarak artan gıda açığını karşılamak amacıyla, mevcut tarımsal ürünlerin verim kapasitesinin artırılmasının yanı sıra, bu ürünlerin verim ve kalitesini azaltan faktörlerin de mümkün olduğunca asgariye indirilmesi ve bunun için uygun mücadele metodlarının geliştirilmesinin gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Mikroorganizma orijinli hastalıklar ile etkili mücadele stratejilerinin geliştirilmesi için, inokulum kaynağı patojenlerin doğru tanılanması ve karakterlerinin ortaya konulması gerekir. Mikroorganizmaların sınıflandırılarak taksonomideki yerlerinin belirlenmesine tanı; tanılanmış mikroorganizmaların kendine has özelliklerinin belirlenmesine, birbirleri ile akrabalık ve benzerliklerinin ortaya konulmasına ise karakterizasyonu denilmektedir (Miller and Joaquim 1993). Bakteriyel organizmaların tanı ve karakterizasyonunda kullanılan pek çok metod vardır (Lelliott *et al.* 1966, Young 1991, Koike *et al.* 1999). Bu metodlar klasik ve moleküler metodlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

#### 1.3.1. Klasik metodlar

Mikroorganizmaların daha çok fenotipik karakterleri hakkında bilgi veren morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik ve patolojik özelliklerinin belirlenmesi klasik yöntemler olarak adlandırılır. Bu yöntemlerin; daima alternatif sistemlere ihtiyaç duyması, daha çok cins düzeyinde bir tanı yapılabilmesi, yani tür ve tür altı kategorilerin bu sistemlerle belirlenememesi, hem uzun zaman alması hem de sonuçların kontaminasyon ve el becerisine bağlı olarak değişebilmesi gibi birçok dezavantajları vardır (Miller and Joaquim 1993). Günümüzde klasik yöntemler ile yapılan tanı ve teşhislere fazla itibar da edilmemektedir. Bazı mikroorganizmalar için kullanılan çok spesifik klasik metodlara başvurulsa dahi, bu yöntemler tek başlarına patojen bakterilerin tanısı ve hastalıkların teşhisinde yeterli olmamakta, mutlaka moleküler metodlar ile desteklenmesine gerek duyulmaktadır.



### 1.3.2. Moleküler metodlar

Son yıllarda, biyoteknoloji ve genetik mühendislik alanındaki gelişmelere bağlı olarak mikroorganizmaların tanı ve teşhis yöntemlerinde de hızlı gelişmeler olmuştur (Kerstens 1985, Miller and Berger 1985, Miller and Martin 1988, Guillorit-Rondeau *et al.* 1996, Scortichini *et al.* 1996, Zhang and Geider 1997). Mikroorganizmaların hedef tespit edilen makro moleküllerinin bileşimi ve oransal yüzdelerden yararlanılarak geliştirilen tanı teknikleri olarak serolojik teknikler (Immunofloresans, Radioimmunoassay, Immuno Blot, Dot Immunobinding Assay ve Enzim-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)), nükleik asit analiz teknikleri (rDNA-PCR (Ribozomal DNA), Rep-PCR (Repetitive extragenic palindromic), Eric-PCR (Enterobacterial repetitive intragenic consensus), Box-PCR ve Spesifik PCR), yağ asit analizleri (Mikrobiyal identifikasyon sistemi) ve metabolik enzim profillerinin (Biyolog) ve protein profillerinin (SDS-PAGE=Sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis) belirlenmesi gibi moleküler yöntemler sıralanabilir (Jackman 1985, Miller and Martin 1988, Miller and Joaquim 1993, Guillorit-Rondeau *et al.* 1996). Bu sistemlerin pahalı olması ve yetmiş elemanlara ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları olsa da; doğru, güvenilir, tür altı kategorilerini de belirleyebilme ve çok sayıda örneği çok kısa sürede tanımlayabilmesi gibi de birçok avantajları mevcuttur.

#### 1.3.2.1. Serolojik teknikler

Antijen ve antikor ilişkisine dayanılarak mikroorganizmaların tanısında yaygın olarak kullanılan tanı teknikleridir. Bitki materyallerinin uluslararası değişimindeki büyük artışlar, bunların serbestçe değerlendirildiği alanlara hastalıklar sokma olasılığı ve sağlık testleri uygulamasında hızlı rutin tekniklere olan ihtiyacın artması, daha hızlı ve güvenilir sonuçlar veren tekniklerin kullanılmasını zorunlu hale getirmiştir. Son yıllarda tıbbi mikrobiyolojiden alınan sonuçlarda olduğu gibi, serolojik reaksiyonların spesifikliği bitki patojeni bakterilerin doğru tanısı için de pratik serolojik metodların gelişmesini sağlamıştır (Saygılı 1995).

### 1.3.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR ilk defa 1985 yılında Saiki ve çalışma arkadaşları tarafından kansızlık (sickle cell anemia) hastalığının teşhisi amacıyla geliştirilmiş ve kullanılmıştır (Saiki *et al.* 1985). Daha sonraki yıllarda çeşitli amaçlarla kullanılan bu metod sayesinde tıp, ziraat, biyoloji ve genetik ile ilgili bilim dallarında çok sayıda yeni buluşlar ve gelişmeler olmuştur (Bej *et al.* 1991, Henson and French 1993, White 1993).

PCR; genetik materyaller (DNA ve RNA) üzerinde seçilmiş bir veya birden fazla bölgenin *in vitro* şartlar altında oligonükleotit primer ve *Taq* polimeraz enzim kullanılarak, bir otomatik termocycle sistem yardımıyla çoğaltılmasıdır (White 1993). Patogen-konukçu arasındaki uyumlu interaksiyonu kodlayan patojenite, virulanslık, avirulanslık, toksin, enzim ve hormon üretimini kodlayan genler gibi bazı genler vardır. Farklı patojenlerde bulunan bu tür genlerin baz dizilişleri, kromozom üzerinde dağılımları ve tekrarlanma sıklığı hakkında elde edilen genetik bilgiler, bu patojenlerin kimliği hakkında bilgi verir. Bu nedenle yukarıda bahsedilen genlerden bir veya birkaçı için spesifik olan oligonükleotit primerler sentezlenebilmektedir. Bu primerlere spesifik genleri taşıyan patojenlerin neden olduğu hastalıklı dokulardan alınan örneklerden izole edilen genetik materyaller (DNA, RNA), PCR ile kolayca çoğaltılarak (amplifiye edilerek) elde edilen PCR ürünleri agaroz jel elektroforez üzerinde yürütüldükten sonra, patojenlere spesifik DNA bant veya bant profilleri saptanmakta ve böylece hastalık sebebi olan etmenin tanısı ve aynı zamanda hastalığın teşhisi yapılmış olmaktadır (Miller and Joaquim 1993).

Bugün, genetik akrabalıkların belirlenmesinde DNA analizleri yaygın olarak kullanılmakta, gerek insanlarda ve gerekse diğer canlılarda kromozom üzerinde kısa ve sıklıkla tekrarlanan bazı baz dizilişlerinden yararlanılmaktadır (Weingard and Völksch 1997). İzole edilen DNA'lar üzerindeki hedeflenen bölgeler PCR yöntemi ile çoğaltılarak elde edilen DNA parmak izleri (fingerprintleri), birbirleri ile karşılaştırılarak farklı bireyler arasındaki genetik akrabalığın belirlenmesine çalışılmaktadır (Miller and Joaquim 1993). Mikroorganizmaların genomik DNA'lar

üzerinde sık tekrarlanan bazı kalıtsal baz dizilişleri vardır (White 1993). Örneğin bakteriyel organizmalarda bulunan Rep (repetitive extragenic palindromic), Eric (Enterobacterial repetitive intergenic consensus) ve Box olarak isimlendirilen DNA bölgelerinden elde edilen PCR profillerine göre test edilen bakteriyel strainler arasındaki genetik akrabalıklar hesaplanabilmektedir. Özellikle rutin testler için PCR, çok ucuz, hassas, seçici ve kısa sürede sonuç veren bir methodur. Seroloji (ELISA) dışındaki diğer moleküler metodlar ile tanısı mümkün olmayan birçok obligat fungal ve bakteriyel mikroorganizmalar, standart kültür ortamlarında çoğaltılamayan (fitoplazma ve riketsia vb.) ve çoğalmaları için konukçu hücre sistemine ihtiyaç duyan (virüs, viroid) patojenlerin sebep olduğu hastalıkların teşhisi PCR ile kolayca yapılabilmektedir. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında hastalık oluşturan bakteriyel patojenlerin PCR yöntemi kullanılarak tanılanmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır (Stefan *et al.* 1994, Pascal *et al.* 1997, Weingard and Völksch 1997).

### 1.3.3.3. Mikrobiyal identifikasyon sistem (MIS)

İlk defa 1985 yılında, ABD'de MIDI, inc. firması tarafından geliştirilen, mikroorganizmaları yağ asitlerine göre tanıyan bir sistemdir (Miller and Berger 1985). Yağ asitleri ( $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ ); mikroorganizmaların hücrelerinde sitoplazma ve diğer hücreyel organellerin çift tabakalı membranlarında; phospholipid, glycolipid veya lipopolysaccharide formunda bulunan hydrocarbon yapısındaki makro moleküllerdir (Miller and Berger 1985). Yağ asitleri içerdikleri karbon (C) atomlarının sayısına, karbon atomları arasındaki çift bağ sayısına, hangi karbon atomları arasında çift bağ olduğuna ve karbonların hidrojen (H) atomları tarafından doyurulmuş olup olmamalarına göre farklı isimler almaktadırlar. Prokaryotik hücrelerde genellikle tek ve çift sayılı karbon (C9 -C20) içeren yağ asitleri bulunmaktadır (Roy 1988). Genetik olarak aynı olan mikroorganizmaların hücrelerindeki yağ asitlerinin sayısı, çeşitliliği ve %olarak miktarları (yağ asitleri profili) aynı olup çevre koşulları aynı olduğu sürece değişmemektedir (Şahin 1999). Yani yağ asitleri profillerindeki farklılıklar, mikroorganizmalar arasındaki genetik akrabalıkların dolaylı bir göstergesidir (Sasser

1990). Bu nedenle kültür ortamında (standart besi yerlerinde) çoğalabilen mikroorganizmaların, gerek tanısı ve gerekse onların taksonomik sınıflarının saptanması için yağ asitleri profillerinin kullanılabilceği, birçok bilimsel çalışma ile ispatlanmıştır (Wayne Moss *et al.* 1972, Wayne Moss *et al.* 1973, Roy 1988, Vauterin *et al.* 1996). Yumuşak çekirdekli meyvelerde hastalık oluşturan bakterilerin yağ asitlerine göre tanılanmasına yönelik birçok çalışma mevcuttur (Wayne Moss *et al.* 1972, Wayne Moss *et al.* 1973).

#### 1.3.3.4. Biolog tanı sistemi

Mikroorganizmaların sahip oldukları metabolik enzimlerin farklılığına bağlı olarak kullanabildikleri karbon kaynaklarının da farklı olacağını esas alarak tanı yapan bir tekniktir (Konopka *et al.* 1998, Jay and Aaron 1991, Michael *et al.* 1993, Miller *et al.* 1993, Verniere *et al.* 1993, Holmes *et al.* 1994, Alexandra *et al.* 1995). Biolog (Biolog Inc, Hayward, CA. USA) 1990'lı yılların ikinci yarısından itibaren rutin testlerde kullanılan bir mikroplate sistemidir. Mikroplate içindeki çukurlara önceden kodlanmış farklı karbon kaynaklarının (şekerler, alkol, deterjan ve amino asit türlerinden oluşan toplam 95 karbon kaynağı) kullanımındaki farklılıklara bağlı olarak mikroorganizmaların metabolik profillerini belirleyen ve tanılayan bir sistemdir (Bochner 1989).

Biolog sistemi kullanılarak hem mikroorganizmaların tanısı yapılmakta hem de organizmanın kullanabildiği karbon kaynaklarının belirlenmesi ile biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılacak organizmaların rekabetik özelliklerinin de belirlenmesi sağlanmaktadır (Konopka *et al.* 1998). Bu sistemin yavaş gelişen veya *in-vitro* koşullarda gelişemeyen mikroorganizmaların dışında bütün mikroorganizmaların (Fungus, bakteri, actinomycetes, maya) tanısında ve tiplendirilmesinde kullanılabilceği tavsiye edilmektedir (Verniere *et al.* 1993).

#### **1.4. Bakteriyel Hastalıklarla Mücadele**

Yukarıda anlatılan tanı yöntemleri ile, patojenik etmenleri belirlenen hastalıkların mücadelesinde kullanılacak stratejilerin neler olması gerektiği, yıllardır bitki korumacı bilim adamları tarafından tartışılmaktadır. Bitki hastalıklarına bağlı olarak tarım ürünlerindeki nicelik ve nitelikteki azalmayı ortadan kaldırmak için, etkili zirai mücadele metodlarının uygulanması zorunludur. Son yıllarda bakteriyel bitki patojenlerine karşı yaygın olarak kullanılan zirai mücadele yöntemleri ana hatları ile kimyasal mücadele, hastalıklara karşı dayanıklı bitki varyetelerinin geliştirilmesi ve kullanımı, kültürel önlemler ve biyolojik mücadele olmak üzere dört ana başlık altında incelenebilir (Jones and Andwinckle 1991).

##### **1.4.1. Kimyasal mücadele**

Aktif içerikleri farklı olan kimyasal pestisitler kullanılarak, bitkilerin toprak altı ve toprak üstü aksamında veya ekim materyalleri (tohum, yumru, soğan, çelik, vb) üzerinde bulunan patojenlerin çoğalmasını engelleyen veya bu patojenleri yok etmeyi hedefleyen bir mücadele yöntemidir. Bu metod ile kısa vadeli uygulamalarda, özellikle fungal bitki hastalıklarına karşı etkili ve başarılı sonuçlar alınabilmektedir. Ancak, virüs, viroid ve bakteri gibi birçok bitki patojenlerine karşı etkili olan kimyasalların geliştirilememiş olması, sürekli olarak kullanılan kimyasallara karşı patojenlerin direnç kazanması, kullanılan kimyasalların uzun vadede insan ve hayvan sağlığını tehdit etmesi, doğal dengeyi bozması ve üreticiler için pahalı bir mücadele metodu olması gibi birçok olumsuzlukları da beraberinde getirmektedir (Jones and Andwinckle 1991).

##### **1.4.2. Dayanıklılık**

Bitki patojenlerine karşı etkili, güvenilir, zararsız ve ekonomik bir zirai mücadele şeklidir. Fakat birçok patojene karşı kullanılabilen dayanıklılık genlerinin kaynağının

bilinmiyor olması en önemli sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde klasik ıslah teknikleri kullanılarak, bilinen dayanıklılık genlerinin bir bitki varyetesinden diğer bir varyeteye aktarılması, oldukça uzun zaman aldığı gibi, çoğunlukla başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Şimdiye kadar tek bir patojene karşı dayanıklı bitki varyeteleri geliştirilmesine rağmen, aynı anda değişik birçok bitki patojenlerine karşı dayanıklı olan bir bitki varyetesi geliştirmek mümkün olamamıştır. Moleküler biyoloji, genetik mühendisliği ve biyoteknoloji alanındaki hızlı gelişmeler, bitki hastalıkları ile mücadelede de yeni gelişmelere sebep olmuş ve transgenik bitkilerin elde edilmesine büyük katkılar sağlamıştır. Bu yolla hem istenilen birçok iyi karakterlerin yeni bir varyeteye aktarılması, hem de hastalıklara karşı dayanıklı varyetelerin elde edilmesi başarılmıştır (Reynoird *et al.* 1999).

#### **1.4.3. Kültürel mücadele**

Hastaliksız tarım alanlarına yeni patojenlerin bulaşmasını engellemek veya bulaşık olan bölgelerde patojen popülasyonunu baskı altına almak için kullanılan tedbirlerin tamamını içerir. Ekim ve dikim için kullanılan tarım makinelerinin dezenfekte edilmesi, patojenlerden arındırılmış tohum, fide veya fidan kullanılması, enfekteli bitki artıklarının yok edilmesi, budama, toprak işleme, nöbetleşe ekim ve nadas gibi uygulamalar kültürel mücadele metodu olarak tanımlanır. Ancak, kültürel yöntemlerle bitki hastalıklarının kontrolü, diğer zirai mücadele metodları gibi tek başına etkili ve başarılı değildir (Jones and Andwinckle 1991).

#### **1.4.4. Biyolojik mücadele**

Doğal veya genetik yapısı değiştirilmiş mikroorganizmalar (biyolojik savaş elamanları = genellikle fungus ve bakteriler) ya da onların ürettikleri metabolitler kullanılarak patojen mikroorganizmaların ortadan kaldırılması veya popülasyonlarının baskı altına alınmasını amaçlayan bir tarımsal savaş yöntemidir (Chet *et al.* 1993). Son yıllarda



kimyasal mücadelenin insan ve hayvan sağlığı ile çevre üzerindeki olumsuz etkileri her geçen gün daha iyi anlaşılmalıdır. Buna bağlı olarak, tarımsal üretimde kimyasal pestisitlerin kullanımını azaltan veya yasaklayan yeni tarım politikalarının (organik tarım ve sürdürülebilir tarım ) geliştirilmesi ile, tarımsal savaş stratejileri içerisinde biyolojik mücadele oldukça fazla ilgi görmeye başlamıştır. Thomas ve Willis (1998), biyolojik mücadelenin riskli ama gerekli olduğunu belirtmektedirler.

Biyolojik mücadelenin temel prensibi ve hedefi; insan ve çevre üzerine olumsuz etkileri olmayan, maliyeti düşük, geniş spektrumlu ve her türlü çevre şartlarında kullanım imkânı olan biyolojik ajanların belirlenmesi ve bunların tarla, sera ve depo koşullarında bitki hastalıklarının kontrol edilmesinde kullanılmasıdır (Cross and Polonenko 1996). Bu nedenle, özellikle gelişmiş ülkelerde biyolojik kontrol ajanlarının tespiti ve bu ajanların değişik çevre şartlarına adaptasyonu, sera ve tarla şartlarında etkinlikleri, uzun vadeli depolama ve taşıma şartlarına dayanıklı formülasyonların geliştirilmesi üzerine çok sayıda bilimsel çalışmalar yapılması dikkat çekmektedir (Cook and Baker 1983, Papavizas 1985, Chet *et al.* 1993, Cartwright and Benson 1995, Lumsden *et al.* 1995, Leibinger *et al.* 1997). Ülkemizde, organik tarım yapmak veya tarımsal üretimde kimyasal kullanımını azaltacak entegre hastalık mücadele programları oluşturmak için, biyolojik savaş stratejilerini geliştirmeyi hedefleyen bilimsel çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır (Momol 1990, Momol vd 1991, Tokgönül 1991, Tokgönül ve Çınar 1991, Demir ve Gündoğdu 1993, Hacıoğlu 1993, Turan ve Tokgönül 1993, Demir 1995, Özakman 1995, Üstün 1995, Evrenasoğlu 1995, Erdoğan 1999, Ülke 1999, Demir vd. 2002).

Biyolojik mücadele çalışmalarının her geçen gün daha da önem kazanması, mücadele ile ilgili çalışmaların da bu yöne kaymasına sebep olmaktadır. Moleküler biyoloji, genetik mühendisliği ve biyoteknoloji alanındaki yeni bilimsel buluşlar ve gelişmeler bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede de önemli gelişmelere sebep olmuştur. Biyolojik mücadelenin, biyokontrol organizma ile patojen ve çevredeki diğer mikrobiyal organizmalar arasındaki ilişkiye göre; 1) Antibiyosis 2) Besin elementleri ve yaşama yeri yönünden rekabet, 3) Hiperparazitizm, 4) Konukçu bitkilerin sistemik

dayanıklılık mekanizmalarının teşvik edilmesi olmak üzere dört temel prensibi vardır (Handelsman and Stabb 1996).

#### 1.4.4.1. Antibiyosis

Bir organizmanın, biyokontrol organizma olarak seçiminde göz önüne alınan en önemli kriterin antimikrobiyal metabolitlerin üretimi olduğu belirtilmektedir (Handelsman and Stabb 1996). Biyolojik kontrolde açık bir şekilde tanımlanan ilk antibiyotik *P. fluorescens* strain 2-79 ve *P. aureofaciens* strain 30-84'den elde edilen ve buğdayda karapasın kontrolünde kullanılan phenazine olmuştur (Andrade *et al.* 1994).

Nikaido (1994), biyokontrol organizmaların birden fazla antibiyotik üretmeleri sebebiyle farklı antibiyotiklere karşı oluşacak dayanıklılığın çok düşük frekansta olacağını, doğada biyokontrol organizmalar ile aynı çevreyi paylaşan patojen popülasyonunun çok az olduğunu, dolayısıyla biyokontrol organizmalar tarafından üretilen antimikrobiyal kimyasallara karşı dayanıklılığın, kimyasal ilaçlara karşı oluşan dayanıklılığa oranla çok daha yavaş olacağını belirtmektedir. Biyokontrol organizmalar kimyasal ilaçlar gibi geniş bir alana yayılarak, patojen veya patojen olmayan geniş bir organizma grubunu etkisi altına almamaktadır. Bu da dayanıklılık mekanizmasının oluşma riskini azaltan bir faktördür. Ancak, zaman içerisinde biyokontrol ajanlarının aşırı kullanımına bağlı olarak bu ajanlar tarafından üretilen antimikrobiyal kimyasallara karşı da patojenlerin dayanıklı strain veya ırklar geliştirebilecekleri yönünde şüpheler mevcuttur (Davies 1994).

#### 1.4.4.2. Rekabet

Biyokontrol ilişkide iki besin elementi büyük önem arz eder ki, bunlar karbon ve demir elementleridir (Handelsman and Stabb 1996). Doğal olarak var olan veya biyolojik



mücadele amacıyla dışardan ilave edilen mikroorganizmalar, toprakta bitki kök bölgesine kolonize olurlar ve bitkiler tarafından salgılanan eksudatları karbon kaynağı olarak tüketirler. Selüloz, hemiselüloz ve pektin gibi kompleks karbonhidratları içeren kök musilajları sadece bazı özelleşmiş mikroorganizmalar tarafından parçalanabilir (Foster *et al.* 1983). Kompleks karbonhidratları kullanma kabiliyeti olan organizmalar mikrobiyal rekabette avantajlı oldukları için daha iyi kolonize olurlar. Bu nedenle biyokontrol ajanların patojenlere göre karbon kaynağı kullanımında daha üstün rekabet kabiliyetine sahip olması gerekir (Paulitz 1991).

Patojen ve antagonist mikroorganizmalar arasındaki ilişkide önem arz eden bir diğer besin elementi de demirdir. Mikroorganizmalar demir ihtiyaçlarını karşılamada siderofore denilen pigment proteinlerinden faydalanırlar. Sideroforlar lipopeptid yapısında düşük molekül ağırlıklı proteinler olup, demir iyonlarına ( $Fe^{+3}$ ) bağlanarak bakteri hücrelerine taşırlar (Leong 1986). Birçok floresant pseudomonadlar demir oranı düşük topraklarda, biyolojik mücadele amacı ile kullanılan biyokontrol bakterinin patojen bakteri ile ilişkisinde biyokontrol bakterinin lehine olan, sarı-yeşil renkli sideroforlar, pyoverdin ve pseudobactin üretirler (Leong 1986, Hohneicher *et al.* 1996, Budzikiewicz *et al.* 1997a,b, Meyer *et al.* 1997, Risse *et al.* 1998, Kinzel *et al.* 1998, Beiderbeck *et al.* 1999, Meyer *et al.* 1998, Kitz *et al.* 1999, Münzinger *et al.* 1999). Bu proteinler topraktaki demir iyonlarına bağlanarak oluşturdukları siderofore-demir komplekslerini bakteri hücrelerine taşırlar. Böylece, özellikle de demir elementi yönünden zayıf topraklarda (rhizosfer bölgesinde) siderofor üreten mikroorganizma, demir alımına el koyarak patojen organizmanın demirden faydalanma kabiliyetini azaltmakta ve sonuçta patojeni baskı altına almaktadır (Leong 1986).

#### 1.4.4.3. Hiperparazitizm

Canlı mikroorganizmalara karşı başka canlı organizmaların kullanıldığı bir mücadele şeklidir. Parazitizmin esası hücre duvarını eriten yada parçalayan enzimlerin üretilmesine dayanır. Bu amaçla kullanılan biyoajanlar, ürettikleri hidrolitik enzimler

ve/veya direk enfeksiyonları ile patojenlerin hücrelerini parçalayarak onların popülasyonlarını baskırlar (Fridlender *et al.* 1993). Proteaz, Selüloz, B-1,3 glukanase ve chitinase gibi hidrolitik enzimleri üreten birçok bakteri ve fungus hiperparazit olarak tarımsal savaşta kullanılmaktadır.

Bakteriyel organizmalardan bazılarının patojen bakterileri doğrudan parazitledikleri bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada *in-vitro* testleri ile *Bdellovibrio bacteriovorus* bakterisinin fitopatojen bakterilerden *Pseudomonas* spp. strainleri üzerinde hiperparazit olduğu görülmüştür ama aynı başarı *in-vivo*'da tekrarlanamamıştır (Scherff 1973).

#### 1.4.4.4. Sonradan kazanılmış sistemik dayanıklılık

Biyokontrol organizmalar kullanılarak, konukçu bitkilerin sistemik dayanıklılık mekanizmalarının aktif hale getirilmesi esasına dayanan bir başka önemli biyolojik mücadele metodudur. Bu mekanizmayı Cross Protection, SIR ve SAR olmak üzere üç grupta ele almak mümkündür.

**a) Çapraz korunma (Cross protection):** Biyokontrol organizmalar tarafından konukçu dokusu içinde antibiyosis, yer ve besin için yarışma, hisfel interferens ya da parazitizm gibi mekanizmalardan birisi ya da bunların kombinasyonu ile virüent patojenin gelişiminin önlenmesi olarak tanımlanır (Bora ve Özaktan 1998).

**b) SIR (Systemic induced resistance):** Patojen olmayan bir mikroorganizmanın bir biyolojik savaş elemanı gibi ya da zayıf virüent bir patojenin gerçek bir patojen gibi davranarak, konukçu bitkinin savunma sistemini duyarlı kılması, böylece o bitkinin sonradan gelecek herhangi bir saldırıya hazır duruma gelmesi olarak tanımlanır (Bora ve Özaktan 1998). Bu durum, salıllık asidin hücreler arası boşlukta birikimine bağlıdır ve patojenite ile ilgili PR proteinlerini kodlayan genlerin aktivasyonu ile karakterize edilir (Cook and Baker 1983). Son zamanlarda seçilen non-patojenik ve köklere

kolonize olmayan biyokontrol bakterilerinin de sistemik resistanlık mekanizmasını başlattığı belirtilmektedir (Hoffland *et al.* 1996, Pieterse *et al.* 1996).

c) **SAR (Systemic acquired resistance):** Bir patojenin primer ve sekonder enfeksiyonlarına karşı, bitkilerde ya var olan dayanıklılığın teşvik edilmesi ya da bitkide doğal olarak mevcut olmayan ancak, biyokontrol organizmalar veya kimyasalların uyarısı ile sonradan fizyolojik olarak kazanılan, bitkinin patojen enfeksiyonuna karşı gösterdiği bir reaksiyon olarak tanımlanır (Shulaev *et al.* 1995)).

SAR fikirsel olarak; başlatma ve devam ettirme olarak iki safhada ele alınabilir. Başlatma safhası geçici olabilir ve dayanıklılığın gelişmesine yol açan olayların tümünü kapsarken, devam ettirme safhası ise, başlatma sonucu ortaya çıkan, öncekine benzer ancak, daha muntazam bir dayanıklılık mekanizmasıdır (Ryals *et al.* 1994). Shulaev *et al.* (1995), yaptıkları çalışmada, salisilik asit (SA) ve benzoik asit (Benzothiadiazole BTH) türevlerinin, birer bitki aktivatörü olarak konukçu bitkilerde patojenite ile ilgili PR proteinlerinin birikmesine neden olduğunu ispatlamışlardır. Buna bağlı olarak bitkilerde fitoaleksinler olarak adlandırılan düşük moleküler ağırlıklı bu antimikrobiyal maddeler, enfeksiyonu takiben enfeksiyon mahallinde veya çevresinde birikerek bitkilerde sistemik olarak bir dayanıklılık mekanizmasının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bitkilerde dayanıklılık mekanizmasının tek bileşeni fitoaleksinlerin sentezi ve birikmesi değildir. Dayanıklılığa sebep olan diğer bileşikler arasında B-1,3-glucanase, chitinase gibi bakteriyel ve fungal hücre duvarlarına zarar veren litik enzimlerin sentezi, patogenesisle ilgili proteinlerin sentezi, fiziksel bariyerler, lignifikasyon, papilla, suberin, kallus ve agglutinin oluşumu sayılabilir (Van Loon and Antoniw 1982).

Günümüzde yapılan çalışmalar daha çok SAR'ın çalışma mekanizması ile ilgilidir. Yapılan bir çalışma da; biyokontrol organizma olarak kullanılan *P. fluorescens* strain CHA0, bir viral patojene karşı sistemik resistanlıkta rol oynayan SAR ile ilgili proteinlerin üretilmesini teşvik ettiği ayrıca SAR'da signal transduction'da rol oynayan salisilik asit miktarında da artışa neden olduğu belirtilmektedir (Maurhofer *et al.* 1994).

Birçok floresant pseudomonaslar tarafından üretilen pyochelin ve salisilik asit gibi sidereforların konukçu bitkinin dayanıklılık mekanizmasını faaliyete geçirerek, biyokontrol organizma ile patojen organizma arasındaki rekabette, patojen organizmanın aleyhine bir durum oluşturduğu belirtilmektedir (Maurhofer *et al.* 1994).

Sentetik olarak üretilen, salisilik asit 2,6 diclorizonikotinic asit (INA) ve Benzothiadiazole (BTA=Actigard=CGA 245704) kimyasallarının değişik bitki familyalarında sistemik dayanıklılık mekanizmalarını uyardığı saptanmıştır (Louws *et al.* 1996, Louws *et al.* 2001, Ryals *et al.* 1994, Silverman *et al.* 1993, Tokunaga *et al.* 1998). Çevre ve doğal fauna üzerinde olumsuz etkileri olmayan, ancak, geniş spektrumlu ve uzun süre etkili olan bu kimyasallar bitki aktivatörü olarak isimlendirilirler. Fakat bitki aktivatörlerinin bitkilerin dayanıklılık sistemlerini harekete geçirmesine rağmen bitki gelişimi ve verimi üzerine ise olumsuz etkilerinin (fitotoksik) olduğu gözlenmiştir (Şahin vd 2000). Bitki aktivatörlerinin olumsuz yan etkilerinin ortadan kaldırılması için yeni kimyasal formulasyonların hazırlanması ile ilgili bilimsel çalışmalar sürdürülmektedir.

Son yıllarda dünyada olduğu gibi Türkiye’de de biyolojik mücadele ile ilgili çalışmaların sayısı artmaktadır. Ancak, yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğu sebze hastalıklarının kontrol edilmesine yöneliktir. Moleküler biyoloji, genetik mühendisliği ve biyoteknoloji alanındaki yeni bilimsel buluşlar ve gelişmeler bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede de yeni bir çağ açmıştır. Biyoteknolojik yöntemlerin biyolojik mücadelede iki farklı uygulama alanı vardır. Bunlardan birincisi, bitki hastalıkları veya patojenlerine karşı dayanıklılık genlerinin aktarılması ile elde edilen genetik yapısı değiştirilmiş (genetically modified organisms=GMO) kültür bitkilerinin geliştirilmesidir. Bu tür bitkilere transgenik bitkiler denir. Transgenik bitkilere aktarılan genler orijinlerine ve kodladıkları proteinlere bağlı olarak farklı isimler alırlar. Bugüne kadar geliştirilmiş transgenik bitkilerde bulunan transgenler; 1) Bitki orijinli genler 2) Patojen orijinli genler, 3) Antimikrobiyal proteinleri kodlayan genler ve 4) Antikor genleri (Plantibodies) olarak dört farklı grup halinde sınıflandırmak mümkündür (Nofelli *et al.* 1994, Broekaert *et al.* 1997, Fernin-Munoz *et al.* 2000, Rommens and

Kishmore 2000). Her ne kadar bazı bilim adamları transgenik bitkilerin üretilmesini bir biyolojik mücadele stratejisi olarak kabul etmeseler dahi, elde edilen transgenik bitkilerin patojenlere karşı göstermiş oldukları direnç reaksiyonları biyolojik mücadelenin SAR mekanizması ile açıklanmaktadır (Strittmatter *et al.* 1995, Cao and Dong 1998, Fermin-Munoz *et al.* 2000, Rommens and Kishmore 2000). Genetik yapısı değiştirilmiş mikroorganizmaların geliştirilmesi ve bitki hastalıklarına karşı biyolojik mücadelede kullanılması diğer bir biyoteknolojik yaklaşımdır. Bu amaçla daha çok bakteriyel organizmalardan faydalanılır. Tarımsal üretimde kullanılan GMO'lar, genellikle potansiyel biyolojik ajan olarak seçilmiş bakterilere biyolojik mücadeledeki başarı oranlarını veya etkilerini artırmak için aşağıda sıralanan karakterlerin bir veya birden fazlasını kodlayan genlerin kazandırılması ile elde edilirler. Antimikrobiyal kimyasalların üretimi, hidrolitik enzimlerin sentezi, siderofore üretimi, kötü çevre koşulları ve toksik kimyasallara karşı dayanıklılık, konukçu bitkilerin SAR mekanizmalarını teşvik eden metabolitlerin üretimi gibi karakterleri kodlayan genlerin aktarıldığı biyolojik ajan bakteriler sürdürülebilir veya organik tarım sistemi için vazgeçilmez bir gelecek olarak kabul edilmektedir (Kirschenmann and Kirschenmann 1998, Marrone 1999, Ishimaru 2000).

### **1.5. Bakteriyel Hastalıklar ile Mücadelede Erken Tahmin ve Uyarı Sistemlerinin Kullanımı**

Bakteriyel hastalıklara karşı koruyucu bakterisitler ile yapılan mücadele bazı yıllar gereğinden fazla ve zamansız yapılabilmektedir. Hastalığın epidemiy yapacağı yılı tahminlemek, bakteri populasyon dinamiği üzerinde çalışmak ve uygun zamanda ilaçlama yapabilmek ekonomik ve çevresel sorunlar açısından önemli kazançlar sağlamaktadır (Momol 1990). Ateş yanıklığı hastalığı yumuşak çekirdekli meyvelerin en tahripkar bakteriyel hastalığı olmakla beraber çevre şartlarının da uygun olduğu yıllar şiddetli epidemilere neden olmaktadır. Bu hastalıkla kimyasal mücadelede başarıya ulaşılabilmesi için ön tahmin ve uyarı sistemi geliştirilmiştir. Koruyucu bakterisit kullanımını iyi zamanlayabilmek için bugün kullanılan tahmin sistemlerini

1955'te Mills geliştirmeye başlamıştır. Ateş yanıklığına karşı kullanılan tahmin sistemlerinde sıcaklık, nem, yağış, etmen populasyonu izleme, hastalık yoğunluğunu kontrol etme, konukçu fenolojisi ve gelişmesi esas kriterler olarak kullanılmaktadır (Billing 1979). Son yıllarda iklimsel faktörleri esas alan değişik sistemler de ateş yanıklığına tahmin etmek için geliştirilmiştir. Bu sistemlerden iki tanesi halen Kalifornia ve İllinois'de yetiştiricileri ilaçlama zamanı konusunda uyarmak için kullanılmakta olup bu iki sistemde de 18°C üzerindeki sıcaklıklar esas alınarak geliştirilmiştir (Van der Zwet *et al.* 1987).

Moltmann (1996)'a göre elma ve armutta çiçeklenme boyunca sıcaklık enfeksiyonun gelişmesinde sınırlayıcı bir faktör olmaktadır. Yetiştirici meyve bahçesinde fenolojik gelişmeleri dikkate alarak ilaçlama yapıp yapmayacağına karar vermektedir. Güney Batı Almanya'da Billing Modeli ve Maryblyt Modeli olarak bilinen iki ön koruma sistemi bir bilgisayar sistemine çevrilmiştir. Armutlarda enfeksiyon belirtilerinin gelişmesi için 18°C esas alınmakta ve 30 hava istasyonundan elde edilen bilgiler toplanarak bir önceki günün meteorolojik bilgileri günlük olarak kaydedilmektedir. 1 ml'nin aşağısındaki yağmur ve ağır çiy düşüşü yaprak rutubetinin ölçülmesi ile tespit edilmektedir. Bir saatten daha uzun bir süre yaprak rutubetinin artmaya devam etmesi yağmur ve ağır çiy düşüşüne delalet etmektedir. Her iki modelin gösterdiği bir enfeksiyon gününde o gün veya hemen ardından ilaçlama yapılması önerilmektedir. Ticari meyve yetiştiricileri bu bilgileri telefonla öğrenebilmektedirler. Maryblyt modelinde inkübasyon periyodu oldukça uzun tutulmaktadır. Bu nedenle elmada ilk belirtiler bu model ile belirlenen risk günlerinden birkaç gün sonra meydana gelmektedir. Her iki modelde de armutlarda tam çiçeklenme dönemi, elmada ise çiçeklenmenin başlangıcı ve taç yaprakların dökümü periyodu risk günleri olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan sıcak ve kuru günler de enfeksiyon risk günleri olabilmektedir. Bu günler Billing modeline göre belirlenmiş fakat Maryblyt modelinde yer almamaktadır. Kesin olmayan çiy ölçümlerine ve sıcak, kuru günlerin enfeksiyon üzerine etkilerine bakılarak ilaçlama önerilmektedir. 18°C ve üzerindeki kümülatif sıcaklık dereceleri 110 saate ulaştığında da ilaçlama önerilebilmektedir. Türkiye'de de bu hastalıkla mücadelede erken uyarı sisteminden faydalanılmaktadır.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ülkemizde yumuşak çekirdekli meyvelerde görülen bakteriyel hastalıkların belirlenmesine ve yaygınlık oranlarının tespit edilmesine yönelik bazı çalışmalar mevcuttur (Momol 1990, Momol vd 1991, Tokgönül 1991, Tokgönül ve Çınar 1991, Demir ve Gündoğdu 1993, Turan ve Tokgönül 1993, Demir 1995, Baştaş 1998, Yahyaoglu 1998, Ülke 1999). Ancak, yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu ateş yanıklığının etmeni *E. amylovora* üzerinedir. Ateş yanıklığı hastalığı; 1985'ten sonra Türkiye'de Karadeniz, Ege, Doğu Akdeniz ve Orta Anadolu Bölgesi'nde önemli epidemiler oluşturmuştur (Momol 1990). Ateş yanıklığının Batı Akdeniz Bölgesi'nde özellikle armut ve ayvalarda önemli kayıplara yol açtığı saptanmıştır (Momol vd 1991). Doğu Akdeniz Bölgesin'de yapılan sürveylerde, armutlarda %42.37 oranında bir yaygınlık belirlenmiş, yenidoğum fidanlarında da ciddi bir tehlike oluşturduğu tespit edilmiştir (Tokgönül ve Çınar 1991). Demir ve Gündoğdu (1993), bu hastalığın ülkemizde başta armut olmak üzere ayva ve elmada problem oluşturduğunu, bunun yanında *Pyrus* spp., *Eriobotrya japonica*, *Pyracantha* spp., *Crataegus* spp. ve *Mespilus germanica*'da da enfeksiyon oluşturduğunu belirtmişlerdir. Turan ve Tokgönül (1993), 1990-1991 yıllarında Akdeniz Bölgesi'ndeki meyve fidanlıklarında görülen fungal ve bakteriyel hastalıkların tespiti üzerine yaptıkları bir çalışmada; Adana, Antalya, Gaziantep, Hatay, İçel ve Kahramanmaraş illerinde toplam 47 meyve fidanlığında sürveyler yapmış, 3000 yenidoğum fidanı üzerindeki gözlemler neticesinde ateş yanıklığının ilkbaharda %2.6, sonbaharda %7.3 oranında yaygınlığını saptamışlardır. İl bazında yapılan sürveylerde ise; İçel'de bu hastalığın yaygınlık oranını %16.66 olarak belirlenmiş, çalışmada diğer illerde bu hastalığa rastlandığına dair bir bilgi verilmemiştir. Aynı çalışmada; fidanlıklarda yapılan sökümler dönemi kontrolleri sırasında kök kanseri ile bulaşık fidan görülmemiş ancak, iptal edilen bir fidanlıktaki fidan kök kalıntılarında tümörlere rastlanmıştır. Yapılan bir başka çalışmada ise; ateş yanıklığı hastalığının yoğunluğu Amasya'da %8.9 ve Tokat'ta %14.4, yaygınlık oranı ise sırasıyla %68 ve %71 olarak tespit edilmiştir (Mirik 2000). Kök kanserinin; ülkemizde elmada armuttan daha çok zarara sebep olduğu, meyve bahçesi ve fidanlıklarda yer yer bu



hastalık ile bulaşık alanların olduğu kaydedilmektedir (Demir 1995, Turan ve Tokgönül 1993).

Kotan ve Sahin (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, *P. s. pv. syringae*'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nde kaysılarda önemli derecede zararlara sebep olduğu belirtilirken; *P. s. pv. populans* ve *E. stewarti*'nin ise mevcudiyetine dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Fitopatojen bakterilerin bitkilerde enfeksiyon oluşturmalarında enzim, toksin ve hormonların rol oynadığı bilinmektedir. *E. amylovora* ve *E. stewarti*'nin enzim ve toksin üreterek bitkilerde kloroz, nekroz ve geriye doğru ölümlere sebep olduğu belirtilmektedir (Crosse *et al.* 1972). Schwartz *et al.* (1991)'a göre; *E. amylovora*'nın ürettiği düşük molekül ağırlıklı bileşikler bitki hücrelerine etki etmekte, L-2,5-dihydrophenyl-alanine konukçu bitki dokusunun oksidatif savunma mekanizmasına karşı *E. amylovora*'yı korumakta ve ateş yanıklığının gelişimi için ekstraselüler polisakkaritler gerekli olmaktadır.

Pseudomonadlar ise konukçu dokuya penetrasyonlarından sonra polisakkarit, hücre duvarını parçalayan hidrolitik enzimler, toksinler, buz nükleasyon aktif proteinler ve muhtemelen bitki hormonları salgılayarak konukçu bitki hücrelerinin metabolizmasını bozmakta ve bitkilerde çeşitli semptomlara sebep olmaktadır (Gross and Cody 1985). *A. tumefaciens*'in Ti plazmidinin (Moore and Cooksey 1981), *A. rhizogenes*'in ise Ri plazmidinin (Moore and Cooksey 1981) kök hücrelerine nakli ile hücreye transfer edilen T-DNA'nın, hücre kromozomu ile birleşerek bitki hormonlarının aşırı üretimi yada üretimdeki dengenin bozulması sonucu, bitkinin kök ve nadiren de kök boğazı kısımlarında hücre büyüme ve bölünmesinin hızlanması sonucu kanserlere ve şişkinliklere ya da saçak kök oluşumuna sebep olduğu belirtilmektedir

Schwartz *et al.* (1991) birçok bitki patojeni bakterinin virulanslığında toksik metabolitlerin rol oynadığını belirtmektedirler. Yapılan bir çalışmada *Rubus* bitkisinden izole edilen *E. amylovora* strainlerinin konukçu spesifikliği gösterdiği *Malaceae*

bitkişinde hastalık oluşturmadığı tespit edilmiştir (Norelli *et al.* 1984). Ancak, *E. amylovora*'nın farklı strainleri arasındaki virulanslık farklılığından dolayı, elma varyeteleri üzerinde ırk spesifikliğı gösterebilmesine rağmen, patovarlar arasında konukçu dizisine bakılarak bir alt gruptandırma yapmanın mümkün olmadığı bildirilmektedir (Norelli *et al.* 1988). Schwartz *et al.* (1991), *E. amylovora*'nın üretmiş olduğu düşük moleköl ağırlıklı bileşiklerden L-2,5-dihydrophenyl-alanine'nin bir virulanslık faktörü olduğunu belirtmektedirler.

*P. syringae* patovarlarının sebep olduğu birçok hastalıkta coronatine (COR) fitotoksininin virulanslık faktörü olarak rol oynadığı bildirilmiş (Sato *et al.* 1983) ancak, daha sonra yapılan bir çalışmada coronatine fitotoksinin konukçuya duyarlı olmayıp coronafacic asit ve coronamic asitten meydana geldiğı, üretiminin sıcaklığa duyarlı olduğu ispatlanmıştır (Bender *et al.* 1996). Schwartz *et al.* (1991), *P. syringae* patovarlarında coronatine, phaseolotoxin, tabtoxin ve diğer bazı toksinlerin varlığının biyokimyasal veya genetik olarak belirlenebildiğini, *P. syringae*'nin toksin üretmeyen strainlerinin yapraklar üzerinde normal olarak kolonize olabildiğini ancak, herhangi bir symptom oluşturmadığını, toksinlerin bitki enzim aktivitesinin inhibitörü olduğu belirtmektedirler. *P. s. pv. syringae* strainlerinin çoğunluğu bir cyclic lipodepsinonapeptide toksin olan ve konukçu bitkilerde nekrotik symptomlara neden olan syringomycin üretmektedirler (Gross 1991). Syringomycin üretimi yönüyle mutasyona uğramış yabancı strainlerin %35'inde virulanslığın azaldığı tespit edilmiştir (Quigley *et al.* 1993). Yapılan bir diğer çalışmada ise syringomycinin üretimini kodlayan genin *syrP* olduğu ortaya çıkarılmış olup, üretilen bu toksinin virulanslığın belirlenmesinde önemli rol oynadığı belirtilmektedir (Zhang *et al.* 1997). Enfekteli bitkilerde yağlımsı sulu lekelerin oluşumu ile ilişkisi olduğu belirtilen alginat'e'nin ise kromozomun 18 kb'lik bölgesindeki genler tarafından sentezlendiğı bildirilmiş olup, bu genlerin virulanslıkla ilişkisi saptanamamıştır (Vazquez *et al.* 2000). Yapılan bir çalışmada 16 farklı konukçudan izole edilen 81 *P. s. pv. syringae* straininin leylak ve armut bitkisi ve fasulye kabuğı üzerinde suni inokulasyon yöntemiyle yapılan patojenisite testleri sonucunda; toplam 81 strain arasından 55'i leylak bitkisinde nekrotik lezyonlara, diğer konukçulardan izole edilen toplam 52 strainden sadece 8'i ve

fasulyeden izole 1 strainin fasulye kabuğu üzerinde tipik su emmiş gri renkli lezyonlara, sadece armuttan izole edilen strainlerin hepsinin armut bitkisinde nekrotik lezyonlara sebep olduğu ancak, diğer konukçulardan izole edilen strainlerin armut bitkisinde ya hiç semptom oluşturmadığı ya da inokulasyon noktasında çok zayıf reaksiyonlara sebep olduğu belirtilmekte olup fasulye ve armut bitkisinden izole edilen *P. s. pv. syringae* strainlerinin konukçu spesifikliğı gösterdiği belirtilmiştir (Yessad-Carreau *et al.* 1994).

Fitopatojen bakterilerin tanılanmasında geçmişte tamamen klasik yöntemler kullanılırken, günümüzde çoğunlukla moleküler yöntemler tercih edilmektedir. Bu amaçla serolojik metodlar, PCR ve MIS sistemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Fitobakteriyolojide serolojik çalışmaların çok eskiye dayandığı ve ilk antiserum üretiminin 1912'de Ziphel tarafından gerçekleştirildiğı bildirilmektedir (Saygılı 1995). O günden bu güne kadar bir çok bakteri türü için spesifik poliklonal antiserumların ve/veya duyarlılığı ve seçiciliğı daha fazla olan monoklonal antikorların üretildiğı ve rutin testlerde kullanıldığı gözlenmektedir.

Ülkemizde bu alandaki çalışmalar çok da yeni olmayıp, Türkoğlu ve Öktem (1976) ateş yanıklığı hastalığı etmeni *E. amylovora*'nın tanılanmasına yönelik yapmış oldukları bir çalışmada, tavşan kanından elde ettikleri antiserumun 1/20 oranına kadar sulandırıldıktan sonra bile lam aglütinasyon metodu ile bu patojenin tanısında kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Poliklonal antiserumlar ile yapılan serolojik testlerde *E. amylovora* strainleri arasında büyük oranda bir benzerlik tespit edilmiştir (Van der Zwet and Keil 1979).

Uzun yıllar immunofluorescence staining ve ELISA tekniklerinde poliklonal antiserumlar kullanılmış ancak, *E. amylovora*'nın yumuşak çekirdekli meyvelerden izole edilen diğer epifitik bakterilerden ya da diğer patojenik bakterilerden açık olarak ayırt edilemediğı görülmüştür (McLaughlin *et al.* 1989). Lin *et al.* (1987), *E. amylovora*'nın antijenlerine karşı spesifik reaksiyon gösteren 10 monoklonal antikor saptamış ve tanıda kullanmışlardır. Son yıllarda serolojik çalışmalarda, farklı bitki patojeni prokaryotların tanı ve teşhisinde daha kullanışlı ve poliklonal antiserumlardan

daha duyarlı olan monoklonal antikolar kullanılmaya başlanmıştır (Klopmeier and Kelman 1988, McLaughlin *et al.* 1989).

Son yıllarda patojenlerin tür, alt tür ya da patovar düzeyinde taksonomik gruplarının belirlenmesinde kullanılacak antijenler üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Nitekim toplam 49 pathovarı olan *P. syringae* strainlerinin hücre duvarındaki lipopolisakkaritler izole edilerek serolojik gruplamada pathovarların ayırt edilmesinde kullanılmış ancak başarılı olunamamıştır (Young *et al.* 1991, Guillorit-Rondeau *et al.* 1996). Başlangıçtaki serolojik çalışmalar, *P. syringae*'nin hücre duvarındaki lipopolisakkaritlerde bulunan ve dominant bir antijen olan Q-antijenine yönelik olmuştur (Guillorit and Samson 1993). Ancak, daha sonraki çalışmalarda Q antijenine göre yapılan serolojik gruplandırmanın, aynı Q-serogruplarına ait başka patovarların da bulunması nedeni ile sınıflandırmada yetersiz olduğu anlaşılmıştır (Guillorit-Rondeau *et al.* 1996). Daha sonraki yıllarda *P. syringae* pathovarları ile yapılan çalışmalarda ise farklı pathovarlara ait strainlerin benzer antijenik özelliklerinden faydalanılarak serolojik gruplamalar yapılmıştır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada; *P. syringae*, *P. viridiflava* ve *P. cichorii* türleri için flagellar antijen spesifikliği araştırılmış, iki farklı flagellar serotip (H1 ve H2) tanımlanmıştır. *P. s. pv. aptata*, *P. s. pv. helianthi*, *P. s. pv. pisi*, ve *P. s. pv. syringae* serotip H1; *P. cichorii*, *P. s. pv. delphinii*, *P. s. pv. glycinea*, *P. s. pv. lacrymans*, *P. s. pv. mori*, *P. s. pv. morsprunorum*, *P. s. pv. persicae*, *P. s. pv. phaseolicola*, *P. s. pv. tabaci* ve *P. s. pv. tomato* serotip H2 olarak tanımlanmıştır (Guillorit-Rondeau *et al.* 1996). Aynı çalışmada *P. viridiflava*'nın her iki serotip özelliğinin yanı sıra tiplendirilemeyen bir flagellar özellik gösterdiği; *P. corrugata*, *P. fluorescens* ve *P. tolaasii* türlerinin ise H1 ve H2 serotip özelliği göstermediği tespit edilmiş ve bu türler Q serogruplarına da dahil edilememiştir.

*A. tumefaciens*'in biyolojik ve fizyolojik testler ile biovar düzeyinde tanılanması çok yoğun bir çaba ve aşırı zaman gerektirmektedir. Serolojik testler daha hızlı tanılama imkânı sağlamaktadır (Burr *et al.* 1987). Yapılan bir çalışmada *A. tumefaciens* strain B6'nın lipopolisakkaritlerinden elde edilen strain spesifik antijenin, diğer strainler ve farklı tür bakteriler ile reaksiyona girmediği belirlenmiştir (Bouzar *et al.* 1988). Bir

diğer çalışmada ise direk bitki materyali kullanılarak ELISA yöntemi ile AbF21-1D3G7C8 monoklonal antikor ile *A. tumefaciens* biovar 3'ün tanılabildiği belirtilmektedir. Ancak, bu yöntem ile biovar 3'ün tümör oluşturan yada oluşturmayan strainlerinin ayırt edilmesi mümkün olmamıştır (Bishop *et al.* 1989).

Bakterilerin sınıflandırılmasında kullanılan bir diğer metod ise hücre duvarındaki yağ asitleri profillerinin belirlenmesidir. Bakteriyel organizmaların tanısında kullanılmak üzere toplam 200'ün üzerinde yağ asidi türü kullanılmakta olup; bunlar doymuş, doymamış, hydroxy, cyclopropane, iso ve anteiso yağ asitlerini içermektedir (Roy 1988). Yağ asitleri ile bakterilerin tanınmasına yönelik çalışmalar 40 yılı aşkın bir süredir yürütülmektedir (Paisley 1995). Ancak, ilk defa 1980'li yıllarda MIDI inc firması tarafından ABD'de geliştirilerek hizmete sunulan bilgisayar kontrollü bir gaz kromatografi sistemi yardımı ile kültüre alınabilen her türlü mikroorganizmanın tanısında kullanılabilen Mikrobiyal identifikasyon sistem (Microbial Identification System=MIS) MIDI Sherlock Delawaore, USA) geliştirilmiştir. Bu sistem ile bakteriyel organizmalar alt tür düzeyinde bile tanılabilmekte ve birbirlerinden ayırt edilebilmektedir (De Boer and Sasser 1986). *E. cloacae*, *E. aerogenes* ve *E. agglomerans* türlerinin tür düzeyinde birbirlerinden ayırt edilmesinde cis-9 10-methyleneoctadecanoic asit, cis-9-hexadecenoic asit, octadecanoic asit ve dodecanoic asit piklerinin çok önemli olduğu belirtilmektedir (Robles *et al.* 1999). Ancak, yapılan literatür araştırmalarında *E. amylovora*'nın tanı ve karakterizasyonunda bu sistemin yaygın olarak kullanıldığına rastlanmamıştır.

Yağ asidi profillerine göre *P. syringae* patovaları da birbirlerinden ayırt edilebilmektedir. Dallanmış yada düz zincir asitleri, cyclopropane ve hydroxy asitlerin bulunup bulunmaması yada bulunuyorsa miktarları, *Pseudomonas* türlerinin birbirlerinden ayırt edilmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Wayne *et al.* 1972, Wayne *et al.* 1973). Örneğin, *P. s. pv. tomato*, *P. s. pv. populans*'da 17:0 cyclopropane'nin bulunmayıp diğer patovarlarda bulunması bu patovaların ayırt edilmesini mümkün hale getirmiştir (Roy 1988).

*Agrobacterium* cinsi bakterilerde tümör oluşumuna neden olan plazmitler hücre duvarı yağ asitleri profillerine etki etmediği görülmüştür (Roy 1988). Hücresel yağ asidi kompozisyonu esas alınarak birçok mikroorganizmada olduğu gibi *Agrobacterium* cinsinde de tanılama yapılabilmektedir. Cyclopropane yağ asitlerinin miktarına bağlı olarak *A. tumefaciens* bakterisi 3 biotip düzeyinde birbirinden ayırt edilebilmekte ve tanılabilmektedir (Jarvis *et al.* 1996).

Mikroorganizmaların rutin olarak tanılanması ve karakterizasyonunda kullanılan birçok metod vardır. Ancak, bilim adamları sürekli olarak moleküler metodları esas alan daha hızlı, duyarlı ve spesifik metodlar üzerine yoğunlaşmışlardır. *E. amylovora*'nın tanılanmasında; monoklonal antikörlerin kullanımını içeren serolojik teknikler ve seçici besi yerlerinin kullanımını içeren birçok teknik kullanılmakta ancak, patojenin bitki dokusunda çok düşük konsantrasyonlarda bulunması durumunda daha duyarlı olan moleküler tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır. Bakterilerin cins ve tür düzeyinde tanılanmasında son zamanlarda geliştirilen moleküler markırların kullanımına yönelik çok sayıda araştırma mevcut olup bu yolla birçok bitki patojeni bakteri tanılabilmektedir (Clark *et al.* 1993, Bereswill *et al.* 1995, McManus and Jones 1995a,b, Momol *et al.* 1997).

*E. amylovora*'nın tanılanmasında ilk olarak Beereswill *et al.* (1992), PCR yöntemini kullanmışlardır (Laurent *et al.* 1989). Bu metodta; *E. amylovora*'da yaygın olarak bulunan plazmid pEA29'u üzerine spesifik bir bölgenin amplifikasyonu esas alınmıştır. Bu bölgenin 0.9 kb'lik *Pst*I fragment G geni olduğu belirlenmiştir (Beereswill *et al.* 1993). Fakat daha sonraları McManus ve Jones (1995a) tarafından yapılan çalışmalarda *E. amylovora*'ya spesifik yeni bir PCR amplifikasyon bölgesi olan 1.1 kb'lik *Pst*I fragment F bölgesini belirlemişlerdir. Aynı araştırmacıların ilave çalışmalarında amplifiye edilen *Pst*I fragment F bölgesinin de tanılamada yeterince kullanışlı olmadığını belirtmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada; rep-PCR ve PCR-ribotyping teknikleri kullanılarak, genetiksel olarak akraba bitki türlerinden izole edilen *E. amylovora* strainlerinin, *Rubus* spp.'den izole edilen strainlerden ayırt edilebileceğini bildirilmektedir (McManus and Jones 1995b). 16S rRNA (16S rDNA)'yı esas alarak



*Erwinia* cinsinin filogenetik analizi üzerine son zamanlarda yayınlanmış çok sayıda çalışma mevcuttur (Maes and Garbeva 1994, Kwon *et al.* 1997 ; Hauben *et al.* 1998).

Daha önceleri patojenik fluorescent *Pseudomonas* strainleri, konukçu bitkilerdeki patojenitelerine göre tür düzeyinde sınıflandırılmakta iken; zamanla bu türler bitkilerdeki patojenitelerine göre patovar düzeyinde gruplandırılmıştır (Young *et al.* 1991). Bu sınıflandırma, *P. syringae* patovarlarının tanımlanmasında geniş bir kullanım alanına sahip olmakla birlikte, son 15 yıldır bazı sayısal (numerikal) taksonomi çalışanları, besin elementleri ve kimyasalların ayırt ediciliğini (Yessad-Carreau *et al.* 1994), yağ asidi (Stead 1992) ve protein (Van Zyl and Steyn 1990) profillerini esas almışlardır. Louws *et al.* (1994), rep PCR yöntemini kullanarak, diğer sınıflandırma metodları ile çok açık olarak ayırt edilemeyen *Pseudomonas* ve *Xanthomonas* tür ve patovarlarını daha basit, hızlı ve kullanışlı bir yöntem olan genomik parmak izi yöntemi ile belirleyebilmişlerdir. Yapılan bir çalışmada RFLP (restriction fragment length polymorphism) yöntemi ile, tütünde patojenik *P. syringae* strainlerinde *hrp* ve *argF* genlerinin korunduğu, konukçuya spesifik strainlerin yüksek düzeyde genetik benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Scholz *et al.* 1994). Bakteriler arasındaki genomik türleri belirlemek için, DNA-DNA hibridizasyon teknikleri standart metod olarak bilinmektedir. Bu teknik ile *P. syringae* türleri arasında 9 genomik tür belirlenmiştir (Gardan *et al.* 1995). Johnsen *et al.* (1996), klasik testler ve API 20NE'nin *P. syringae* strainlerinin sınıflandırılmasında güvenilirliği yüksek olan metodlar olduğunu ancak, Biolog GN ve Rep-PCR metodlarının en yüksek verimliliği olan metodlar olduğunu belirtmektedirler. Bu patojenin 50'nin üzerinde patovarının mevcut olduğu belirtilmekte (Young *et al.* 1991) olup, yapılan bir çalışmada; 14 restriksiyon enzimi kullanılarak RFLP yöntemi ile, ribozomları kodlayan RNA'lar için kodon teşkil eden *rrs* (16S), *rri* (23S) ve bu iki kodon arasında noncoding DNA dizisi olarak bilinen ve ITS1 olarak adlandırılan bölgelerin PCR amplifikasyonu sonucu elde edilen genetik profillere göre 30 patovar belirlenebilmiştir (Manceau and Horvais 1997). Bir başka çalışmada Eric, Rep, ve IS50-primerleri ile yapılan PCR amplifikasyonu sonucu bilinen bütün *P. syringae* patovarlarının düşük bir maliyetle belirlenebileceği ispatlanmıştır (Weingard and Völksch 1997).



*Agrobacterium* cinsindeki bakterilerin tür tanısı ise uzun süre fitopatogenik karakterleri esas alınarak yapılmıştır. Bu problem oluşturmaktadır çünkü; patojenite genleri Ti plazmidler üzerinde bulunmakta, patojen olan strainlerin plazmidlerini kaybedebildikleri ve patojen olmayan strainlerine aktarabildikleri, böylece strainlerin tür kategorileri Ti plazmidlerinin varlığına ya da yokluğuna bağlı olarak değişebildiği belirtilmektedir (Moore and Cooksey 1981). Yapılan bir çalışmada; *A. tumefaciens* biovar 1, 2, 3, ve *Agrobacterium rubi* türlerinin kromozomları ve plazmitlerinin amplifiye edilen DNA'larının RFLP yöntemi ile karakterize edilebildiği tespit edilmiştir (Ponsonnet and Nesme 1994). Ancak, aynı çalışmada 16S rDNA ve 23S rDNA arasındaki intergenik bölgede oldukça yüksek düzeyde bir polimorfizm olduğu ancak, türlerden ziyade strainlerin gruplandırılmasında amplifiye edilen 16S rDNA'nın analizi ile birbirlerinden belirgin olarak ayırt edilebilen profiller elde edildiği belirtilmiştir. Sonuç olarak ; RFLP metodunun konjugatif Ti plazmitlerin ve strainlerin birbirlerinden bağımsız olarak tanılanmasında kullanışlı olduğu görülmüştür.

Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen bakteriyel hastalıklardan özellikle, ateş yanıklığına karşı mücadelede kimyasal mücadele, dayanıklı çeşit, kültürel önlemler ve biyolojik mücadele alanlarında da çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bitki hastalıkları ile kimyasal mücadele yapılırken gerek ilaç türü, gerek ilaçlama zamanı, gerekse ilaçlama dozu dikkat edilmesi gereken önemli konulardır. Fitopatogen bakteriyel organizmalara karşı koruyucu bakterisitlerin, çiçeklenme döneminin başlaması ile 5 gün aralıklarla yapılması tavsiye edilmektedir (Bayot and Ries 1986). Yapılan bir çalışmada ateş yanıklığı hastalığı görülen armut ve ayvalarda çiçeklenme süresince 5 gün ara ile 7 ilaçlama yapılmış, bakır oksiklorür ve maneb karışımı, fitotoksiteler neden olmadan kontrole göre %82.47 etkili bulunmuş, amonyaklı bakır sülfatın kontrole göre etkisi ise %61.04 olarak belirlenmiştir (Momol vd 1991). Ülkemizde bakteriyel hastalıklara karşı genelde bakırlı preparatlar (%2'lik bordo bulamacı) tavsiye edilmekte ancak, bunun çiçeklenme periyodunda ve yağışlı havalarda kullanıldığında fitotoksik etki yapabildiği belirtilmektedir (Benlioğlu ve Özakman 1992). Ateş yanıklığı ile mücadelede bitki besin elementlerinin de önem arz ettiği, büyüme sezonunda nitrojenli gübre uygulamasından kaçınılması gerektiği, bakır terkipli fungusitlerin ve antibiyotiklerden

streptomisin uygulamasının etkili bir kontrol sağladığı belirtilmektedir (Watkins 1992). Başka bir çalışmada ise; ateş yanıklığı hastalığına karşı bazı kimyasalların *in-vitro*'da ve armut meyve parçacıkları üzerinde etkinlikleri test edilmiş, *in-vitro*'da en iyi aktiviteyi Streptomisin gösterirken bunu Tri-Miltax (bakır tuzları+Maneb) takip etmiştir. Aliette (Phosetyl-Al)'nin ise fazla bir etkisinin olmadığı görülmüştür (Saygılı and Üstün 1996).

*P. s. pv. syringae* ile kimyasal mücadelede ise; patojenin dormant halde bulunduğu dönemde ağaçların bakırlı ilaçlarla ilaçlanması önerilmekte ancak, son yıllarda patojenin bu tür ilaçlara karşı dayanıklılık oluşturduğu belirtilmektedir (Mansvelt and Hattingh 1986a). Ellis ve Madden (2000), *P. s. pv. syringae*'nin streptomisine dayanıklı ırklarının mevcut olduğunu, streptomisin-fosetyl-Al kombinasyonu uygulanmasının hastalığın kontrolünde daha etkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Acı benek hastalığı ile mücadelede kimyasal mücadele tavsiye edilmemekte olup daha az duyarlı çeşitlerin yetiştirilmesi önerilmektedir (Boom and Fisher 1989). *P. s. pv. papulans*'ın mücadelesinde petal yaprakların dökülmesinden sonra en geç iki hafta içerisinde ilk, daha sonrada birer hafta aralıklarla iki kez yapılacak antibiyotik uygulamasının hastalığı önleyebileceği ancak, birkaç yıl süreyle yapılacak kesintisiz antibiyotik uygulamasından sonra patojenin dayanıklı strainlerinin gelişebileceği düşünülmektedir (Van der Zwet *et al.* 2001). Kök kanserine ve saçak kök oluşumuna karşı ise kimyasal mücadelenin önerilen bir mücadele yöntemi olmadığı, daha çok kültürel uygulamalara ağırlık verilmesi gerektiği bildirilmektedir (Moore and Cooksey 1981). Mansvelt ve Hattingh (1986a,b), kök kanseri hastalığı ile mücadelede toprak fumigasyonunun hastalığı önlemede etkili olmadığı, hatta gal oluşumunu hızlandırdığını belirtmektedirler.

Kimyasal mücadelenin en önemli dezavantajlarından birisi de patojenlerin zamanla dayanıklılık kazanmasıdır (Loper *et al.* 1991). Streptomisin başta ateş yanıklığı olmak üzere birçok bakteriyel bitki hastalığını kontrol etmek için kullanılmaktadır ancak, birçok bitki patojenlerinin bu antibiyotiğe karşı dayanıklılık kazandığı gözlenmiştir

(Loper *et al.* 1991). *E. amylovora*'nın streptomisine dayanıklı strainlerinin varlığı, ilk olarak 1971 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde kaydedilmiş olup, daha sonra farklı bölgelerde de rapor edilmiştir (Chiou and Jones 1991, Loper *et al.* 1991). Streptomisine karşı *E. amylovora*'nın dayanıklılık genlerinin kaynağını tespit etmeye yönelik çalışmalarda iki mekanizmanın mevcut olduğu; bunlardan birisinin kromozomal, (Schroth *et al.* 1971) diğeri ise plazmid orijinli olduğu belirtilmektedir (Chiou and Jones 1991). *P. s. pv. syringae* (Sundin and Bender 1993), *E. amylovora* (Chiou and Jones 1993) ve *P. s. pv. populans*'ın (Jones *et al.* 1991) farklı strainlerinde streptomisine dayanıklılığın kaynaklarından birisinin de *strA-strB* aminoglycoside phosphotransferase geni olduğu belirlenmiştir.

Streptomisine dayanıklılığı kontrol eden genler açısından farklı *E. amylovora* strainleri arasında izolasyon bölgelerine göre farklılıklar olduğu saptanmıştır. Kaliforniya ve Washington'dan izole edilen *E. amylovora* strainlerinde streptomisine karşı dayanıklılığa rastlanır iken, New York'tan izole edilenlerde rastlanmamış, Michigan'da ise 19 bahçeden alınan örneklerden sadece bir bahçeden izole edilen strainlerde rastlanmıştır (Chiou and Jones 1991). New York'ta 38 farklı bahçeden, ateş yanıklığı simptomu sergileyen armut ve elmadan izole edilen toplam 357 izolasyon arasında *E. amylovora*'nın streptomisine dayanıklı strainlerine rastlanmaz iken, dört bahçeden alınan elma örneklerinden izole edilen oksidaz pozitif ve oksidaz negatif *Pseudomonas* spp. ve *P. agglomerans* strainlerinde streptomisine dayanıklılık tespit edilmiştir (Burr *et al.* 1993). Demir ve Gündoğdu (1993), yapmış oldukları bir çalışmada; Türkiye'de farklı konukçu ve farklı bölgelerden izole ettikleri 595 *E. amylovora* strainlerinin, streptomisin sülfat'a karşı minimum inhibasyon konsantrasyonunun 2-10 µg/ml olduğunu; bahçe şartlarında armut çiçek tomurcuklarına yüksek dozlarda Cupravit (Copper oxychloride), Copac E (Cupra ammonium), Aliette (phosetyl-aluminium) ve Agrimicina (streptomisin) uygulamasının tomurcuk enfeksiyonlarını önlemede başarılı olduğunu tespit etmişlerdir.

Yapılan bir başka çalışmada; Amerika Birleşik Devletleri'nde Michigan'da sekiz meyve bahçesinden izole edilen toplam 152 strain gram negatif bakterinin %97'sinde

streptomisine dayanıklılık tespit edilmiş olup, bu bakteriler arasında *P. syringae* patovaryları, *P. fluorescens*, *P. aeruginosa*, *P. putida*, *E. amylovora* ve *E. herbicola* türleri ve *Acinetobacter*, *Aeromonas* ve *Flavobacter* cinslerine dahil birçok türde bulunduğu belirtilmiştir (Sobieczewski *et al.* 1991). Scheck *et al.* (1996) yapmış oldukları bir çalışmada; Amerika'nın Pasifik Kuzeybatı'sında Willamette Vadisi, Oregon ve Washington'da farklı odunsu bitkilerden 1982-1983 yılları arasında izole edilen 192 *P. syringae* straininin %25'inin bakıra dayanıklı ve streptomisine hassas, %7'sinin bakıra hassas streptomisine dayanıklı olduğunu, bakır ve streptomisine dayanıklı ırka rastlanmadığını, %68'inin bakır ve streptomisine hassas olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, 1992-1993 yılları arasında izole edilen 467 *P. syringae* straininin %24'ünün bakıra dayanıklı ve streptomisine hassas, %6'sının bakıra hassas streptomisine dayanıklı, %24'ünün bakır ve streptomisine dayanıklı, %46'sının ise bakır ve streptomisine hassas olduğu tespit edilmiştir.

Acı benek hastalığının etmeni olan *P. s. pv. populans*'da da streptomisine dayanıklılık tespit edilmiş olup, dayanıklılık genlerinin konjugatif plazmitlerde mevcut olduğu belirtilmiştir (Burr *et al.* 1988, Norelli *et al.* 1991).

Bitki hastalıkları ile mücadelede önem arz eden yöntemlerden birisi de dayanıklı bitki varyetelerinin geliştirilmesidir. Yumuşak çekirdekli meyvelerde görülen bakteriyel hastalıklarla ilgili olarak yapılan dayanıklılık çalışmalarının büyük bir çoğunluğu ateş yanıklığına yöneliktir. Kanada'da yapılan bir ıslah çalışmasında; ateş yanıklığına mukavim ve yüksek kaliteli çeşitlerin elde edilmesi amaçlanmıştır; *Pyrus communis*, *P. ussuriensis*, *P. pyrifolia*'dan elde edilen seleksiyonları ve çeşitleri içine alan çok sayıda dayanıklı çeşitler kullanılmıştır. Dayanıklılar; Seckel, Waite, Maxine, Old Home, Farmingdale ve Kieffer çeşitlerinden veya *P. ussuriensis* '76' ve *P. pyrifolia* 'pj-1' gibi tür seleksiyonlarından elde edilmiştir. *P. communis*'in arzu edilen meyve karakterlerinin elde edilmesi için, selekte edilen çeşitler özellikle Bartlett ile geriye çaprazlanmıştır. Bu çalışmalar sonucunda ateş yanıklığına yüksek seviyede dayanıklılık gösteren ve tescil ettirilen 3 seleksiyondan Harrow Delight ve Harvest Queen 1981'de Harrow Sweet ise 1990'da pazara çıkarılmıştır (Hunter 1993). ABD'de elma anaçlarının ateş yanıklığına

karşı mukavemetinin genetik mühendisliği ile artırılmasına yönelik birçok araştırma mevcuttur. Ateş yanıklığına karşı en iyi armut ebeveynlerini tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada 21 karşılıklı kombinasyondan yaklaşık 4000 çöğür elde edilmiş ve her çöğürde 6 sürgün *E. amylovora* ile inokule edilmiş ve her yaz nekroz gelişimi izlenmiştir. Standart çeşitlerden Bartlett, Max Red Barlott, Coscia, Bella di Giugno ve Stark Delicious'un iyi meyve kalitesine sahip ancak, düşük mukavemet gösteren çeşitler olduğu, Nain Vert'in ise bodur ve son derece hassas bir çeşit olduğu tespit edilmiştir (Bagnara *et al.* 1993). Aynı çalışmada her şeye rağmen bu standart çeşitlerin oldukça mukavim döller verdiği ve bu yolla iyi meyve kalitesine sahip ebeveynlerden, ateş yanıklığına mukavim olanların ıslah ve selekte edilmesinin mümkün olduğu belirtilmektedir. Yapılan bir diğer çalışmada; bakteriyel hücreleri parçalayan proteinleri şifreleyen genleri elma anaçlarına transfer etmek ve *E. amylovora*'ya karşı mukavemet kazanmış transgenik hatları selekte etmek amacıyla, M7 anacının lytic proteinleri (bakterileri parçalayan) içeren genlere sahip 172 transgenik hattı elde edilmiştir. Bu hatlardan 51 tanesi attacin E, 98 tanesi cecropin SB-37, 18 tanesi cecropin Shiva-1 ve 5 tanesi de lysozyme genini içermektedir. Buna ilaveten pBI 121 plazmid vektörler aracılığıyla lytic proteinleri içermeyen genlerin taşındığı 15 adet M7 hattı selekte edilmiştir. M7 anacına bakterileri parçalayan proteinleri şifreleyen attacin E geni transforme edilmiş ve T1 transgenik elma anacı elde edilmiştir. Yapılan tarla denemelerinde T1 anacının transforme olmamış M7 anaçlarına ve bu geni taşımayan transgenik M7 anaçlarına oranla ateş yanıklığına son derece dayanıklı olduğu gözlenmiştir. M7 transgenik anacı lytic protein genlerinin etkisini belirlemek amacıyla kullanılmaktadır fakat ticari değeri çok düşüktür. Lytic proteinleri bulandıran transgenik M26 ve M9 anaçlarının üretimi üzerine çalışmalar devam etmektedir (Norelli *et al.* 1996).

Gen aktarımı yoluyla transgenik bitki varyeteleri elde edilerek, bazı hastalıklara karşı dayanıklılık kazandırılabilceği de son yıllarda üzerinde önemle durulan konulardandır. Birçok bitkideki lytic proteinlerin anti bakteriyel rol oynadıkları bilinmektedir (Mourgues *et al.* 1998). Yapılan bir çalışmada, Cecropia güvesinin (*Hyalophora cecropia*) hemolinimflerinin ürettiği oldukları attacin proteinlerinin üretiminden

sorumlu *attacin E* genlerinin bazı armut varyetelerine aktarılarak elde edilen transgenik armutların, ateş yanıklığına karşı dayanıklılık kazandığı tespit edilmiştir (Reynoird *et al.* 1999).

Gerek seleksiyon ile gerekse gen aktarımı yolu ile birçok yumuşak çekirdekli meyve ağacı varyetesi geliştirilmiştir. Van der Zwet *et al.* (1988) ise, bu hastalığa karşı; armutlarda anaç olarak Old Home, O4I/Farmingdale hibridi ve *Pyrus calleryana*; çeşit olarak ise Ayers, Magness, Maxine ve Orient'i önermektedir. Bir başka çalışma ile; Jonathan, Rome Beauty ve Yellow Transparent elma çeşitlerinin ve Bartlett ve Forelle armut çeşitlerinin ateş yanıklığına karşı oldukça duyarlı çeşitler olduğu belirtilmektedir (Watkins 1992). Bagnara *et al.* (1993) ise bu hastalığa karşı; Avrupa'da en hassas elma çeşitlerinin Braeburn, Cox, Gala, Gloster, Idared, James Grieve, Jynagold, Jonathan ve McIntosh olduğunu en hassas armut çeşitlerinin ise Beurre Bose, Beurre Durondeau, Comice, Conference, Elsa, Passe Crassane ve Williams olduğunu belirtmektedirler. Anonymous (2000a)'da ateş yanıklığına karşı; Jonathon, Red Delicious, Gala, Pink Lady elma çeşitlerinin duyarlı, Delicious, Golden Delicious, Stayman Winesap elma çeşitlerinin ve M4, M7 ve MM111 elma anaçlarının ise az duyarlı olduğu; ayrıca çoğu armut çeşitlerinin duyarlı olmakla beraber OHF333 armut anaçlarının oldukça dayanıklı, quince BA29 ayva anaçlarının duyarlı ve quince C'nin ise çok duyarlı olduğu belirtilmektedir. Türkiye'de ise Demir ve Gündoğdu (1993)'nun yapmış oldukları bir çalışmada duyarlı armut çeşitleri olarak Williams, Santa Maria, Coscia, Morettini, Abbe Fetel, June Beauty, Doyenne de comice, Passa crassane, Beurre Hardy, Akça, Mustafa Bey, Ankara ve Hacı Hamza; kısmen dayanıklı armut çeşitleri olarak Duchese d'Angouleme, Beurre Clairgeau, Marguerita Marillant, Starkrimson, Çermai, Migrik 2106 Tezeren, Lemon, Dr. Juliet Guyor ve Wilder; duyarlı elma çeşidi olarak Sport Golden; kısmen dayanıklı elma çeşidi olarak Starkspur Golden, Golden Delicious, Auvil spur, Mutsu, Zanzavia, Grany Smith, Starkrimson Delicious, Kaşel series, Aksaki, Amasya misket ve Starking Delicious; dayanıklı elma çeşidi olarak ise Red Spur, Starkearliest ve Staymared'i belirlemiş olup, özellikle Santa Maria, Williams, Coscia, Mustafa Bey ve Rıza Bey armut çeşitlerinin; Rome Beauty, Sport Golden ve Dalbastı elma çeşitlerinin ve İstanbul ayva çeşidinin *E. amylovora* ile şiddetli bir şekilde



enfekte olduğunu tespit etmişlerdir. Türkiye’de yapılan bir başka çalışmada ateş yanıklığına karşı 15 elma 22 armut ve 5 ayva çeşidinin duyarlılığı test edilmiş; Sport Golden elma çeşidi, Abbefetel armut çeşidi ve İstanbul ayva çeşidi en duyarlı çeşitler olduğu gözlenmiştir (Demir ve Gündoğdu 1991). Oldukça yaygın yetiştirilen Santa Maria çeşidi ile kurulan bahçelerin iki yıl gibi kısa bir sürede bu hastalıktan dolayı tamamen yok olduğu belirtilmektedir (Demir ve Gündoğdu 1991, Momol vd 1992).

Van der Zwet ve Beer (1995a,b), elma ve armut çeşitlerinin *E. amylovora*’ya karşı duyarlılık ve dayanıklılığı aşağıdaki şekilde sınıflandırmışlardır: Aşırı duyarlı elma çeşitleri: Barry, Ben Davis, Braeburn, Burgundy, Fuji, Gala, Ginger Gold, Granny Smith, Idared, Jonagold, Jonathan, Lodi, Mursu (Crispin), Niagar, Nittany, Raritan, Red Yorking, Rhode Island Greening, Rome Beauty, Spigold, Starr, Twenty Ounce, Yellow Transparent ve York Imperial; duyarlı elma çeşitleri: Baldwin, Beacon, Cortland, Earligold, Gloster, Golden Delicious, Grimes Golden, Gravenstein Holly, Jersey mac, Jonamac, Julyred, Macoun, Maiden Blush, McIntosh, Milton, Mollies Delicious, Monroe, Northern Spy, Puritan, Quinte, Redfree, Scotia, Spartan, Spijon, Starkspur Earliblaze, Stayman, Summer Rambo, Summerred, Wayne, Wealthy ve Winesap; dayanıklı elma çeşitleri: Arkansas Black, Britemac, Carroll, Delicious, Early McIntosh, Empire, Jamba, Liberty, Melba, Northwestern Greening, Priscilla, Stark Bounty, Stark Splendor, Turley, Viking ve Wellington; aşırı duyarlı armut çeşitleri: Barlett, Clapp’s Favorite, Flemish Beauty, Gorham, Hardy, Sheldon ve Winter Nelis; duyarlı armut çeşitleri: d’Anjou, Comice, Douglas, Duchess, Ewart, Garber, Lincoln ve Seckel; dayanıklı armut çeşitleri: Kieffer, LeConte, Magness, Maxine, Moon Glow, Starking Delicious, Tyson ve Waite’dir.

Türkiye’de de ateş yanıklığına karşı dayanıklı ve duyarlı çeşitlerin belirlenmesine yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ticari armut çeşitlerinden *E. amylovora*’ya karşı Ankara’nın en dayanıklı, Santa Maria’nın ise en hassas çeşit olduğu ayrıca, Williams, Coscia, Mustafa Bey ve Rıza bey’in de hassas çeşitler arasında yer aldığı belirtilmektedir (Momol and Yeğen 1993). Aysan *et al.* (1994) Lemon, Kieffer ve Hacı Hamza armut çeşitlerinin zayıf duyarlı; Ankara, Mustafa Bey ve Akça’nın orta derecede



duyarlı; Migirik, Williams, Çermai ve Laleliye'nin ise yüksek derecede duyarlı olduklarını bildirmektedirler. Tokgönül (1994) ise, Yuvarlak Çukurgöbek (E. tip-1), Akko XIII, Tozo, Armut Şekilli, Yuvarlak Çukurgöbek (E. tip-2), Tanaka (Alanya), M. Maire, Yuvarlak Çukurgöbek (E. tip-4), Kanra, St. Mitchel, Uzun Çukurgöbek, Baffico, Ottovianni, Hafif Çukurgöbek, Wiktor, Dr. Tarabut, Gold Nugget ve Sobü Oval loquat çeşitlerinin ateş yanıklığına karşı çok duyarlı olduğunu belirtilmektedir. Mirik (2000), yapmış olduğu bir çalışmada ise; ateş yanıklığına karşı Amasya'da yetiştirilen armut çeşitlerinden Santa Maria ve Williams'ın en hassas çeşitler olduğunu ve bunları Mustafabey, Akça ve Ankara armut çeşitlerinin izlediğini, en dayanıklı çeşidin ise Keklik çeşidi olduğunu belirtmektedir. Ayva çeşitlerinden Eşme ve Ekmek duyarlı bulunmuştur. Aynı çalışmada Tokat'ta yetiştirilen Williams, Santa Maria ve Akça armut çeşitleri hastalığa karşı en hassas çeşitler olarak belirlenmiş bunları Mustafabey ve Ankara çeşitlerinin izlediği belirtilmiştir. En dayanıklı çeşit olarak Gyaver olarak adlandırılan Keiffer çeşidi görülmüştür. Ayva çeşitlerinden Eşme, Ekmek ve Limon dayanıklı çeşitler olarak belirlenmiştir. Hem Amasya hem de Tokat'ta yapılan gözlemlerde elma çeşitlerinden Golden Delicious ve Starking Delicious daha dayanıklı bulunurken, bu çeşitleri Misket takip etmiştir. Fakat yerel Yaz Elması (Alyanak) ve Stark Earliest çeşitleri hastalığa çok duyarlı bulunmuştur. Callery armut çeşidinin ateş yanıklığına dayanıklı olduğu halde *E. stewarti*'nin sebep olduğu bakteriyel yanıklığa karşı hassas olduğu belirtilmektedir (Pataky 2000).

Özellikle ateş yanıklığı gibi çok tahripkar hastalıklara karşı mücadelede hassas gruba giren çeşitlerin yetiştiriciliğinin ekonomik olmadığı, orta derecede mukavemet gösterenlerin ise bakteriyel ilerleme veya doku ölümlerinin ön tahmin sistemine göre uygulanan kimyasal kontrol ve kültürel tedbirler ile hastalığın derecesinin azaltılabileceği belirtilmektedir (Maroofi and Mostafavi 1996). Tomurcuk yanıklığı hastalığının daha çok Malling 9 (*Malus domestica* Borkh)'un anaç olarak kullanıldığı elmalarda şiddetli zarara sebep olduğu belirtilmektedir (Jones and Aldwinckle 1991). Acı benek hastalığı ile mücadele açısından da dayanıklı çeşitlerin kullanımı önemlidir. Yeni bahçeler tesis edilirken Mutsu varyetesinin kullanılması önerilmez iken, meyvelerin tam gelişme dönemlerinde de aşırı sulamadan kaçınılması gerekmektedir

(Boom and Fisher 1989). Yine aynı araştırıcı, yoğun populasyon oluşturmuş Mutsu varyetesi dikilmiş elma bahçelerine yakın olan Rome Beauty, Puritan, Cortland, Red Delicious ve Golden Delicious varyetelerinde de simptom oluşabileceğini belirtmektedir. Bu hastalığın Amerika Birleşik Devletleri'nde Mutsu (Crispin) elma varyetelerinde önemli kayıplara sebep olduğu belirtilmekte, Fuji ve RedCort varyeteleri üzerinde de son zamanlarda azda olsa görölmesine rağmen Mutsu dışındaki varyetelerde ekonomik anlamda zarar vermediği kaydedilmektedir (Burr and Hurwitz 1981). Kabuk kavlaması hastalığının Starkrimson, Top Red Delicious, Oregon Spur, Redchief ve anaç olarak Merton 793 elma varyetelerinde büyük zararlara neden olduğu Golden Delicious, Granny Smith, Smoothee ve Starking Delicious elma varyetelerinde şiddetli enfeksiyon olmasa da benzer simptomlar oluşturduğu vurgulanmaktadır (Jones and Aldwinckle 1991). Kök kanserine karşı hassas konukuların başında elma ve armudun yer aldığı, Malling 7, 9 26 elma varyetelerinin bu hastalığa karşı diğer varyetelerden daha duyarlı olduğu belirtilmektedir (Moore and Allen 1986).

Dayanıklı ve duyarlı çeşitlerin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda, aynı çeşidin bir çalışmada dayanıklı olarak belirlenmesine karşılık bir diğer çalışmada duyarlı olarak belirlendiği veya bunun tersinin olabildiği görölmemtedir (Norelli *et al.* 1987). Yapılan bir çalışmada bazı *E. amylovora* strainlerine aşırı dayanıklı olan elma çeşitlerinin bazı strainlere karşı duyarlı olabileceği, bu yüzden dayanıklılık değerlendirmeleri yapılırken bu bakterinin strainler arasında virulanslık farkının olabileceği dikkate alınması gerektiği bildirilmektedir (Norelli *et al.* 1987). Ateş yanıklığı etmeni *E. amylovora* strainleri arasında race (ırk) spesifik virulanslığın olduğunu belirten birçok çalışma vardır (Norelli *et al.* 1984, Norelli *et al.* 1986, Norelli *et al.* 1987). Yapılan bir çalışmada; *E. amylovora* strain Ea 273'ün birçok elma çeşidinde patojen olduğu ancak, Quinte, Ottawa 523'de hastalık oluşturmadığı, strain Ea 266'nın ise Novole ve *Malus X robusta* No.5'de ya hastalık oluşturmadığı ya da çok zayıf enfeksiyon oluşturduğu belirtilmektedir (Norelli *et al.* 1988). Schwartz *et al.* (1991), birçok bitki patojeni bakterinin virulanslığında toksik maddelerin rol oynadığını *P. syringae*'nin toksin üretmeyen strainlerinin yapraklar üzerinde normal olarak kolonize olabildiğini ancak, herhangi bir simptom oluşturmadığını belirtmektedirler. Aynı araştırıcılar; *E.*

*amylovora*'nın üretmiş olduğu L-2,5-dihydrophenyl-alanine'nin bir virulanslık faktörü olduğunu belirtmektedirler. Patojenik *P. syringae* patovarylarının sebep olduğu birçok hastalıkta; coronatine (COR) fitotoksininin virulanslık faktörü olarak rol oynadığı belirtilmiştir (Sato *et al.* 1983). Daha sonra yapılan bir çalışmada ise; Coronatine fitotoksininin konukçuya duyarlı olmayıp coronafacic asit ve coronamic asitten meydana geldiği ve üretiminin sıcaklığa duyarlı olduğu belirtilmektedir (Bender *et al.* 1996).

Genel olarak bakteriyel hastalıklara karşı kimyasal mücadele tek başına yeterli olmamakta, kimyasal mücadele ve kültürel tedbirler kombine olarak yürütülmektedir. Hastalıklı ağaçların enfekteli dalları ve sürgünleri durgun dönemde enfeksiyon noktasının en az 20 cm altından sağlam kısımdan kesilmeli, hastalıklı dal ve sürgünler toplanıp uygun bir yerde yakılarak imha edilmeli ve budamada kullanılan aletler mutlaka dezenfekte edilmelidir (Benlioğlu ve Özakman 1992). Kültürel önlemlerden budama; bakteriyel hastalıklar için üzerinde önemle durulması gereken bir yöntem olup, bakteriyel hastalıklara karşı budamanın tek başına şiddetli hastalık koşullarında dahi, hastalığın ilerlemesini durdurmak için yeterli olduğu belirtilmektedir (Van der Zwet and Keil 1979). Aynı araştırmacılar, zayıf gelişen yumuşak sürgünlerin bir epidemide ateş yanıklığına çok hassas olduğunu belirtmektedirler. Düşük azot ve yüksek potasyum seviyesinin, bunun tam tersi kombinasyona göre daha az ateş yanıklığına neden olduğu ve hücreler arası nem arttıkça, ateş yanıklığına hassasiyetin de arttığı vurgulanmaktadır (Momol 1990). Bu hastalığa, gelişmenin yavaş olduğu fakir topraklara göre zengin topraklarda daha sık rastlandığı, ağır topraklarda ve yer altı su seviyesinin yüksek olduğu yerlerde daha fazla ateş yanıklığı görüldüğü ve meyve bahçelerinin kurulacağı yer seçiminde drenajı iyi toprakların tercih edilmesinin gerektiği belirtilmektedir (Momol 1990). Tokgönül ve Başpınar (1995) yaptıkları bir çalışmada; ateş yanıklığı hastalığı ile mücadelede bakırlı ilaçların ve budamanın etkisini araştırmışlar; hastalığa duyarlı olduğu bilinen Santa Maria armut çeşidinin bulunduğu bahçelerde yapılan çalışmalarda bakırlı preparatların etkilerinin %30.6 ile %69.74 arasında, yalnız budamanın ise %62.47 oranında hastalığı önlediğini kaydetmişlerdir.

Aysan ve Çınar (1991), yapmış oldukları bir diğer araştırmada ise; turuncgillerde dal yanıklığına da sebep olan *P. s. pv. syringae*'nin kurumuş yapraklarda bile 9 ay canlı kalabildiklerini tespit etmişlerdir. Malvick ve Moore (1988), aynı bölgede akçaağaç, armut ve bu bitkiler altında bulunan çimlerden izole ettikleri epifitik *P. syringae* strainlerinin patojenite testleri sonucunda, akçaağaçlardan izole edilen strainlerin %87'sinin akçaağaçta, armutlardan izole edilen strainlerin %15'inin armutlarda patojenik olduğunu, çimlerden izole edilen strainlerin %55'inin akçaağaçta, %29'unun ise armutta patojen olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu sonuca dayanılarak çim ve akçaağaç gibi bazı odunsu bitkilerin patojen *P. syringae* bakterisinin iyi bir inokulum kaynağı olduğunu belirtmektedirler. Bu da bakteriyel hastalıklarla kültürel mücadelede yabancı ot ve alternatif konukçu mücadelesinin de önem arz ettiğini göstermektedir.

Kök kanseri ve saçak kök hastalıklarına karşı mücadelede kültürel önlemler hastalığın önlenmesi açısından büyük önem arz etmektedir. Organik madde miktarı ve pH gibi toprak faktörleri de gal oluşumu üzerine etkili olmaktadır. Hastaliksız fidan kullanılmalı, kurulacak meyve bahçeleri iyi drenaj edilmiş topraklarda kurulmalı, dayanıklı çeşitler tercih edilmeli, özellikle de kök bölgelerinde yara açılmamasına özen gösterilmeli, mümkünse kuyu suyu ile sulama yapılmalıdır (Jones and Aldwinckle 1991). Mansvelt ve Hattingh (1986a,b) ise, sanitasyon ve bazı kültürel uygulamaların, kök kanseri hastalığı ile mücadelede önem arz ettiği, toprak fumigasyonunun hastalığı önlemede etkili olmadığı, hatta gal oluşumunu hızlandırdığı, yeni dikilen elma ve armut fidanlarının streptomisin solüsyonuna daldırılmasının yararlı olacağı, anaç olarak kullanılacak fidanların duyarlı çeşitlerden seçilmemesi, dikim sırasında köklerde mümkün olduğunca yara açılmaması, yeni tesis edilecek bahçelerin mümkün olduğunca drenajının iyi olmasının gerektiğini belirtmektedirler.

Biyolojik mücadele ile ilgili ilk çalışmalar ise 1961 yıllarında başlamış (Ross 1961) ve günümüze kadar yapılan başarılı çalışmalar sayesinde, birçok ülkede kültür bitkilerindeki hastalıklara karşı etkili olan bakteriyel biyoajanlar yada bunların ürünleri ticari olarak üretilmiş ve biopestisit olarak formüle edilerek pazara sunulmuştur (Anonymous 2000b). ABD'de *E. amylovora*'ya karşı uygulanan *P. fluorescens* strain A-

506 bakterisinin ticari preparatı BlightBan'ın erken uyarı sisteminin uyarısı ile ağaçlarda enfeksiyon başlamadan kullanıldığında çok etkili olduğu belirtilmektedir (Smith 2001). Kullanılan bu biyokontrol ürün, ateş yanıklığına karşı geliştirilen ilk ticari biyokontrol preparat olup 1995 yılında ticari olarak piyasaya sürülmüştür (Stelljes and Senft 1998). Günümüzde ticari preparat olarak kullanılan AQ10, Aspire, Binab T, Biofox C, Bio-Fungus, Bio-save 100, Bio-save 110, BlighBan A506, Cedomon, Companion, Conquer, Contans, Deny, EcoSom, Fusaclean, Galltrol-A, HiStick N/T, Intercept, Kodiak, Kodiak HB, Kodiak AT, KONI, Mycostop, Nogall, Norbac 84C, Paecil, Phagus, Polyversum, Primastop, Protus, Rhizo-Plus, Rhizo-Plus Konz, RootShield, Rotstop P.g. Suspension, Root Pro, Serenade, SoilGard, Spot-Less, Subtilex, Supresivit, Sistem 3, T-22G, T-22 Planter Box, Tieco, Trichoderma 2000, Trihodex, Trichopel, Trichoject ve Trichodowels gibi çok sayıda bakteriyel ve fungal preparat vardır (Stelljes and Senft 1998, Hollis 2000). Bunlardan *Pseudomonas fluorescens* A506'nın ürünü BlightBan A506 ve *Bacillus subtilis*'in ürünü Serenade ateş yanıklığına; *A. radiobacter* Strain 84'ün ürünü Galltrol-A, *A. radiobacter*'in ürünü Nogall ve Diegall, *A. radiobacter* Strain K84'ün ürünü Norbac 84C kök kanserine karşı başarıyla kullanılmaktadır (Hollis 2000).

Daha önce yürütülen bir biyolojik mücadele çalışmasında; farklı konukçu bitkilerden izole edilen 80'den fazla bakterinin *E. amylovora*'ya karşı antagonistik aktiviteleri test edilmiş, çalışmalar *in-vitro*'da agar diffüzyon testinde, olgunlaşmamış meyve parçalarının biyotestinde ve tarla şartlarında yapılmıştır. Çok sayıda bakteri straininin ateş yanıklığına karşı pozitif antagonistik bir etki gösterdiği tespit edilmiştir (Zeller and Wolf 1996). Çok etkili olarak gözlenen *Erwinia herbicola*'nın E.h.89 nolu straininin tarla şartlarında *Catoneaster* bitkisinde %70 kontrol sağladığı belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada *in-vitro*, biyotest ve tarla testlerinde strainlerin aktiviteleri arasında iyi bir korelasyon görülmemiş ancak, *E. herbicola* E.h.89 straini bütün testlerde iyi sonuç vermiştir (Zeller and Wolf 1996). Utkhede (1996), *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Hafnia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* ve *Serratia* cinsine dahil birçok bakteri türünün birçok bitki patojenine karşı tarla şartlarında da etkili olduğunu belirtmektedir.



Son yıllarda, dünyada olduğu gibi Türkiye’de de biyolojik mücadele ile ilgili çalışmaların sayısı artmaktadır (Momol 1990, Özaktan ve Türküsay 1994, Demir 1995, Tokgönül ve Başpınar 1995, Anonymous 1997, Kotan 1997, Bora vd 1995, Kotan *et al.* 2000, Şahin vd 2000). Özaktan ve Türküsay (1994) tarafından yürütülen bir araştırmada; armut ağaçlarından izole edilen epifitik bakterilerin *E. amylovora*’ya karşı antagonistik etkileri *in-vitro*’da test edilmiş, *E. herbicola*’nın %64’ü fluorescens Pseudomonasların ise %57’si yüksek etkili bulunmuştur. Erdoğan (1998) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise Isparta ve çevre ilçelerinde elma, armut ve ayva ağaçlarında yapılan izolasyonlardan elde edilen epifitik bakteriler, içerisinde 58 strainin *E. amylovora*’ya karşı yüksek derecede antagonist olduğu, elma ağaçlarındaki antagonistik bakteri popülasyonunun armut ve ayvaya göre daha yoğun olduğu tespit edilmiştir.

*P. syringae* besin isteği yönünden çok yönlü bir organizmadır. Bu türün patojen olmayan birçok straini de farklı bitki türleri üzerindeki patojenlere karşı antagonistik etki göstermektedir. Bu antagonistik bakteriler, özellikle yumuşak çekirdekli meyveler, muz, turunçgiller ve bazı sebzelerin yaralanmış dokular üzerinde veya doğal açıklıkların giriş bölgelerine kolonize olarak patojenlerin buralardan enfeksiyon yapmalarına engel olmaktadır (Anonymous 2000c). *P. syringae* strain ESC-11’in; elma ve armut üzerinde enfeksiyonlara sebep olan *Mocor* spp., *Botrytis cinerea* ve *Penicillium expansum*’u; turunçgiller üzerinde enfeksiyonlara sebep olan *Penicillium digitatum* ve *Penicillium italicum*’u kontrol edebildiği belirtilmektedir (Janisiewicz and Marchi 1992, Janisiewicz and Jeffers 1997). *P. syringae* ESC-11 straini BioSave™ 110 adı altında özellikle depolanan elma ve armutlarda; *P. syringae* ESC-10 straini ise BioSave™ 100 adı altında depolanmış turunçgil meyvelerinde görülen birçok enfeksiyona karşı ticari olarak üretilen biopestisitlerdendirler (Janisiewicz and Jeffers 1997). Birçok yumuşak çekirdekli meyvelerden izole edilen saprofitik *P. syringae* bakterisi ve *Deutermycota*, *Basidiomycota* ve *Ascomycota* sınıfına dahil birçok fungusun *Penicillium expansum* ve *Botrytis cinerea* gibi depolanmış ürünlerde de özellikle yaralanmış dokularda giriş yaparak enfeksiyonlara sebep olan patojenlere karşı etkili biyokontrol organizmalar olduğu belirtilmektedir (Janisiewicz 1987). Beyaz funguslardan *Sporobolomyces roseus*

ve *Candida oleophila*'nın yumuşak çekirdekli ve turunçgiller üzerindeki mavi küf ve gri küfe karşı etkili birer antagonist oldukları ve *Candida oleophila*'nın Aspire adı altında ticari formülasyonu geliştirilmiştir (Janisiewicz 1987, Droby *et al.* 1998).

Kök kanserinin biyolojik mücadelesine yönelik bazı çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada, *A. radiobacter* (Beijerinck ve van Delden ) Conn strain K-84'ün odun dokusunda ürettiği agrocin 84 antibiyotığının, bitkilerde tümör oluşumuna sebep olan *A. tumefaciens*'e karşı kullanıldığı ancak, zamanla bu patojenin agrocin 84'e karşı dayanıklılık oluşturduğu belirtilmektedir (Vicedo *et al.* 1993). Demir (1995) yapmış olduğu bir çalışmada; İzmir'in Menderes ve Balçova ilçelerinde kasımpatılarda gal oluşturarak çiçek verimi ve kalitesinin düşmesine sebep olan *A. tumefaciens* biotype I'in *in-vitro*'da agrocin 84'e dayanıklı olduğunu, domateste yürütülen biyolojik kontrol denemelerinde ise K-84'ün gal oluşumunu engellediğini belirtmektedir. Bir başka çalışmada; elma gövde ve kök bölgesinden yapılan izolasyonlarda elde edilen 80 flüoresan *Pseudomonas* spp'den sekiz strainin *in-vitro* şartlardaki kültür ortamında *A. tumefaciens*'in büyümesini inhibe ettiği belirtilmektedir (Canfield and Moore 1991).

Arazi şartlarında biyoajanların patojenlere karşı etkilerinin test edilmesi sera gibi kontrollü şartlara göre çok daha zordur. Daha doğru tespitlerin yapılabilmesi için son zamanlarda ilginç yöntemlerin kullanıldığı çalışmalara rastlamak mümkündür. Kenneth *et al.* (2001), *E. herbicola* strain C9-1 ve *P. fluorescens* strain A506 biyoajanlarının, *E. amylovora*'ya karşı etkinliklerinin bahçe koşullarında daha doğru tespit edilebilmesi için, çiçeklenme periyodu öncesi biyoajanların bitkilere püskürtülmesi ve ardından patojenin dondurulmuş ve toz haline getirilmiş kültürlerinin polene karıştırılarak, bu polenleri ziyaret eden bal arıları vasıtası ile, patojenin çiçekler ve bitkiler arası yayılmasının daha etkili bir şekilde gerçekleşmesi sağlanmış ve sonuçta %50 oranında bir başarı elde edilmiştir.

Buz nükleasyon pozitif (INA<sup>+</sup>) bakterilerin yumuşak çekirdekli meyvelerin de içinde bulunduğu birçok meyve ağacında don zararının oluşmasında önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Don zararının önlenmesinde de çeşitli mikroorganizmaların



kullanılmasına yönelik çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada; buz nükleasyon negatif (INA) oldukları tespit edilen *P. fluorescens* ve *P. putida* bakterileri kullanılarak, sera ve bahçe şartlarında *P. s. pv. syringae*'nin ve buna bağlı olarak don zararının %98 oranında kontrol altına alınabildiği belirtilmiştir (Cody *et al.* 1987). Don zararının besin elementleri ile ilişkisi araştırılmış ve yapılan çalışmada; *P. syringae*'nin kolonizasyonu sırasında inorganik fosfatın yetersizliğinin, yüksek buz nükleasyon aktivitesine sebep olduğu tespit edilmiştir (Blondeaux and Cochet 1994). Yapılan bir diğer çalışmada ise; ticari bir fidanlıkta geriye doğru ölümün görüldüğü Malling 9 (M9) anacından izole edilen ARS 4 bakteriyel strainı *P. s. pv. syringae* olarak tanılanmış, fidanlık ve seralarda taze yaralanmış elma ve armut bitki gövdesine inokulasyonu sonucu geriye doğru ölüm oluşturmuştur. Bu strainin armut ve elma dallarında kabuk kavlamasına da sebep olduğu görülmüştür. M9 anacının soğuk ile muamele edilen hasta dallarında, muamele edilmeyenlere göre önemli derecede daha fazla geriye doğru ölüme rastlanmıştır (Sholberg and Quamme 1999).

Ateş yanıklığı hastalığı, yumuşak çekirdekli meyvelerin verime doğrudan etki eden en tahripkar hastalığıdır. Sınırlı sayıda kimyasalın bu hastalığı önlemede yine sınırlı etkilere sahip olmaları, çiçek enfeksiyonlarından korunmak için yapılan ilk ilaçlama zamanının büyük önem taşıması ve hastalığın gelişimini pek çok faktörün (sıcaklık, yağış, fazla azotlu gübreleme, sık sulama, ağır budama, duyarlı çeşit, vb.) etkilemesi, bu hastalığın minimum zarar vermesini sağlayacak entegre mücadele kavramını çeşitli ülkelerde gündeme getirmiştir (Van der Zwet and Beer 1991, Anonymous 1991).

Ateş yanıklığı erken uyarı sistemi ile tahmin edilebilmesi en zor hastalıklardan biridir (Momol 1990). Bu nedenle koruyucu bakterisitlerle yapılan mücadele, bazı yıllar gereğinden fazla ve zamansız uygulanabilmektedir. Hastalığın epidemiyoloji yapacağı yılı tahmin etmek, bakteri populasyon dinamiği üzerinde çalışmak ve uygun zamanda ilaçlama yapabilmek ekonomik ve çevresel sorunlar açısından önemli kazançlar sağlamaktadır (Momol 1990).

Ateş yanıklığına karşı kullanılan tahmin sistemlerinde sıcaklık, nem, yağış, etmen popülasyonu izleme, hastalık yoğunluğunu kontrol etme, konukçu fenolojisi ve gelişmesi esas kriterler olarak kullanılmaktadır (Billing 1979). Son yıllarda ateş yanıklığını tahmin etmek için, iklimsel faktörleri esas alan değişik sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemlerden iki tanesi halen Kaliforniya ve İllinois'de yetiştiricileri ilaçlama zamanı konusunda uyarmak için kullanılmakta olup bu iki sistemde de 18°C üzerindeki sıcaklıklar esas alınarak geliştirilmiştir (Van der Zwet *et al.* 1987).

Türkiye'de birçok hastalık ve zararlıya karşı tahmin ve erken uyarı çalışmaları yapılabildiği gibi, ateş yanıklığına karşı da son zamanlarda bazı çalışmalar yapılmıştır. Tokgönül ve Çınar (1995)'in yapmış oldukları bir çalışmada; Doğu Akdeniz Bölgesi'nde armutlarda ateş yanıklığı hastalığının enfeksiyon risklerinin iklim koşulları ile ilişkisi araştırılmış 1990-1994 yıllarında armutlarda çiçeklenme periyodu süresince iklim verileri ve hastalık çıkışı kaydedilmiş, BRS (Billing's Revised Sistem)'den yararlanarak yapılan değerlendirmede, maksimum sıcaklıkların 24°C ve üzerinde olduğunda, yeterli yağış olmasa bile şiddetli hastalık çıkışı olabildiği gözlenmiştir. Turinçgil dal yanıklığına da sebep olan *P. s. pv. syringae*'nin epidemiyolojisinde ise yağışın sıcaklıktan çok daha etkili olabileceği belirtilmektedir (Aysan ve Çınar 1991).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan patojen ve saprofit bakteriler

Bu çalışmada; 1999, 2000 ve 2001 yıllarında yapılan sörvey çalışmalarında; Erzurum (Oltu, Olur, İspir, Şenkaya, Tortum, Uzundere), Kars (Kağızman), Artvin (Yusufeli) ve Iğdır (Kadıkışlak) illerinde meyvecilik yapılan alanlardaki meyve bahçelerinden, tipik bakteriyel hastalık belirtileri (sürgün kuruması, geriye doğru ölüm, yapraklarda nekroz, kabuk kavlaması, bakteriyel akıntı ve meyvelerde nekrotik lekeler) sergileyen yumuşak çekirdekli meyvelerden elma, armut, ayva, muşmula ve yenedünyadan izole edilen bakteriyel strainler (patojen ve saprofit) kullanılmıştır.

##### 3.1.2. Kullanılan test bitkileri

Aşırı duyarlılık testlerinin yapılmasında; sera şartlarında tohumdan yetiştirilen ve saksılara şaşırtılan bir aylık tütün (*Nicotina tabacum* L. var. Samsun) bitkisi kullanılmıştır. Patojenite ve biyolojik mücadele *in-vivo* testlerinde ise test bitkisi olarak, Doğu Anadolu Bölgesi'nde ticari olarak üretimi yapılan ve gerek literatür bilgilerine dayanılarak (Demir ve Gündoğdu 1991, 1993) gerekse de sörvey çalışmalarındaki gözlemlere dayanılarak *Erwinia amylovora* ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'ye karşı hassas olduğu tespit edilen sport golden elma çeşidinin bir yıllık genç sürgünleri kullanılmıştır.

### 3.2.Yöntem

#### 3.2.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması

Yapılan sürveylerde; yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından elma, armut, ayva, muşmula ve yenedünyada tipik bakteriyel hastalık simptomsu sergileyen yaprak, sürgün, dal ve meyve örnekleri ve kurumuş fidanların toprak üstü aksamına ilave olarak kök bölgelerinden alınan örnekler toplanıp, etiketlenerek, polietilen torbalar içerisinde laboratuara getirilmiş ve izolasyon yapıncaya kadar buz dolabında +5°C'de muhafaza edilmiştir.

#### 3.2.2. Bakteriyel mikroorganizmaların izolasyonu ve muhafazası

Toplanan hastalıklı bitki materyalleri, musluk suyunda yıkandıktan sonra simptomslarına bakılarak tasnif edilmiştir. Yapraklarda direk yaprak kesiti, dal veya meyvelerde ise çok ince kesitler alınarak mikroskobik incelemeler sonucunda hastalıklı doku ile sağlıklı dokunun kesiştiği noktada bakteriyel akıntı gözlenenler seçilmiştir. Seçilen enfekteli bitki örnekleri, önce içerisinde %95'lik etil alkol bulunan bir kapta 1 dak bekletilerek yüzeysel olarak steril edilmiştir. Alkol ile muamele edilen bu örnekler sdH<sub>2</sub>O'dan geçirilmiştir. İzolasyonlar için standart (NA=Nutrient Agar, YDC=Yeast Dextrose Carbonate Agar, PDA=Potato Dextros Agar (Lelliot and Stead 1987) ve seçici (KB=King's medium, NAS=Nutrient Agar+%5 Sukrose ) (King *et al.* 1954, Klement *et al.* 1990) kabul edilen besiyerleri kullanılarak izolasyon çalışmaları yapılmıştır.

Yaprak, sürgün ve dal örneklerinden hem hastalıklı hem de sağlıklı dokuyu içeren bölgelerden, küçük parçalar kesilerek steril tüpler içerisindeki 2 ml sH<sub>2</sub>O suda bir sa bekletildikten sonra, pipetle bu solüsyondan birkaç damla alınarak, standart veya seçici besi yerlerine transfer edilip, cam bagetle yayılmıştır. Hastalıklı meyvelerden ise ya doğrudan iğne ile ekim yapılmış ya da küçük parçalar kesilerek doğrudan besiyerine transfer edilmiştir. 25°C'de inkübasyona konularak, gelişen karışık bakteri

kolonilerinin hem biyolojik kontrol çalışmalarında kullanılmak üzere çok yoğun gelişenlerinden hem de *E. amylovora* ve *P.s. pv. syringae*'nin tipik koloni yapısını sergileyen kolonilerden alınarak, tekrar çizgi ekimle ekilmiş ve saf kültürler elde edilmiştir. KB ve NAS gibi seçici besi yerleri kullanıldığında gelişen kolonilerin, ya NAS besiyerinde levan koloni oluşturanları ya da KB besiyerinde 280 nm dalga boyundaki UV lambasında bakılarak flüoresan renkte olanları alınarak saflaştırılması yoluna gidilmiştir.

Her bakterinin 24 sa'lik saf kültüründen bir öze dolusu alınarak, içerisinde 500 µl %30'luk glycerol (70 ml sdH<sub>2</sub>O ve 30 ml glycerol) ve 500 µl LB Broth (1L dH<sub>2</sub>O'ya 10 gr tryptone, 10 gr NaCl ve 5 gr yeast extract ilave edilerek hazırlanmıştır) bulunan eppendorf tüplere aktarılmış, etiketlenmiş ve tüm hücreler homojen bir şekilde parçalanıncaya kadar karıştırıcıda karıştırılarak, daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C'de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.3. Bakteriyel strainlerin yağ asit profillerinin belirlenmesi**

Hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyonlarda, saflaştırılarak muhafaza edilen bakteri strainlerinden yağ asit metil ester ekstraksiyonu (fatty acid methyl ester=FAMES) izolasyonu, saflaştırılması ve analizi aşağıda anlatılmıştır. Mikrobial Identification Sistemi=MIS (MIDI, Inc., Newark, DE) kullanılarak bakteriyel organizmaların tanısı yapılmıştır (Miller and Berger 1985, Stead 1988, Stead 1992, Paisley 1995). Bu testler bütün örnekler için 3 kez tekrar edilmiş ve yüzde olarak en yüksek tanı sonucu kesin sonuç olarak değerlendirilmiştir.

### 3.2.3.1. Trypticase soy broth agar (TSBA)'ın hazırlanması ve tanılacak bakteri strainlerinin kültüre alınması

Aerobik bakteriler için kullanılan 30 gr trypticase soy broth agar (TSBA) 1 L dH<sub>2</sub>O içerisinde eriyinceye kadar karıştırıldıktan sonra 121°C 'de, 15 psi basınç altında 15 dk süreyle otoklavda sterilize edilmiş, 60°C'ye ayarlı su banyosunda soğutularak, 20-25 ml'lik besiyeri aseptik şartlar altında steril petrilere (100x15 mm) aktarılmıştır. Besiyeri katılaşmaya kadar oda sıcaklığında bekletildikten sonra kullanılmıştır. Tanısı yapılmak istenen mikroorganizmalar; steril platin bir öze ile test edilecek aerobik bakterinin tek bir kolonisinden, TSBA katı besiyerine 4 fazlı çizgi ekim yapılarak, her bir ekim petrisi silinmeyecek şekilde etiketlenmiştir. Ekim yapılmış petrilere 25°C 'de 24 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

### 3.3.3.2. Yağ asidi metil esterlerinin saflaştırılması

Mikroorganizmaların yağ asitlerini saf olarak izole etmek için 4 farklı çözelti kullanılmıştır.

**Çözelti 1: Bakteri hücrelerinin parçalanması (Saponification):** Sırasıyla 150 ml metil alkol (HPLC grade) ve 150 ml dH<sub>2</sub>O 1 L'lik renkli çözelti şişesine ilave edilmiş, daha sonra katı formdaki 45 gr sodyum hidroksit (ACS grade) eklenip iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır.

**Çözelti 2: Metilleştirme (Methylation):** Sırasıyla 325 ml hidroklorik asit (6.00N) ve 255 ml metil alkol (HPLC grade) 1 L'lik renkli çözelti şişesinde iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır.

**Çözelti 3: Saflaştırma (Extraction):** Sırasıyla 200 ml methyl-tert-butyl ether (MTBE, HPLC grade) 200 ml hexane üzerine ilave edilerek 1 L'lik renkli çözelti şişesinde iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır.



**Çözelti 4: Bazik yıkama (Base wash):** Sırasıyla 10.8 gr katı forumdaki sodyum hidroksit (ACS grade) 900 ml dH<sub>2</sub>O içerisinde, 1 L'lik renkli çözelti şişesinde iyice çözülmüştüğü kadar karıştırılmış.

Hazırlanan bu dört çözelti kullanılarak aşağıda belirtilen metodla aerobik bakterilerden yağ asit metil esterlerin saflaştırılması yapılmıştır.

1. 25°C'de 24 sa'lik inkübasyon periyodunu takiben TSA besi ortamına 4 fazlı çizgi ekimi yapılan bakteri strainlerinin 3. ve 4. fazlarından canlı bakteri hücreleri steril bir öze ile toplanarak (~40 mg), ağızları teflon kapaklı steril cam test tüplerine (5 ml) aktarılmış, test tüpleri etiketlenerek ağızları kapatılmıştır.

2. Her bir test tüpüne 1 ml çözelti 1 ilave edilmiş, 5-10 s çalkalandıktan sonra 5 dk süreyle 100°C 'lik su banyosunda bekletilmiştir. Çıkarılan tüpler tekrar 5-10 s çalkalanarak 25 dk süreyle 100°C 'lik su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Bu muamele ile canlı hücreler parçalanarak, yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.

3. Test tüplerine 2 ml çözelti 2 eklenerek 5-10 s'lik bir çalkalamadan sonra 80°C 'de 10 dk süreyle su banyosunda bekletilmiş ve hemen takiben 2 dk süreyle buz veya soğuk su içerisinde soğutulmuştur. Bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenerek, yağ asitlerinden yağ asit metil esterler elde edilmiştir. Bu durum yağ asitlerine yüksek sıcaklıklarda buharlaşma özelliği kazandırmaktadır.

4. Soğutulmuş tüplere 1.25 ml çözelti 3 eklenerek 10 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısı ile çalkalanmıştır. Bu aşamada tüplerin alt kısmında inorganik, üst kısmında da organik sıvı fazları olmak üzere iki ayrı faz oluşmuştur. Yağ asit metil esterler asidik fazdan ayrılarak organik faz bölgesinde toplanmıştır. Pastör pipeti kullanarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılmış ve organik faz muhafaza edilmiştir.

5. En son aşamada ise her tüpe 3 ml çözelti 4 ilave edilerek, 5 dk süreyle çalkalandıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözelti 4 bazik bir solüsyon olup serbest yağ asit metil esterlerini daha saf olarak elde etmemize yardımcı olmaktadır. Tüp içerisinde yine 2 ayrı faz oluşmuştur. Üst fazda toplanan ve yağ asit metil esterleri içeren faz pastör pipeti ile alınarak 2 ml'lik gaz kromatografi tüplerine transfer edilmiş ve ağızları sıkıca kapatılmıştır.

### 3.2.3.3. Örneklerin mikrobiyal identifikasyon sistemi ile (MIS) analiz edilmesi

Ağızları sıkıca kapatılan gaz kromatografi tüpleri, MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirildikten sonra, cihaz çalıştırılarak sistem kılavuzunda belirtildiği gibi örnekler tek tek analiz edilmiş ve tanı sonuçları alınmıştır. Patojen oldukları belirlenen strainlerin tür ve strainlerin içerdikleri yağ asiti türleri ve yüzde oranlarına bakılarak SPSS (Statistical Package for Social Sciences)'de analiz edilmiş, aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Bu program çok kapsamlı bir istatistiksel analiz programı olup, dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada SPSS'in Windows altında çalışan 9.0 sürümü kullanılmıştır.

### 3.2.4. Tütünde aşırı duyarlılık (Hiper Sensetivite=HR) testi

İzole edilen bütün bakteriyel strainler, bakteriler için genel bir besiyeri olan YDC besiyerine ekilmiş 24 sa'lik kültürlerinden sH<sub>2</sub>O içerisinde hazırlanan solüsyonları, yaklaşık olarak 10<sup>8</sup> hücre/ml konsantrasyona ayarlanarak, tütün (*Nicotina tabacum* L. var. Samsun) yapraklarının damarlar arasına 3 cc' lik plastik şırıngalar ( Becton Dickinson ve Co. Franklin Lakes. NJ ) ile şırınga edilmiştir. Bitkiler 24-48 sa süreyle sera şartlarında bekletilerek, inokulasyonun yapıldığı bölgelerde ölü doku (nekroz) oluşumu takip edilmiştir. Ölü doku oluşturanlar HR + (pozitif), oluşturmayanlar ise HR – (negatif) olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.* 1964). Negatif kontrol olarak ise sd H<sub>2</sub>O kullanılmıştır. Test 3 tekerrürlü olarak aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir.

### 3.2.5. Patojenite testlerinin yapılması

Bakteriyel strainlerin patojenitelerinin test edilmesi için kullanılan pek çok yöntem vardır (Mansvelt and Hattingh 1986a,b, Scheck *et al.* 1997, Scortichini and Moreno 1997). Bu çalışmada patojenite testleri sport golden elma çeşidinin bir yıllık genç

sürgünleri kullanılarak yapılmıştır. İzole edilen bakterilerin patojen olup olmadığını test etmek için, arazideki gözlemlere bağlı olarak *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae*'ye karşı hassas olduğu tespit edilen sport golden elma çeşidinin bir yıllık genç sürgünleri 20-30 cm boyunda kesilerek %80-85 nemde büyüme çemberlerinde bekletilmiştir. Patojenitesi test edilecek bakterilerin YDC besiyerine ekilmiş 24 sa'lik kültürlerinden, bakteri konsantrasyonu  $10^8$  hücre/ml olacak şekilde ayarlanarak hazırlanan solüsyonlar sürgünler üzerine püskürtülmüştür. Bakteri solüsyonu püskürtülen sürgünler, steril H<sub>2</sub>O ile dolu olan plastik bardaklar içerisine koyularak üzerine polietilen torbalar geçirilmiştir. Örnekler oda sıcaklığında 5-6 hafta bekletildikten sonra yapraklarda nekroz oluşumuna bakılarak, nekroz oluşturanlar patojenite + (pozitif) ve nekroz oluşturmayanlar patojenite - (negatif) olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak sdH<sub>2</sub>O kullanılmıştır. Belirti oluşan dokulardan patojenin yeniden izolasyonu ve saflaştırması yapılmış, daha sonraki çalışmalarda kullanmak üzere muhafaza edilmiştir. Test 3 tekerrürlü olarak aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir.

Bu teste ilave olarak patojenitesi yapılacak bakterilerin hazırlanan  $10^8$  hücre/ml'lik konsantrasyonlarından 10 ml'lik steril cam deney tüplerinin içerisine 5'er ml konularak; içerisine 8 mm uzunluğunda kesilen ve %95'lik alkolde 1 dk bekletildikten sonra steril su ile durularak yüzeysel sterilizasyon yapılan sağlıklı sürgünler konulmuş ve tüplerin ağızları pamuk tıkaçlar ile kapatılmıştır. Oda sıcaklığında 2 hafta süreyle bekletildikten sonra değerlendirme yapılmıştır. Sürgünlerin tüpler içerisine daldırılan kısımlarında kabuk ile odun dokusu arasındaki renk değişimi ve nekroz oluşumuna bakılmıştır. Dokuda renk değişimi ve nekroz oluşan sürgünlerden alınan küçük doku parçacıkları sdH<sub>2</sub>O içerisinde ezilerek elde edilen solüsyonlardan NAS besiyerine çizgi ekim yapılmıştır. Petriler 25°C'de inkübasyona bırakılarak gelişen kolonilerin levan özelliğine bakılmıştır. Kabuk ile odun dokusu arasında renk değişimi ve nekroz oluşumu ve bu kısımlardan yapılan ekimlerde levan kolonilerin gelişimi bu bakterilerin patojen olması olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak sdH<sub>2</sub>O kullanılmıştır. Test 3 tekerrürlü olarak aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir.

### 3.2.6. Potansiyel biyokontrol organizmaların *in-vitro*'da patojene karşı test edilmesi

İzole edilen mikroorganizmalar MIS'de tanılandıktan sonra HR ve patojenite testleri sonucunda – olanlar potansiyel biyoajan olarak *in-vitro* ve *in-vivo*'da test edilmiştir. Bu testler için Sensetive Agar (SA) besiyeri kullanılmıştır (Lelliot and Stead 1987). Bu amaçla önce HR ve patojenite testleri sonucu + olan ve MIS'de tanılama yüzdesi en yüksek olan *P. s. pv. syringae* strain RK-257 ve *E. amylovora* strain RK-228 patojenik bakterileri SA içeren petrilerin tüm yüzeyine çizgi ekim ile ekilmiş, daha sonra bu petrilerin tam ortasına potansiyel biyoajanlar tek çizgi halinde ekilerek bir hafta süreyle 25°C' de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübe edilen bu kültürler bir hafta boyunca her gün kontrol edilerek, biyoajanların fitopatojenleri antibiyosis ve hiperparazitizm etkileşim ile kontrol edip etmediği tespit edilmiştir. Antibiyosis etkileşimde biyoajanların koloni oluşturduğu besiyerinin etrafında fitopatojenlerin gelişimlerinin engellendiği bölgenin (intibition zone) uzunluğu mm olarak ölçülerek, elde edilen değer biyoajanın antibiyosis etkinliğini belirlemede kullanılmıştır. Hiperparazitizm ilişkilerde ise biyoajanlar zamanla tüm petriyi kapladığı için zon ölçümü yapılmamıştır. En uzak noktalardan öze ile alınan bakteri numuneleri tekrar besi yerlerine ekilerek, patojen ve biyokontrol bakterilerin gelişip gelişmedikleri takip edilmiş, patojen bakterinin hiç gelişmediği uygulamalar hiperparazitik etki gösteren potansiyel biyoajan olarak tanımlanmıştır. SA besiyeri demir iyonları yönünden fakir olduğu için, biyoajarlardan siderofore üreten organizmalar bu besiyeri üzerinde flourecent renk değişimine sebep olmuş, mikroorganizmaların rekabèt kabiliyetlerini artırdığı düşünülen sideroforları üreten biyoajanlar kolayca belirlenebilmiştir. Test 3 tekerrürlü olarak aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir (Braun-Kiewnick *et al.* 1997, Klopmeier and Kelman 1988, Braun-Kiewnick *et al.* 2000).

**3.2.7. *In-vitro*'da etkili olduğu gözlenen potansiyel biyokontrol organizmaların *in-vivo*'da *P. s. pv. syringae* strain RK-257 ve *E. amylovora* strain RK-228'e karşı tek tek test edilmesi**

*In-vitro*'daki test sonuçlarına göre petri üzerinde denenen patojen bakterilere karşı 50 mm veya daha fazla inhibasyon zonu oluşturan saprofitik bakteriler çok etkili potansiyel biyoajan olarak kabul edilmiştir. Potansiyel biyoajan olarak seçilen bu bakteri strainleri genel bir besiyeri olan NA'a ekilmiş, elde edilen 24 sa'lik kültürlerin her birisinin sH<sub>2</sub>O ile 10<sup>8</sup> hücre/ml'lik konsantrasyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyonlardan 150 ml alınarak, aynı şekilde hazırlanan 10<sup>8</sup> hücre/ml'lik konsantrasyondaki *P. s. pv. syringae* strain RK-257 ve *E. amylovora* strain RK-228 solüsyonları ile eşit hacimde karıştırılmıştır. Elde edilen patojen-biyoajan karışımlarının her birisi için 3'er adet bir yıllık sport golden elma çeşidi kullanılmıştır. Sürgünler önce musluk suyunda iyice yıkandıktan sonra üzerinden sH<sub>2</sub>O dökülerek inokulasyona hazır hale getirilmiştir. Plastik torbalara boşaltılan biyoajan-patojen karışımı bakteri solüsyonlarına daldırılan sürgünler, içerisinde sH<sub>2</sub>O bulunan plastik bardaklara konularak üzerine plastik torba geçirilmiş ve oda sıcaklığında 2 hafta muhafaza edilmiştir. Pozitif kontrol olarak sadece *P. s. pv. syringae* strain RK-257 ve *E. amylovora* strain RK-228 bakterileri, negatif kontrol olarak ise sdH<sub>2</sub>O kullanılmıştır. Bu sürenin sonunda sürgünlerdeki yapraklarda nekrotik leke oluşumunun başlayıp başlamadığı kontrol edilmiştir. Yapraklarda nekrotik lekelerin oluşumu bu biyoajanın hastalığı önlemede etkisiz olduğu (-: negatif), nekrotik lekelerin oluşmaması ise etkili olduğu (+: pozitif) yönünde değerlendirilmiştir. Test 3 tekerrürlü olarak aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir (Braun-Kiewnick *et al.* 1997, Klopmeier and Kelman 1988, Braun-Kiewnick *et al.* 2000).

**3.2.8. *In-vitro*'da etkili olduğu gözlenen potansiyel biyokontrol organizmaların *in-vivo*'da *P. s. pv. syringae* strain RK-257 ve *E. amylovora* strain RK-228'e karşı kombinasyonlar halinde test edilmesi**

*In-vitro*'da çok etkili oldukları belirlenen potansiyel biyoajanların farklı türleri ve farklı patojen grubuna etki edenleri ikili kombinasyonlar halinde ve hepsi birlikte denenmiştir.

Biyojanlar PDA'ya ekilerek elde edilen 24 sa'lik kültürlerin her birisinin sdH<sub>2</sub>O ile 10<sup>8</sup> hücre/ml'lik konsantrasyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyonlardan 50'şer ml alınarak çizelge 4.3'de belirtilen kombinasyonları oluşturacak şekilde karışımlar elde edilmiştir. Bu karışımlardan alınan 50 ml'lik bakteri solüsyonları ile aynı şekilde hazırlanan *P. s. pv. syringae* strain RK-257 ve *E. amylovora* strain RK-228 solüsyonları eşit hacimlerde karıştırılarak oluşan karışımlar, biyoajanların tek tek uygulamasındaki gibi sürgünlere sprey edilerek, 2 haftalık sürenin sonunda simptom gelişimi değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak sadece *P. s. pv. syringae* strain RK-257 ve *E. amylovora* strain RK-228 bakterileri, negatif kontrol olarak ise sdH<sub>2</sub>O kullanılmıştır. Bu sürenin sonunda sürgünlerdeki yapraklarda nekrotik leke oluşumunun başlayıp başlamadığı kontrol edilmiştir. Yapraklarda nekrotik lekelerin oluşumu bu biyoajanların hastalığı önlemede etkisiz olduğu (+: pozitif), nekrotik lekelerin oluşmaması ise etkili (-: negatif) olduğu yönünde değerlendirilmiştir. Test 3 tekerrürlü olarak aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir (Braun-Kiewnick *et al.* 1997, Klopmeier and Kelman 1988, Braun-Kiewnick *et al.* 2000).

### 3.2.9. Morfolojik ve biyokimyasal testler

Yapılan *in-vitro* ve *in vivo* testleri sonucunda etkili biyoajanların ve patojenlerin morfolojik (hücre morfolojisi, koloni morfolojisi ve hareketlilik) ve biyokimyasal (oksidaz, gram reaksiyon, katalaz, arginine dehidrolase, levan, nitrat üretimi ve fluorescent pigment üretimi (KB)) özellikleri belirlenmiştir. Testler 3 tekerrürlü olarak aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir (Buchanan and Gibbons 1974, Saygılı 1995).

#### 3.2.9.1. Morfolojik testler

##### 3.2.9.1.1. Hücre morfolojisi

Saflaştırılan bakterilerin YDC besiyerine ekilmiş 24 sa'lik kültürlerinden, öze ile dokundurularak alınan hücreler, lam üzerine ilave edilen bir damla sdH<sub>2</sub>O içerisine



aktarılarak lam yüzeyine homojen bir şekilde iyice yayılmış, havada kuruması için bir süre bekletilmiştir. Preparat kuruduktan sonra lamın alt yüzü alevden geçirilmek suretiyle bakteriler tespit edilmiştir. Preparat boya sehпасı üzerine konularak metilen mavisi (3-5 dk) veya kristal viyole (1-2 dk) veya da sulu karbol füksin (15-30 s) gibi boyalardan birisi kullanılarak preparat üzerine dökülmüş ve belirtilen süre kadar bekletilmiştir. Bekleme süresinin sonunda boya lamın yüzeyinden akıtılarak sdH<sub>2</sub>O ile yıkanmıştır. Kurutma kağıdı ile kurulanmış, bir damla sedir yağı damlatılarak mikroskopta immersiyon objektifinde incelenmiş ve hücrenin şekline (yuvarlak, çubuk, spiral) bakılmıştır (Saygılı 1995).

#### **3.2.9.1.2. Koloni morfolojisi**

Saflaştırılan bakteriler çizgi ekimle YDC besiyerine ekilerek, 25°C'de inkübasyona bırakılmış, 24-48 sa'lik bakteri kültürlerindeki kolonilerin rengine bakılmıştır (Saygılı 1995).

#### **3.2.9.1.3.Hareketlilik testi**

YDC besiyerine ekilerek, 25°C'de inkübasyona bırakılan 24-48 sa'lik bakteri kültürlerinden, öze ile bir miktar alınarak içerisinde sdH<sub>2</sub>O bulunan cam tüplere aktarılmış, karışım hafifçe eğilerek numunenin lam üzerine yayılması sağlanmıştır. Bu solüsyondan öze ile alınan bir damla sıvı lamelin ortasına konulmuş, lamelin lama temas edecek noktalarına vazelin sürülerek, çukur lamın çukur kısmı lamel üzerindeki damlayı kapatacak şekilde çukur lam lamel üzerine kapatılmıştır. Damlanın kenarlara akmasına fırsat vermeden preparat hemen ters çevrilerek mikroskopta incelenmiştir. Mikroorganizmanın hareketli olup olmadığına bakılarak, hareketli olanlar saptanmıştır (Saygılı 1995).

### 3.2.9.2. Biyokimyasal testler

#### 3.2.9.2.1. Oksidaz testi

%1 Tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride içeren kit halindeki tabletler sdH<sub>2</sub>O ile doyurulduktan sonra, nutrient agar + %1 glikoz içeren besiyerine ekilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen alınan bir öze dolusu bakteri tablet üzerine yayılmıştır. Test edilen organizmanın cytochrom C oksidase enziminin var olması durumunda, bu enzimin reaksiyona girmesi sonucu mavi renk oluşmuştur. Mavi renk oluşumu +, oluşmaması ise – olarak değerlendirilmiştir (Kovacs 1956).

#### 3.2.9.2.2. Gram reaksiyon testi (Potasyum hidroksit=KOH)

%3'lük potasyum hidroksit solüsyonundan bir damla lam üzerine damlatılarak, YDC'de geliştirilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen bir öze dolusu bakteri alınarak, damlatılan KOH solüsyonu ile iyice karıştırılmıştır. Özenin karışıma dokunduktan sonra yukarı kaldırılması ile karışımda sakız gibi bir uzamanın olması KOH +, olmaması ise KOH – olarak değerlendirilmiştir. Gram – bakterilerin KOH ile muamelesi sonucu, hücre duvarının parçalanması ile sitoplazma ve nükleer materyalin açığa çıkması nedeniyle bir viskoz yapının oluştuğu bilinmektedir. KOH + bakteriler Gram –, KOH – bakteriler ise Gram + olarak değerlendirilmiştir (Fahy and Hayward 1983).

#### 3.2.9.2.3. Katalaz testi

Katalaz; hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'i parçalayıp H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub> gazına dönüştüren bir enzimdir. YDC'de geliştirilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen bir öze dolusu alınarak lam üzerine konulmuş ve üzerine bir damla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatılmıştır. Kabarcık oluşumu katalaz +; oluşmaması ise katalaz – olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.* 1990).

#### 3.2.9.2.4. Arginine dehidrolase testi

Bu test için Thornley 2A besiyeri kullanılmıştır. 1 L dH<sub>2</sub>O'ya 1 gr peptone, 5 gr NaCl, 3 gr K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3 gr agar, 0.01 gr phenol red ve 10 gr arginine HCl ilave edilerek mağnetik karıştırıcıda karıştırılmış ve pH'sı 7.2'ye ayarlanmıştır. Çözeltiden 2'şer ml 5 ml'lik cam tüplere aktarılmış ve ağızları pamuk tıkaçlarla kapatılmıştır. 121°C'de 15 dk otoklav edilen tüpler çıkarılarak katılaşmaları beklenmiştir. YDC'de geliştirilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen steril çubuk öze ile tek bir koloni alınarak, Thornley 2A besiyeri içeren tüplere saplama ekim yapılmış, üzerine 1 ml otoklav edilerek sıcaklığı 50°C'ye düşürülmüş %3'lük steril su agarı ilave edilmiştir. Numuneler 7-15 gün süreyle 25°C'de inkübasyona bırakılmış, pembemsi kırmızı renk oluşumu arginin +, normal renk olan ten rengi (açık pembe) ise arginin – olarak değerlendirilmiştir (Thornley 1960).

#### 3.2.9.2.5. Levan testi

Nutrient Agar'a %5 sucrose ilave edilerek hazırlanan besiyerine, test edilecek bakteriler çizgi ekimle ekilerek 25°C'de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Besiyerinde gelişen kolonilerin konveks ve mukoid bir yapıda olması levan +, konveks ve mukoid bir yapıda olmaması ise levan – olarak değerlendirilmiştir (Miller and Schroth 1972).

#### 3.2.9.2.6. Nitrat üretimi testi

Besiyeri için; 10 gr peptone (Difco), 5 gr NaCl, 2 gr KNO<sub>3</sub>, 3 gr agar (Difco) kaynatılarak 1 L dH<sub>2</sub>O'da çözülmüş, NaOH ile konsantre edilerek pH 7.0'a ayarlanarak, 3'er ml 10 ml'lik cam tüplere dökülmüş ve ağızları pamuk tıkaçlarla kapatılmıştır. 121°C'de 15 dk otoklav edildikten sonra soğutularak test edilecek bakteriler iğne ile saplama ekim yapılarak, üzerine 1 ml otoklav edilerek sıcaklığı 50°C'ye düşürülmüş

%3'lük su agarı dökülmüş ve 25°C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Ortamın oksijenle ilişkisi kesilmiş olduğundan, nitrifikasyon yapabilen bakterilerin ortamdaki nitrattan faydalanarak gelişmeleri +, nitrifikasyon yapamayanların ise gelişmemeleri – olarak değerlendirilmiştir (Fahy and Hayward 1983).

### 3.2.9.2.7. Fluorescent pigment testi

KB besiyeri için; 1 L dH<sub>2</sub>O'ya 20 gr proteose peptone (Difco), 15 gr K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 15 gr MgSO<sub>4</sub> .7 H<sub>2</sub>O, 15 gr agar ve 10 ml glycerol ilave edilerek hazırlanan karışım 121°C'de 15 dk otoklav edildikten ve bir süre soğutulduktan sonra petrilere dökülmüştür. Petrillerdeki nemin kurumması için bir süre bekletilmiş, sonra çizgi ekimle test bakterileri ekilerek 48 sa süreyle 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen kültürlerle ultraviyole ışık altında bakılarak, petri yüzeyindeki flüoresan renk oluşumu incelenmiştir. Yeşil-sarı renkte görülenler flüoresan +, diğerleri ise flüoresan – olarak değerlendirilmiştir (King *et al.* 1954).

### 3.2.10. Moleküler testler

Patojen strainlerin (HR + ve patojenite +) birbirleri ile olan genetiksel akrabalıkları 16S-23S rDNA ve Eric-PCR yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir.

#### 3.2.10.1. Genomik DNA saflaştırılması

Test edilecek bakteriyel strainlerden saf DNA'nın elde edilmesi Leita *et al.* (1994) ve Louws *et al.* (1994)'a göre yapılmıştır.

a. Saflaştırılan bakteriler; 1 L dH<sub>2</sub>O'ya 10 gr tryptone, 10 gr NaCl ve 5 gr yeast extract ilave edilerek 121°C'de 15 dakika otoklav edilerek hazırlanan 40'ar ml'lik LB (Luria

broth) besi yerlerine ekilerek, 25°C'ye ayarlı yatay çalkalayıcı inkübatörde 24-48 sa geliştirilmiştir.

b. Sıvı besiyerinde gelişen bakteri kültürlerinin her birisinden otomatik pipetle 1 ml alınarak 1.5 ml'lik ağzı kapaklı plastik mikro santrifüj tüplere aktarılmış, mikro santrifüj aletinde 12 bin devirde 10 dk tutularak bakteriler çöktürülmüştür. Tüpün ağzı açılarak alttaki çökelek kalacak şekilde üstteki sıvı atılmıştır. Bu işlem tüplere tekrar 1 ml sdH<sub>2</sub>O ilave edilerek iki defa tekrar edilmiştir.

c. Tüplere 760 µl TE buffer (10 mM Tris (Trisma Base)'den 1.21 gr alınarak 100 ml sdH<sub>2</sub>O ile karıştırılarak HCl ile pH 8'e ayarlanmıştır. 1mM EDTA'dan 0.3722 gr alınarak sdH<sub>2</sub>O ile karıştırılmış HCl ile pH 8'e ayarlanmıştır. Elde edilen bu iki solüsyon 1/1 oranında karıştırılarak TE buffer elde edilmiştir. Karışım +5°C'de muhafaza edilmiştir.), 40 µl %10 SDC (10 gr Sodyum desatol sülfat 100 ml sdH<sub>2</sub>O'ya ilave edilerek 68°C'e kadar ısıtılmış HCl ile pH 7.2'ye ayarlanmıştır. Elde edilen karışım +5°C'de muhafaza edilmiştir.) ve 8 µl Proteinase K (100 mg/ml'lik orijinal Proteinaz K'ya 10 ml sdH<sub>2</sub>O ilave edilerek karıştırılmış ve -20°C'de muhafaza edilmiştir.) sırasıyla ilave edilerek, tüplerin ağzı sıkıca kapatıldıktan sonra şeykırda çalkalanmış ve 37 °C'de sıcak su banyosunda 1 sa bekletilmiştir.

d. Tüpler açılarak 100 µl 5 M NaCl (29.22 gr NaCl 100 ml sdH<sub>2</sub>O ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışım +5 °C'de muhafaza edilmiştir.) eklenmiş, 10 dk oda sıcaklığında yatay çalkalayıcıda sallanarak DNA dolaşık bir halde çökeltilmiştir.

e. 100 µl %10 CTAB-1M NaCl (80 ml sdH<sub>2</sub>O'ya 4.1 gr NaCl eklenerek ısıtılarak çözülmüş, kaynamaya başlayınca yavaş yavaş 10 gr CTAB ilave edilmiş ve en sonunda hacim sdH<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Elde edilen karışım +5°C'de muhafaza edilmiştir.) eklenerek 65°C'de sıcak su banyosunda 10 dk bekletilmiş, DNA protein ve polisakkaritlerden ayrıştırılmıştır.

f. 500 µl chloroform isoamyl alkol (100 ml chloroform 100 ml isoamyl alkol ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışım +5°C'de muhafaza edilmiştir.) eklenerek 10 dk oda sıcaklığında yatay çalkalayıcıda sallanmış ve böylece DNA'nın bu sıvıya bağlanarak üste çıkması sağlanmış ve tüpün üst kısmı pastör pipeti kullanılarak alınmış ve yeni tüplere aktarılmıştır.

- g. 500 µl phenol chloroform (100 ml phenol 100 ml chloroform ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışım +5°C'de muhafaza edilmiştir.) eklenerek mikrosantrifüjde 12 bin devirde 10 dk santrifüj edilerek DNA çöktürülmüştür.
- h. Tüpün üstündeki sıvı atılarak 600 µl -20°C'de muhafaza edilen izopropanol'den eklenmiş, sıcak su banyosunda 10-15 dk bekletilip çıkarıldıktan sonra mikro santrifüjde 12 bin devirde 10 dk santrifüj edilmiştir.
- j. 300 µl -20°C'de muhafaza edilen %70 EtOH eklenerek 12 bin devirde 10 dk santrifüj edilmiştir.
- k. 20 dk vakumda kurutulmuş ve 200 µl TE buffer eklenerek 4°C'de stok solüsyonu olarak muhafaza edilmiştir.

### 3.2.10.2. DNA konsantrasyonlarının ölçülmesi ve çalışma solüsyonlarının hazırlanması

Kristal küvetler kullanılarak spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm'de TE buffer ile kör sıfırlanmıştır. Stok solüsyonlarının her birisinden 2 µl alınarak 998 µl TE buffer ile karıştırılmış, 260 nm ve 280 nm'de absorbansları ölçülerek kaydedilmiştir. 260 nm'de ölçülen DNA konsantrasyonunun 280 nm'de ölçülen protein konsantrasyonuna oranı bulunmuştur. Hesaplanan oranın 1 ile 1.7 arası olan numuneler çalışma solüsyonu hazırlamak için kullanılmış, diğerleri ise yeniden DNA izolasyonuna tabi tutulmuştur. Stok solüsyonun DNA konsantrasyonlarının hesaplanması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

**Mevcut DNA konsantrasyonu (µg/ml) = 50 (DNA için kullanılan sabit değer) x 500 (dilasyon katsayısı) x 260 nm'deki absorbans** ...

Her bir örnek için ayrı ayrı hesaplanan mevcut DNA konsantrasyonundan aşağıdaki formüle göre çalışma konsantrasyonları hesaplanmıştır.

**DNA çalışma konsantrasyonu (ng/µl) = İstenen Konsantrasyon (50 ng/µl) x Hazırlamak İstenilen Hacim (200 µl) / Örneğin Mevcut DNA Konsantrasyonu (µg/ml)**

Elde edilen değer hazırlanacak çalışma konsantrasyonu için alınması gereken µl cinsinden DNA miktarıdır. Bulunan bu değer 200'den çıkarılarak, hazırlanacak olan



çalışma konsantrasyonu için alınması gereken TE buffer miktarı bulunmuş, belirlenen miktarlarda DNA ve TE buffer alınarak mikro santrifüj tüplerde çalışma solüsyonları oluşturulmuştur.

### 3.2.10.3. Test strainlerinin 16S-23S rDNA genleri ve intraspacer bölgenin PCR amplifikasyonu

Stok primer konsantrasyonları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

**Mevcut primer konsantrasyonu (nM/μl) = 260 nm'deki absorbans x nM per OD değeri x 500 dilisyon faktörü**

Her bir primer için hesaplanan bu değer aşağıda çalışma solüsyonu konsantrasyonunun hesaplanması için verilen formülde yerine konularak çalışma konsantrasyonları hesaplanmıştır.

**Primer çalışma konsantrasyonu (nM/ml) = Stok solüsyonun konsantrasyonu pM x Hazırlamak istenen hacim (200 μl) / 260 nm'deki absorbans x nM per OD değeri x 1000**

**dNTP çalışma solüsyonunun hazırlanması:** 80 μl 10 nM'lık orijinal dNTP solüsyonundan alınarak 920 μl sdH<sub>2</sub>O ile karıştırılmıştır.

**a.** Master mix hazırlamak için; çalışılacak her bir örnek için 38 μl sdH<sub>2</sub>O, 5 μl 10X PCR buffer (100 mM Tris-HCl (pH 8.3), 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.01%gelatin), 1.5 μl dNTP (deoxynucleoside triphosphate karışımı=dATP, dGTP, dCTP ve dTTP'nin her birisinden 25mM), 1 μl primer 7R (reverse GGTTACCTTAGATGTTTCAGTTTC), 1 μl primer 4F (forvard GGCTTGGATCACCTCCTT) ve 0.5 μl Tag DNA polymerase (Promega Crop., Madison, Wis.) 1.5 ml'lik eppendorf tüpte hazırlanmıştır.

**b.** Her tüpe 50 μl master mix ve DNA çalışma solüsyonlarının her birisinden ayrı ayrı 5 μl DNA konularak, üzerine buharlaşmayı önlemek için 50 μl minarel oil (Sigma) ilave edilmiştir ve hafifçe parmak hareketi ile çalkalanmıştır. Sadece master mix'den oluşan bir tüp ise kontrol olarak kullanılmıştır.

**c.** Örnekler PCR otomatik termocycle aletine (Eppendorf Mastercycler Gradient Authorized Thermal Cycle) konularak; denaturation basamağında 94°C'de 3 dk ve

takip eden denaturation için 94°C'de 1 dk, annealing basamağında 50°C'de 1 dk ve extention basamağında 72°C'de 1.5 dk olmak üzere, şu üç basamak için toplam 34 tekrar olacak şekilde ve son tekrarda extention basamağında 74°C'de 4 dk olacak şekilde programlanmış ve istenen DNA bölgelerinin amplifikasyonu yapılmıştır.

#### **3.2.10.4. 16S-23S rDNA-PCR ürünü aplikanların elektroforez jelde yürütülmesi**

- a. 50 ml 10X TBE (100 mM Trizma-HCl pH 8.3, 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, %0.01 jelatin) buffer 950 ml sdH<sub>2</sub>O ile karıştırılarak 0.5X TBE running buffer elde edilmiştir.
- b. 0.5X running bufferden 100 ml alınarak içerisine 0.9 gr agaroz ilave edilmiş, mikrodalga fırında 4 dk kaynatılmıştır. 60°C'ye kadar soğutulurak içerisine 20 µl ethidium bromid ilave edilmiştir.
- c. Elektroforez jel küvetine (Biogen Apelex) test edilecek örnek sayısına bağlı olarak uygun sayıda dişleri olan tarak yerleştirilerek, içerisine bu sıvı formdaki agaroz jeli (~60 °C) dökülmüş 15-20 dk bekletilerek donması sağlanmış ve taraklar dikkatlice çıkarılmıştır.
- d. Donan jel küvete yerleştirilerek yüzeyini ince film tabaka şeklinde kaplayacak miktarda running buffer ilave edilmiştir.
- e. İlk çukura 5 µl PCR marker (bant uzunluğu: 50-150-300-500-750-1000-1500-2000 baz çifti=bç) pipetle boşaltılmıştır.
- f. Diğer çukurlara %100 lük gliserol'dan 40 ml alınarak içerisine 0.1 gr phenol blue karıştırılmış ve hacmi 1X TBE buffer ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanan boyanın 10 µl 'si ile 20 µl PCR ürünü karıştırılarak tatbik edilmiştir.
- g. Son çukura ise; negatif kontrol olarak örneklerle birlikte PCR cihazına konulan master mixten 20 µl alınarak 10 µl boya ile karıştırılmış ve tatbik edilmiştir.
- h. Elektroforez jel düzeneği 130 volta ayarlanarak örnekler 3 sa jel üzerinde yürütülmüştür.
- i. Oluşan bantlar image analysis system'i (Bio-Rad, Quantity One Imaging and Analysis PDQuest 2-D Gel Analysis Software, User Guide for Version 4.1 Windows)

kullanılarak, dalga boyu 312 nm olan UV transilluminatorde (Gel Doc 200 BIO-RAD) değerlendirme yapılmıştır. Bütün örnekler aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir.

### **3.2.10.5. Test strainlerinin Eric PCR metoduna göre genetik profillerinin belirlenmesi**

- a. 200 ml Gitschier Buffer (Kogan *et al.* 1987) hazırlamak için; önceden dH<sub>2</sub>O ile hazırlanarak otoklav edilen 1 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>'den 16.6 ml, 1 M Tris-HCl (pH 8.8)'den 67 ml, 1 M MgCl<sub>2</sub>'den 6.7 ml, 0.5 M EDTA (pH 8.8)'nin 1:100'lük dilüsyonundan 1.3 ml ve 14.4 M β-mercapto-ethanol'un ticari solüsyonundan 2.08 ml alınarak karıştırılan solüsyonun hacmi yaklaşık olarak 106 ml sdH<sub>2</sub>O ile 200 ml'ye tamamlanarak 1 ml'lik eppendorf tüplerine dağıtılmıştır (Rademaker and Bruijn 1996).
- b. 1:1:1:1 oranında hazırlanan 100 mM dNTP (deoxynucleoside triphosphate karışımı=dATP, dGTP, dCTP ve dTTP'nin her birisinden 25mM) solüsyonundan 100'er µl eppendorf tüplerine aktararak -20°C'de muhafaza edilmiştir.
- c. 850 µg/ml'lik nuclease içermeyen BSA (Bovium serum albumin) solüsyonundan 20'şer µl eppendorf tüplerine aktararak -20°C'de muhafaza edilmiştir.
- d. %100'lük DMSO (Dimethyl sülfokside) solüsyonundan 0.5'er ml eppendorf tüplerine aktararak -20°C'de muhafaza edilmiştir. Kısa süre sonra kullanılacak olan bir tüp buzdolabında muhafaza edilmiştir.
- e. Otoklav edilen ddH<sub>2</sub>O'dan 5 ml'lik ağzı vidalı kapaklı steril tüplerin her birisine 2.5'er ml boşaltılarak buzdolabında muhafaza edilmiştir.
- f. 0.3 µg/ml olacak şekilde hazırlanan primer 1 (ERIC IR; CAC TTA GGG GTC CTC GAA TGT A) ve primer 2 (ERIC 2; AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G) solüsyonları 200'er µl olacak şekilde eppendorf tüplerine aktararak -20 °C'de muhafaza edilmiştir.
- g. Tag DNA Polymerase 5 U/µl konsantrasyonda hazırlanarak -20°C'de, mineral oil ise buzdolabı sıcaklığında muhafaza edilmiştir.
- h. Master mix hazırlamak için; çalışılacak her bir örnek için 5 µl 5x Gitschier Buffer, 0.2 µl BSA (20 mg/ml), 2.5 µl DMSO (%100), 12.65 µl ddH<sub>2</sub>O (Box için 13.65µl), 1.25

$\mu$ l dNTP (1:1:1:1), 1  $\mu$ l primer 1, 1  $\mu$ l primer 2 ve 0.4  $\mu$ l tag DNA polymerase (5 U/  $\mu$ l) alınarak 1.5 ml'lik eppendorf tüpte karıştırılmıştır.

**i.** Her tüpe 24  $\mu$ l master mix ve buharlaşmayı önlemek için 1 damla mineral oil eklendikten sonra; her tüpe PCR'da çoğaltılacak DNA çalışma solüsyonlarının her birisinden ayrı ayrı 1  $\mu$ l DNA ilave edilmiş ve hafifçe parmak hareketi ile çalkalanmıştır. Sadece master mix'den oluşan bir tüp ise kontrol olarak kullanılmıştır.

**ii.** Örnekler PCR otomatik termocycle (Eppendorf Mastercycler Gradient Authorized Thermal Cycle) aletine konularak; denaturation basamağında 95°C'de 7 dk ve takip eden denaturation için 94°C'de 1 dk, annealing basamağında 52°C'de 1 dk ve extention basamağında 65°C'de 8 dk olmak üzere, şu üç basamak için toplam 35 tekrar olacak şekilde ve son tekrarda amplikan sentez (extention) basamağında 65°C'de 16 dk olacak şekilde programlanmış ve istenen DNA bölgelerinin amplifikasyonu yapılmıştır.

#### **3.2.10.6. Eric PCR ürünü amplikanların elektroforez jelde yürütülmesi**

**a.** 500 ml'lik bir şişeye 250 ml 0.5 x TAE buffer konularak içerisine 3.75 gr agarose ilave edilmiş ve mikrodalga fırında 4 dk kaynatılarak çözünmesi sağlanmıştır.

**b.** 50-70°C'ye kadar soğutularak jel küvetine (Biogen Apelex) test edilecek örnek sayısına bağlı olarak uygun sayıda dişleri olan tarak yerleştirilmiş, içerisine bu sıvı dökülerek 15-20 dk bekletildikten sonra donması sağlanmış ve taraklar çıkarılmıştır.

**c.** Donan jel içerisinde 0.5 x TAE buffer bulunan küvete yerleştirilmiş, jelin yüzeyini ince film tabaka şeklinde kaplayacak kadar bu buffer ilave edilmiştir.

**d.** Her marker hattı için bir çukurcuğa 2  $\mu$ l 1 kb'lik merdiven marker (bant uzunluğu: 50-150-300-500-750-1000-1500-2000 baz çifti=bç) 4  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O ve 1.5  $\mu$ l 6x loading buffer (%50'lik glycerol içerisine %0.25 xylene cyanol FF ve %0.25 bromophenol blue ilave edilerek hazırlanmıştır) karıştırılarak pipetle uygulanmıştır.

**e.** Diğer çukurlara ise her PCR ürününden 6  $\mu$ l alınarak 1.2 loading buffer ile karıştırılarak tatbik edilmiştir.

**f.** Son çukura ise; negatif kontrol olarak örneklerle birlikte PCR cihazına konulan master mix tatbik edilmiştir.

- g.** Elektroforez jel düzeneği 70 volt ve 25-30 mA'ya ayarlanarak soğuk bir odada örnekler 18-19 sa jel üzerinde yürütölmüştür.
- h.** 0.5 x TAE buffer solusyonuna ml'sinde 0.6 µg ethidium bromide olacak şekilde hazırlanan boyama solusyonu içerisine alınan jel, yatay çalkalayıcıda 30 dk inkübasyona bırakılmıştır.
- ı.** Oluşan bantlar image analysis system'i (Bio-Rad, Quantity One Imaging and Analysis PDQuest 2-D Gel Analysis Software, User Guide for Version 4.1 Windows) kullanılarak, dalga boyu 312 nm olan UV transilluminatorde (Gel Doc 200 BIO-RAD) değerlendirme yapılmıştır. Bütün örnekler aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir.



## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

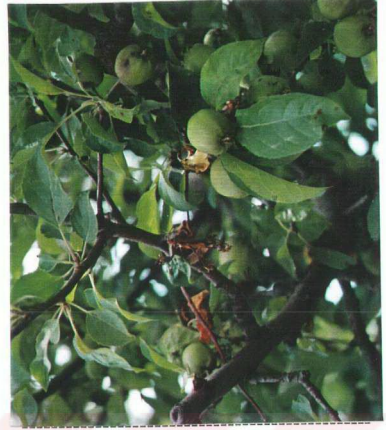
### 4.1. Sürvey Sonuçları

Artvin (Yusufeli), Erzincan, Erzurum (Oltu, Olur, İspir, Şenkaya, Tortum, Uzundere), Iğdır (Kadıkışlak) ve Kars (Kağızman) merkez il, ilçe ve köylerinde; meyvecilik yapılan alanlardaki yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından alınan hastalıklı örneklerden toplam 324 strain elde edilmiştir. Yapılan sürvey çalışmalarında söz konusu bütün bölgelerde yumuşak çekirdekli meyvelerde bakteriyel hastalıkların tipik semptomu olan çiçek ve sürgün yanıklığı ve geriye doğru ölüme rastlanmıştır (şekil 4.1, 2, 3, 4). Fakat timör ve saçak köklenme semptomları sergileyen meyve ağaçları saptanmamıştır. Kışları aşırı sert geçen ve ilkbahar donlarının çok önemli olduğu Doğu Anadolu Bölgesi'nde genç sürgünlerdeki don zararı da dikkati çekmektedir. İzole edilen bakteri strainlerinin saflaştırılması aşamasında *Erwinia amylovora* ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin tipik koloni yapısı görünümünde olan kolonilerin saflaştırılmasının yanı sıra; daha sonraki biyolojik mücadele çalışmalarında bir avantaj sağlayacağı düşünülmüş ve besi ortamında gelişen farklı koloni özellikleri taşıyan ve özellikle en yoğun gelişen kolonilerin de saflaştırılmasına çalışılmıştır.





**Şekil 4.1.** Ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora*)'nın elma ağacındaki genel görünümü



**Şekil 4.2.** Ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora*)'nın elma sürgünündeki simptomu



**Şekil 4.3.** Ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora*)'nın armut meyvesindeki simptomu



**Şekil 4.4.** Ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora*)'nın armut sürgünündeki simptomu

#### 4.2. Hastalıklı Bitki Örneklerinden İzole Edilen Bakteriyel Strainlerin Yağ Asit Profillerine Göre Tanı Sonuçları

Bakteriyel strainlerin yağ asitleri saflaştırılarak mikrobiyal identifikasyon sistemi (MIS) ile yapılan tanı sonuçları çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelge 4.2'de özetlenen bu sonuçlara göre; 3 adet *Acinetobacter calcoaceticus*, 3 *Acinetobacter johnsonii*, 1 *Acinetobacter radioresistens*, 3 *Actinomadura yumaensis*, 1 *Aerococcus vridans*, 7 *Agrobacterium radiobacter*, 2 *Agrobacterium rubi*, 17 *Alcaligenes piechaudii*, 2 *Alcaligenes xylosoxydans*, 1 *Bacillus* GC group 22, 2 *Bacillus cereus* GC subgroup A, 2 *Bacillus lentimorbus*, 3 *Bacillus licheniformis*, 1 *Bacillus marinus*, 4 *Bacillus megaterium* GC subgroup A, 1 *Bacillus megaterium* GC subgroup B, 1 *Bacillus megaterium* GC subgroup B, 1 *Bacillus mycoides* GC subgroup A, 4 *Bacillus pumilus* GC subgroup A, 13 *Bacillus pumilus* GC subgroup B, 1 *Bacillus simplex*, 2 *Bacillus subtilis*, 1 *Brevibacillus brevis*, 1 *Brevibacillus laterosporus*, 1 *Brevibacterium casei*, 1 *Brevundimonas diminuta*, 1 *Burkholderia cepacia*, 8 *Burkholderia pyriocinia*, 3 *Chromobacterium violaceum*, 2 *Chryseobacterium indologenes*, 2 *Citrobacter amalonaticus*, 1 *Citrobacter freundii*, 1 *Clavibacter michiganense*, 4 *Curtobacterium flaccumfacien*, 17 *Enterobacter agglomerans* GC subgroup I, 2 *Enterobacter agglomerans* GC subgroup III, 1 *Enterobacter cloacae*, 5 *Enterobacter intermedius*, 40 *Erwinia amylovora*, 2 *Erwinia caratovora*, 1 *Erwinia chrysanthemi* biotype II, 2 *Erwinia chrysanthemi* biotype IV, 3 *Erwinia chrysanthemi* biotype V, 7 *Erwinia rhapontici*, 1 *Escherichia coli*, 6 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Klebsiella terrigena*, 1 *Klebsiella trevisanii*, 1 *Kocuria rosea*, 1 *Kocuria varians*, 13 *Leclercia adecarboxylata*, 1 *Methylobacterium mesophilicum* GC subgroup A, 1 *Micrococcus lylae*, 1 *Neisseria mucosa*, 1 *Neisseria subflava*, 38 *Pantoea agglomerans*, 1 *Pediococcus pentosaceus*, 1 *Photobacterium damsela*, 2 *Plesiomonas shigelloides*, 1 *Proteus vulgaris* GC subgroup A, 1 *Pseudomonas aeruginosa*, 20 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, 1 *Pseudomonas balearica*, 1 *Pseudomonas chlororaphis*, 3 *Pseudomonas cichorii*, 3 *Pseudomonas doudoroffii*, 1 *Pseudomonas fluorescens*-biotype A, 2 *Pseudomonas fluorescens* biotype B, 11 *Pseudomonas huttiensis*, 4 *Pseudomonas putida* biotype A, 1 *Pseudomonas putida* biotype B, 3 *Pseudomonas*

*savastoni* pv. *fraxinus*, 1 *Pseudomonas syringae* pv. *populans*, 1 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, 1 *Pseudomonas viridiflava*, 2 *Ralstonia pickettii*, 1 *Salmonella typhimurium*, 3 *Serratia fonticola*, 1 *Serratia grimesii*, 8 *Serratia liquefaciens*, 1 *Sphingomonas capsulata*, 1 *Vibrio alginolyticus*, 1 *Vibrio hollisae* ve 1 *Yersinia enterocolitica* olmak üzere toplam 76 farklı tür tanılanmıştır. Ayrıca *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus* ve *Enterobacter agglomerans*'ın 2 farklı GC subgroup'u ve *Erwinia chrysanthemi*'nin ise 3 farklı biotip'i belirlenmiştir. RK-121 nolu strain ise MIS sisteminde tür düzeyinde tanılanamamış *Bacillus* GC group 22 olarak tanılanmıştır.

Tanılanan bütün bakteriyel strainlerin lokasyon ve konukçu açısından dağılımını gösteren bilgiler çizelge 4.2'de verilmiştir. Bu izolasyonların il bazında dağılımı Erzurum 199, Artvin 41, Iğdır 35, Kars 25 ve Erzincan 24'tür. Konukçu bazında dağılımı ise armut 185, elma 90, ayva 23, ahlat 12, yenedünya 8 ve muşmula 6'dır .



Çizelge 4-1. Bakteriyeel izolatların yağ asitlerine göre (MIS) tamı sonuçları\*

S. NO	MIS TANI SONUCU	MIS%	KONUKÇU	YER	YIL	İ. NO
1.	<i>Klebsiella terrigena</i>	0.614	Ahlat-Dal	Oltu-ERZURUM	1999	RK-60
2.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.645	Ahlat-Dal	Oltu-ERZURUM	2001	RK-264
3.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.582	Ahlat-Dal	Oltu-ERZURUM	2000	RK-265
4.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.842	Ahlat-Dal	Oltu-ERZURUM	2001	RK-267
5.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.550	Ahlat-Dal	Oltu-ERZURUM	2001	RK-271
6.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.745	Ahlat-Dal	Oltu-ERZURUM	2001	RK-272
7.	<i>Pseudomonas douderoffii</i>	0.128	Ahlat-Dal	Oltu-ERZURUM	2001	RK-274
8.	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	0.669	Ahlat-Dal	Oltu-ERZURUM	2000	RK-275
9.	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	0.684	Ahlat-Dal	Oltu-ERZURUM	2000	RK-276
10.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.789	Ahlat-Sürgün	Oltu-ERZURUM	2001	RK-266
11.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.497	Ahlat-Sürgün	Oltu-ERZURUM	2000	RK-273
12.	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.695	Armut-Dal	Catalehma-Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-7
13.	<i>Bacillus licheniformis</i>	0.499	Armut-Dal	İĞDIR	1999	RK-8
14.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.634	Armut-Dal	İĞDIR	1999	RK-9
15.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.756	Armut-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	1999	RK-10
16.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.461	Armut-Dal	ERZINCAN	1999	RK-11
17.	<i>Bacillus lentimorbus</i>	0.665	Armut-Dal	Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-12
18.	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype V	0.667	Armut-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-15
19.	<i>Bacillus licheniformis</i>	0.590	Armut-Dal	İĞDIR	1999	RK-16
20.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.617	Armut-Dal	İĞDIR	1999	RK-18
21.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.492	Armut-Dal	İĞDIR	1999	RK-19
22.	<i>Erwinia carotovora</i>	0.469	Armut-Dal	İĞDIR	1999	RK-20
23.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.456	Armut-Dal	ERZINCAN	1999	RK-21
24.	<i>Salmonella typhimurium</i>	0.436	Armut-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-22

\* S. NO: Tablo sıra numarası, %: MIS tamlama yüzdesi, İ. NO: İzolat numarası

Çizelge 4.1. (devam)

25.	<i>Acinetobacter radioresistens</i>	0.447	Armut-Dal	Catalelma-Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-25
26.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A	0.472	Armut-Dal	ERZINCAN	1999	RK-31
27.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.835	Armut-Dal	ERZINCAN	1999	RK-32
28.	<i>Agrobacterium rubi</i>	0.871	Armut-Dal	ERZINCAN	1999	RK-33
29.	<i>Agrobacterium rubi</i>	0.929	Armut-Dal	ERZINCAN	1999	RK-34
30.	<i>Erwinia caratovora</i>	0.638	Armut-Dal	Oltu-ERZURUM	1999	RK-35
31.	<i>Bacillus licheniformis</i>	0.398	Armut-Dal	İĞDIR	1999	RK-36
32.	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	0.674	Armut-Dal	İĞDIR	1999	RK-37
33.	<i>Sphingomonas capsulata</i>	0.483	Armut-Dal	İĞDIR	1999	RK-38
34.	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0.823	Armut-Dal	ERZINCAN	1999	RK-39
35.	<i>Brevibacterium casei</i>	0.618	Armut-Dal	Oltu-ERZURUM	1999	RK-40
36.	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0.835	Armut-Dal	ERZINCAN	1999	RK-41
37.	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0.864	Armut-Dal	ERZINCAN	1999	RK-42
38.	<i>Bacillus subtilis</i>	0.433	Armut-Dal	ERZINCAN	1999	RK-43
39.	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>fraxinus</i>	0.636	Armut-Dal	Çatalelma-Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-46
40.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.412	Armut-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-47
41.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.916	Armut-Dal	Yusufoğlu-ARTVIN	1999	RK-48
42.	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>fraxinus</i>	0.634	Armut-Dal	Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-49
43.	<i>Kocuria varians</i>	0.428	Armut-Dal	Ayvallı-Oltu-ERZURUM	1999	RK-50
44.	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.471	Armut-Dal	Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-51
45.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.919	Armut-Dal	ARTVIN	1999	RK-52
46.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.895	Armut-Dal	ERZINCAN	1999	RK-53
47.	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	0.782	Armut-Dal	Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-54
48.	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype IV	0.586	Armut-Dal	Çatalelma-Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-55
49.	<i>Clavibacter michiganense</i>	0.805	Armut-Dal	Çatalelma-Şenkaya-ERZURUM	1999	RK-56
50.	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>fraxinus</i>	0.755	Armut-Dal	Oltu-ERZURUM	1999	RK-57
51.	<i>Escherichia coli</i>	0.416	Armut-Dal	Taşlıköy-Oltu-ERZURUM	1999	RK-58
52.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.421	Armut-Dal	Taşlıköy-Oltu-ERZURUM	1999	RK-59
53.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.558	Armut-Dal	Yusufoğlu-ARTVIN	1999	RK-63



Çizelge 4.1. (devam)

54.	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype V	0.647	Armut-Dal	Başaklı-Oltu-ERZURUM	2000	RK-68
55.	<i>Kocuria rosea</i>	0.469	Armut-Dal	Başaklı-Oltu-ERZURUM	2000	RK-69
56.	<i>Bacillus simplex</i>	0.449	Armut-Dal	Oltu-ERZURUM	2000	RK-70
57.	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup B	0.499	Armut-Dal	Coşkunlar-Olur-ERZURUM	2000	RK-74
58.	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	0.787	Armut-Dal	Orcuk-Oltu-ERZURUM	2000	RK-75
59.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.410	Armut-Dal	Oltu-ERZURUM	2000	RK-76
60.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.917	Armut-Dal	İriağaç-Oltu-ERZURUM	2000	RK-78
61.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.718	Armut-Dal	Oltu-ERZURUM	2000	RK-83
62.	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0.453	Armut-Dal	Oltu-ERZURUM	2000	RK-89
63.	<i>Enterobacter intermedius</i>	0.625	Armut-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-90
64.	<i>Enterobacter intermedius</i>	0.605	Armut-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-91
65.	<i>Enterobacter intermedius</i>	0.889	Armut-Dal	Hamas-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-92
66.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.631	Armut-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-97
67.	<i>Serratia liquefaciens</i>	0.697	Armut-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-98
68.	<i>Serratia liquefaciens</i>	0.585	Armut-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-99
69.	<i>Enterobacter intermedius</i>	0.662	Armut-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-104
70.	<i>Serratia liquefaciens</i>	0.557	Armut-Dal	Çataleima-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-107
71.	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype V	0.588	Armut-Dal	Çataleima-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-108
72.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.426	Armut-Dal	İşhan-Yusufoğlu-ARTVIN	2000	RK-109
73.	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.425	Armut-Dal	İşhan-Yusufoğlu-ARTVIN	2000	RK-110
74.	<i>Enterobacter intermedius</i>	0.678	Armut-Dal	İriağaç-Oltu-ERZURUM	2000	RK-111
75.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.441	Armut-Dal	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-129
76.	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	0.277	Armut-Dal	Tortum-ERZURUM	2000	RK-142
77.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.472	Armut-Dal	Kadıkışlak-İĞDIR	2000	RK-180
78.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.792	Armut-Dal	Kadıkışlak-İĞDIR	2000	RK-183
79.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.868	Armut-Dal	Kadıkışlak-İĞDIR	2000	RK-184
80.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.774	Armut-Dal	Tortum-ERZURUM	2001	RK-198
81.	<i>Pseudomonas hutiensis</i>	0.870	Armut-Dal	Orcuk-Oltu-ERZURUM	2001	RK-202
82.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.476	Armut-Dal	Tortum-ERZURUM	2001	RK-206



Çizelge 4.1. (devam)

83.	<i>Erwinia rhapontici</i>	0.785	Armut-Dal	Necefali-İĞDIR	2001	RK-208
84.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A	0.462	Armut-Dal	Kadıkışlak-İĞDIR	2001	RK-209
85.	<i>Enterobacter cloacae</i>	0.710	Armut-Dal	Kadıkışlak-İĞDIR	2001	RK-210
86.	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	0.799	Armut-Dal	Coşkunlar-Olur-ERZURUM	2001	RK-213
87.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.710	Armut-Dal	Necefali-İĞDIR	2001	RK-217
88.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.746	Armut-Dal	İĞDIR	2001	RK-225
89.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.776	Armut-Dal	Kağızman-KARS	2001	RK-226
90.	<i>Erwinia rhapontici</i>	0.768	Armut-Dal	Kadıkışlak-İĞDIR	2001	RK-227
91.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.972	Armut-Dal	Yusuflı-ARTVIN	2001	RK-228
92.	<i>Serratia fonticola</i>	0.630	Armut-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	2001	RK-229
93.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A	0.546	Armut-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2001	RK-230
94.	<i>Chromobacterium violaceum</i>	0.427	Armut-Dal	Penek-Şenkaya-ERZURUM	2001	RK-231
95.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.691	Armut-Dal	Kağızman-KARS	2001	RK-232
96.	<i>Vibrio alginolyticus</i>	0.606	Armut-Dal	Oltu-ERZURUM	2001	RK-233
97.	<i>Erwinia rhapontici</i>	0.701	Armut-Dal	İĞDIR	2001	RK-234
98.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.413	Armut-Dal	Kağızman-KARS	2001	RK-235
99.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.779	Armut-Dal	İĞDIR	2001	RK-236
100.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.939	Armut-Dal	Kağızman-KARS	2001	RK-237
101.	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	0.664	Armut-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	2001	RK-238
102.	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	0.753	Armut-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	2001	RK-239
103.	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	0.646	Armut-Dal	Orcu-Oltu-ERZURUM	2001	RK-241
104.	<i>Pseudomonas balearica</i>	0.837	Armut-Dal	Kadıkışlak-İĞDIR	2001	RK-242
105.	<i>Erwinia rhapontici</i>	0.622	Armut-Dal	İĞDIR	2001	RK-243
106.	<i>Pseudomonas cichorii</i>	0.647	Armut-Dal	Paşalı-Şenkaya-ERZURUM	2001	RK-247
107.	<i>Curtobacterium flaccumfacien</i>	0.403	Armut-Dal	Kaledibi-Olur-ERZURUM	2001	RK-252
108.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> - biotype A	0.933	Armut-Dal	Şenkaya-ERZURUM	2001	RK-254
109.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> - biotype B	0.838	Armut-Dal	Şenkaya-ERZURUM	2001	RK-255
110.	<i>Pseudomonas fluorescens</i> - biotype B	0.954	Armut-Dal	Şenkaya-ERZURUM	2001	RK-256

Çizelge 4.1. (devam)

111.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.565	Armut-Dal	İşhan-Yusufeli-ARTVİN	2001	RK-257
112.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.473	Armut-Dal	ERZINCAN	2001	RK-258
113.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.787	Armut-Dal	ERZURUM	2001	RK-263
114.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.676	Armut-Dal	Yusufeli-ARTVİN	2001	RK-268
115.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.758	Armut-Dal	Paşalı-Şenkaya-ERZURUM	2001	RK-269
116.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.756	Armut-Dal	Paşalı-Şenkaya-ERZURUM	2001	RK-270
117.	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	0.681	Armut-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	2001	RK-314
118.	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	0.741	Armut-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	2001	RK-315
119.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.397	Armut-Dal	ARTVİN	2001	RK-316
120.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.510	Armut-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	2001	RK-317
121.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.564	Armut-Dal	ERZINCAN	2001	RK-318
122.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.654	Armut-Dal	İşhan-Yusufeli ARTVİN	2001	RK-319
123.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.497	Armut-Dal	İspir-ERZURUM	2001	RK-320
124.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.561	Armut-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	2001	RK-321
125.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.757	Armut-Dal	İşhan-Yusufeli ARTVİN	2001	RK-322
126.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.767	Armut-Dal	İspir-ERZURUM	2001	RK-323
127.	<i>Brevibacillus brevis</i>	0.215	Armut-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	2001	RK-324
128.	<i>Actinomyadura yumaensis</i>	0.489	Armut-Göyde	ERZINCAN	1999	RK-13
129.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.432	Armut-Kabuk	İĞDIR	2000	RK-152
130.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.797	Armut-Meyve	ERZINCAN	1999	RK-14
131.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.754	Armut-Meyve	ERZINCAN	1999	RK-17
132.	<i>Bacillus mycoides</i> GC subgroup A	0.568	Armut-Meyve	Aksu-Tortum-ERZURUM	1999	RK-23
133.	<i>Actinomyadura yumaensis</i>	0.421	Armut-Meyve	ERZINCAN	1999	RK-24
134.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.802	Armut-Meyve	ERZURUM	1999	RK-27
135.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.798	Armut-Meyve	Kadıkışlak-İĞDIR	2000	RK-181
136.	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	0.761	Armut-Meyve	Kaledibi-Olur-ERZURUM	2001	RK-250
137.	<i>Alcaligenes pitechaudii</i>	0.433	Armut-Sürgün	Civan-Olur-ERZURUM	2000	RK-116
138.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.487	Armut-Sürgün	Civan-Olur-ERZURUM	2000	RK-117
139.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.876	Armut-Sürgün	İşhan-Yusufeli-ARTVİN	2000	RK-118



Çizelge 4.1. (devam)

140.	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	0.459	Armut-Sürgün	Işhan-Yusufoğlu-ARTVİN	2000	RK-119
141.	<i>Bacillus</i> GC group 22	0.469	Armut-Sürgün	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-121
142.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.360	Armut-Sürgün	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-122
143.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.486	Armut-Sürgün	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-124
144.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.479	Armut-Sürgün	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-125
145.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.493	Armut-Sürgün	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-128
146.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	0.773	Armut-Sürgün	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-140
147.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.251	Armut-Sürgün	Tortum-ERZURUM	2000	RK-143
148.	<i>Neisseria mucosa</i>	0.457	Armut-Sürgün	Kadıkışlak-İĞDIR	2000	RK-144
149.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.313	Armut-Sürgün	Tortum-ERZURUM	2000	RK-149
150.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.884	Armut-Sürgün	Tortum-ERZURUM	2000	RK-151
151.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.591	Armut-Sürgün	Neeefalı-İĞDIR	2000	RK-154
152.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.461	Armut-Sürgün	Tortum-ERZURUM	2000	RK-156
153.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.481	Armut-Sürgün	Tortum-ERZURUM	2000	RK-162
154.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.871	Armut-Sürgün	Kağızman-KARS	2000	RK-164
155.	<i>Pseudomonas cichorii</i>	0.647	Armut-Sürgün	Kağızman-KARS	2000	RK-166
156.	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	0.569	Armut-Sürgün	Kağızman-KARS	2000	RK-170
157.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.448	Armut-Sürgün	Kağızman-KARS	2000	RK-172
158.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.481	Armut-Sürgün	Kağızman-KARS	2000	RK-173
159.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.707	Armut-Sürgün	Kağızman-KARS	2000	RK-174
160.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.853	Armut-Sürgün	Kadıkışlak-İĞDIR	2000	RK-182
161.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.891	Armut-Sürgün	Kadıkışlak-İĞDIR	2000	RK-185
162.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.880	Armut-Sürgün	Kadıkışlak-İĞDIR	2000	RK-186
163.	<i>Erwinia rhapontici</i>	0.731	Armut-Sürgün	Kağızman-KARS	2000	RK-189
164.	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	0.894	Armut-Sürgün	Kaledibi-Oltu-ERZURUM	2001	RK-249
165.	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.409	Armut-Sürgün	Çamlıbel-Oltu-ERZURUM	2001	RK-277
166.	<i>Neisseria subflava</i>	0.032	Armut-Sürgün	Çamlıbel-Oltu-ERZURUM	2001	RK-278
167.	<i>Brevibacillus laterosporus</i>	0.543	Armut-Sürgün	Çamlıbel-Oltu-ERZURUM	2001	RK-279
168.	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.404	Armut-Sürgün	Çamlıbel-Oltu-ERZURUM	2001	RK-280

Çizelge 4.1. (devam)

169.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.657	Armut-Sürgün	Çamlıbel-Oltu-ERZURUM	2001	RK-281
170.	<i>Pseudomonas doudoroffii</i>	0.139	Armut-Sürgün	Çamlıbel-Oltu-ERZURUM	2001	RK-282
171.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.721	Armut-Sürgün	ERZİNCAN	2001	RK-283
172.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.701	Armut-Sürgün	Yusufoeli-ARTVİN	2001	RK-284
173.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.620	Armut-Sürgün	ERZİNCAN	2001	RK-285
174.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.534	Armut-Sürgün	ERZİNCAN	2001	RK-286
175.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.583	Armut-Sürgün	Tortum-ERZURUM	2001	RK-287
176.	<i>Leclercia adcarboxylata</i>	0.701	Armut-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-290
177.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.545	Armut-Sürgün	ERZİNCAN	2001	RK-291
178.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.462	Armut-Sürgün	ERZİNCAN	2001	RK-292
179.	<i>Alcaligenes xylosoxydans</i>	0.470	Armut-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-293
180.	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	0.438	Armut-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-297
181.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>populans</i>	0.463	Armut-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-298
182.	<i>Burkholderia pyriocinia</i>	0.528	Armut-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-299
183.	<i>Burkholderia pyriocinia</i>	0.682	Armut-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-300
184.	<i>Bacillus cereus</i> GS Subgroup-A	0.461	Armut-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-301
185.	<i>Aerococcus vridans</i>	0.412	Armut-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-305
186.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.748	Armut-Sürgün	ARTVİN	2001	RK-306
187.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.849	Armut-Sürgün	İşhan-Yusufoeli-ARTVİN	2001	RK-307
188.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.491	Armut-Sürgün	ERZİNCAN	2001	RK-308
189.	<i>Burkholderia pyriocinia</i>	0.792	Armut-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-309
190.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.684	Armut-Sürgün	Yusufoeli-ARTVİN	2001	RK-310
191.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.596	Armut-Sürgün	Yusufoeli-ARTVİN	2001	RK-311
192.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.758	Armut-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-312
193.	<i>Pseudomonas doudoroffii</i>	0.433	Armut-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-313
194.	<i>Citrobacter freundii</i>	0.411	Armut-Yaprak	ERZURUM	1999	RK-26
195.	<i>Pseudomonas putida</i> biotip A	0.438	Armut-Yaprak	ERZURUM	1999	RK-28
196.	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0.820	Armut-Yaprak	İspir-ERZURUM	2000	RK-190
197.	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	0.793	Ayya-Dal	Coşkunlar-Oltu-ERZURUM	1999	RK-62

Çizelge 4.1. (devam)

198.	<i>Micrococcus lylae</i>	0.431	Ayva-Dal	Oltu-ERZURUM	2000	RK-71
199.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.757	Ayva-Dal	Orcuk-Oltu-ERZURUM	2000	RK-72
200.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.654	Ayva-Dal	Oltu-ERZURUM	2000	RK-73
201.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.830	Ayva-Dal	Yusufeli-ARTVIN	2000	RK-77
202.	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	0.576	Ayva-Dal	İşhan-Yusufeli-ARTVIN	2000	RK-114
203.	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	0.815	Ayva-Dal	Oltu-ERZURUM	2001	RK-215
204.	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	0.977	Ayva-Dal	Ayvalı-Oltu-ERZURUM	2001	RK-220
205.	<i>Ralstonia pickettii</i>	0.714	Ayva-Dal	Tortum-ERZURUM	2001	RK-222
206.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.594	Ayva-Dal	Ayvalı-Oltu-ERZURUM	2001	RK-253
207.	<i>Klebsiella trevisanii</i>	0.841	Ayva-Meyve	Oltu-ERZURUM	2001	RK-245
208.	<i>Photobacterium damsela</i>	0.395	Ayva-Sürgün	Civan-Oltu-ERZURUM	2000	RK-115
209.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.835	Ayva-Sürgün	İşhan-Yusufeli-ARTVIN	2000	RK-120
210.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.533	Ayva-Sürgün	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-126
211.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.486	Ayva-Sürgün	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-127
212.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.462	Ayva-Sürgün	İGDIR	2000	RK-147
213.	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0.934	Ayva-Sürgün	İşhan-Yusufeli-ARTVIN	2001	RK-204
214.	<i>Ralstonia pickettii</i>	0.273	Ayva-Sürgün	İşhan-Yusufeli-ARTVIN	2001	RK-212
215.	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	0.866	Ayva-Sürgün	İşhan - Yusufeli-ARTVIN	2001	RK-260
216.	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	0.904	Ayva-Sürgün	İşhan - Yusufeli-ARTVIN	2001	RK-261
217.	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	0.904	Ayva-Sürgün	İşhan - Yusufeli-ARTVIN	2001	RK-262
218.	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0.714	Elma-Dal	Başaklı-Oltu-ERZURUM	1999	RK-1
219.	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0.778	Elma-Dal	Başaklı-Oltu-ERZURUM	1999	RK-2
220.	<i>Serratia liquefaciens</i>	0.505	Elma-Dal	Başaklı-Oltu-ERZURUM	1999	RK-3
221.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.579	Elma-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	1999	RK-4
222.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.549	Elma-Dal	ERZINCAN	1999	RK-5
223.	<i>Bacillus subtilis</i>	0.660	Elma-Dal	ERZINCAN	1999	RK-6
224.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup III	0.923	Elma-Dal	Orcuk-Oltu-ERZURUM	2000	RK-64
225.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup III	0.929	Elma-Dal	Oltu-ERZURUM	2000	RK-65
226.	<i>Brevundimonas diminuta</i>	0.401	Elma-Dal	İşhan-Yusufeli-ARTVIN	2000	RK-66



Çizelge 4.1. (devam)

227.	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype II	0.610	Elma-Dal	Başaklı-Oltu-ERZURUM	2000	RK-67
228.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.762	Elma-Dal	İriğaç-Oltu-ERZURUM	2000	RK-79
229.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.763	Elma-Dal	İriğaç-Oltu-ERZURUM	2000	RK-80
230.	<i>Serratia liquefaciens</i>	0.880	Elma-Dal	Kaledibi-Oltu-ERZURUM	2000	RK-81
231.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.718	Elma-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-84
232.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.857	Elma-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-85
233.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.698	Elma-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-86
234.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.861	Elma-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-87
235.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.882	Elma-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-93
236.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.876	Elma-Dal	Hamas-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-94
237.	<i>Serratia liquefaciens</i>	0.568	Elma-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-95
238.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.615	Elma-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-96
239.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.880	Elma-Dal	Yünören-Oltu-ERZURUM	2000	RK-100
240.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.552	Elma-Dal	Yünören-Oltu-ERZURUM	2000	RK-101
241.	<i>Serratia liquefaciens</i>	0.572	Elma-Dal	Taşlıköy-Oltu-ERZURUM	2000	RK-102
242.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.626	Elma-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-103
243.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.420	Elma-Dal	Taşlıköy-Oltu-ERZURUM	2000	RK-105
244.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.742	Elma-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-106
245.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.511	Elma-Dal	Taşlıköy-Oltu-ERZURUM	2000	RK-112
246.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.471	Elma-Dal	Taşlıköy-Oltu-ERZURUM	2000	RK-113
247.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.489	Elma-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2000	RK-123
248.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.349	Elma-Dal	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-131
249.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.491	Elma-Dal	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-132
250.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.368	Elma-Dal	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-133
251.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.342	Elma-Dal	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-134
252.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.405	Elma-Dal	Tortum-ERZURUM	2000	RK-157
253.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.289	Elma-Dal	Tortum-ERZURUM	2000	RK-158
254.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.517	Elma-Dal	Tortum-ERZURUM	2000	RK-160
255.	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.520	Elma-Dal	Tortum-ERZURUM	2000	RK-161



Çizelge 4.1. (devam)

256.	<i>Chromobacterium violaceum</i>	0.865	Elma-Dal	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-165
257.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.830	Elma-Dal	Kağızman-KARS	2000	RK-167
258.	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	0.551	Elma-Dal	Kağızman-KARS	2000	RK-171
259.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.673	Elma-Dal	Kağızman-KARS	2000	RK-175
260.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.297	Elma-Dal	Kağızman-KARS	2000	RK-176
261.	<i>Serratia fonticola</i>	0.437	Elma-Dal	Kağızman-KARS	2000	RK-177
262.	<i>Vibrio cholerae</i>	0.453	Elma-Dal	Kağızman-KARS	2000	RK-178
263.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.458	Elma-Dal	Kağızman-KARS	2000	RK-179
264.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.511	Elma-Dal	Kağızman-KARS	2000	RK-187
265.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.491	Elma-Dal	Kağızman-KARS	2000	RK-188
266.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.792	Elma-Dal	Kağızman-KARS	2000	RK-192
267.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.643	Elma-Dal	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-193
268.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.601	Elma-Dal	Narman-ERZURUM	2001	RK-194
269.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.652	Elma-Dal	İĞDIR	2001	RK-196
270.	<i>Alcaligenes xylosoxydans</i>	0.416	Elma-Dal	İĞDIR	2001	RK-197
271.	<i>Proteus vulgaris</i> GC subgroup A	0.616	Elma-Dal	İşhan-Yusufoğlu-ARTVIN	2001	RK-199
272.	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	0.860	Elma-Dal	Oltu-ERZURUM	2001	RK-200
273.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.445	Elma-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	2001	RK-201
274.	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	0.802	Elma-Dal	Orcuk-Oltu-ERZURUM	2001	RK-203
275.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.677	Elma-Dal	Uzundere-ERZURUM	2001	RK-205
276.	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype IV	0.615	Elma-Dal	Kadıkışlak-İĞDIR	2001	RK-207
277.	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	0.804	Elma-Dal	Uzundere-ERZURUM	2001	RK-211
278.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.595	Elma-Dal	Bardız-Şenkaya-ERZURUM	2001	RK-214
279.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.645	Elma-Dal	Tortum-ERZURUM	2001	RK-216
280.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.307	Elma-Dal	Ayvalı-Oltu-ERZURUM	2001	RK-218
281.	<i>Erwinia rhapontici</i>	0.736	Elma-Dal	Oltu-ERZURUM	2001	RK-219
282.	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0.636	Elma-Dal	Başaklı-Oltu-ERZURUM	2001	RK-221
283.	<i>Yersinia enterocolitica</i>	0.276	Elma-Dal	ERZINCAN	2001	RK-223

Çizelge 4.1. (devam)

284.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.687	Elma-Dal	ERZİNCAN	2001	RK-224
285.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A	0.735	Elma-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	2001	RK-240
286.	<i>Enterobacter intermedius</i>	0.610	Elma-Kabuk	Oltu-ERZURUM	2000	RK-82
287.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.782	Elma-Kabuk	Kağızman-KARS	2000	RK-169
288.	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	0.522	Elma-Meyve	Kağızman-KARS	2000	RK-191
289.	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	0.749	Elma-Meyve	Oltu-ERZURUM	2001	RK-244
290.	<i>Serratia liquefaciens</i>	0.804	Elma-Meyve	Oltu-ERZURUM	2001	RK-251
291.	<i>Erwinia rhapontici</i>	0.867	Elma-Sürgün	Uzundere-ARTVIN	2000	RK-135
292.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.409	Elma-Sürgün	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-136
293.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.393	Elma-Sürgün	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-137
294.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.855	Elma-Sürgün	Uzundere-ERZURUM	2000	RK-138
295.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.434	Elma-Sürgün	Kadıkışlak-İĞDIR	2000	RK-145
296.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.897	Elma-Sürgün	Kadıkışlak-İĞDIR	2000	RK-146
297.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.533	Elma-Sürgün	Necefali-İĞDIR	2000	RK-155
298.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.469	Elma-Sürgün	Kağızman-KARS	2000	RK-168
299.	<i>Actinomadura yumaensis</i>	0.226	Elma-Sürgün	Kaledibi-Ohur-ERZURUM	2001	RK-248
300.	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	0.677	Elma-Sürgün	Tortum-ERZURUM	2001	RK-288
301.	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	0.739	Elma-Sürgün	Tortum-ERZURUM	2001	RK-289
302.	<i>Bacillus marinus</i>	0.546	Elma-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-294
303.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.789	Elma-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-296
304.	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	0.729	Elma-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-302
305.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.743	Elma-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-303
306.	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0.759	Elma-Sürgün	İspir-ERZURUM	2001	RK-304
307.	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0.427	Elma-Tomurcuk	Tortum-ERZURUM	2000	RK-159
308.	<i>Erwinia amylovora</i>	0.833	Elma-Tomurcuk	Oltu-ERZURUM	2001	RK-246
309.	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	0.756	Muşmula-Dal	Yusufuli-ARTVIN	1999	RK-29
310.	<i>Methylobacterium mesophilicum</i> GC subgroup A	0.451	Muşmula-Dal	Ayvalı-Oltu-ERZURUM	2001	RK-30
311.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.808	Muşmula-Dal	Uzundere-ERZURUM	1999	RK-44
312.	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	0.798	Muşmula-Dal	Tortum-ERZURUM	2001	RK-45

Çizelge 4.1. (devam)

313.	<i>Pseudomonas cichorii</i>	0.552	Muşmula-Dal	Aksu-Tortum-ERZURUM	1999	<b>RK-61</b>
314.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.456	Muşmula-Dal	Yusufeli-ARTVIN	2000	<b>RK-141</b>
315.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.446	Elma-Dal	Uzundere-ERZURUM	2000	<b>RK-130</b>
316.	<i>Serratia grimesii</i>	0.675	Yenidünya-Dal	Yusufeli-ARTVIN	2000	<b>RK-88</b>
317.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.367	Yenidünya-Dal	Yusufeli-ARTVIN	2000	<b>RK-139</b>
318.	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	0.402	Yenidünya-Dal	Yusufeli-ARTVIN	1999	<b>RK-148</b>
319.	<i>Serratia fonticola</i>	0.754	Yenidünya-Dal	Yusufeli-ARTVIN	1999	<b>RK-150</b>
320.	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.418	Yenidünya-Dal	Yusufeli-ARTVIN	2000	<b>RK-153</b>
321.	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0.547	Yenidünya-Dal	Yusufeli-ARTVIN	1999	<b>RK-163</b>
322.	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	0.943	Yenidünya-Dal	Yusufeli-ARTVIN	2001	<b>RK-195</b>
323.	<i>Chromobacterium violaceum</i>	0.879	Yenidünya-Dal	Yusufeli-ARTVIN	2001	<b>RK-259</b>
324.	<i>Bacillus lentimorbus</i>	0.429	Yenidünya-Dal	Yusufeli-ARTVIN	2001	<b>RK-295</b>



Çizelge 4.2. (devam)

İZOLE EDİLEN BAKTERİ TURLERİ	T						ARTVİN						ERZİNCAN						ERZURUM						İĞDIR						KARS					
	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F
<i>Brevibacillus laterosporus</i>	1																		1																	
<i>Brevibacterium casei</i>	1																		1																	
<i>Brevundimonas diminuta</i>	1						1																													
<i>Burkholderia cepacia</i>	1																		1																	
<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	8																		2	3				3												
<i>Chromobacterium violaceum</i>	3												1						1					1												
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	2						1																	1												
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	2																		2																	
<i>Citrobacter freundii</i>	1																		1																	
<i>Clavibacter michiganense</i>	1																		1																	
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	4						1												2																	
<i>Enterobacter agglomerans</i> GC s. g. I	17												1	1					4	1				4							2					1
<i>Enterobacter agglomerans</i> GC s. g. III	2																							2												
<i>Enterobacter cloacae</i>	1																																			
<i>Enterobacter intermedius</i>	5																		4					1												
<i>Erwinia amylovora</i>	40						8												6	2				4												4
<i>Erwinia carotovora</i>	2																		1																	
<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype IV	2																		1																	1
<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype II	1																							1												
<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype V	3																		3																	
<i>Erwinia rhapontici</i>	7																							1												1
<i>Escherichia coli</i>	1																		1																	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6																		1																	
<i>Klebsiella terrigena</i>	1																		1																	
<i>Klebsiella trevisanii</i>	1																							1												
<i>Kocuria rosea</i>	1																		1																	







Çizelge 4.2. (devam)

İZOLE EDİLEN BAKTERİ TÜRLERİ	T	ARTVİN						ERZİNCAN						ERZURUM						İGDIR						KARS											
		A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F	A	B	C	D	E	F						
<i>Ralstonia pickettii</i>	2																																				
<i>Salmonella typhimurium</i>	1																																				
<i>Serratia fonticola</i>	3						1																														
<i>Serratia grimesii</i>	1						1																														
<i>Serratia liquefaciens</i>	8																																				
<i>Sphingomonas capsulata</i>	1																																				
<i>Vibrio alginolyticus</i>	1																																				
<i>Vibrio hollisae</i>	1																																				
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1																																				
		0	1	8	4	2	8	0	2	0	3	0	0	1	1	1	6	4	0	0	2	1	6	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0		
		9						1					2	0	3	5				8							2	2	2	2							
<b>GENEL TOPLAMLAR</b>	<b>324</b>	<b>41</b>						<b>24</b>						<b>199</b>						<b>35</b>						<b>25</b>											

Patojen bakterilerin içerdikleri yağ asitleri ve bunların yüzde (%) oranları çizelge 4.3'de, yağ asitlerinin % aritmetik ortalaması ve standart sapması ise çizelge 4.4'de verilmiştir. Farklı türler arasında içerdikleri yağ asidi çeşitliliği % oranları açısından çok büyük oranlarda farklılıklar bulunmasına rağmen; *E. amylovora*, *E. rhapontici* ve *P. agglomerans* gibi yakın akraba türler arasında büyük benzerlikler bulunmaktadır. Bu türlerin üçünde de 12:0, 14:0, 16:0, 17:0, 17:0 cyclo ve 18:1 w7c yağ asitleri bütün strainlerde bulunmasına rağmen; 18:0 yağ asidinin büyük bir oranda benzerliğinin yanı sıra diğer yağ asitlerinin mevcudiyeti açısından değişkenliğin olduğu görülmektedir. *P. aeruginosa*, *P. cichorii*, *P. huttensis*, *P. s. pv. syringae* ve *P. putida* türleri arasında da büyük oranda bir benzerlik vardır. Bu türlerin bütün strainlerinde 12:0, 12:0 2OH, 12:0 3OH, 16:0, 17:0 cyclo, 18:0 ve 18:1 w7c yağ asitleri görülmesine rağmen diğer yağ asitleri açısından değişen oranlarda farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıklar da tür hatta tür altı seviyede bu sistemin tanı yapabilmelerini sağlamaktadır. *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* türleri arasında ise; 12:0, 16:0, 17:0 cyclo; 18:0 ve 18:1 w7c yağ asitlerinin her iki türde de bulunması gibi bir benzerlik olmasının yanı sıra; *P. s. pv. syringae* strainlerinin tamamında görülen 12:0 2OH ve 12:0 3OH yağ asitlerinin *E. amylovora* strainlerinde bulunmaması ve *E. amylovora* strainlerinin tamamında görülen 14:0 ve 15:0 yağ asitlerinin *P. s. pv. syringae* strainlerinin tamamında görülmemesi gibi farklılıklar bulunmaktadır. *E. amylovora* ile *E. rhapontici* arasında önemli bir farklılık görülmez iken *P. huttensis* ve *P. s. pv. syringae* arasında 12:0 2OH yağ asidinin *P. s. pv. syringae*'nin bütün strainlerinde bulunmasına rağmen *P. huttensis* strainlerinin tamamında bulunmaması gibi bir farklılık göze çarpmaktadır. *P. s. pv. syringae* strain RK-257'nin MIS tanı sonuç raporu EK 1 ve EK 2'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Patojen bakterilerin içerdikleri yağ asidi çeşidi ve strainlerde bulunma oranı\*

YAĞ ASİTLERİ	RK-155	ORAN	RK-106	ORAN	RK-231	ORAN	RK-259	ORAN	RK-90	ORAN	RK-5	RK-9	RK-18
8:0 3OH		-		-		-		-		-			
10:0		-		-	0.22			1/2					
10:0 3OH		-		-			5.03	1/2	1.60	1/1			
11:0 2OH		-		-				-					
11:0 3OH		-		-	4.77			1/2	0.32	1/1			
11:0 ISO 3OH		-		-				-					
11 METHYL 18:1 w7c		-		-				-					
12:0	2.82	1/1		-	4.72		4.19	2/2	2.91	1/1	4.86	4.47	4.99
12:0 2OH		-		-	2.26		2.32	2/2	0.26	1/1			
12:0 3OH		-		-	3.39		2.07	2/2	0.95	1/1			
12:1 3OH		-		-				-	0.83	1/1			
13:0		-		-				-	0.59	1/1	0.46		
13:0 ISO		-	0.77	1/1				-					
14:0	4.94	1/1	0.74	1/1	0.47		0.44	2/2	6.04	1/1	3.95	4.49	4.15
14:0 ISO		-	0.87	1/1				-					
14:0 2OH		-		-				-					
14:1 w5c		-		-				-			0.35		0.61
15:0	0.37	1/1		-				-					
15:0 ISO		-	51.38	1/1	0.30			1/2	2.76	1/1	1.24	1.15	1.16
15:0 ANTEISO		-	28.48	1/1				-					
15:0 3OH		-		-				-					
15:1 w6c		-		-				-			0.14		

\**Alcaligenes piechaudii* strain RK-155, *Bacillus pumilus* strain RK-106, *Chromobacterium violaceum* strain RK-231, RK-259, *Enterobacter intermedium* strain RK-90, *Erwinia amylovora* strain RK-5, RK-9, RK-18

Çizelge 4.3 (devam)

16:0		28.22	1/1	1.44	1/1	28.15	30.60	2/2	26.94	1/1	30.83	32.56	31.89
16:0 N ALCOHOL			-		-			-		-			
16:0 ISO			-	1.33	1/1			-		-			
16:0 3OH			-		-	0.98	0.96	2/2		-			
16:1 2OH			-		-			-		-			
16:1 w5c			-		-			-		-			
16:1 w7c ALCOHOL			-	0.71	1/1			-		-			
16:1 w11c			-	1.10	1/1			-		-			
17:0		0.29	1/1		-			-	2.38	1/1	2.82	2.14	2.88
17:0 ISO			-	5.78	1/1			-		-			
17:0 ANTEISO			-	4.27	1/1			-		-			
17:0 CYCLO		6.22	1/1		-		0.36	1/2	7.46	1/1	11.41	7.04	7.80
17:1w8c			-	2.44	1/1			-	0.23	1/1	0.30		
18:0		0.22	1/1		-	1.06	0.53	2/2	0.54	1/1	0.41		0.71
18:1 w5c			-		-			-		-			
18:1 w7c		11.92	1/1		-	17.86	17.78	2/2	11.53	1/1	10.26	8.81	9.28
18:1 w8c			-		-			-		-			
18:1 w9c			-		-	0.85		1/2		-			
19:0 ISO			-		-			-		-			
19:0 CYCLO			-		-			-		-			
19:0 CYCLO w8c			-		-			-	0.21	1/1			
19:0 METHYL			-		-			-		-			
19:0 10 METHYL		6.45	1/1		-	3.57		1/2		-			

Çizelge 4.3 (devam)

YAĞ ASITLERİ	RK-19	RK-214	RK-216	RK-217	RK-218	RK-224	RK-225	RK-226	RK-228	RK-232	RK-235	RK-236
8:0 3OH												
10:0	0.12	0.39							0.06			
10:0 3OH												
11:0 2OH												
11:0 3OH												
11:0 ISO 3OH												
11 METHYL 18:1 w7c												
12:0	4.68	4.89	5.24	5.01	4.99	5.44	4.80	4.89	4.89	4.24	4.91	4.94
12:0 2OH												
12:0 3OH				0.06				0.06				0.04
12:1 3OH												
13:0	0.44	0.29		0.08	0.56	0.15	0.17	0.18	0.13		0.53	0.24
13:0 ISO												
14:0	4.02	4.15	4.41	4.36	3.97	4.62	4.63	4.72	4.67	3.90	4.09	4.34
14:0 ISO												
14:0 2OH	0.58	0.65			0.69	0.50		0.49			0.62	0.45
14:1 w5c												
15:0	1.22	1.13		0.29	1.53	0.44	0.57	0.51	0.49	0.28	1.73	0.67
15:0 ISO												
15:0 ANTEISO												
15:0 3OH	0.15				0.14							
15:1 w6c					0.17							

\**Erwinia amylovora* strain RK-19, RK-214, RK-216, RK-217, RK-218, RK-224, RK-225, RK-226, RK-228, RK-232, RK-235 ve RK-236

Çizelge 4.3 (devam)

16:0		31.38	31.87	34.84	34.04	29.50	33.40	34.08	34.16	35.44	34.85	30.17	34.06
16:0 N ALCOHOL													
16:0 ISO													
16:0 3OH													
16:1 2OH													
16:1 w5c						0.12	0.12			0.12		0.15	
16:1 w7c ALCOHOL					0.13	0.12		0.12					
16:1 w11c													
17:0		4.01	2.28	0.41	0.74	4.35	0.95	1.21	1.11	0.95	0.96	3.91	1.69
17:0 ISO													
17:0 ANTEISO													
17:0 CYCLO		8.40	7.78	3.22	5.50	16.38	7.61	8.17	8.03	7.79	5.36	14.90	8.59
17:1 w8c		0.37	0.29			0.37				0.11		0.36	0.18
18:0		1.14	0.74	0.86	0.57	0.30	0.27	0.35		0.32	0.85	0.32	0.34
18:1 w5c					0.15								
18:1 w7c		8.71	8.22	11.22	11.05	7.88	7.19	8.37	8.25	7.55	11.92	7.59	8.19
18:1 w8c													
18:1 w9c				0.54			0.24	0.27		0.28			0.23
19:0 ISO		0.32			0.15	0.16						0.10	
19:0 CYCLO													
19:0 CYCLO w8c													
19:0 METHYL													
19:0 10 METHYL			1.25				0.90	0.95	0.82	0.81			0.60



Çizelge 4.3 (devam)

YAĞ ASİTLERİ	RK-237	RK-246	RK-268	RK-269	RK-270	RK-271	RK-272	RK-273	RK-281	RK-283	RK-284	RK-285
8:0 3OH												
10: 0												
10:0 3OH												
11:0 2OH												
11:0 3OH												
11:0 ISO 3OH												
11 METHYL 18:1 w7c												
12:0	5.53	5.43	4.96	4.78	5.03	5.00	4.32	4.69	5.02	5.00	4.06	5.79
12:0 2OH												
12:0 3OH												
12:1 3OH												
13:0	0.10	0.34	0.22	0.01	0.09	0.04	0.49	0.53	0.75	0.84	0.47	0.69
13:0 ISO												
14:0	5.21	5.15	4.79	5.32	5.00	4.99	3.99	5.44	5.32	5.55	5.02	5.09
14:0 ISO												
14:0 2OH		0.50										
14:1 w5c												
15:0	0.27	0.43	0.23	0.56	0.45	0.37	0.78	0.09	0.38	0.98	0.37	0.47
15:0 ISO												
15:0 ANTEISO												
15:0 3OH												
15:1 w6c												

\*Erwinia amylovora strain RK-237, RK-246, RK-268, RK-269, RK-270, RK-271, RK-272, RK-273, RK-281, RK-283, RK-284 ve RK-285

Çizelge 4.3 (devam)

16:0		36.42	34.59	35.87	35.78	34.96	34.76	37.03	36.52	35.98	36.03	35.46	34.04
16:0 N ALCOHOL													
16:0 ISO													
16:0 3OH													
16:1 2OH													
16:1 w5c							0.22				0.15		
16:1 w7c ALCOHOL					0.13	0.12		0.12					
16:1 w11c													
17:0		0.73	0.76	0.41	0.64	0.35	0.75	1.43	1.18	0.96	0.46	2.91	1.65
17:0 ISO													
17:0 ANTEISO													
17:0 CYCLO		8.39	6.99	3.22	5.58	13.33	7.37	5.17	8.69	7.39	5.60	10.38	7.56
17:1w8c						0.34				0.15		0.67	0.19
18:0		0.47	0.56	0.84	0.57	0.47	0.39	0.39		0.37	0.79	0.37	0.38
18:1 w5c					0.15								
18:1 w7c		8.31	8.91	10.20	11.32	7.34	6.14	8.79	7.98	7.94	10.57	7.01	8.74
18:1 w8c													
18:1 w9c		0.24		0.55			0.19	0.28	0.22			0.18	
19:0 ISO					0.32	0.28						0.109	
19:0 CYCLO													
19:0 CYCLO w8c													
19:0 METHYL													
19:0 10 METHYL							0.90	0.95	0.82	0.81			0.60

Çizelge 4.3 (devam)

YAĞ ASİTLERİ	RK-286	RK-287	RK-291	RK-292	RK-306	RK-307	RK-308	RK-310	RK-311	RK-312	RK-320	RK-322
8:0 3OH												
10:0				0.05					0.06			
10:0 3OH												
11:0 2OH												
11:0 3OH												
11:0 ISO 3OH												
11 METHYL 18:1 w7c				0.10								
12:0	5.78	4.34	5.25	5.15	4.23	5.56	5.83	4.55	4.54	4.09	4.98	4.06
12:0 2OH												
12:0 3OH												
12:1 3OH								0.06				0.04
13:0	0.56	0.79	0.12	0.17	0.47	0.79	0.48	0.13	0.16		0.33	0.21
13:0 ISO												
14:0	5.98	3.48	4.76	4.70	5.98	4.90	4.05	4.75	5.67	3.99	4.59	4.09
14:0 ISO												
14:0 2OH		0.69				0.56					0.67	0.43
14:1 w5c												
15:0	0.69	1.00	0.38	0.44	1.34	0.47	0.48	0.39	0.42	0.24	1.98	1.69
15:0 ISO												
15:0 ANTEISO												
15:0 3OH		0.15			0.23							
15:1 w6c		0.18			0.09							

\*Erwinia amylovora strain RK-286, RK-287, RK-291, RK-292, RK-306, RK-307, RK-308, RK-310, RK-311, RK-312, RK-320 ve RK-322

Çizelge 4.3 (devam)

16:0	37.97	24.50	34.76	32.92	30.40	33.68	37.08	32.13	36.27	34.35	30.32	34.46
16:0 N ALCOHOL												
16:0 ISO												
16:0 3OH												
16:1 2OH												
16:1 w5c	0.12		0.11	0.14		0.12					0.19	
16:1 w7c ALCOHOL		0.02			0.11		0.12					
16:1 w11c												
17:0	1.35	4.92	1.13	1.58	2.98	0.78	1.29	1.10	1.95	1.68	3.32	1.53
17:0 ISO												
17:0 ANTEISO				0.08								
17:0 CYCLO	1.79	16.22	1.48	2.50	14.34	7.09	8.10	8.36	6.97	5.30	14.93	8.98
17:1w8c		0.37		0.23	0.32							0.28
18:0	1.86	0.33	0.37	1.30	0.30	0.23	0.33	0.75	0.52	0.75	0.37	0.39
18:1 w5c				0.12								
18:1 w7c	12.09	8.94	8.43	10.08	7.77	8.19	8.36	10.48	7.98	11.02	9.54	8.11
18:1 w8c				1.68								
18:1 w9c							0.25		0.20			
19:0 ISO		0.16			0.20						0.108	
19:0 CYCLO												
19:0 CYCLO w8c												
19:0 METHYL												
19:0 10 METHYL							0.87	0.94	0.89			

Çizelge 4.3 (devam)

YAĞ ASITLERİ	RK-323	ORAN	RK-189	RK-208	RK-219	RK-227	RK-234	RK-243	ORAN	RK-10	RK-87	ORAN
8:0 3OH		-							-			-
10:0		5/40			0.11	0.13	0.08		3/6			-
10:0 3OH		-							-			-
11:0 2OH		-							-			-
11:0 3OH		-							-			-
11:0 ISO 3OH		-							-			-
11 METHYL 18:1 w7c		1/40							-	0.17		1/2
12:0	5.67	40/40	3.23	4.79	4.81	4.91	5.01	4.96	6/6	4.12	2.48	2/2
12:0 2OH		-							-			-
12:0 3OH		5/40							-			-
12:1 3OH		-							-			-
13:0	0.18	35/40	0.15	0.10	0.12	0.11	0.12		5/6			-
13:0 ISO		-							-			-
14:0	4.93	40/40	5.22	4.51	4.34	4.83	4.43	4.28	6/6	5.79	5.05	2/2
14:0 ISO		-							-			-
14:0 2OH		14/40							-			-
14:1 w5c		-							-			-
15:0	0.24	39/40	1.15	0.45	0.43	0.46	0.49	0.24	6/6	0.59	0.21	2/2
15:0 ISO		-				0.10			1/6			-
15:0 ANTEISO		-				0.10			1/6			-
15:0 3OH		4/40							-			-
15:1 w6c		4/40							-			-

\* *Erwinia amylovora* strain RK-323, *Erwinia rhapontic* strain RK-189, RK-208, RK-219, RK-227, RK-234, RK-243, *Pantoea agglomerans* strain RK-10 ve RK-87

Çizelge 4.3 (devam)

16:0		34.06	40/40	30.55	34.26	33.58	34.21	33.07	34.00	6/6	32.26	29.87	2/2
16:0 N ALCOHOL			-							-			-
16:0 ISO			-							-			-
16:0 3OH			-							-			-
16:1 2OH			-							-			-
16:1 w5c	0.10		11/40							-			-
16:1 w7c ALCOHOL			9/40		0.15	0.13	0.14	0.15	0.16	5/6	0.06	0.14	2/2
16:1 w11c			-							-			-
17:0		1.63	40/40	0.87	1.01	0.81	0.92	0.94	0.52	6/6	0.68		1/2
17:0 ISO			-							-			-
17:0 ANTEISO			1/40							-			-
17:0 CYCLO	4.482		40/40	9.78	5.57	5.71	7.74	5.97	3.85	6/6	4.89	5.25	2/2
17:1 w8c			15/40							-			-
18:0		0.39	37/40	0.34	0.42	0.44	0.30	1.20	0.44	6/6	0.24	0.93	2/2
18:1 w5c			3/40					0.08		1/6			-
18:1 w7c	10.63		40/40	11.33	9.42	9.23	8.20	9.43	11.34	6/6	10.82	13.60	2/2
18:1 w8c			1/40							-			-
18:1 w9c			13/40				0.21		0.32	2/6			-
19:0 ISO			10/40		0.17					1/6			-
19:0 CYCLO			-							-			-
19:0 CYCLO w8c			-	0.18						1/6			-
19:0 METHYL			-							-			-
19:0 10 METHYL			14/40	0.93		1.16	0.81	0.61		4/6		0.55	1/2



Çizelge 4.3 (devam)

YAĞ ASİTLERİ	RK-168	ORAN	RK-166	ORAN	RK-260	ORAN	RK-261	RK-262	ORAN	RK-11	RK-14	RK-21	RK-47
8:0 3OH		-		-					-				
10:0	0.11	1/1		-					-	0.25	0.39		
10:0 3OH	3.13	1/1	3.09	1/1	1.13	1/1	1.20	1.10	3/3	3.58	2.22	4.25	2.76
11:0 2OH	0.03	1/1		-					-				
11:0 3OH	0.06	1/1		-					-				
11:0 ISO 3OH	0.10	1/1		-					-			0.37	
11 METHYL 18:1 w7c		-		-					-				
12:0	5.24	1/1	5.06	1/1	3.10	1/1	3.25	3.17	3/3	3.66	3.93	3.94	4.27
12:0 2OH	3.06	1/1	3.09	1/1				0.27	1/3	6.60	3.49	2.26	2.60
12:0 3OH	4.00	1/1	1.27	1/1	2.81	1/1	2.92	2.81	3/3	5.59	3.48	3.67	3.58
12:1 3OH		-		-					-		0.23		
13:0		-		-					-				
13:0 ISO		-		-					-				
14:0	0.19	1/1	0.21	1/1	0.55	1/1	0.52	0.58	3/3	0.35			
14:0 ISO		-		-					-				
14:0 2OH		-		-	1.98		2.07	2.05	3/3				
14:1 w5c		-		-					-		0.32		
15:0	0.35	1/1		-					-	0.28			
15:0 ISO		-		-					-				
15:0 ANTEISO		-		-					-				
15:0 3OH		-		-					-				
15:1 w6c		-		-					-				

\**Pseudomonas aeruginosa* strain RK-168, *Pseudomonas cichorii* strain RK-166, *Pseudomonas huttienensis* strain RK-260, 261, 262, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-11, RK-14, RK-21 ve RK-47

Çizelge 4.3 (devam)

16:0		24.80	1/1	26.59	1/1	26.86	26.33	26.13	3/3	23.83	25.33	26.36	22.91
16:0 N ALCOHOL			-		-				-				
16:0 ISO		0.31	1/1		-				-				
16:0 3OH			-		-				-				
16:1 2OH			-		-				-			1.08	
16:1 w5c			-		-				-				
16:1 w7c ALCOHOL			-		-				-				
16:1 w11c			-		-				-				
17:0		0.61	1/1		-	0.22	0.17	0.28	3/3				
17:0 ISO		0.46	1/1		-				-			0.85	
17:0 ANTEISO			-		-				-				2.41
17:0 CYCLO		2.86	1/1	0.79	1/1	0.54		0.57	2/3	11.43	3.98	1.98	
17:1w8c		0.25	1/1		-				-				
18:0		0.60	1/1	0.61	1/1	1.17	1.32	1.17	3/3	0.30	0.33	0.85	4.56
18:1 w5c			-		-				-				
18:1 w7c		29.46	1/1	26.33	1/1	23.60	24.07	23.74	3/3	10.88	21.66	16.00	16.90
18:1 w8c			-		-				-				
18:1 w9c			-		-				-				
19:0 ISO			-		-				-				
19:0 CYCLO			-		-				-				
19:0 CYCLO w8c			-		-				-	0.16	0.50		
19:0 METHYL			-		-				-				
19:0 10 METHYL		1.83	1/1	1.12	1/1				-			7.95	

Çizelge 4.3 (devam)

YAĞ ASİTLERİ	RK-48	RK-52	RK-53	RK-63	RK-204	RK-257	RK-258	RK-264	RK-265	RK-266	RK-267	RK-316
8:0 3OH				0.18		0.20	0.12		0.16	0.14		
10:0					0.12	0.25	0.39	0.23	0.20	4.11		4.03
10:0 3OH	2.12	3.01	3.00	4.78	3.18	4.36		4.00	4.22			
11:0 2OH												
11:0 3OH												
11:0 ISO 3OH	0.56	0.45	0.23	0.23	0.08	0.55	0.48	0.53	0.52	0.57	0.63	0.68
11 METHYL 18:1 w7c	0.80	1.58	1.24			0.43	0.47		0.41	0.49	0.45	0.39
12:0	3.97	4.11	4.20	6.78	4.99	6.25	6.37	6.73	6.16	6.02	6.32	7.08
12:0 2OH	2.70	3.12	2.95	2.56	2.54	2.61	2.37	2.75	2.79	2.59	2.71	2.89
12:0 3OH	3.84	4.04	3.86	3.86	3.30	3.61	3.28	3.81	3.65	3.53	3.75	3.50
12:1 3OH												
13:0												
13:0 ISO												
14:0	0.25		0.31		0.31		0.29	0.39	0.32	0.34		0.39
14:0 ISO												
14:0 2OH												
14:1 w5c												
15:0												
15:0 ISO												
15:0 ANTEISO												
15:0 3OH												
15:1 w6c												

\* *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-48, RK-52, RK-53, RK-63, RK-204, RK-257, RK-258, RK-264, RK-265, RK-266, RK-267 ve RK-316

Çizelge 4.3 (devam)

16:0	27.55	27.86	28.84	29.03	26.97	26.57	26.70	25.59	26.13	26.71	27.42	29.70
16:0 N ALCOHOL												
16:0 ISO												
16:0 3OH	0.45	0.50	0.50	0.59	0.57	0.74	0.50	0.57	0.54	0.55	0.50	0.59
16:1 2OH												
16:1 w5c												
16:1 w7c ALCOHOL												
16:1 w11c												
17:0	0.67	0.65	0.27	0.46	0.35		0.42	0.42	0.33	0.40	0.45	0.45
17:0 ISO					0.36							
17:0 ANTEISO												
17:0 CYCLO	3.06	3.36	4.05	2.49	0.73	0.88	0.90	1.76	0.79	0.95	1.41	0.93
17:1w8c					0.17							
18:0	0.89	0.89	0.79	1.45	1.25	0.53	0.59	0.38	0.48	0.51	0.52	0.52
18:1 w5c												
18:1 w7c	19.62	17.82	16.87	19.57	18.11	17.57	17.23	16.86	17.31	17.43	18.85	17.73
18:1 w8c												
18:1 w9c					0.16							
19:0 ISO												
19:0 CYCLO												
19:0 CYCLO w8c												
19:0 METHYL			0.38		0.33				0.32			
19:0 10 METHYL	0.38	0.48	0.57	0.55	0.49	0.40	0.32	0.34	0.16	0.35	0.36	0.34

Çizelge 4.3 (devam)

YAĞ ASİTLERİ	RK-317	RK-318	RK-319	RK-321	ORAN	RK-28	RK-238	RK-249	RK-239	ORAN
8:0 3OH					5/20					-
10:0		0.17			10/20		0.15	0.14	0.20	3/4
10:0 3OH	8.56	3.89	3.47	3.27	16/20	4.32	3.31	3.36	3.23	4/4
11:0 2OH					-					-
11:0 3OH					-					-
11:0 ISO 3OH	2.59	0.46	0.43	0.58	17/20		0.22		0.24	2/4
11 METHYL 18:1 w7c		0.42	0.45		11/20					-
12:0	9.46	6.51	5.76	5.36	20/20	1.21	5.16	2.90	5.11	4/4
12:0 2OH	3.91	2.44	2.36	2.33	20/20	4.88	2.54	4.08	2.54	4/4
12:0 3OH	1.20	3.59	3.49	3.64	20/20	3.38	3.41	3.92	3.37	4/4
12:1 3OH					1/20					-
13:0					-					-
13:0 ISO					-					-
14:0	0.73	0.22	0.32		12/20	0.50	0.36	0.45	0.32	4/4
14:0 ISO					-					-
14:0 2OH					-					-
14:1 w5c					1/20					-
15:0					1/20	0.26		0.25		2/4
15:0 ISO					-					-
15:0 ANTEISO					-					-
15:0 3OH					-					-
15:1 w6c					-					-

\* *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-317, RK-318, RK-319, RK-321, *Pseudomonas puitida* strain RK-28, RK-238, RK-249 ve RK-239

Çizelge 4.3 (devam)

16:0		20.69	25.57	26.06	26.57	20/20	27.35	27.94	29.46	28.56	4/4	
16:0 N ALCOHOL						-	0.21				-	
16:0 ISO						-					-	
16:0 3OH	0.92	0.44	0.54	0.30	0.30	16/20		0.44		0.31	2/4	
16:1 2OH						1/20					-	
16:1 w5c						-				0.09	1/4	
16:1 w7c ALCOHOL						-					-	
16:1 w11c						-					-	
17:0	0.79	0.47	0.49	0.66	0.66	15/20	0.22	0.78	0.32		3/4	
17:0 ISO						1/20				0.84	1/4	
17:0 ANTEISO						1/20					-	
17:0 CYCLO	1.46	1.66	1.96	3.64	3.64	20/20	13.78	5.63	3.03	6.21	4/4	
17:1w8c						1/20		0.19			1/4	
18:0	0.78	0.48	0.62	0.79	0.79	20/20	0.67	0.43	1.34	0.55	4/4	
18:1 w5c						-					-	
18:1 w7c	10.05	17.73	19.22	20.93	20.93	20/20	18.00	14.34	16.93	14.44	4/4	
18:1 w8c						-					-	
18:1 w9c						1/20	0.55	0.37			2/4	
19:0 ISO						-					-	
19:0 CYCLO						-					-	
19:0 CYCLO w8c						2/20	0.28	0.12	0.22	0.17	4/4	
19:0 METHYL						3/20					-	
19:0 10 METHYL		0.39	0.36			15/20	0.39	1.90		1.15	3/4	



**Çizelge 4.4.** Patojen bakterilerin içerdikleri yağ asidi çeşitlerinin aritmetik ortalaması ve standart sapması (p) (1: *Alcaligenes piechaudii*, 2: *Bacillus pumilus*, 3: *Chromobacterium violaceum*, 4: *Enterobacter intermedium*, 5: *Erwinia amylovora*, 6: *Erwinia rhapontici*, 7: *Pantoea agglomerans*, 8: *Pseudomonas aeruginosa*, 9: *Pseudomonas cichorii*, 10: *Pseudomonas huttiensis*, 11: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ve 12: *Pseudomonas putida* straini)

YAĞ ASITLERİ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
8:0 3OH											0.16 p=±0.03	
10:0			0.22 p=±0.00		0.13 p=±0.14	0.10 p=±0.02		0.11 p=±0.00			1.01 p=±1.61	1.16 p=±0.03
10:0 3OH			5.03 p=±0.00	1.60 p=±0.00				3.13 p=±0.00	3.09 p=±0.00	1.14 p=±0.05	3.79 p=±1.47	3.55 p=±0.51
11:0 2OH								0.03 p=±0.00				
11:0 3OH			4.77 p=±0.00	0.32 p=±0.00				0.06 p=±0.00				
11:0 ISO 3OH								0.10 p=±0.00			0.58 p=±0.53	0.23 p=±0.01
11 METHYL 18:1 w7c					0.10 p=±0.00		0.17 p=±0.00				0.64 p=±0.40	
12:0	2.82 p=±0.00		4.45 p=±0.37	2.91 p=±0.00	4.89 p=±0.45	4.61 p=±0.68	3.30 p=±1.15	5.24 p=±0.00	5.06 p=±0.00	3.17 p=±0.07	5.59 p=±1.46	3.59 p=±1.90
12:0 2OH			2.29 p=±0.04	0.26 p=±0.00				3.06 p=±0.00	3.09 p=±0.00	0.27 p=±0.00	2.92 p=±0.95	3.51 p=±1.16
12:0 3OH			2.73 p=±0.93	0.95 p=±0.00	5.2 p=±0.01			4.00 p=±0.00	1.27 p=±0.00	2.84 p=±0.06	3.61 p=±0.70	3.52 p=±0.26
12:1 3OH				0.83 p=±0.00							0.23 p=±0.00	





Çizelge 4.4. (devam)

19:0 CYCLO w8c			0.21 p=±0.00		0.18 p=±0.00				0.33 p=±0.24	0.19 p=±0.06
19:0 METHYL									0.34 p=±0.03	
19:0 METHYL	6.45 p=±0.00		3.57 p=±0.00	1.57 p=±2.66	0.87 p=±0.23	0.55 p=±0.00	1.83 p=±0.00	1.12 p=±0.00	0.89 p=±1.95	1.14 p=±0.75

### 4.3. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hiper Sensetivite=HR) ve Patojenite Test Sonuçları

Saflaştırılan bakteriyel strainler için tütün bitkisinde yapılan aşırı duyarlılık (HR) (şekil 4.5), elma sürgününde (şekil 4.6) ve sürgün kesitinde (şekil 4.7) yapılan patojenite test sonuçları çizelge 4.5'de verilmiştir. Tütün yaprağında nekroz oluşturanlar HR + (pozitif), oluşturmayanlar ise HR – (negatif) olarak değerlendirilmiştir. Patojenite testlerinde ise yapraklarda ve sürgünde hastalık belirtisi oluşturanlar ve sürgün kesitinde odun ile kabuk dokusu arasında kahverengi nekrozlar oluşturanlar +, diğerleri ise – olarak değerlendirilmiştir. Toplam 324 strainin; 207'si HR ve patojenite testleri sonucunda -, 82'si HR ve patojenite + veya z+ (zayıf pozitif), 35'i ise HR + ve patojenite - sonuç vermiştir.

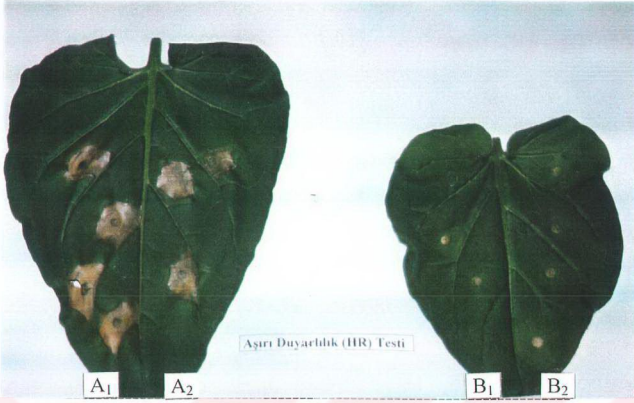
HR ve patojenite + ve/veya z+ olarak belirlenen bakteriler arasında 1 adet *Alcaligenes piechaudii*, 1 adet *Bacillus pumilus* GC. Subgroup B, 2 adet *Chromobacterium violaceum*, 1 adet *Enterobacter intermedius*, 40 adet *E. amylovora*, 6 adet *Erwinia rhapontici*, 2 adet *Pantoea agglomerans*, 1 adet *Pseudomonas aeruginosa*, 1 adet *Pseudomonas cichorii*, 3 adet *Pseudomonas huttiensis*, 20 adet *P. s. pv. syringae* ve 4 adet *Pseudomonas putida* straini olmak üzere toplam 12 farklı tür ve 82 bakteriyel strain tespit edilmiştir. Bu patojen strainlerinde lokasyon ve konukçu açısından dağılımını gösteren bilgiler çizelge 4.6'da verilmiştir. Patojenlerin il bazında dağılımı; Erzurum 31, Artvin 19, Erzincan 14, Iğdır 11 ve Kars 7'dir. Konukçu bazında dağılımı ise armut 59, elma 11, ahlat 7, ayva 4 ve yenedünya 1'dir. Muşmuladan ise herhangi bir patojen bakteri tanılanamamıştır.

Toplam 40 olan *E. amylovora* strainlerinin 31'i armuttan, 6'sı elmadan ve 3'ü ise ahlattan; toplam 20 olan *P. s. pv. syringae* strainlerinin 15'i armuttan, 4'ü ahlattan ve 1'i ise ayvadan izole edilmiştir. Patojen olduğu belirlenen diğer bakterilerden *A. piechaudii* elmadan, *B. pumilus* GC. Subgroup B elmadan, *C. violaceum* armut ve yenedünyadan, *E. intermedius* armuttan, *E. rhapontici* armut ve elmadan, *P. agglomerans* armut ve elmadan, *P. aeruginosa* elmadan, *P. cichorii* armuttan, *P. huttiensis* ayvadan, *P. putida* ise armuttan izole edilmiştir. *E. amylovora*'nın 8'i Artvin,

8'i Erzincan, 14'ü Erzurum, 6'sı Iğdır ve 4'ü Kars'tan; *P. s. pv. syringae*'nin ise 7'si Artvin, 6'sı Erzincan ve 7'si Erzurum'dan izole edilmiştir. Diğer patojen olduğu belirlenen bakterilerden; *A. piechaudii* Iğdır'dan, *B. pumilus* GC. Subgroup B Erzurum'dan, *C. violaceum* Erzurum ve Artvin'den, *E. intermedius* Erzurum'dan, *E. rhapontici* Kars, Iğdır ve Erzurum'dan, *P. agglomerans* Erzurum'dan, *P. aeruginosa* Kars'dan, *P. cichorii* Kars'dan, *P. huttensis* Artvin'den, *P. putida* ise Erzurum'dan çeşitli ilçe ve köylerden izole edilmiştir.



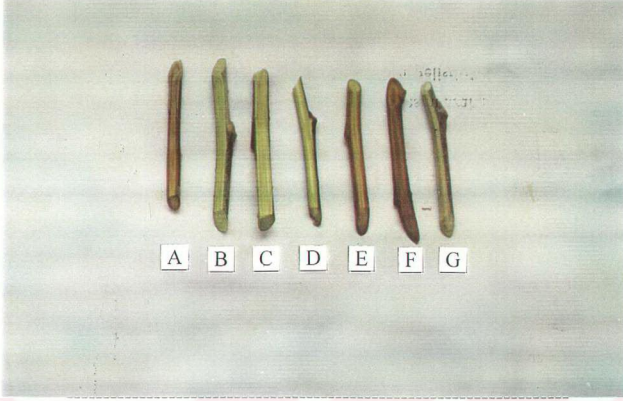




Şekil 4.5. Aşırı duyarlılık (HR) testi sonucu. A<sub>1</sub>: *Erwinia amylovora* strain RK-228 ve A<sub>2</sub>: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257 (HR + =pozitif), B<sub>1</sub>: *Pantoea agglomerans* strain RK-79 ve B<sub>2</sub>: Negatif kontrol sdH<sub>2</sub>O (HR - =negatif)



Şekil 4.6. Golden elma çeşidi sürgünlerinde yapılan patojenite test sonucu. A: Kontrol (sdH<sub>2</sub>O), B: *Erwinia amylovora* strain RK-228, C: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257



**Şekil 4.7.** Golden elma çeşidi sürgün kesitlerinde yapılan patojenite test sonucu. A: *Alcaligenes piechaudii* (RK-155), B: Kontrol (sdH<sub>2</sub>O), C: *Pantoea agglomerans* (RK-86), D: *Bacillus pumilus* GC subgroup B (RK-194), E: *Erwinia amylovora* (RK-228), F: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (RK-257) ve G: *Bacillus pumilus* (RK-106)

Çizelge 4.5. Bakteriyel strainlerin aşırı duyarlılık ve patojenite testi sonucu\*

İ.NO	MIS TANI SONUCU	KONUKÇU	HR	P-I	P-II
RK-1	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-2	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-3	<i>Serratia liquefaciens</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-4	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Elma-Dal	-	-	-
RK-5	<i>Erwinia amylovora</i>	Elma-Dal	+	+	+
RK-6	<i>Bacillus subtilis</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-7	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-8	<i>Bacillus licheniformis</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-9	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-10	<i>Pantoea agglomerans</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-11	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-12	<i>Bacillus lentimorbus</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-13	<i>Actinomadura yumaensis</i>	Armut-Gövde	-	-	-
RK-14	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Meyve	+	+	+
RK-15	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype V	Armut-Dal	-	-	-
RK-16	<i>Bacillus licheniformis</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-17	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Armut-Meyve	-	-	-
RK-18	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-19	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-20	<i>Erwinia carotovora</i>	Armut-Dal	+	-	-
RK-21	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-22	<i>Salmonella typhimurium</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-23	<i>Bacillus mycoides</i> GC subgroup A	Armut-Meyve	-	-	-
RK-24	<i>Actinomadura yumaensis</i>	Armut-Meyve	-	-	-
RK-25	<i>Acinetobacter radioresistens</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-26	<i>Citrobacter freundii</i>	Armut-Yaprak	-	-	-
RK-27	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Armut-Meyve	-	-	-
RK-28	<i>Pseudomonas putida</i> biotip A	Armut-Yaprak	z+**	+	+
RK-29	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	Muşmula-Dal	-	-	-
RK-30	<i>Methylobacterium mesophilicum</i> GC subgroup A	Muşmula-Dal	-	-	-
RK-31	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A	Armut-Dal	-	-	-
RK-32	<i>Pantoea agglomerans</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-33	<i>Agrobacterium rubi</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-34	<i>Agrobacterium rubi</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-35	<i>Erwinia caratovora</i>	Armut-Dal	+	-	-
RK-36	<i>Bacillus licheniformis</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-37	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-38	<i>Sphingomonas capsulata</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-39	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-40	<i>Brevibacterium casei</i>	Armut-Dal	-	-	-

\* İ. NO: İzolasyon numarası, HR: Tütün bitkisinde aşırı duyarlılık testi, P-I: Sürgünde patojenite testi, P-II: Sürgün kesitlerinde kabuk ile odun dokusu arasında patojenite testi, +: Pozitif reaksiyon, -: Negatif reaksiyon, z+: Zayıf pozitif reaksiyon, \*\* HR testi sonucu 24 sa'de - iken 48-72 sa'te + çıkmıştır

Çizelge 4.5. (devam)

RK-41	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-42	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-43	<i>Bacillus subtilis</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-44	<i>Pantoea agglomerans</i>	Muşmula-Dal	-	-	-
RK-45	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	Muşmula-Dal	-	-	-
RK-46	<i>Pseudomonas savastoni</i> pv. <i>fraxinus</i>	Armut-Dal	+	-	-
RK-47	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-48	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-49	<i>Pseudomonas savastoni</i> pv. <i>fraxinus</i>	Armut-Dal	+	-	-
RK-50	<i>Kocuria varians</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-51	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	Armut-Dal	-	-	-
RK-52	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-53	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-54	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-55	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype IV	Armut-Dal	-	-	-
RK-56	<i>Clavibacter michiganense</i>	Armut-Dal	+	-	-
RK-57	<i>Pseudomonas savastoni</i> pv. <i>fraxinus</i>	Armut-Dal	+	-	-
RK-58	<i>Escherichia coli</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-59	<i>Pantoea agglomerans</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-60	<i>Klebsiella terrigena</i>	Ahlat-Dal	-	-	-
RK-61	<i>Pseudomonas cichorii</i>	Muşmula-Dal	+	-	-
RK-62	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	Ayva-Dal	-	-	-
RK-63	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-64	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup III	Elma-Dal	-	-	-
RK-65	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup III	Elma-Dal	-	-	-
RK-66	<i>Brevundimonas diminuta</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-67	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype II	Elma-Dal	-	-	-
RK-68	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype V	Armut-Dal	-	-	-
RK-69	<i>Kocuria rosea</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-70	<i>Bacillus simplex</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-71	<i>Micrococcus lylae</i>	Ayva-Dal	-	-	-
RK-72	<i>Pantoea agglomerans</i>	Ayva-Dal	-	-	-
RK-73	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Ayva-Dal	-	-	-
RK-74	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup B	Armut-Dal	-	-	-
RK-75	<i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A	Armut-Dal	-	-	-
RK-76	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-77	<i>Pantoea agglomerans</i>	Ayva-Dal	-	-	-
RK-78	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-79	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-80	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-81	<i>Serratia liquefaciens</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-82	<i>Enterobacter intermedius</i>	Elma-Kabuk	-	-	-
RK-83	<i>Pantoea agglomerans</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-84	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-85	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-



Çizelge 4.5. (devam)

RK-86	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-87	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	+	+	+
RK-88	<i>Serratia grimesii</i>	Yenidünya-Dal	-	-	-
RK-89	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-90	<i>Enterobacter intermedius</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-91	<i>Enterobacter intermedius</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-92	<i>Pantoea agglomerans</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-93	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-94	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	+	-	-
RK-95	<i>Serratia liquefaciens</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-96	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-97	<i>Pantoea agglomerans</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-98	<i>Serratia liquefaciens</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-99	<i>Serratia liquefaciens</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-100	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	+	-	-
RK-101	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-102	<i>Serratia liquefaciens</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-103	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Elma-Dal	-	-	-
RK-104	<i>Enterobacter intermedius</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-105	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-106	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Elma-Dal	+	+	+
RK-107	<i>Serratia liquefaciens</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-108	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype V	Armut-Dal	-	-	-
RK-109	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-110	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-111	<i>Enterobacter intermedius</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-112	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-113	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-114	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	Ayva-Dal	-	-	-
RK-115	<i>Photobacterium damsela</i>	Ayva-Sürgün	-	-	-
RK-116	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-117	<i>Pantoea agglomerans</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-118	<i>Pantoea agglomerans</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-119	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-120	<i>Pantoea agglomerans</i>	Ayva-Sürgün	-	-	-
RK-121	<i>Bacillus</i> GC group 22	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-122	<i>Pantoea agglomerans</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-123	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-124	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-125	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-126	<i>Pantoea agglomerans</i>	Ayva-Sürgün	-	-	-
RK-127	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Ayva-Sürgün	-	-	-
RK-128	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-129	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Armut-Dal	-	-	-
RK-130	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Elma-Dal	z+	-	-

Çizelge 4.5. (devam)

RK-131	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Elma-Dal	-	-	-
RK-132	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-133	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Elma-Dal	-	-	-
RK-134	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Elma-Dal	-	-	-
RK-135	<i>Erwinia rhapontici</i>	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-136	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-137	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-138	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-139	<i>Pantoea agglomerans</i>	Yenidünya-Dal	-	-	-
RK-140	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	Armut-Sürgün	+	-	-
RK-141	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Muşmula-Dal	-	-	-
RK-142	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	Armut-Dal	-	-	-
RK-143	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-144	<i>Neisseria mucosa</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-145	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-146	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-147	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Ayva-Sürgün	-	-	-
RK-148	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Yenidünya-Dal	-	-	-
RK-149	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-150	<i>Serratia fonticola</i>	Yenidünya-Dal	-	-	-
RK-151	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-152	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Armut-Kabuk	-	-	-
RK-153	<i>Pantoea agglomerans</i>	Yenidünya-Dal	-	-	-
RK-154	<i>Pantoea agglomerans</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-155	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Elma-Sürgün	+	+	+
RK-156	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-157	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-158	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-159	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Elma-Tomurcuk	-	-	-
RK-160	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-161	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	Elma-Dal	-	-	-
RK-162	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-163	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Yenidünya-Dal	-	-	-
RK-164	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-165	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-166	<i>Pseudomonas cichorii</i>	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-167	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Elma-Dal	+	-	-
RK-168	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Elma-Sürgün	+	+	+
RK-169	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Kabuk	-	-	-
RK-170	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-171	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-172	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-173	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-174	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-175	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Elma-Dal	-	-	-



Çizelge 4.5. (devam)

RK-176	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-177	<i>Serratia fonticola</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-178	<i>Vibrio hollisae</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-179	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Elma-Dal	-	-	-
RK-180	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Armut-Dal	-	-	-
RK-181	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Armut-Meyve	-	-	-
RK-182	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-183	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Armut-Dal	-	-	-
RK-184	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-185	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-186	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-187	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Elma-Dal	-	-	-
RK-188	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Elma-Dal	-	-	-
RK-189	<i>Erwinia rhapontici</i>	Armut-Sürgün	z <sup>+</sup> **	+	+
RK-190	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Armut-Yaprak	-	-	-
RK-191	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Elma-Meyve	-	-	-
RK-192	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-193	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Elma-Dal	-	-	-
RK-194	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Elma-Dal	-	-	-
RK-195	<i>Enterobacter agglomerans</i> GC subgroup I	Yenidiünya-Dal	-	-	-
RK-196	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-197	<i>Alcaligenes xylosoxydans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-198	<i>Pantoea agglomerans</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-199	<i>Proteus vulgaris</i> GC subgroup A	Elma-Dal	-	-	-
RK-200	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-201	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Elma-Dal	-	-	-
RK-202	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-203	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	Elma-Dal	+	-	-
RK-204	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Ayva-Sürgün	z <sup>+</sup> **	+	+
RK-205	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-206	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-207	<i>Erwinia chrysanthemi</i> biotype IV	Elma-Dal	-	-	-
RK-208	<i>Erwinia rhapontici</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-209	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A	Armut-Dal	-	-	-
RK-210	<i>Enterobacter cloacae</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-211	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-212	<i>Ralstonia pickettii</i>	Ayva-Sürgün	-	-	-
RK-213	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	Armut-Dal	+	-	-
RK-214	<i>Erwinia amylovora</i>	Elma-Dal	+	+	+
RK-215	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	Ayva-Dal	+	-	-
RK-216	<i>Erwinia amylovora</i>	Elma-Dal	+	+	+
RK-217	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-218	<i>Erwinia amylovora</i>	Elma-Dal	+	+	+
RK-219	<i>Erwinia rhapontici</i>	Elma-Dal	+	+	+
RK-220	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	Ayva-Dal	z <sup>+</sup> **	-	-

Çizelge 4.5. (devam)

RK-221	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-222	<i>Ralstonia pickettii</i>	Ayva-Dal	-	-	-
RK-223	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Elma-Dal	-	-	-
RK-224	<i>Erwinia amylovora</i>	Elma-Dal	+	+	+
RK-225	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-226	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-227	<i>Erwinia rhapontici</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-228	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-229	<i>Serratia fonticola</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-230	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A	Armut-Dal	-	-	-
RK-231	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-232	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-233	<i>Vibrio alginolyticus</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-234	<i>Erwinia rhapontici</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-235	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-236	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-237	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-238	<i>Pseudomonas putida</i> biotype B	Armut-Dal	+	+	+
RK-239	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	Armut-Dal	+	+	+
RK-240	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A	Elma-Dal	-	-	-
RK-241	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	Armut-Dal	z <sup>+</sup> **	-	-
RK-242	<i>Pseudomonas balearica</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-243	<i>Erwinia rhapontici</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-244	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	Elma-Meyve	-	-	-
RK-245	<i>Klebsiella trevisanii</i>	Ayva-Meyve	-	-	-
RK-246	<i>Erwinia amylovora</i>	Elma-Tomurcuk	+	+	+
RK-247	<i>Pseudomonas cichorii</i>	Armut-Dal	+	-	-
RK-248	<i>Actinomadura yumaensis</i>	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-249	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-250	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	Armut-Meyve	-	-	-
RK-251	<i>Serratia liquefaciens</i>	Elma-Meyve	-	-	-
RK-252	<i>Curtobacterium flaccumfacien</i>	Armut-Dal	-	-	-
RK-253	<i>Pantoea agglomerans</i>	Ayva-Dal	+	-	-
RK-254	<i>Pseudomonas fluorescens</i> - biotype A	Armut-Dal	z <sup>+</sup> **	-	-
RK-255	<i>Pseudomonas fluorescens</i> - biotype B	Armut-Dal	+	-	-
RK-256	<i>Pseudomonas fluorescens</i> - biotype B	Armut-Dal	+	-	-
RK-257	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-258	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-259	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Yenidünya-Dal	+	+	+
RK-260	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	Ayva-Sürgün	+	+	+
RK-261	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	Ayva-Sürgün	+	+	+
RK-262	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	Ayva-Sürgün	+	+	+
RK-263	<i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B	Armut-Dal	+	-	-
RK-264	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Ahlat-Dal	+	+	+
RK-265	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Ahlat-Dal	+	+	+

Çizelge 4.5. (devam)

RK-266	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Ahlat-Sürgün	+	+	+
RK-267	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Ahlat-Dal	+	+	+
RK-268	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-269	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-270	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
RK-271	<i>Erwinia amylovora</i>	Ahlat-Dal	+	+	+
RK-272	<i>Erwinia amylovora</i>	Ahlat-Dal	+	+	+
RK-273	<i>Erwinia amylovora</i>	Ahlat-Sürgün	+	+	+
RK-274	<i>Pseudomonas doudoroffii</i>	Ahlat-Dal	+	-	-
RK-275	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	Ahlat-Dal	-	-	-
RK-276	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	Ahlat-Dal	-	-	-
RK-277	<i>Burkholderia cepacia</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-278	<i>Neisseria subflava</i>	Armut-Sürgün	+	-	-
RK-279	<i>Brevibacillus laterosporus</i>	Armut-Sürgün	+	-	-
RK-280	<i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A	Armut-Sürgün	+	-	-
RK-281	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-282	<i>Pseudomonas doudoroffii</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-283	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-284	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-285	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-286	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-287	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-288	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-289	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-290	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Armut-Sürgün	+	-	-
RK-291	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-292	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-293	<i>Alcaligenes xylosoxydans</i>	Armut-Sürgün	+	-	-
RK-294	<i>Bacillus marinus</i>	Elma-Sürgün	+	-	-
RK-295	<i>Bacillus lentimorbus</i>	Yenidünya-Dal	-	-	-
RK-296	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-297	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-298	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>populans</i>	Armut-Sürgün	+	-	-
RK-299	<i>Burkholderia pyriocinia</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-300	<i>Burkholderia pyriocinia</i>	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-301	<i>Bacillus cereus</i> GS Subgroup-A	Armut-Sürgün	-	-	-
RK-302	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-303	<i>Pantoea agglomerans</i>	Elma-Sürgün	+	-	-
RK-304	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Elma-Sürgün	-	-	-
RK-305	<i>Aerococcus vridans</i>	Armut-Sürgün	z+**	-	-
RK-306	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-307	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	+	+	+
RK-308	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	z+**	+	+
RK-309	<i>Burkholderia pyriocinia</i>	Armut-Sürgün	z+**	-	-
RK-310	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	z+**	-	-

Çizelge 4.5. (devam)

<b>RK-311</b>	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	z+ <sup>**</sup>	+	+
<b>RK-312</b>	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Sürgün	z+ <sup>**</sup>	+	+
<b>RK-313</b>	<i>Pseudomonas doudoroffii</i>	Armut-Sürgün	z+ <sup>**</sup>	-	-
<b>RK-314</b>	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	Armut-Dal	+	-	-
<b>RK-315</b>	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	Armut-Dal	-	-	-
<b>RK-316</b>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
<b>RK-317</b>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
<b>RK-318</b>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
<b>RK-319</b>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
<b>RK-320</b>	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
<b>RK-321</b>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	Armut-Dal	+	+	+
<b>RK-322</b>	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
<b>RK-323</b>	<i>Erwinia amylovora</i>	Armut-Dal	+	+	+
<b>RK-324</b>	<i>Brevibacillus brevis</i>	Armut-Dal	-	-	-



#### 4.4. Potansiyel Biyokontrol Organizmaların Patojen *E. amylovora* strain RK-228 ve *P. s. pv. syringae* strain RK-257 'ye karşı *in-vitro* ve *in-vivo* Test Sonuçları

Potansiyel biyoajanların patojenite testleri sonucunda, oluşturdukları hastalık simptomuna bakılarak kuvvetli patojenik oldukları belirlenen *E. amylovora* strain RK-228 ve *P. s. pv. syringae* strain RK-257'ye karşı *in-vitro*'da oluşturdukları inhibasyon zonları, etki mekanizmaları ve test sonuçları çizelge 4.7'de verilmiştir. Bazı bakteriyel strainlerin etkisiz olduğu gözlenirken (şekil 4.8), bazıları antibiyosis (şekil 4. 9), bazıları ise hiperparazitik etki (şekil 4. 10) göstermişlerdir. *In-vitro*'da hiperparazitik etki gösterenler ve 50 mm'nin üzerinde inhibasyon zonu oluşturanlar etkili kabul edilerek *in-vivo*'da test edilmiştir. Bunlar arasında 12 adet *P. agglomerans* (strain RK-79, RK-80, RK-84, RK-85, RK-86, RK-92, RK-113, RK-123, RK-153, RK-154, RK-160, RK-169, 7 adet *A. piechaudii* (strain RK-105, RK-136, RK-137, RK-143, RK-156, RK-157, RK-158), 2 adet *Laclercia adecarboxylata* (strain RK-163, RK-164) ve 1'er adet *Bacillus pumilus* (strain RK-103), *Curtobacterium flaccumfaciens* (strain RK-114), *Erwinia chrysanthemi* (strain RK-67), *E. intermedius* (strain RK-91), *E. rhapontici* (strain RK-135), *Chromobacterium violaceum* (strain RK-165), *P. putida* (strain RK-142) ve *Serratia liquefaciens* (strain RK-102) straini bulunmaktadır (çizelge 4.10). Bu potansiyel biyoajanlar içerisinde *P. agglomerans*, *A. piechaudii*, *B. pumilus*, *E. intermedius*, *E. rhapontici*, *C. violaceum* ve *P. putida* türlerine ait çizelge 4.9'da verilen bazı strainlerin patojen olduğu da belirlenmiştir. Bu durum biyolojik mücadele açısından bir dezavantaj teşkil etmekte olup; bu strainlerin ileride yapılacak toksisite çalışmalarının önemini daha da artırmaktadır.

*In-vitro* testleri sonucunda; RK-1-3, RK-8, RK-12, RK-15-16, RK-24, RK-29-34, RK-36-45, RK-50-51, RK-54-55, RK-58-60, RK-62, RK-65-66, RK-68-78, RK-83, RK-88-89, RK-93, RK-95-99, RK-101, RK-104, RK-107-111, RK-115-121, RK-133, RK-139, RK-141, RK-144, RK-152, RK-159, RK-161-162, RK-170-173, RK-175-176, RK-179-190, RK-192, RK-195, RK-197-202, RK-209-212, RK-221-222, RK-229, RK-233, RK-242, RK-244-245, RK-248, RK-250-252, RK-275-277, RK-282, RK-288-289, RK-295-297, RK-299-302, RK-304, RK-315, RK-324 stain numaralı bakteriler tamamen etkisiz

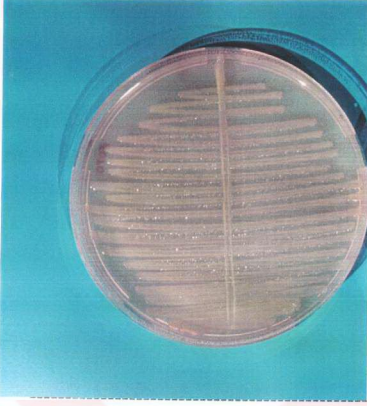


bulunmuş ve *in-vivo*'da denenmeye gerek duyulmamıştır. Bu strainlerin haricindeki HR ve patojenite – olan bütün bakteriyel strainler ise *in-vitro*'da az yada çok hiperparazitik ve /veya antibiyosis etki göstermişlerdir.

*In-vitro*'da *E. amylovora*'ya karşı RK-84, RK-105, RK-143 ve RK-160 nolu strainler hiperparazitik etki gösterirken; RK-67, RK-79, RK-80, RK-123 ve RK-156 nolu strainler ise 50 mm'nin üzerinde inhibasyon zonu oluşturmuştur. Bunlardan RK-156 ve RK-160 *in-vivo*'da da bu patojene karşı etkili bulunmuştur.

Aynı şekilde *in-vitro*'da *P. s. pv. syringae*'ye karşı RK-79, RK-84, RK-105, RK-113, RK-143, RK-158 ve RK-164 nolu strainler hiperparazitik etki gösterirken; RK-85, RK-86, RK-91, RK-92, RK-102, RK-103, RK-114, RK-135, RK-136, RK-137, RK-142, RK-153, RK-154, RK-157, RK-163, RK-165 ve RK-169 nolu strainler ise 50 mm'nin üzerinde inhibasyon zonu oluşturmuştur. Bunlardan RK-79, RK-86, RK-103, RK-142, RK-154 ve RK-165 *in-vivo*'da da bu patojene karşı etkili bulunmuştur.

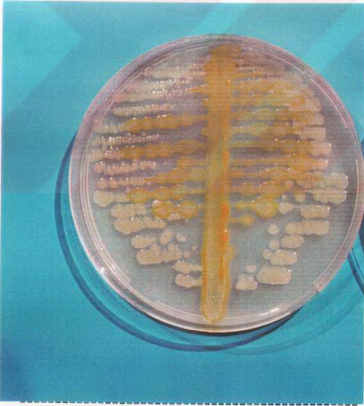
Gerek hiperparazitik gerekse antibiyosis özelliğinden dolayı *In-vitro* testlerinde RK-85, RK-86, RK-102 ve RK-153 strain numaralı bakteriler *E. amylovora* strain RK-228'e karşı; RK-156 strain numaralı bakteri ise *P. s. pv. syringae* strain RK-257'ye karşı 50 mm'nin altında zon oluşturmasına rağmen *in-vivo*'da etkili bulunmuşlardır. RK-79 strain numaralı bakteri *in-vitro*'da her iki patojene karşı da çok etkili bulunurken; *in-vivo*'da sadece *P. s. pv. syringae* strain RK-257'ye karşı etkili olduğu gözlenmiştir. Bazı bakteriyel organizmaların *in-vivo*'da hiç etkili olmadığı gözlenirken (şekil 4. 12); bazı etkili biyoajanların direk sürgünde ve sürgün kesitinde kombinasyonlar halinde yapılan uygulamasında (RK-105+RK-156), (RK-156+RK-103), (RK-79+RK-164), (RK-80+RK-84), (RK-160+RK-142) ve (RK-105+RK-103+RK-114+RK-164+RK-79+RK-142) hem *E. amylovora* strain RK-228'e karşı karşı hem de *P. s. pv. syringae* strain RK-257'ye karşı %100 etkili olduğu tespit edilmiştir (çizelge 4.8). Yapılan uygulamalarda özellikle (RK-105+RK-103+RK-114+RK-164+RK-79+RK-142) karışımından oluşan uygulama denemenin bütün tekerrürlerinde en etkili sonucu vermiştir (şekil 4. 13, 14).



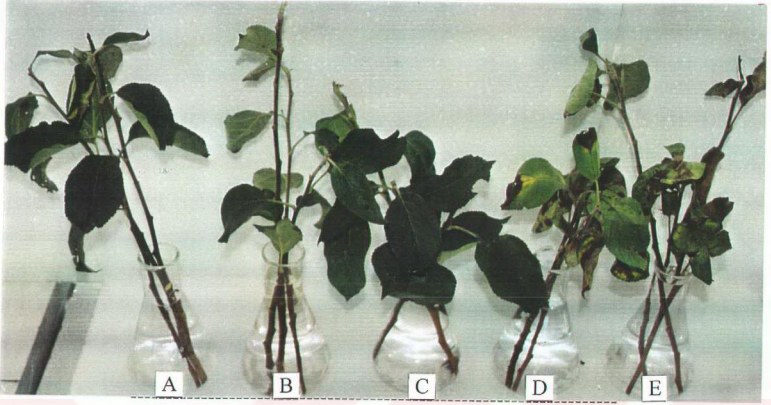
**Şekil 4.8.** *Serratia liquefaciens* RK-98'in *Erwinia amylovora* strain RK-228'e karşı *in-vitro*'da etkisizliği



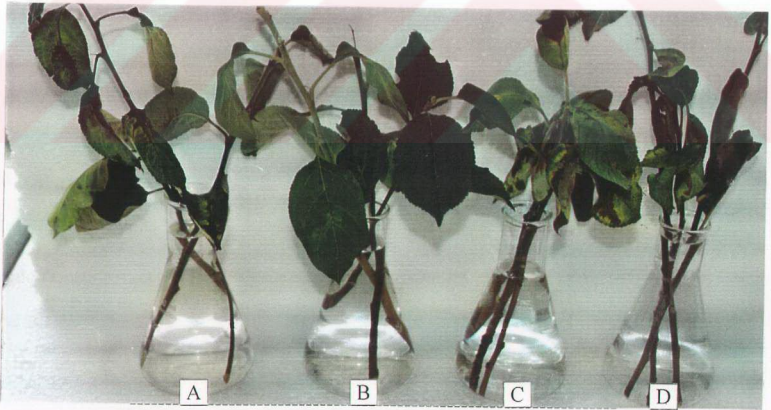
**Şekil 4.9.** *Bacillus pumilus* GC subgroup A strain RK-240'ın *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257'e karşı *in-vitro*'da antibiyotik etkisi



**Şekil 4.10.** *Pantoea agglomerans* strain RK-160'ın *Erwinia amylovora* strain RK-228'e karşı *in-vitro*'da hiperparazitik etkisi

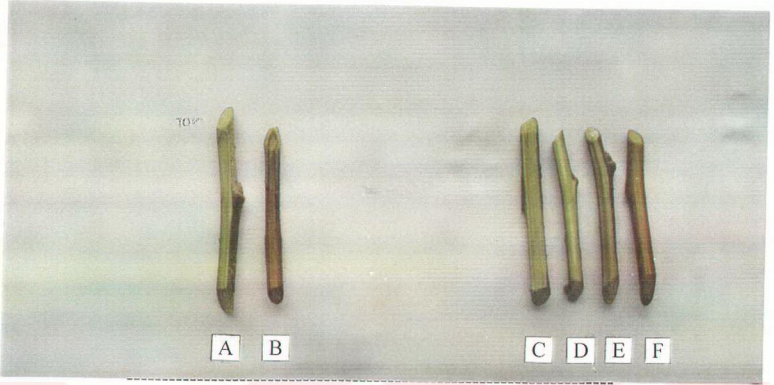


**Şekil 4.11.** Etkili potansiyel biyoajanların sürgünde *in-vivo* test sonuçları: A: Etkili biyoajan (*Pantoea agglomerans* strain RK-86+ *Erwinia amylovora* strain RK-228), B: (*Pantoea agglomerans* strain RK-86+ *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257), C: Negatif kontrol (sdH<sub>2</sub>O), D: Pozitif kontrol (*Erwinia amylovora* strain RK-228), E: Pozitif kontrol (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257)

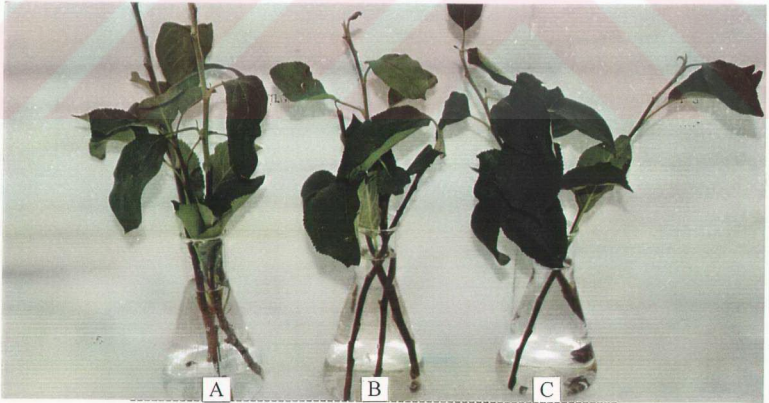


**Şekil 4.12.** Etkisiz potansiyel biyoajanların sürgünde *in-vivo* test sonuçları: A: Etkisiz biyoajan (*Acinetobacter calcoaceticus* strain RK-7+ *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257), B: Negatif kontrol (sdH<sub>2</sub>O), C: Etkisiz biyoajan (*Bacillus pumilus* GC subgroup B strain RK-194+ *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257), D: Pozitif kontrol (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257)





**Şekil 4.13.** Potansiyel biyoajanların sürgün kesitindeki *in-vivo* test sonuçları: A: Negatif kontrol (sdH<sub>2</sub>O), B: Pozitif kontrol (*Erwinia amylovora* strain RK-228), C: (RK-105, RK-103, RK-114, RK-164, RK-79 ve RK-142 kombinasyonu+ *Erwinia amylovora* strain RK-228), D: (*Pantoea agglomerans* strain RK-86+ *Erwinia amylovora* strain RK-228), E: (*Pantoea agglomerans* strain RK-44+ *Erwinia amylovora* strain RK-228) ve F: (*Pantoea agglomerans* strain RK-44+ *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257)



**Şekil 4.14.** Etkili potansiyel biyoajan kombinasyonlarının sürgündeki test sonuçları. A: RK-105, RK-103, RK-114, RK-164, RK-79 ve RK-142 kombinasyonu+*Erwinia amylovora* strain RK-228, B: RK-105, RK-103, RK-114, RK-164, RK-79 ve RK-142 kombinasyonu+*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257, C: Negatif kontrol (sdH<sub>2</sub>O).

**Çizelge 4.7.** İzole edilen potansiyel biyolojik ajan bakteriyel türlerin *Erwinia amylovora* strain RK-228 ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257'ye karşı *in-vitro* ve *in-vivo* testlere göre antagonistik etkinlikleri\*

MIS SONUCU	İ. NO	IN-VITRO										IN-VIVO			
		<i>Erwinia amylovora</i> RK-228			<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> RK-257							ORTALAMA ZON			
		ZON 1 (mm)	ZON 2 (mm)	ZON 3 (mm)	ZON 1 (mm)	ZON 2 (mm)	ZON 3 (mm)	ZON 1 (mm)	ZON 2 (mm)	ZON 3 (mm)	RK 228 (mm)	RK 257 (mm)	RK 228	RK 257	
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	RK-7	10 A	4 A	7 A	00	00	00	00	00	00	00	07.00	00.00	***	***
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	RK-110	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	RK-119	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	RK-62	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	RK-170	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	RK-171	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	RK-25	19 A	18 A	18 A	36 A	26 A	35 A	35 A	35 A	25 AH	25 AH	18.33	32.33	***	***
<i>Actinomadura yumaensis</i>	RK-13	00	00	00	35 AH	35 AH	00	00	00	00	00	00.00	31.66	***	***
<i>Actinomadura yumaensis</i>	RK-24	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Actinomadura yumaensis</i>	RK-248	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Aerococcus vridans</i>	RK-304	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	RK-1	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	RK-2	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	RK-39	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	RK-41	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	RK-42	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	***	***

\*İ. NO: İzolat numarası, A: Antibiyosis etki, H: Hiperparazitik etki sonucu biyokontrol bakterisi tüm petriyi kaplamıştır ve zon ölçümü yapılamamıştır, AH: Hem antibiyosis hem de hiperparazitik etki, ?: Değerlendirme yapılamamıştır, -: *in-vivo*'da etkili, +: *in-vivo*'da etkisiz, *In-vitro*'da etkisiz olduğu gözlenen bakteriler *in-vivo*'da test edilmemiştir











Çizelge 4.7. (devam)

<i>Leclercia adecarboxylata</i>	RK-163	31 A	30 A	24 A	47 A	53 A	28.33	50.00	+	+
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	RK-164	30 A	00	25 A	H	H	18.33	H	+	+
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	RK-176	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	RK-182	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	RK-184	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	RK-185	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	RK-186	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	RK-296	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Methylobacterium mesophilicum</i>	RK-30	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Micrococcus lylae</i>	RK-71	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Neisseria mucosa</i>	RK-144	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-32	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-44	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-59	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-72	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-77	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-79	70 AH	65 AH	68 AH	H	H	67.06	H	+	-
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-80	50 AH	52 AH	48 AH	40 AH	25 AH	50.00	33.00	+	+
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-83	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-84	H	H	H	H	H	H	H	+	+
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-85	20 AH	20 AH	19 AH	59 AH	47 AH	19.66	50.00	-	+
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-86	27 A	24 A	23 A	65 AH	35 AH	24.66	53.33	-	-
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-92	45 AH	26 AH	39 AH	52 AH	54 AH	36.66	50.00	+	+
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-93	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-96	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-97	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-101	00	00	00	00	00	00.00	00.00		
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-113	00	00	00	H	H	00.00	H	+	+
<i>Pantoea agglomerans</i>	RK-117	00	00	00	00	00	00.00	00.00		





Çizelge 4.7. (devam)

<i>Serratia fonticola</i>	RK-150	18 AH	15 AH	14 AH	00	00	00	00	00	15.66	00.00	00.00	00.00	00.00
<i>Serratia fonticola</i>	RK-177	?	00	00	?	35 A	32 A	00	00	00.00	33.50	00.00	00.00	00.00
<i>Serratia fonticola</i>	RK-229	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
<i>Serratia grimesii</i>	RK-88	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
<i>Serratia liquefaciens</i>	RK-3	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
<i>Serratia liquefaciens</i>	RK-81	15 A	15 A	15 A	28 A	29 A	33 A	00	00	15.00	30.00	00.00	00.00	00.00
<i>Serratia liquefaciens</i>	RK-95	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
<i>Serratia liquefaciens</i>	RK-98	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
<i>Serratia liquefaciens</i>	RK-99	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
<i>Serratia liquefaciens</i>	<b>RK-102</b>	21 A	21 A	23 A	50 A	36 A	64 A	00	00	21.66	<b>50.00</b>	00.00	00.00	- +
<i>Serratia liquefaciens</i>	RK-107	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
<i>Serratia liquefaciens</i>	RK-251	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
<i>Sphingomonas capsulata</i>	RK-38	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
<i>Vibrio alginolyticus</i>	RK-233	00	00	00	00	00	00	00	00	00.00	00.00	00.00	00.00	00.00
<i>Vibrio hollisae</i>	RK-178	00	00	00	16 AH	14 AH	15 AH	00	00	00.00	15.00	00.00	00.00	00.00
<i>Yersinia enterocolitica</i>	RK-223	18 AH	00	00	00	00	00	00	00	06.00	00.00	00.00	00.00	00.00



**Çizelge 4.8. *In-vitro*'da etkili potansiyel biyoajanların değişik kombinasyonlar halinde *Erwinia amylovora* RK-228 ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* RK- 257 'ye karşı *in-vivo*'daki etkinliği\***

KOMBİNE UYGULANAN BİYOKONTROL ORGANİZMALAR	<i>Erwinia amylovora</i> RK-228	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> RK-257
<sup>a</sup> RK-105, RK-156	-	-
<sup>b</sup> RK-156, RK-103	-	-
<sup>c</sup> RK-79, RK-164	-	-
<sup>d</sup> RK-80, RK-84	-	-
<sup>e</sup> RK-160, RK-142	-	-
<sup>f</sup> RK-105, RK-103, RK-114, RK-164, RK-79, RK-142	-*	-*

\* -:7 günlük incelemeler sonunda semptom görülmeyen uygulamalar. \* -:14 günlük incelemeler sonunda semptom görülmeyen uygulamalar. <sup>a</sup> : *A. piechaudii* strain RK-105+RK-156, <sup>b</sup> : *A. piechaudii* strain RK-156+B. *pumilus* strain RK-103; <sup>c</sup> : *P. agglomerans* strain RK-79+ *L. adecarboxylata* strain RK-164, <sup>d</sup> : *P. agglomerans* strain RK-80+RK-84, <sup>e</sup> : *P. agglomerans* strain RK-160+ *P. putida* strain RK-142 ve <sup>f</sup> : *A. piechaudii* strain RK-105+ *B. pumilus* strain RK-103+ *C. flaccumfaciens* strain RK-114+ *L. adecarboxylata* strain RK-164+ *P. agglomerans* strain RK-79+ *P. putida* strain RK-142

#### 4.5. Patojen ve Etkili Biyoajanların Morfolojik Test Sonuçları

Bütün patojenik bakterilerin ve potansiyel biyokontrol organizmaların bazı morfolojik (hareketlilik, hücre şekli, koloni rengi) özellikleri belirlenerek sonuçlar çizelge 4.9 ve 4.10'da verilmiştir. Çukur lamda yapılan hareketlilik testinde bütün potansiyel biyoajan ve patojenik bakterilerin hareketli olduğu, şekil olarak ise uzun ya da kısa çubuk şeklinde olduğu belirlenmiştir. YDC besiyerinde oluşturdukları koloni renginde ise türler arasında geniş bir değişkenliğin olduğu belirlenirken; aynı türün farklı strainleri arasında tam bir benzerlik görülmüştür. *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* strainlerinin çubuk şeklinde, hareket edebildiği ve YDC besiyerinde beyaz renkli koloni oluşturduğu gözlenmiştir.

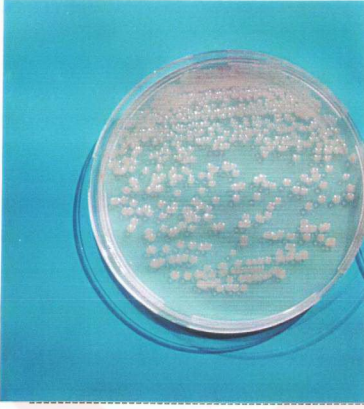
#### 4.6. Patojen ve Etkili Biyoajanların Biyokimyasal Test Sonuçları

Bütün potansiyel biyokontrol organizmaların ve patojenik bakterilerin bazı biyokimyasal (oksidaz, katalaz, potasyum hidroksit, nitrat, arginin, levan oluşumu ve pigment üretimi) özellikleri belirlenerek sonuçlar şekil, 4.15, 16, 17, 18, 19, 20 ve 21'de görüldüğü gibi gözlenmiş ve çizelge 4.9 ve 4.10'da verilmiştir. Patojen olduğu belirlenen bakterilerin oksidaz testleri sonucunda bütün *A. piechaudii* strainleri, *C. violaceum* RK-165 ve *P. putida* RK-28, RK-142, RK-238, RK-239 ve RK-249, *P. aeruginosa* RK-168 ve *P. cichorii* RK-166 strainleri + sonuç verirken diğer bütün strainler – sonuç vermiştir. Katalaz ve KOH testleri sonucunda sadece *B. pumilus* strain RK-106 – diğer bütün bakteriyel strainler ise + sonuç vermişlerdir. Nitrat testi sonucunda *E. rhapontici* RK-243, , *P. aeruginosa* RK-168, *P. cichorii* RK-166, *C. violaceum* RK-165 ve *P. putida* RK-142 ve RK-249 nolu strainler + sonuç verirken diğer bütün strainler – sonuç vermişlerdir. Arginin testleri sonucunda *E. chrysanthemi* RK-67, *C. violaceum* RK-165, RK-231ve RK-259, *E. rhapontici* RK-234, *P. aeruginosa* RK-168, *P. cichorii* RK-166, *P. putida* biotype A RK-28, RK-142, RK-238, RK-239 ve RK-249 strainleri ve bütün *P. huttiensis* strainleri + sonuç verirken diğer bakteriyel strainlerin test sonucu negatif çıkmıştır. Levan teti sonucunda *C. violaceum*

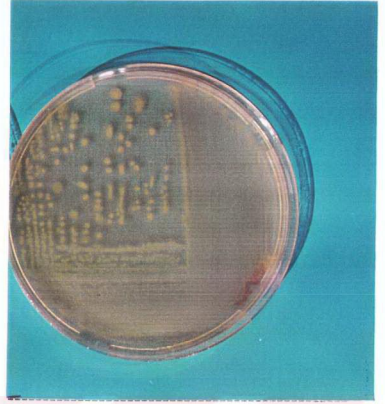
RK-165, RK-231 ve RK-259, *E. intermedius* RK-90, bütün *E. amylovora*, *P. s. pv. syringae*, *E. rhapontici* ve *P. huttensis* strainleri değişen oranlarda z<sup>+</sup> veya + sonuç verirken diğerleri – sonuç vermiştir. KB testi sonucunda ise; *C. violaceum* RK-165, RK-231 ve RK-259, bütün *P. putida*, *P. aeruginosa*, *P. cichorii*, *P. huttensis* ve *P. s. pv. syringae* strainleri değişen oranlarda z<sup>+</sup> veya + sonuç verirken diğerleri – sonuç vermiştir.

Yapılan çalışmalarda; bütün *E. amylovora* strainlerinin oksidaz -, katalaz +, potasyum hidroksit +, nitrat -, arginin -, levan oluşumu + ve pigment üretimi ise – olarak belirlenirken, bütün *P. s. pv. syringae* strainleri ise oksidaz -, katalaz +, potasyum hidroksit +, nitrat -, arginin , levan oluşumu + ve pigment üretimi ise + sonuç vermiştir. Biyokimyasal özellikler bakımından *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* strainlerinin arasında tam bir korelasyon gözlenirken; *E. rhapontici* olarak tanılanan, HR ve patojenite + olarak belirlenen RK-189, RK-208, RK-219, RK-227, RK-234 ve RK-243 numaralı strainlerden RK-208, RK-219, RK-227 ve RK-243 *E. amylovora* ile aynı sonuçları verirken; farklı olarak RK-189 nolu strain levan – ve RK-234 arginin + sonuç vermiştir. *P. huttensis* olarak tanılanan, HR ve patojenite + olarak belirlenen RK-260, RK-261 ve RK-262 numaralı strainler ise *P. s. pv. syringae* strainleri ile aynı sonuçları vermiştir.

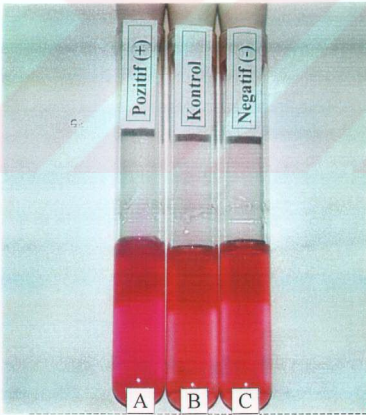
Potansiyel biyoajanlardan *A. piechaudii* oksidaz, katalaz ve potasyum hidroksit +; nitrat, arginin, levan ve KB – ; *B. pumilus* ve *C. flaccumfaciens* katalaz +; oksidaz, potasyum hidroksit, nitrat, arginin, levan ve KB –; *C. violeceum* oksidaz z<sup>+</sup>, katalaz, potasyum hidroksit, nitrat, arginin, levan ve KB +; *E. chrysanthemi* katalaz, potasyum hidroksit ve arginin +, oksidaz, nitrat, levan ve KB –; *E. intermedius*, *E. rhapontici*, *L. adecarboxylata*, *P. agglomerans* ve *S. liquefaciens* katalaz, potasyum hidroksit +, arginin, oksidaz, nitrat, levan ve KB –; *P. putida* straini ise levan -, katalaz, potasyum hidroksit +, arginin, oksidaz, nitrat ve KB + sonuç vermiştir.



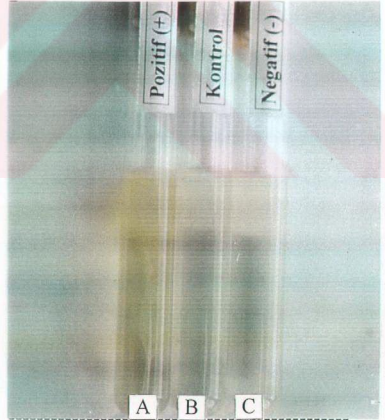
**Şekil 4.15.** *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin NAS (Nutrient Agar+%5 Sukroz)'daki levan koloni yapısı



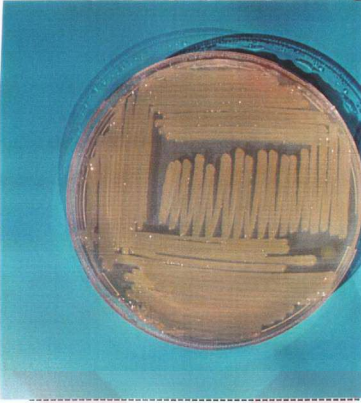
**Şekil 4.16.** *Erwinia amylovora* ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* dışındaki bakterilerin NAS (Nutrient Agar+%5 Sukroz)'daki koloni yapısı



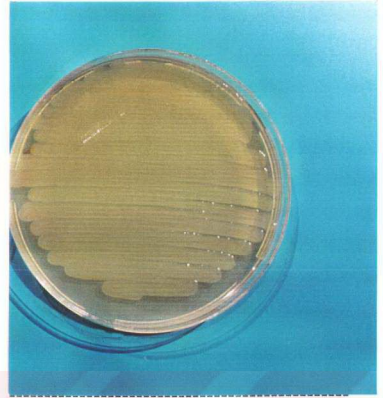
**Şekil 4.17.** Arginin testi; A: Arginin + (pozitif), B: Kontrol, C: Arginin - (negatif)



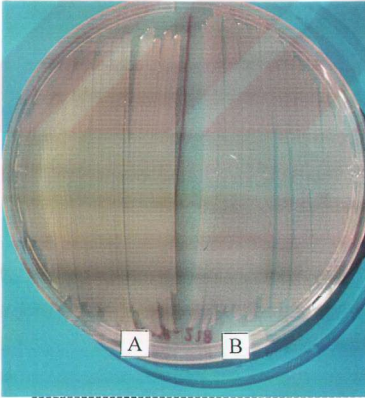
**Şekil 4.18.** Nitrat Testi; A: Nitrat + (pozitif), B: Kontrol, C: Nitrat - (negatif)



**Şekil 4.19.** King's B (KB) besiyerinde fluorescent pigment üretimi testi. *Erwinia amylovora* strain RK-228, KB- (negatif)



**Şekil 4.20.** King's B (KB) besiyerinde fluorescent pigment üretimi testi. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strain RK-257, KB + (pozitif)



**Şekil 4.21.** Etkili biyoajanların King's B (KB) besiyerinde fluorescent pigment üretimi testi. A: *Pseudomonas fluorescens* RK-165, KB + (Pozitif), B: *Erwinia rhapontici* RK-135, KB- (negatif)



**Çizelge 4.9.** Aşırı duyarlılık ve patojenite testleri sonucunda patojen oldukları tespit edilen bakteriyel strainlerin biyokimyasal ve morfolojik test sonuçları

MIS SONUÇLARI	İ. NO	BIYOKİMYASAL TESTLER										MORFOLOJİK TESTLER					
		O K S.	K A T.	N İ T.	A R G.	L E V.	K B	H A R E K E T	HÜCRE ŞEKLİ	KOLONİ ŞEKLİ (YDC'de)	H A R E K E T	HÜCRE ŞEKLİ	KOLONİ ŞEKLİ (YDC'de)				
<i>Alcaligenes piechaudii</i> Elma-Necefali-IGDIR	RK-155	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Çubuk	Sarı-mukoid	Hareketli	Çubuk	Sarı-mukoid
<i>Bacillus pumilus</i> GC. Subgroup B Elma-Bardız-Şenkaya-ERZURUM	RK-106	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Çubuk	Portakal sarı	Hareketli	Çubuk	Portakal sarı
<i>Chromobacterium violaceum</i> Armut-Penek-Şenkaya-ERZURUM	RK-231	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	Çubuk	Krem	Hareketli	Çubuk	Krem
<i>Chromobacterium violaceum</i> Yenidünya-Yusufoğlu-ARTVİN	RK-259	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	Çubuk	Krem	Hareketli	Çubuk	Krem
<i>Enterobacter intermedius</i> Armut-Bardız-Şenkaya-ERZURUM	RK-90	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	Çubuk	Krem-mukoid	Hareketli	Çubuk	Krem-mukoid
<i>Erwinia amylovora</i> Ahlat-Oltu-ERZURUM	RK-271	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	Çubuk	Beyaz	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Ahlat-Oltu-ERZURUM	RK-272	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	Çubuk	Beyaz	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Ahlat-Oltu-ERZURUM	RK-273	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	Çubuk	Beyaz	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-ARTVİN	RK-306	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	Çubuk	Beyaz	Hareketli	Çubuk	Beyaz

\* İ.NO: İzolasyon numaraları, OKS: Oksidaz, KAT: Katalaz, KOH: Potasyum hidroksit, NIT: Nitrat üretimi, ARG: Arginin üretimi, LEV: Levan koloni oluşumu, KB: King's B besiyerinde pigment üretimi, HR: Aşırı duyarlılık, PAT: Patojenite, +: Pozitif sonuç, -: Negatif sonuç, z+: Zayıf pozitif sonuç, k+: Kuvvetli pozitif sonuç



Çizelge 4.9. (devam)

<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Yusufeli-ARTVIN	RK-228	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Yusufeli-ARTVIN	RK-268	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Yusufeli-ARTVIN	RK-284	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Yusufeli-ARTVIN	RK-310	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Yusufeli-ARTVIN	RK-311	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-İşhan-Yusufeli-ARTVIN	RK-307	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-İşhan-Yusufeli-ARTVIN	RK-322	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-ERZINCAN	RK-283	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-ERZINCAN	RK-285	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-ERZINCAN	RK-286	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-ERZINCAN	RK-291	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-ERZINCAN	RK-292	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-ERZINCAN	RK-308	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Elma-ERZINCAN	RK-5	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Elma-ERZINCAN	RK-224	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz

Çizelge 4.9. (devam)

<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Paşalı-Şenkaya-ERZURUM	RK-269	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut- Paşalı-Şenkaya-ERZURUM	RK-270	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Çamlıbel-Oltu-ERZURUM	RK-281	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-İspir-ERZURUM	RK-320	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-İspir-ERZURUM	RK-323	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-İspir-ERZURUM	RK-312	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Tortum-ERZURUM	RK-287	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Elma-Bardız-Şenkaya-ERZURUM	RK-214	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Elma-Tortum-ERZURUM	RK-216	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Elma-Ayvalı-Oltu-ERZURUM	RK-218	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Elma-Oltu-ERZURUM	RK-246	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-İĞDIR	RK-9	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-İĞDIR	RK-18	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-İĞDIR	RK-19	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-İĞDIR	RK-236	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz

Çizelge 4.9. (devam)

<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Necefali-IĞDIR	RK-217	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-IĞDIR	RK-225	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Kağızman-KARS	RK-226	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Kağızman-KARS	RK-232	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Kağızman-KARS	RK-235	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia amylovora</i> Armut-Kağızman-KARS	RK-237	-	k+	k+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia rhapontici</i> Armut-Kadırlaşak-IĞDIR	RK-227	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia rhapontici</i> Armut-IĞDIR	RK-234	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia rhapontici</i> Armut-IĞDIR	RK-243	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia rhapontici</i> Armut-Necefali-IĞDIR	RK-208	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia rhapontici</i> Armut-Kağızman-KARS	RK-189	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Erwinia rhapontici</i> Elma-Oltu-ERZURUM	RK-219	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pantoea agglomerans</i> Armut-Aksu-Tortum-ERZURUM	RK-10	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pantoea agglomerans</i> Elma-Bardız-Senkaya-ERZURUM	RK-87	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pseudomonas syringae pv. syringae</i> Armut-Yusufoğlu-ARTVIN	RK-48	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz

Çizelge 4.9. (devam)

<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-ARTVIN	RK-52	-	+	+	-	-	-	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-Yusufeli-ARTVIN	RK-63	-	+	+	-	-	-	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-İşhan-Yusufeli-ARTVIN	RK-257	-	+	+	-	-	-	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-ARTVIN	RK-316	-	+	+	-	-	-	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-İşhan-Yusufeli-ARTVIN	RK-319	-	+	+	-	-	-	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Ayva-İşhan-Yusufeli-ARTVIN	RK-204	-	+	+	-	-	-	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-ERZİNCAN	RK-53	-	+	+	-	-	-	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-ERZİNCAN	RK-14	-	+	+	-	-	-	+	+	z+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-ERZİNCAN	RK-21	-	+	+	-	-	-	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-ERZİNCAN	RK-258	-	+	+	-	-	-	+	+	z+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-ERZİNCAN	RK-318	-	+	+	-	-	-	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-ERZİNCAN	RK-11	-	+	+	-	-	-	+	+	z+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-Bardız-Şenkaya-ERZURUM	RK-47	-	+	+	-	-	-	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-Aksu-Tortum-ERZURUM	RK-317	-	+	+	-	-	-	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Armut-Aksu-Tortum-ERZURUM	RK-321	-	+	+	-	-	-	+	+	k+	Hareketli	Çubuk	Beyaz

Çizelge 4.9. (devam)

<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Ahlal-Oltu-ERZURUM	RK-264	-	z+	+	-	+	+	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Ahlal-Oltu-ERZURUM	RK-265	-	z+	+	-	+	+	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Ahlal-Oltu-ERZURUM	RK-266	-	z+	+	-	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> Ahlal-Oltu-ERZURUM	RK-267	-	z+	+	-	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas huttiensis</i> Ayva-Işhan-Yusufoğlu-ARTVİN	RK-260	-	+	+	-	+	+	+	+	z+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas huttiensis</i> Ayva-Işhan-Yusufoğlu-ARTVİN	RK-261	-	+	+	-	+	+	+	+	z+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas huttiensis</i> Ayva-Işhan-Yusufoğlu-ARTVİN	RK-262	-	+	+	-	+	+	+	+	z+	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Elma-Kağızman-KARS	RK-168	+	+	+	z+	+	+	+	+	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas cichorii</i> Armut-Kağızman-KARS	RK-166	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Pseudomonas putida</i> biotip A Armut-ERZURUM	RK-28	+	+	+	-	+	+	+	+	-	Hareketli	Çubuk	Krem
<i>Pseudomonas putida</i> biotip A Armut-Aksu-Tortum-ERZURUM	RK-238	+	+	+	-	z+	z+	z+	z+	-	Hareketli	Çubuk	Krem
<i>Pseudomonas putida</i> biotip B Armut-Aksu-Tortum-ERZURUM	RK-239	+	+	+	-	+	+	+	+	-	Hareketli	Çubuk	Krem
<i>Pseudomonas putida</i> biotip A Armut-Kaleköyü-Oltu-ERZURUM	RK-249	z+	+	+	+	+	+	+	+	-	Hareketli	Çubuk	Krem

Çizelge 4.10. *In-vitro*'da ve/veya *iv-vivo*'da etkili oldukları saptanan potansiyel biyoajenların biyokimyasal ve morfolojik test sonuçları\*

MIS SONUÇLARI	İ. NO	BIYOKİMYASAL TESTLER						MORFOLOJİK TESTLER			
		O. K. S.	K. A. T.	N. İ. H.	A. R. G.	L. E. V.	K. B.	HAREKET	HÜCRE ŞEKLİ	KOLONİ ŞEKLİ (YDC'de)	
<i>Alcaligenes piechaudii</i> <sup>***</sup>	RK-105	+	+	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Sarı-mukoid	
<i>Alcaligenes piechaudii</i> <sup>***</sup>	RK-136	+	+	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Sarı-mukoid	
<i>Alcaligenes piechaudii</i> <sup>***</sup>	RK-137	+	+	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Sarı-mukoid	
<i>Alcaligenes piechaudii</i> <sup>***</sup>	RK-143	+	+	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Sarı-mukoid	
<i>Alcaligenes piechaudii</i> <sup>***</sup>	RK-157	+	+	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Sarı-mukoid	
<i>Alcaligenes piechaudii</i> <sup>***</sup>	RK-158	+	+	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Sarı-mukoid	
<i>Alcaligenes piechaudii</i> <sup>***</sup>	RK-156	+	+	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Sarı-mukoid	
<i>Bacillus pumilus</i> <sup>***</sup>	RK-103	-	+	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Portakal sarı	
<i>Chromobacterium violaceum</i> <sup>***</sup>	RK-165	z+	+	+	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Krem	

\*İ.NO: İzolasyon numaraları, OKS: Oksidaz, KAT: Katalaz, KOH: Potasyum hidroksit, NIT: Nitrat üretimi, ARG: Arginin üretimi, LEV: Levan koloni oluşumu, KB: King's B besiyerinde pigment üretimi, HR: Aşırı duyarlılık, PAT: Patojenite, +: Pozitif sonuç, -: Negatif sonuç, z+: Zayıf pozitif sonuç, \*\* : Sadece *in-vitro*'da etkili, \*\*\* : Hem *in-vitro*'da hem de *in-vivo*'da etkili



Çizelge 4.10. (devam)

<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> <sup>***</sup>	RK-114	-	+	-	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Portakal kırmızı
<i>Erwinia chrysanthemi</i> <sup>***</sup>	RK-67	-	+	+	-	+	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Sarı-mukoid
<i>Enterobacter intermedius</i> <sup>***</sup>	RK-91	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Krem-mukoid
<i>Erwinia rhaipontici</i> <sup>***</sup>	RK-135	-	+	+	-	-	-	m	-	Hareketli	Çubuk	Beyaz
<i>Laclercia adecarboxylata</i> <sup>***</sup>	RK-163	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Sarımsı krem
<i>Laclercia adecarboxylata</i> <sup>***</sup>	RK-164	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Sarımsı krem
<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>***</sup>	RK-80	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>***</sup>	RK-84	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>***</sup>	RK-92	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>***</sup>	RK-113	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>***</sup>	RK-123	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>***</sup>	RK-169	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>***</sup>	RK-79	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>***</sup>	RK-85	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid

Çizelge 4.10. (devam)

<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>NRRL</sup>	RK-86	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>NRRL</sup>	RK-153	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>NRRL</sup>	RK-154	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pantoea agglomerans</i> <sup>NRRL</sup>	RK-160	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Kirli sarı mukoid
<i>Pseudomonas putida</i> <sup>NRRL</sup>	RK-142	+	+	+	+	+	+	+	+	Hareketli	Çubuk	Sarı
<i>Serratia liquefaciens</i> <sup>NRRL</sup>	RK-102	-	+	+	-	-	-	-	-	Hareketli	Çubuk	Krem

#### 4.7. 16S-23S rDNA-PCR Amplifikasyon Sonuçları

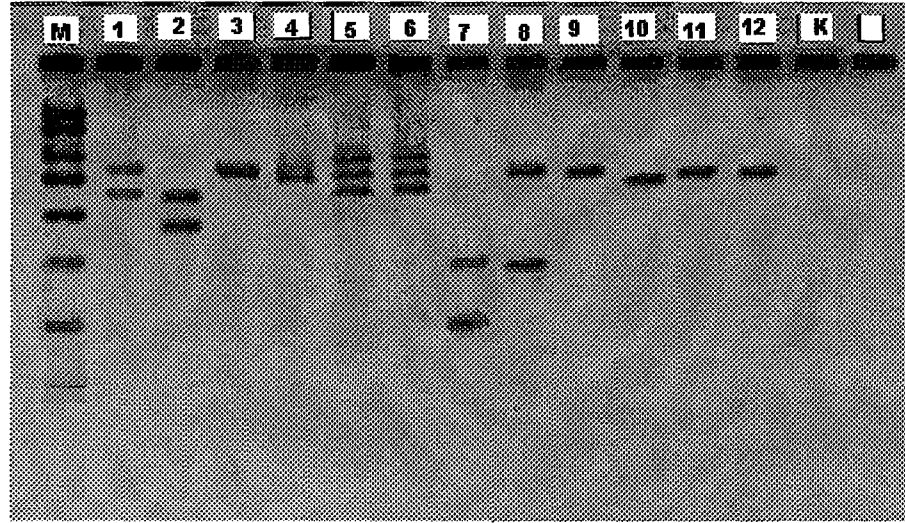
Patojen oldukları belirlenen bakterilerden izole edilen genomik DNA üzerindeki 16S-23S rDNA bölgesi 4F ve 7R primerleri ile PCR'da (Eppendorf Mastercycler Gradient Authorized Thermal Cycle) amplifiye edildikten sonra elde edilen amplikonlar elektroforezde (Biogen Apelex) yürütülmüştür. Jel dökümantasyon sisteminde (Gel Doc 200 BIO-RAD) görüntülenen bant profillerinin analizleri Quantity One Imaging and Analysis PDQuest 2-D Gel Analysis Software kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar şekil 4.22, 23, 24, ve 25'te verilmiştir.

HR ve patojenite testleri sonucunda pozitif reaksiyon veren bakteri türlerinin her birisinden bir strain seçilerek, PCR ürünleri elektroforez jelde yürütülmüş ve farklı bant profilleri elde edilmiştir. *A. piechaudii* strain RK-155; 850 ile 650 bp moleküler ağırlığında iki bant oluştururken, *B. pumilus* GS. Subgroup B strain RK-106; 600 ile 450 bp iki bant, *C. violaceum* strain RK-231; 800 bp tek bant, *E. intermedius* strain RK-90; 750 ile 800 bp iki bant, *E. amylovora* strain RK-5 ve *E. rhapontici* strain RK-219; 1000, 800 ile 650 bp üç bant, *P. agglomerans* strain RK-87; 250 ile 150 bp iki bant, *P. aeruginosa* strain RK-168; 800 ile 250 bp iki bant, *P. cichorii* strain RK-166 ve *P. putida* strain RK-28; 800 bp tek bant, *P. huttiensis* strain RK-260; 650 bp tek bant ve *P. s. pv. syringae* RK-257; 750 bp tek bant oluşturmuştur (şekil 4. 22).

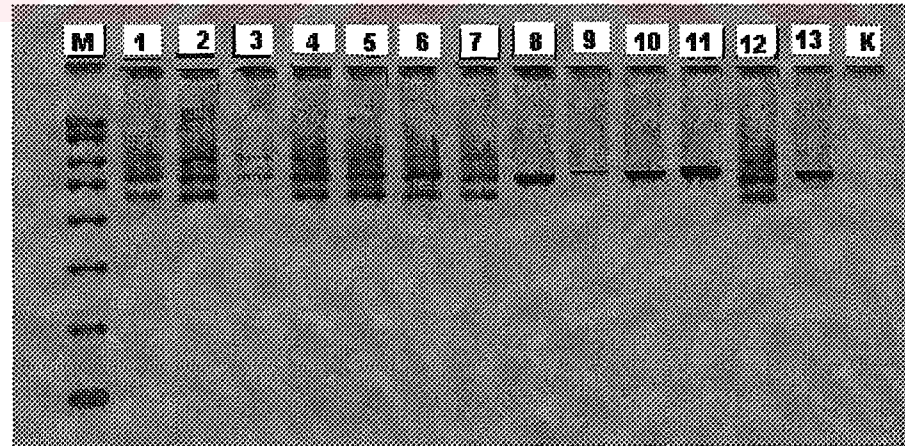
Farklı veya aynı konukçu ve bölge kıstasları göz önüne alınarak seçilen RK-5, RK-214, RK-271, RK-225, RK-9, RK-291, RK-226, RK-268 ve RK-232 strain numaralı *E. amylovora*'lar ve RK-11, RK-47, RK-257 RK-321, strain numaralı *P. s. pv. syringae*'lerin PCR ürünleri birlikte elektroforez jelde yürütülmüş ve *E. amylovora* strainleri 1000, 800 ile 650 bp üç bant oluştururken *P. s. pv. syringae* strainleri 750 bp tek bant oluşturmuştur. Aynı jelde yürütülen RK-189 strain numaralı *E. rhapontici*, *E. amylovora*'larla aynı 1000, 800 ile 650 bp üç bant oluştururken, RK-215 strain numaralı *P. huttiensis* de *P. s. pv. syringae* strainlerinden farklı olarak 650 bp tek bant oluşturmuştur (şekil 4. 23).

Aynı bölge aynı konukçu, farklı bölge farklı konukçulardan izole edilen RK-9, RK-18, RK-19, RK-225, RK-291, RK-312, RK-217, RK-270, RK-268, RK-232,, RK-218, RK-216 ve RK-271 strain numaralı *E. amylovora*'ların hepsi 1000, 800 ile 650 bç üç bant oluşturmuştur (şekil 4. 24). Aynı kriterler dikkate alınarak seçilen RK-21, RK-53, RK-258, RK-318, RK-317, RK-316, RK-319, RK-47, RK-264, RK-265, RK-266, RK-RK-14 ve RK-204 strain numaralı *P. s. pv. syringae*'lerin 750 bç tek bant oluşturduğu görülmüştür (şekil 4. 25). Gerek *E. amylovora* gerekse de *P. s. pv. syringae* strainleri arasında bant sayısı ve uzunluğu açısından herhangi bir farklılık görülmemiştir.



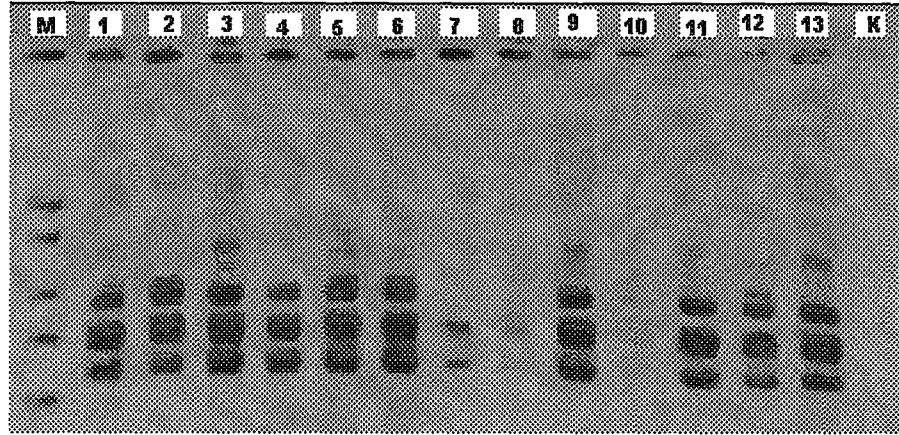


**Şekil 4.22.** HR ve patojenite pozitif bütün farklı türlerin 16S-23S rDNA-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *Alcaligenes piechaudii* (RK-155), 2. hat: *Bacillus pumilus* (RK-106), 3. hat: *Chromobacterium violaceum* (RK-231), 4. hat: *Enterobacter intermedius* (RK-90), 5. hat: *Erwinia amylovora* (RK-228), 6. hat: *Erwinia rhapontici* (RK-219), 7. hat: *Pantoea agglomerans* (RK-87), 8. hat: *Pseudomonas aeruginosa* (RK-168), 9. hat: *Pseudomonas cichorii* (RK-166), 10. hat: *Pseudomonas huttiensis* (RK-260), 11. hat: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (RK-257), 12. hat: *Pseudomonas putida* (RK-28) ve K: Kontrol (-)

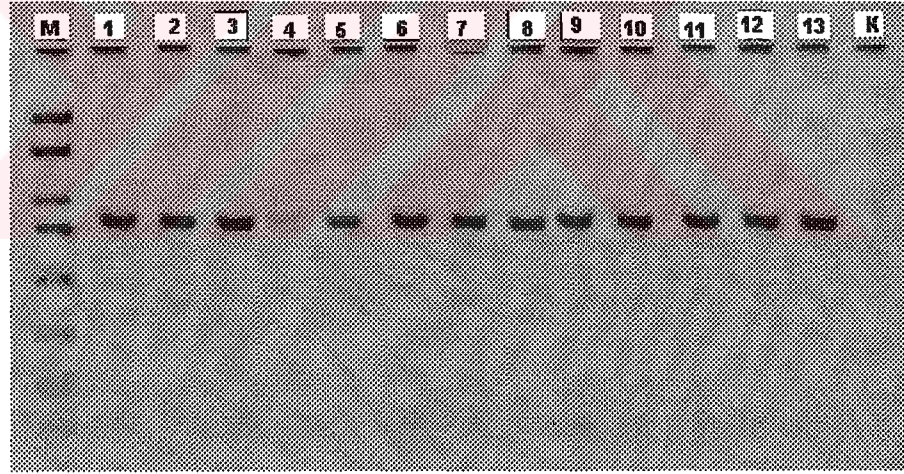


**Şekil 4.23.** Farklı bölge ve konukçulardan izole edilen *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Erwinia rhapontici* ve *Pseudomonas huttiensis* strainlerinin 16S-23S rDNA-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *E. amylovora* strain RK-5, 2. hat: RK-214, 3. hat: RK-271, 4. hat: RK-9, 5. hat: RK-291, 6. hat: RK-226, 7. hat: RK-268, 8. hat: *P. s.* pv. *syringae* RK-14, 9. hat: RK-47, 10. hat: RK-257, 11. hat: RK-321, 12. hat: *E. rhapontici* strain RK-219, 13. hat: *P. huttiensis* strain RK-260 ve K: Kontrol (-)





**Şekil 4.24.** Aynı bölge ve konukçu, farklı bölge ve konukçulardan izole edilen *Erwinia amylovora* strainlerinin 16S-23S rDNA-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *E. amylovora* strain RK-9, 2. hat: RK-18, 3. hat: RK-19, 4. hat: RK-225, 5. hat: RK-291, 6. hat: RK-312, 7. hat: RK-217, 8. hat: RK-270, 9. hat: RK-268, 10. hat: RK-232, 11. hat: RK-218, 12. hat: RK-216, 13. hat: RK-271 ve K: Kontrol (-)



**Şekil 4.25.** Aynı bölge ve konukçu, farklı bölge ve konukçulardan izole edilen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strainlerinin 16S-23S rDNA-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *P. s. pv. syringae* strain RK-21, 2. hat: RK-53, 3. hat: RK-258, 4. hat: RK-318, 5. hat: RK-316, 6. hat: RK-318, 7. hat: RK-319, 8. hat: RK-47, 9. hat: RK-264, 10. hat: RK-265, 11. hat: RK-266, 12. hat: RK-14, 13. hat: RK-204 ve K: Kontrol (-)



#### 4.8. Eric (Enterobacterial repetitive intrgenic consensus) PCR Amplifikasyon Sonuçları

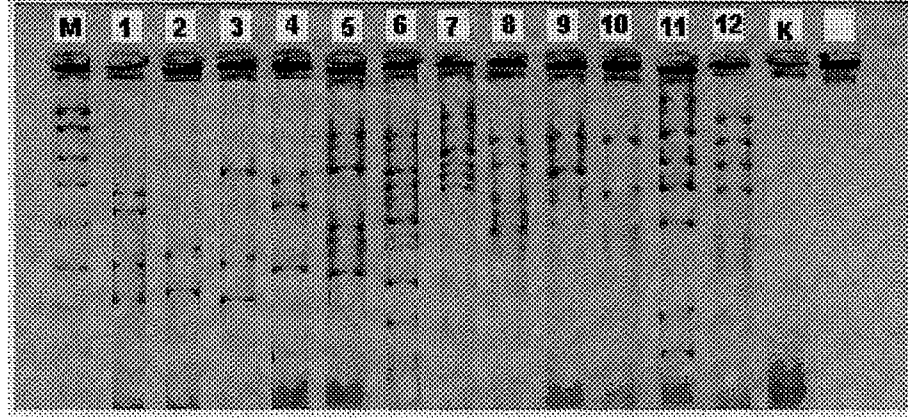
Eric-PCR metoduna göre test edilen bakteri strainlerinden alınan genetik profiller şekil 4.26, 27, 28 ve 29'da verilmiştir. HR ve patojenite testleri sonucunda pozitif reaksiyon veren bakteri türlerini temsilen seçilen bir strain, PCR ürünleri elektroforez jelde yürütülmüş ve farklı bant profilleri elde edilmiştir. *A. piechaudii* strain RK-155; 700, 600, 350 ile 200 bç moleküler ağırlığında dört bant oluştururken, *B. pumilus* GS. Subgroup B strain RK-106; 350, 300 ile 200 bç üç bant, *C. violaceum* strain RK-231; 800, 320, 300 ile 200 bç dört bant, *E. intermedius* strain RK-90; 800, 650 ile 300 bç üç bant, *E. amylovora* strain RK-5; 1500, 1200, 1000, 900, 500, 400, 350 ile 250 bç sekiz bant, *E. rhapontici* strain RK-219; 1200, 1100, 850, 750, 650, 550, 450, 350 ile 200 bç dokuz bant, *P. agglomerans* strain RK-87; 1800, 1700, 1100, 900, 850 bç beş bant, *P. aeruginosa* strain RK-168; 1200, 900, 650, 600 ile 450 bç beş bant, *P. cichorii* strain RK-166; 1400, 1150 ile 850 bç üç bant, *P. putida* strain RK-28; 1400 ile 650 bç iki bant, *P. s. pv. syringae* RK-257; 2100, 2000, 1500, 1000, 750, 550, 100 ile 60 bç sekiz bant ve *P. huttiensis* strain RK-260; 1800, 1400, 500 ile 700 bç dört bant oluşturmuştur (şekil 4. 226).

*E. rhapontici* ile *E. amylovora* ve *P. huttiensis* ile *P. s. pv. syringae* türleri arasında gerek bant sayıları gerekse bant uzunlukları açısından önemli farklılıklar bulunmuştur (şekil 4. 27). Farklı bölge ve konukçu durumu da dikkate alınarak seçilen *E. amylovora* strainleri kendi arasında Eric-PCR bant profillerine göre karşılaştırılınca çok büyük oranda bir benzerlik görülmüştür (şekil 4. 228) . RK-19, RK-228 ve RK-232 nolu strainlerde 250 bç'lik bant çok belirgin görülürken diğer strainlerde ya hiç görülmemiş ya da çok belirgin değildir. Aynı farklılık 1500 bç'lik bantta da mevcuttur. Bu bant RK-226, RK-217, RK-228, RK-268 ve RK-232 nolu strainlerde belirgin iken diğerlerinde ya hiç yok ya da belirgin olarak görülmemektedir.

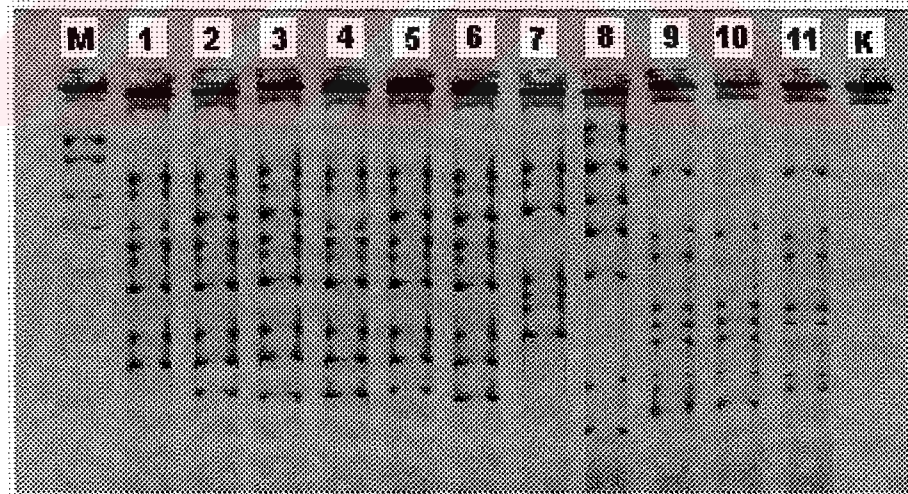
Genel bant profili açısından aynı benzerlik *P. s. pv. syringae* strainlerinin kendi arasında da mevcuttur (şekil 4. 229). RK-21, RK-257, RK-258, RK-319, RK-265, RK-266 ve

RK-204 nolu strainler arasında tam bir benzerlik varken; RK-316, RK-264 ve RK-14 strain numaralı bakteriler de kendi aralarında bir benzerlik göstermelerine rağmen 60 bç'lik bant bunlarda görülmemektedir. RK-317 ve RK-321 strainleri diğerlerinden farklı olarak 700-750 bç'lik iki bant oluşturmuştur. Yine RK-317, RK-318 ve 321 strainleri ise 50-60 bç'lik iki bant ile diğer strainlerden farklı olduğu gözlenmiştir.



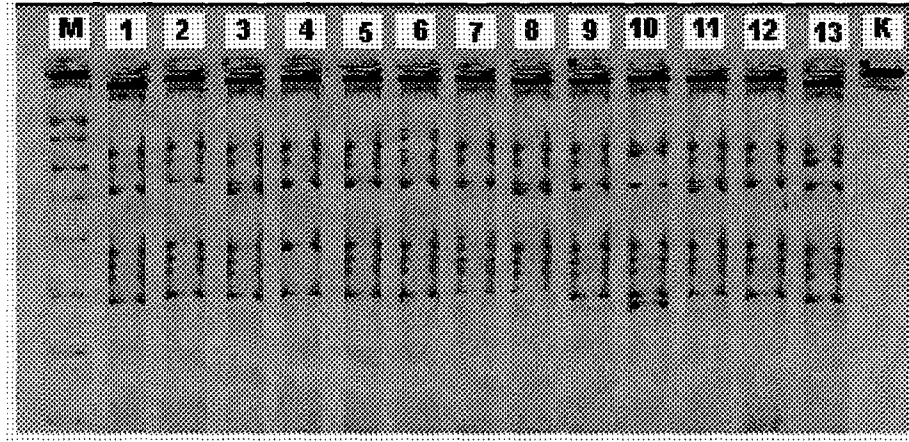


**Şekil 4.26.** HR ve patojenite pozitif bütün farklı türlerin Eric-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *Alcaligenes piechaudii* (RK-155), 2. hat: *Bacillus pumilus* (RK-106), 3. hat: *Chromobacterium violaceum* (RK-231), 4. hat: *Enterobacter intermedius* (RK-90), 5. hat: *Erwinia amylovora* (RK-228), 6. hat: *Erwinia rhapontici* (RK-219), 7. hat: *Pantoea agglomerans* (RK-87), 8. hat: *Pseudomonas aeruginosa* (RK-168), 9. hat: *Pseudomonas cichorii* (RK-166), 10. hat: *Pseudomonas huttiensis* (RK-260), 11. hat: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (RK-257), 12. hat: *Pseudomonas putida* (RK-28) ve K: Kontrol (-)

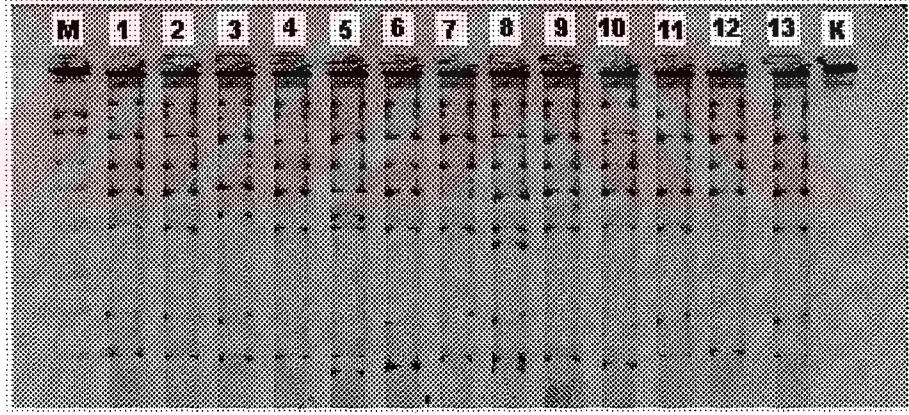


**Şekil 4.27.** Aynı bölge ve konukçu, farklı bölge ve konukçulardan izole edilen *Erwinia rhapontici*-*Erwinia amylovora* ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*-*Pseudomonas huttiensis* strainlerinin Eric-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *E. rhapontici* strain RK-189, 2. hat: RK-208, 3. hat: RK-219, 4. hat: RK-227, 5. hat: RK-234, 6. hat: RK-243, 7. hat: *E. amylovora* strain RK-228, 8. hat: *P. s.* pv. *syringae* strain RK-257, 9. hat: *P. huttiensis* strain RK-260, 10. hat: RK-261, 11. hat: RK-262 ve K: Kontrol(-)





**Şekil 4.28.** Aynı bölge ve konukçu, farklı bölge ve konukçulardan izole edilen *Erwinia amylovora* strainlerinin Eric-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *E. amylovora* strain RK-9, 2. hat: RK-18, 3. hat: RK-19, 4. hat: RK-225, 5. hat: RK-291, 6. hat: RK-312, 7. hat: RK-217, 8. hat: RK-270, 9. hat: RK-268, 10. hat: RK-232, 11. hat: RK-218, 12. hat: RK-216, 13. hat: RK-271 ve K: Kontrol (-)



**Şekil 4.29.** Farklı bölge ve konukçulardan izole edilen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strainlerinin Eric-PCR elektroforez sonuçları. M: Markır, 1. hat: *P. s. pv. syringae* strain RK-21, 2. hat: RK-53, 3. hat: RK-258, 4. hat: RK-318, 5. hat: RK-316, 6. hat: RK-318, 7. hat: RK-319, 8. hat: RK-47, 9. hat: RK-264, 10. hat: RK-265, 11. hat: RK-266, 12. hat: RK-14, 13. hat: RK-204 ve K: Kontrol (-)

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Doğu Anadolu Bölgesi'nde Artvin, Erzincan, Erzurum, Iğdır ve Kars merkez il, ilçe ve köylerinde yapılan sürveyler sırasında, yumuşak çekirdekli meyvelerde tipik bakteriyel hastalık simptomsu olan çiçek ve sürgün yanıklığı ile geriye doğru ölüme rastlanmıştır. İzole edilen toplam 324 bakteriyel strainin; 64'ü 1999, 131'i 2000 ve 129'u ise 2001 yılında izole edilmiştir (çizelge 4.1).

Bakteriyel izolasyonların MIS (Microbiyal identification system) sisteminde tanılanması sonucunda 78 farklı tür belirlenmiştir. MIS sonuçları (çizelge 4.1), morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları (çizelge 4.8,9) ve moleküler metodlar (şekil 4. 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29) ile %100 lük bir benzerlik göstermesi, bu sistemin bakteriyel organizmaların tanısında başarıyla kullanılabileceğini göstermektedir. Yapılan araştırmalarda *E. amylovora*'nın tanısında MIS sisteminin kullanıldığına dair bir bilgiye de rastlanmamıştır. Farklı patojen bakteri türleri arasında yağ asiti türü ve % oranları açısından büyük bir farklılık olmasına rağmen, aynı türün farklı strainleri arasında bu parametreler açısından büyük bir oranda benzerlik bulunmaktadır (çizelge 4.3,4).

Yapılan izolasyonlarda toplam 40 olmak üzere 1999'da 4, 2000'de 1 ve 2001 yılında 35 *Erwinia amylovora* straini tanılanırken; 1999'da 8, 2000'de 1 ve 2001 yılında ise toplam 11 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* straini tanılanmıştır. Bu bakterilerin konukçu açısından dağılımı ise; toplam 40 olan *E. amylovora* strainininin 31'i armut, 6'sı elma ve 3'ü ahlattan, toplam 20 olan *P. s. pv. syringae* strainininin 15'i armut, 4'ü ahlat ve 1'i ayvadan izole edilmiştir. Başta armut olmak üzere elma, ahlat ve ayvada da bakteriyel patojenlerden dolayı bir zararın olduğu görülmüştür. Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyveler üzerinde hastalık oluşturan bu patojenler ilk defa bu çalışmada saptanmıştır.

Ancak, bütün illerden *E. amylovora* ve/veya *P. s. pv. syringae*'nin izole edilememesi bu bölgelerin bu hastalık yönü ile temiz olduğu anlamına gelmemelidir. Çünkü; bu

çalışmanın izolasyon aşamasında sadece patojenik bakteriler değil aynı zamanda potansiyel biyolojik ajanların da izolasyonu amaçlanmıştır. Bakteriyel patojenlerin daha aktif oldukları çiçeklenme dönemlerinde yapılan izolasyonlarda patojenlerin daha yoğun olarak geliştiği gözlenirken; çiçeklenme periyodunu takiben yapılan izolasyonlarda, başta *Pantoea agglomerans* (sinonim=*Erwinia herbicola*) ve *Enterobacter agglomerans* olmak üzere saprofitik bakterilerin petrilere daha yoğun geliştiği görülmüştür. Çiçeklenme periyodunun kısalığı da patojenlerin yoğun olarak izole edilmesini engellemiştir. Bu çalışmada patojenik bakteri türü olarak; *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae*'ye ilaveten *Alcaligenes piechaudii*, *Bacillus pumilus* GC. Subgroup B, *Chromobacterium violaceum*, *Enterobacter intermedius*, *Erwinia rhapontici*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cichorii*, ve *Pseudomonas huttiensis* ve *Pseudomonas putida* türlerine ait toplam 82 bakteriyel strain tespit edilmiştir.

Potansiyel biyokontrol bakteri olarak ise toplam 10 bakteri türüne ait 22 bakteri straini daha izole edilmiştir. Nitekim daha önce yapılan bazı çalışmalarda da rapor edildiği gibi *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* strainleri özellikle çiçeklenme döneminde bitki dokusunda yoğun olduğu için izolasyonu daha kolaydır. Takip eden periyotta patojen bakteriler bitki dokusunda durgun dönemde oldukları için izolasyonları daha zordur (Jeng *et al.* 2001). Ayrıca *P. agglomerans* gibi saprofitik organizmalar, daha hızlı gelişerek *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* gibi patojenik bakterilerin gelişimini engellemekte veya gelişmelerini baskıladıkları için patojen strainlerin izolasyonundaki başarı oranını düşürmektedirler (Jeng *et al.* 2001). Johnson and Stocwell (1998) yaptıkları bir çalışmada; elma ve armut bahçelerinde yapılan izolasyonlarda *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Erwinia*, *Klepsiella*, *Micrococcus*, *Pantoea* ve *Pseudomonas* bakteri cinslerine dahil geniş bir patojen grubunun yaygın olarak bulunduğunu ve bu mikrobiyal popülasyonun çeşitliliğine örtü altı bitkilerinin zenginliği ve değişen çevre faktörlerinin etki ettiğini belirtmişlerdir. Jeng *et al.* (2001) ise; meyve bahçelerindeki *P. agglomerans* popülasyonunun büyüme sezonu boyunca arttığını, *Pseudomonas* türlerinin ise çiçeklenme periyodu boyunca daha baskın olan bakteriyel türler olduğunu belirtmektedirler. Tanımlanan türler yapılan bu çalışmalarını



destekler niteliktedir. Ayrıca *P. s. pv. syringae* patojeni daha çok serin ve nemli iklim koşullarında yoğunluk gösteren bir patojendir. Artan hava sıcaklığı ile birlikte bu patojenin popülasyonunun baskılandığı daha önceki çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Bu nedenle geç dönemlerde alınan bitki örneklerinden *P. s. pv. syringae* strainlerinin izolasyonundaki başarısızlık bu çalışmada da görülmüştür.

Özellikle ilk iki yıl yapılan izolasyon çalışmalarında; biyokontrol organizmaların da izolasyonu hedeflendiği için, ekim yapılan petrilerden saflaştırma yapılırken daha çok yoğun olan organizmalar tercih edilmiştir. Nutrient agar gibi (NA) genel besiyerinde ilk 24 saatte gelişen kolonilerden özellikle *P. agglomerans* ve *E. agglomerans* türü bakterilerin koloni yapılarının *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae*'nin koloni yapısına çok benzemeleri ve bu saprofitik organizmaların *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae*'nin bulunduğu ortamlarda iyi kolonize olmaları dolayısıyla, saflaştırılan bakterilerin büyük bir kısmının bu organizmalar olduğu MIS sonucunda belirlenmiştir. Ancak, üçüncü yıl yapılan izolasyonlarda NAS (Nutrient agar +%5 sokroz) ve KB (King's B) gibi seçici besi yerleri de kullanılarak daha çok *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae*'nin izolasyonu hedeflenmiştir.

*E. amylovora*'nın; başta armut olmak üzere ayva ve elmalarda da büyük problem oluşturduğu görülmüştür. Bu hastalığın Türkiye'de 1987-1989 yılları arasında ülkenin batısından doğusuna doğru yayıldığı; 1990 yılında Ermenistan'da da tespit edildiği ve doğuya doğru yayılmasına hızla devam ettiği belirtilmektedir (Van der Zwet 1996). Bu bölgede ateş yanıklığı hastalığının uzun yıllardan beri mevcut olduğu sanılmaktadır. Hatta yerli çeşitlerden tesis edilmiş birçok bahçenin bile tamamıyla elden çıkmasına sebep olduğu bu çalışma ile belirlenmiştir. Bazı çalışmalarda gözlenen literatür bilgileri de armut ağaçlarının ateş yanıklığına karşı daha hassas olduğu gerçeğini desteklemektedir (Van der Zwet and Keil 1979, Momol 1990).

Bazı bahçelerde *P. s. pv. syringae*'nin sebep olduğu tomurcuk yanıklığı hastalığına da rastlanmıştır. Özellikle armut ağaçlarındaki zararı dikkati çekmektedir. Tanılanan toplam 20 strainin 15'i armuttan, 4'ü ahlattan ve 1'i ise ayvadadan elde edilmiştir. *P. s.*

*pv. syringae* strainlerinin buz nükleasyon aktivitesine sahip olmasından dolayı hastalık şiddetini teşvik ettiği belirtilmektedir (Lindow *et al.* 1982). Soğuk iklime sahip ve özellikle ilkbahar donlarının çok önemli olduğu Doğu Anadolu Bölgesi için bu patojenin büyük önem arz ettiği aşikardır. Tomurcuk yanıklığı hastalığının gelişimi üzerine yapılan bir diğer çalışmada; daha sonraki enfeksiyonlardan kaynaklanacak hastalıklar ve patojenin popülasyonu arasındaki ilişkiye ve patojenin patojenik özelliklerine soğğun etkisi araştırılmış, kış başlangıcında dormant çiçek tomurcuklarındaki buz nükleasyonunun miktarının artmasına bağlı olarak, bakteri popülasyonunda belirgin bir artış olduğu görülmüştür (Montesinos ve Vilardele 1990). İlk olarak Doğu Anadolu Bölgesi'nde Kotan ve Şahin (2002) tarafından 2001 yılında kaysılarda yapılan bir çalışma ile *P. s. pv. syringae*'nin kaysı yetiştiriciliğini ciddi manada tehdit ettiği rapor edilmiştir. Yine bu bölgede dut yetiştiriciliği yapılan alanlarda *Pseudomonas syringae pv. mori*'nin önemli derecede zararlara sebep olduğu saptanmıştır (Şahin *et al.*, 1999). Ancak, bu patojenin yumuşak çekirdekli meyvelerde epidemi oluşturduğu ilk defa bu çalışma ile belirlenmiştir.

*A. tumefaciens* ve *A. rhizogenes* biovar 3'ün sebep olduğu saçak kök veya kanser oluşumunun, özellikle kışı sert geçen bölgelerde don zararına maruz kalan bitkilerde ilkbaharda hızla artacağı belirtilmektedir (Burr *et al.* 1987). Doğu Anadolu Bölgesi'nde yürütülen bu çalışmada; *Agrobacterium* cinsine ait potansiyel patojen türler olarak 7 *Agrobacterium radiobacter* ve 2 *Agrobacterium rubi* straini saptanmış ancak, bu strainlerin patojen olmadıkları belirlenmiştir.

Bakteriyel hastalıkların özellikle çiçek enfeksiyonlarının hızla yayılmasına; hastalıklı fidanların bölgeye kontrolsüzce sokulmasının yanı sıra yine bölgede yaygın olarak yapılan arıcılığın da önemli rol oynadığı sanılmaktadır. Bahçe içerisinde yayılmasına ise, yapılan bilinçsizce budamanın çok etkili olduğu, budama yapılırken patojenlerin dormant olduğu dönemler dikkate alınmadan ve budama aletlerinin dezenfeksiyonuna gereken itina gösterilmeden yapıldığı düşünülmektedir.

İzole edilen bakterilerin patojenitelerinin test edilmesinde tütün yaprağı, elma sürgünü ve sürgün kesiti kullanılmıştır. Çok yıllık odunsu bitkilerde hastalık oluşturan mikroorganizmaların patojenite testlerinin yapılmasında bazı zorluklar bulunmaktadır (Miller and Schroth 1972). Bu zorlukların en önemlisi sera gibi kontrollü şartlarda bu testlerin yapılabilmesi için odunsu çok yıllık bitkilerin geliştirilmesi hem çok zor hem de çok uzun zaman almaktadır. Bu yüzden *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* gibi bakteriyel patojenlerin patojenite testlerinin daha kolay yapılabilmesi için, tütünde HR testi ve konukçulardan alınan sürgünler üzerinde patojenite testleri alternatif metod olarak geliştirilmiştir (Klement 1967, Sahin *et al.* 1999).

*E. amylovora*'nın patojenitesinin test edilmesi için öküz bezelyesi (*Vigna sinensis*)'nin (Layne 1964), yine *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae*'nin patojenitesinin test edilmesi için *Nicotiana tabacum*'un (Klement 1967) kullanılabileceği belirtilmektedir. Bu iki metod da arzu edilen sonuçları vermesine rağmen, test bitkilerinin çok önceden saksılarda yetiştirilmesinin gerekliliği araştırmacıları sürekli daha hızlı sonuç verebilen metodların geliştirilmesine yönelik çalışmalara sevk etmektedir. Bu amaçla Ritchie ve Klos (1974) tarafından armut fidelerinde yapılan teste çok benzer ama daha hızlı sonuç verebilen ve ekonomik olarak laboratuvar şartlarında yapılabilen bir metod geliştirilmiş, ve bu metotta döllenmiş elma (*Malus sylvestris* cv. Jonathan) tohumlarından geliştirilen fideler kullanılarak daha hızlı sonuç alınabilmiştir.

*E. amylovora*'nın güçlü ve zayıf virulent strainlerinin birbirlerinden ayırt edilebilmesi için geliştirilmiş selektif besi yerleri de mevcut olmasına rağmen (Ark 1937; Kado and Heskett 1970; Miller and Schroth 1972), patojenite testlerinde patojen organizmanın konukçu dokuda oluşturduğu hastalık simptomunun gözlenmesi Koch postulate kurallarının tamamlanması açısından önemlidir. Bu çalışmada ise; tütünde yapılan aşırı duyarlılık testlerine ilave olarak, bir yıllık genç elma sürgünleri üzerine patojenitesi test edilecek bakteriyel organizmalar püskürtülmüş ve sürgün kesitleri içinde patojen bakteriyel solüsyonların bulunduğu tüpler içerisine konularak, aynı anda hem yapraklarda hem de kabuk ile odun dokusu arasında oluşan simptomların gelişimi izlenmiştir. Diğer meyve türlerinde olduğu gibi elma sürgününde ve sürgün kesitinde

yapılan patojenite test sonuçlarının paralellik göstermesi, bu yöntemin *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* gibi bakteriyel organizmaların patojenitelerinin test edilmesinde başarıyla kullanılabileceğini göstermektedir (Sahin *et al.* 1999).

MIS sonucunda *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* olarak tanılanan bütün strainlerin patojen oldukları belirlenmiştir. *P. s. pv. syringae* strain RK-204 nolu bakteri aşırı duyarlılık (Hypersensitivite (HR) testinde zayıf pozitif (z+) reaksiyon verirken, patojenite testlerinde pozitif (+) reaksiyon vermiştir. *P. syringae* patovaryantlarında patojenite ile ilişkili olarak bir fenotipik ve genotipik değişkenliğin olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir (Palleroni *et al.* 1973, Dye *et al.* 1980, Gross *et al.* 1984). *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* strainlerinin yanısıra *Alcaligenes piechaudii* RK-155; *Bacillus pumilus* RK-106; *Chromobacterium violaceum* RK-231 ve RK-259; *Enterobacter intermedius* RK-90; *Erwinia rhapontici* RK-189, RK-208, RK-219, RK-227, RK-234 ve RK-243; *Pantoea agglomerans* RK-10 ve RK-87; *Pseudomonas aeruginosa* RK-168; *Pseudomonas cichorii* RK-166; *Pseudomonas huttiensis* RK-260, RK-261 ve RK-262 ve *Pseudomonas putida*'nın RK-28, RK-238, RK-239 ve RK-249 strainlerinin de yapılan aşırı duyarlılık ve patojenite testleri sonucunda patojen oldukları tespit edilmiştir. Bu türlerin çeşitli bitki türlerinde ve insanlarda patojen olduklarına dair bilgiler mevcuttur (Baird and Gitaitis 1997, Saleh *et al.* 1997, Midani and Rathore 1998, Peel *et al.* 1988, Yen-Li Chou *et al.* 2000). Ancak, yapılan araştırmalarda *E. amylovora*, *P. s. pv. syringae* ve *B. pumilus* haricindeki bu bakterilerin, yumuşak çekirdeklerde patojen olduklarına dair bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu durum söz konusu bakterilerin patojenite genlerinin tespit edilmesi ile ancak izah edilebilir.

*B. pumilus* daha çok antibiyosis özelliği dolayısı ile biyolojik kontrolde kullanılan önemli bir biyoajan olarak bilinmekte; bu bakterinin bazı strainlerinin ise taş ve yumuşak çekirdekli meyvelerde yaralanmış odun dokusundaki çürümeyi teşvik ettiği de belirtilmektedir (Saleh *et al.* 1997). Mısır'da yapılan bir çalışmada; olgunlaşmamış seftaliler üzerindeki bakteriyel lekelerin sebebinin *B. pumilus* olduğu tespit edilmiştir (Saleh *et al.* 1997). Bu çalışmada elmadan izole edilen *B. pumilus* strain RK-106'nın

HR ve patojenite testleri sonucu da + çıkmıştır. *B. pumilus*'in Türkiye'de yumuşak çekirdekli meyvelerde hastalık oluşturduğu ilk defa bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

*P. agglomerans*'ın da patojen strainlerinin bulunduğunu gösteren bazı çalışmalar mevcuttur. Baird ve Gitaitis (1997), Kaliforniya'da Georgia bölgesinde pamuktan yaptıkları izolasyonlarda *P. agglomerans* olarak tanıladıkları bakteriyel strainlerin, pamuk kozalaklarındaki liflerde çürümeye sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Gitaitis (1997), yapmış olduğu bir diğer çalışmada; *P. agglomerans* ve *Pantoea ananas*'ın soğanda yaptıkları patojenite testleri sonucunda *P. agglomerans*'ın herhangi bir semptom oluşturmadığını ancak, *P. ananas*'ın yapraklarda yanıklık, sapta çürüme ve çiçeklerde ölüme sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da aşırı duyarlılık ve patojenite testleri sonucunda *P. agglomerans* strain RK-87 straininin HR testi sonucunun pozitif olduğu, elma sürgününde yapraklarda nekrotik lekelere, kabuk ile odun dokusu arasında ise çürümeye sebep olduğu gözlenmiştir. Bu çalışma *P. agglomerans*'ın elmada patojen olduğunun ilk kayıdır.

*A. pishaudii* (Peel *et al.* 1988), *C. violaceum* (Midani and Rathore 1998) ve *P. aeruginosa* (Arçelik vd. 2000) türlerinin insan sağlığı açısından da çok ciddi problem oluşturabilecek organizmalar olduğu bilinmektedir. İzolasyonlarda 17 *A. pishaudii*, 3 *C. violaceum* ve 1 *P. aeruginosa* izole edilmiştir. Bunlardan 1 *A. pishaudii*, 2 *C. violaceum* ve 1 *P. aeruginosa* strainin HR ve patojenite test sonuçları + olarak belirlenmiştir. *P. aeruginosa* Kağızman'dan, *C. violaceum* Penek-Şenkaya, Uzundere ve Yusufeli'nden, *A. pishaudii* ise 6'sı Tortum, 3'ü Uzundere, 2'si Olur, 2'si Iğdır, 2'si Oltu ve 2'si Yusufeli'nden izole edilmiştir. İzole edilen yerlerden başta Tortum olmak üzere birçoğu lağım sularının karıştığı dere yataklarındaki sularla sulanan bahçelerin yaygın olduğu yerlerdir. *A. piechaudii*'nin insanlarda kulak akıntısından izole edildiği ve patojenik bir rol oynadığı belirtilmiştir (Peel *et al.* 1988). Yapılan bir başka çalışmada; *C. violaceum*'un insanlarda nadiren de olsa ölümlerle sonuçlanabilecek enfeksiyonlara sebep olabileceği; deride, burunda, akciyer, karaciğer ve dalakta çeşitli hastalıklara ve deride çibanlara sebep olabileceği ve bazı antibiyotiklere de dayanıklı olduğu bildirilmektedir (Midani and Rathore 1998, Yen-Li Chou *et al.* 2000). *P.*

*aeruginosa*'nın ise gıdalar açısından önem arz ettiği saprofit bir tür olmakla birlikte gastroenterik hastalıklara neden olabileceği bildirilmiştir (Arçelik vd. 2000). Bu bakterinin violacein adı verilen bir antibiyotik pigment ürettiği tespit edilmiştir (Rettori and Duran 1998). Literatür taramalarına göre insan ve bitkiler arasında ortak patojen olarak bilinen sadece iki bakteri (*Burkholderia cepacia* ve *P. aeruginosa*) bilinmektedir. Bu çalışma ile *A. piechaudii* ve *C. violaceum*'un da insan ve bitki arasında transfer edilen ortak patojenler olarak ilk defa bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Kucheryava *et al.* (1999) yaptıkları bir çalışmada; izole edilen *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Bacillus* ve *Curtobacterium* cinslerine dahil bazı antagonistik bakterilerin, yapılan HR testi sonucunda tütün bitkisinde ve patojenite testi sonucunda tohumdan yetiştirilen elma fidanlarında nekrotik lezyonlara sebep olduklarını belirtmişlerdir. Bu çalışmada da bazı saprofitik organizmalar ya sadece HR +, ya da hem HR + sonuç vermiş hem de patojenite testleri sonucunda elma sürgünlerinde ve yapraklarında nekrozlara sebep olduğu görülmüştür (Tablo 4.1.). Bu nedenle HR + ve/veya patojenite + olan bakteriler potansiyel biyoajan olarak değerlendirilmemiştir.

HR testleri sonucunda + olduğu görülen ancak, patojenite testleri sonucunda – olan bakterilerin yumuşak çekirdekli haricindeki diğer sebze ve/veya meyvelerde patojen olması muhtemeldir. *E. chrysanthemi*'nin birçok bitki türünde patojen olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Dickey 1979, Dickey *et al.* 1987, Bradshaw-Rouse *et al.* 1988). Patates, mısır, pirinç ve birçok süs bitkisinde solgunluk, yanıklık ve yumuşak çürüklüğe neden olduğu bilinen *E. chrysanthemi*'nin Suudi Arabistan'ın Al-Quassim Bölgesi'nde farklı birçok hurma çeşidinde yapraklarda kloroz ve nekrozlarla başlayıp, sürgünlerde ani ölümlere neden olan bir hastalığa sebep olduğu belirtilmektedir (Abdalla 2001). Bu çalışmada yapılan izolasyonlarda da elma ve armuttan toplam 6 adet *E. chrysanthemi* straini elde edilmiş, yapılan HR ve patojenite testlerinde bu strainlerin hiçbirinin pozitif sonuç vermediği, RK-67 nolu strainin biyokontrol çalışmalarında etkili potansiyel biyoajan olduğu tespit edilmiştir.



İnsan sağlığı açısından önem arzeden bakterilerin bitki dokularında yoğun bulunması; bu bölgede daha çok dere kenarlarında tesis edilen bahçelerin, Őehir Őebeke sularının direk bağlı olduğu dere suları ile sulanmalarının bir sonucu olduğu dŐŐnlmektedir. Sulama suyu ile bitki kök bölgesine kadar gelen bakteri yine kökler vasıtasıyla alınarak, sistemik olarak veya yağmur ve rüzgar gibi çeşitli hava akımları vasıtasıyla tabandaki mikrobiyal flora bitkilerin toprak üstü bölgelerine taŐınabilmektedir. Bu sonuçlar; tükettiğimiz gıdalar üzerinde bulunan bitki patojeni mikroorganizmaların yanısıra, bitkiler üzerinde hastalık oluşturmayan ancak, insan sağlığını tehdit eden potansiyel klinik patojenleri, günlük olarak tükettiğimiz gıdalar üzerinde alabileceğimiz gerçeğini ortaya koymaktadır. Ayrıca içme sularının olduğu kadar tarımda kullanılan sulama sularının da temizliğinin önemli olduğunu göstermektedir.

İzolasyonlar sırasında petride yoğun olarak gelişen organizmaların saflaştırılması da biyolojik mücadele çalışmaları için ayrı bir avantaj sağlamıştır. *A. piechaudi*, *B. pumilus*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *E. chrysanthemi*, *E. intermedius*, *E. rhapontici*, *Laclercia adecarboxylata*, *P. agglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida* ve *Serratia liquefaciens* bakterilerinin bazı strainlerinin *in-vivo* alıŐmalarında *E. amylovora* ve/veya *P. s. pv. syringae* gibi bakteriyel patojenleri kontrol edebildiği tespit edilmiştir. Bu organizmaların bir çoğu ticari olarak pratik kullanımda gelecek vaad etmektedir. Ancak, biyolojik mücadele çalışmalarında *in-vitro* ve/veya *in-vivo*'da etkili olduğu tespit edilen bakterilerin ticari formulasyonlarının üretilmesi aŐamasından önce toksisite çalışmalarının yapılması, üzerinde hassasiyetle durulması gereken önemli konulardandır.

Biyokontrolde etkili olduğu belirlenen bakterilerden *A. piechaudii*'nin bazı strainlerinin kulak iltihaplarına sebep olabileceğinin bildirilmesi (Peel *et al.* 1988), bu bakterinin biyokontrolde kullanımı açısından bir dezavantaj teşkil etmekte olup, daha sonra yapılması dŐŐnlen klinik çalışmaların önemini daha da artırmaktadır. Ancak, bu bakterinin toprak orjinli zararlı ve hastalık etmenlerine karşı da başarıyla kullanılabilirdiğine dair çalışmalar da mevcuttur. Hallmann *et al.* (1998), yaptıkları bir çalışmada; pamuk ve kabakgillerin köklerinde önemli zarara sebep olan *Meloidogyne*

*incognita* parazitik nematodu ile bazı endofitik bakterilerin populasyon dinamiği arasındaki ilişkiyi araştırmış, *A. piechaudii*'nin bitki parazitik nematotları, toprak orjinli zararlı böcek ve patojen mikroorganizmaların biyolojik mücadelesinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir. *L. adecarboxylata*'nın çocuklarda kronik peritoneal hastalıklara sebep olduğu tesbit edilmiş olup (Fattal and Deville 2000) bu çalışmada biyokontrolde etkili olduğu görülen RK-163 ve RK-164 nolu strainlerinin klinik çalışmalarının iyi yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Biyolojik mücadelede kullanılan bakterilerin çok farklı etki mekanizmalarından faydalanılması söz konusudur. Bu çalışmada potansiyel biyoajanların, izole edilen farklı bakteriyel patojen türlerine karşı ne ölçüde etkili olduklarının tespit edilmesinin yanısıra bu biyoajanların etki mekanizmaları da belirlenmiştir. Bu çalışmada; izole edilen potansiyel biyoajanların; gerek antibiyosis, gerek hiperparazitik, gerekse rekabetik özellikleri incelenmiştir. Bu çalışmada izole edilen 206 potansiyel biyoajan bakteri straininden 11 türe ait toplam 29 bakteri straini gerek *E. amylovora* gerekse *P. s. pv. syringae*'ye karşı daha etkili antibiyosis, hiperparazitik ve/veya rekabet özelliklerinin olduğu *in-vitro* testleri ile ispatlanmıştır. Bu bakteri strainlerinin tekli ve kombinasyonlar halinde *in-vivo* deneme sonuçlarında *in-vitro* testlerini desteklemiştir (izelge 4.7,8). *A. piechaudii* RK-137, *C. flaccumfaciens* RK-114, *E. rhapontici* RK-135, ve *P. agglomerans* RK-113 strainleri sadece *P. s. pv. syringae*'ye karşı etkili olurken diğer strainler hem *E. amylovora* hem de *P. s. pv. syringae*'ye karşı etkili olmuştur. *E. chrysanthemi* RK-67, *L. adecarboxylata* RK-163, *C. violaceum* RK-165 ve *S. liquefaciens* RK-102 strainleri sadece antibiyosis etkilerinden dolayı patojenik bakterileri baskı altına alırken; *L. adecarboxylata* RK-105 ve RK-143, *P. agglomerans* RK-84 ve RK-113 hiperparazitik etkilerinden dolayı patojenik bakterileri baskı altına almışlardır. Diğer strainler ise her iki mekanizmayı da kullanmışlardır. Ayrıca potansiyel biyokontrol ajanların strainleri arasında etki mekanizmaları yönü ile bir farklılığın olduğu gibi; aynı strainin farklı patojen bakteriye göre etkisi de farklı olabilmemiştir. Örneğin *L. adecarboxylata* RK-164 nolu straini *E. amylovora*'ya karşı antibiyosis etki gösterirken *P. s. pv. syringae*'ye karşı hiperparazitik etki göstermiştir. Ancak, potansiyel biyokontrol ajanların büyük bir çoğunluğu hiperparazitik etki

mekanizmasını kullanarak *in-vitro* ve *in-vivo*'da etkili olmuşlardır (çizelge 4.7). Sonuç itibari ile kullanılan potansiyel biyokontrol organizmalarda türler arasında olduğu gibi aynı türün farklı strainleri arasın da gerek etki miktarı gerekse de etki mekanizması açısından farklılıklar görülmektedir.

Bu çalışmada etkili biyoajan olabileceği saptanan bazı bakteri türlerinin farklı patojen gruplarına karşı etkili oldukları daha önce yapılan bazı çalışmalarda rapor edilmiştir (Colyer and Mount 1984, Whipps 1992, Zeller and Wolf 1996, Whiteman and Stewart 1998). Bu çalışmada etkili biyoajan olarak saptanan *S. liquefaciens* (RK-102)'in üzümlerde hastalık oluşturan *Botrytis cinerea*'ye karşı antagonistik etki gösterdiği, fungusun sporilizasyonunu önemli ölçüde engellediği Whiteman ve Stewart (1998) tarafından belirlenmiştir. *P. putida* türüne ait strainlerin ürettiği bazı mikrobiyaller ile birçok bitki türünde hastalık oluşturan fungus izolatları ve bakteri strainlerine karşı biyolojik mücadelede etkili bir şekilde kullanılabileceği rapor edilmektedir (Colyer and Mount 1984). Nitekim bu türe ait bakteri strainlerinde RK-142 bu çalışmada da etkili biyoajan olarak ispatlanmıştır.

Hiperparazitik özelliğinden faydalanılarak farklı patojen gruplarına etkili olan potansiyel biyoajanlar da mevcuttur. *S. marcescens*'in *F. oxysporium* ve *Sclerotium rolfsii*'ye, *B. megatorium* ve *E. uredovora*'nın ise *Puccinia graminis* gibi fungal patojenlere karşı etkili hiperparazitik biyoajan oldukları belirtilmektedir (Whipps 1992). Potansiyel biyoajanların geniş patojen grubuna karşı etkili olmaları biyolojik mücadelede önemli bir avantaj olarak değerlendirilmelidir. Çavdar ve hıyarlar üzerindeki *Phythium ultimum*'a karşı *Enterobacter cloacae* (Nelson *et al.* 1986), bezelyede solgunluğa sebep olan *F. oxysporum* f. sp. *pisi*'ye karşı *S. marcescens* (Jones *et al.* 1986), fasulyede hastalık oluşturan *R. solani*'ye karşı *Escherichia coli*, (Shapira *et al.* 1989) ve fasulyede *S. rolfsii* ve turpta *F. o. f. sp. redolens*'e karşı *Pseudomonas* spp.'nin (Sundheimk *et al.* 1988) kitinaz üreten rekombinantları parazitizm özelliklerinden yararlanılarak biyolojik mücadelede kullanılmaktadır. Ayrıca, turp üzerinde hastalık oluşturan *F. o. f.sp. redolens*, bezelyede solgunluğa sebep olan *F. o. f. sp. pisi*, fasulyede *Sclerotium rolfsii* ve *R. solani*'ye karşı *S. marcescens*'in kitinolitik

enzim üretiminden yararlanılarak bu hastalıkların mücadelesinde önemli gelişmeler sağlanmıştır. *E. coli* ve *S. marcescens*'deki kitinaz enzimini kodlayan genlerin *P. putida*'ya aktarılması sonucu, bu patojenlere karşı fasulye fideliklerinde koruma sağlanmıştır (Chet *et al.* 1993).

Besin elementleri yönünden rekabete dayalı biyokontrol organizmaların da daha çok tohumla taşınan ve toprak orijinli hastalıklara karşı başarıyla kullanıldığı belirtilmektedir (Paulitz 1991). Bu başarının sırrı; bitkilerin kök bölgesi veya tohumlarından salgılanan besin maddelerinin bu bölgede kolonize olan biyokontrol organizmaların gelişimini olumlu yönde etkilemesidir (Schroth and Hancoock 1982, Paulitz *et al.* 1992). Bu çalışmada da hastalıklı dokulardan çok yaygın olarak izole edilen *A. piechaudii* ve *P. agglomerans* türlerinin rekabetik özelliklerinden dolayı bu kısımlarda yoğun olarak geliştikleri ve bu özelliğin biyolojik mücadelede oldukça pozitif etki oluşturacağı düşünülmektedir.

Baktèriler tarafından teşvik edilen (biyolojik olarak) SAR, toprak, tohum ve yaprak orijinli bitki hastalıklarına karşı kullanılan en etkili biyolojik mücadele yöntemidir. Konukçu bitkileri farklı patojen gruplarına karşı uzun süreli olarak koruması, sistemik oluşu, aşı ile nakledilebilmesi, patojenlerin yeni strain oluşumuna karşı daha stabil olması ve uyarılmış dayanıklılık gösteren bitkilerden ekstrakte edilen bitki aktivatörlerinin tohum ilaçlaması ve püskürtme şeklinde uygulanabilmesi SAR'ın tanılanan bazı avantajlarıdır (Ryals *et al.* 1994). Sentetik olarak üretilen bazı bitki aktivatörlerinin (Salisilik asit, INA, Benzedole gibi) zirai mücadelede kullanılması ile elde edilen başarılar, SAR'ı yakın gelecekte kimyasal mücadeleye karşı kullanılabilecek tek alternatif yöntem gibi göstermektedir. Fakat bitki aktivatörleri kullanılarak teşvik edilen SAR, birçok kültür bitkisinde fitotoksik yan etkiler göstermesi ve çok yıllık bitkilere uygulanamaması bu yöntemin şu anda tarımsal üretimde yaygın olarak kullanılmasına engel teşkil etmektedir. Bu çalışmada etkili olduğu gözlenen potansiyel biyoajanların sadece yaprak patojenlerine karşı değil toprak orijinli birçok patojenin baskı altına alınmasında da etkili olabileceği sonucu ortaya çıkmaktadır. Bitki gelişimini ve SAR'ı teşvik etme özelliklerinin olup olmadığı ayrıca araştırılması gereklidir.

Literatüre göre; *C. flaccumfaciens*'in patojen strainlerinin bulunmasının yanısıra patojen olmayıp aksine bitki büyümesini teşvik eden strainlerinin de mevcut olduğu belirtilmektedir (Guimaraes *et al.* 2001). Bu çalışmada da 4 adet *C. flaccumfaciens* straini izole edilmiş, bunlardan RK-114 nolu strain ise etkili potansiyel biyoajan olarak saptanmıştır. Yapılan bir diğer çalışmada ise kabakgillerde *P. s. pv. syringae*'nin sebep olduğu yaprak lekesi ve *Colletotrichum orbiculare*'nin sebep olduğu yaprak lekesi ve antraknoz hastalıklarına karşı kullanılan methyl bromide fumigasyonuna alternatif olarak *C. f. pv. flaccumfaciens* strain ME1, *B. pumilus* strain INR7 ve *B. subtilis* strain GB03 kullanılmış, hastalık oranında önemli bir düşüşün gözlenmesinin yanısıra bitki gelişiminde de önemli ölçüde teşvik edildiği belirlenmiştir (Raupach and Kloepper 2000).

Fluorescent Pseudomonaslardan *P. putida*'nın, SAR ile ilgili olan PR1a proteinlerini şifreleyen genlerin expressionunu teşvik ettiği ispatlanmıştır (Zdor and Anderson 1992). Yapılan bir başka çalışmada ise, *P. fluorescens* bakterilerinin, *Fusarium* solgunluk hastalıklarının etki altına alınmasında, canlı bakterilerin etkili olduğu kadar, bakteriyel hücrelerin hücre yüzeyindeki lipopolisakkaritlerin de dayanıklılığı artırabildiği gözlenmiştir (Leeman *et al.* 1995). *P. fluorescens*, *S. marcescens* ve *P. putida* bakterilerinin bazı strainleri hıyar ve turp bitkilerinde patojen olan *Colletotrichum lindemuthianum*, CMV, *P. syringae* pv. *lachrymans* ve *F. oxysporium* patojenlerine karşı sistemik dayanıklılığı uyardığı saptanmıştır (Whipps 1992). Bu nedenle bu çalışmada izole edilen potansiyel biyoajanların sadece yumuşak çekirdekli meyve türlerinde değil diğer bitki türlerinde de SAR'ı teşvik edebilme potansiyellerinin araştırılması gerekir.

Rekabette biyokontrol organizmaya avantaj sağlayan birtakın özellikler olabilmektedir. Bir çalışmada, soya ve bezelye tohumlarından sızan etanol ve acetaldehidin'in *Phythium ultimum*'un sporangiumlarınca emilerek hifsel gelişmenin teşvik edildiği görülmüştür. *P. putida* N1R ile soya ve bezelye tohumlarının muamelesi sonucu, ortamdaki etanol karbon kaynağına dönüştürülerek patojen organizmanın sporangial üremesi ve hif gelişimi zayıflatılmış ve bu yolla kontrol sağlanmıştır (Paulitz 1991).

Elma küllemesinin kontrolüne yönelik yapılan bir diğer çalışmada izole edilen *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Bacillus* ve *Curtobacterium* cinslerine ait 150 epifitik bakterinin içerisinde 5 *P. fluorescens* ve 1 *B. pumilus* strainının *Venturia inaequalis*' in misel gelişimi ve sporlanması üzerine etki ettiği ve bu organizmaların iyi bir potansiyel biyokontrol ajan olabileceği bildirilmiştir (Kucheryava *et al.* 1999).

Biyolojik mücadelede kullanılacak organizmaların biyokontrol mekanizmalarından birkaçına sahip olmaları ve geniş bir patojen grubuna etki etmeleri tercih edilmektedir. Hiperparazit biyokontrol organizmaların; kontrollü şartlarda tohuma, toprağa yada köke uygulanmaları ile hastalıkların baskı altına alındığı ancak, sıcaklık, toprak suyu ve toprak pH'sı gibi birçok çevresel şartların kontrol edilememesi sonucu tarla şartlarında *in-vitro*'daki başarımın tekrar edilemediği belirtilmektedir (Scherff 1973). Antibiyotik üreten mikroorganizmaların aksine hiperparazitler belli bir uzaklıkta parazitik etkilerini gösteremezler. Hiperparazitizm, konukçu ve parazitin kesinlikle yakın bir ilişki kurmasını gerektirir (Bora ve Özaktan 1998). Bu nedenle sadece hiperparazit mekanizması olan bakterilerin biyolojik mücadeledeki başarı şansı daha sınırlıdır. *P. agglomerans*'ın bacteriocin üreterek *E. amylovora*'yı inhibe ettiği, yer ve besin elementleri yönünden de patojen bakteri ile rekabete girerek etkili olduğu bilinmektedir (Zeller and Wolf 1996). Bunun yanında *E. amylovora* ve saprofit bakteriler arasındaki motility ve chemotaxis interaksyonu da patojen enfeksiyonunda önemli rol oynamaktadır (Klopmeier and Ries 1987).

Bu çalışmada etkili potansiyel biyoajan oldukları tespit edilen 11 farklı tür ve toplam 29 strain belirlenmiştir. Bugüne kadar ticari formülasyonları hazırlanmış ve bitki hastalıklarına karşı pratikte kullanılan çok sayıda mikrobiyal pestisit bulunmaktadır. Bu preparatların çoğu antibiosis etki mekanizması ile toprak orijinli fungal etmenlerin kontrolü için geliştirilmiştir. Antibiosis etkiye sahip bir biyoajanın, yeterince besin bulunduğu zaman daha fazla antibiyotik salgılayabileceği gerçeği, bu tür organizmaların genellikle toprak orijinli hastalıkların kontrolünde başarı ile kullanılabilenliğini göstermektedir (Bora ve Özaktan 1998). Ancak, antibiyotik üretme özelliğinden faydalanılarak yaprak lekeli hastalıkları ve hasat sonrası hastalıklarına karşı da bu tür



biyoajanların kullanılabilceğini destekleyen çok sayıda çalışma vardır (Colyer and Mount 1984, Janisiewicz and Roitman 1988, Çınar ve Aysan 1995, Kotan 1997, Kotan vd 2000, Şahin vd 2000). Nitekim, bu çalışmada izole edilen potansiyel biyoajanlardan farklı etki mekanizmaları olan bakteri strainlerinin karışımından elde edilen formulasyonların, elmada *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae*'ye karşı etkili olduğu gözlemlendiği gibi; diğer bitkiler veya tarım ürünlerinde tarla, sera ve depo koşullarında biyolojik mücadelede kullanılması da mümkün olabilir.

Ateş yanıklığının biyolojik mücadele yöntemi ile kontrol edilmesine yönelik çok sayıda araştırma mevcut olup çalışmalar *P. agglomerans* üzerine yoğunlaşmış durumdadır. Yapılan bir çalışmada farklı konukçu bitkilerden izole edilen 80'den fazla bakteri *E. amylovora*'ya karşı antagonistik aktivitelerine göre test edilmiş, çok sayıda bakteri straininin ateş yanıklığına karşı pozitif antagonistik bir etki gösterdiği tespit edilmiştir. Çok etkili olarak gözlenen *P. agglomerans*'ın E.h.89 nolu straininin tarla şartlarında *Catoneaster* bitkisinde %70 kontrol sağladığı belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada *in-vitro*, biyotest ve tarla testlerinde strainlerin aktiviteleri arasında bir korelasyon görülmemiş ancak, *E. herbicola* E.h.89 straini bütün testlerde iyi sonuç vermiştir (Zeller and Wolf 1996). Bu çalışmada da yapılan *in-vitro* ve *in-vivo* testlerinde *P. agglomerans* strainleri arasında tam bir korelasyonun olduğu söylenemez.

*P. agglomerans* daha çok biyolojik mücadelede kullanılan saprofitik bir bakteri olarak bilinmektedir. Ancak, bu bakteri bitkilerin yanı sıra insan ve hayvanlar üzerinde de bulunabilmektedir. Lindh *et al.* (1991) yapmış oldukları bir çalışmada insan, hayvan ve bitkisel dokulardan izole ettikleri 65 *P. agglomerans* straininden sadece bitkilerden izole edilen 22 strainin alpha-methyl-glycoside'den geç asit üretmeleri yönüyle diğerlerinden farklı bir fenotipik özellik gösterdiklerini bildirmişlerdir. Bu bakterinin sıcaklıktaki düşüşü takiben intracellular proteinlerinin oranında bir artış olduğu ve bunun bakterinin soğuğa adaptasyonunda rol oynadığı bildirilmiştir (Koda *et al.* 2000). Hatta kurbağadan izole edilebilen bu bakterinin kurbağanın kışın çok düşük sıcaklıkta dahi donmadan hayatını devam ettirmesinde önemli rol oynadığı belirtilmektedir (Lee *et al.* 1995). Nunes *et al.* (2001) yaptıkları bir çalışmada *P. agglomerans* strain CPA-2'nin

soğuk depo şartlarında armutlarda problem oluşturan *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı çok iyi koruma sağladığını tespit etmişlerdir. Bu özelliğinden dolayı *P. agglomerans*'ın Doğu Anadolu gibi çok soğuk iklime sahip bölgelerde dahi kolaylıkla kullanılabilceği düşünülmektedir. Hatta bu çalışmada yapılan izolasyonlarda *P. agglomerans* strainlerinin patojen mikroorganizma faunasına karşı böyle bir avantaja sahip olmasından dolayı daha yoğun ve yaygın olarak bulunduğu sanılmaktadır.

Bu bakterinin biyokontrol mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik yapılan bir çalışmada demir ( $Fe^{+3}$ ) iyonları yönünden rekabete girdiği ve bitkilerin SAR mekanizmasını harekete geçirdiği bildirilmiştir. Ayrıca bu bakterinin toprakta çözünmemiş halde bulunan fosfatın bitkilerin kullanabileceği forma dönüştürülmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Kim *et al.* 1998). Buğday tanelerinde yanıklığa sebep olan *P. s. pv. syringae*'ye karşı kullanılan bitki aktivatörü CGA-245704 tek başına %94-98 oranında etkili bulunurken, *P. agglomerans*'ın %72-100 oranında etkili olduğu görülmüştür (Braun-Kiewnick *et al.* 1997).

Wright *et al.* (2001) *P. agglomerans* strain Eh318'in ürettiği pantocin A ve pantocin B antibiyotiklerinin *in-vitro*'da *E. amylovora*'yı inhibe ettiğini belirtmektedirler. De Lucca *et al.* (1995) ise *P. agglomerans*'ın ürettiği bir biyoaktif peptid olarak bilinen Cecropin A'nın antibakteriyel özellik taşıdığını kaydetmişlerdir. Costa *et al.* (2001) bu bakterinin tütün meyvelerinde, taş ve yumuşak çekirdekli meyvelerde bazı fungal hastalıklara karşı ticari preparatı hazırlanarak günümüzde başarıyla kullanıldığını belirtmektedirler. Aynı araştırmacılar *P. agglomerans* strain CPA-2'nin portakallar üzerinde problem oluşturan *Penicillium digitatum* ve *P. italicum* patojen fungusları üzerine etkili olduğunu belirtmektedirler. Yapılan bir başka çalışmada *P. agglomerans* buğday tanelerinde yanıklığa sebep olan *P. s. pv. syringae*'ye karşı kullanılmış ve tarla denemelerinde %45-74 oranında etkili bulunmuştur (Braun-Kiewnick *et al.* 2000).

*P. agglomerans* strain D5/23 ve *Klebsiella pneumoniae* strain CC12/12 bakterilerinin farklı buğday varyetelerinde toprak üstü ve toprak altı uygulanması sonucunda hem

bakterilerin hücre gelişimlerine hem de bitkilerin gelişimi üzerine olan etkilerine bakılmış, *P. agglomerans*'ın hem fillosferde hem de rizosferde iyi kolonize olmasıyla birlikte bitki büyümesinde belirgin bir artışa sebep olduğu, *K. pneumoniae*'nın ise kök bölgesinde daha iyi kolonize olup bitkinin kök gelişimini artırdığı tespit edilmiştir (Remus *et al.* 2000). Bu çalışmada da izole edilen 6 *K. pneumoniae* straini olup *in-vitro* ve *in-vivo*'da etkisiz olduğu belirlenmiş ancak, kök gelişimi üzerine etkisi araştırılmamıştır. Daha sonraki çalışmalarda bu yönünün araştırılarak değerlendirilmesi düşünülmektedir.

Pirinç bitkisinin kök bölgesinden izole edilen bir *P. agglomerans* strainlerinin düşük oranda selüloz ve pektinaz ürettiği, *gusA* geni sayesinde mineral fosfatı çözebilme kabiliyetine sahip oldukları ve bu bakterilerin 2,4-D ile muamele edilen bitkinlerin oluşturdukları bol miktardaki kısa ve ince lateral köklerde daha iyi kolonize oldukları görülmüştür (Verma *et al.* 2001). Bu sonuç gösteriyor ki toprak orijinli hastalıkların mücadelesinde de *P. agglomerans* başarıyla biyoajan olarak kullanılabilir. Bu çalışmada da etkili potansiyel biyoajan olarak görülen bu bakterilerin hem fillosferde hem de rizosferde iyi kolonize olabilmesi büyük bir avantaj olarak görülmektedir. Yine buğdayın kök bölgesinden izole edilen *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrophaeus*, *Paenibacillus macerans*, *Vibrio proteolyticus*, *Xanthobacter agilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter taylorae*, *Enterobacter asburiae*, *Kluyvera cryocrescens*, *Pseudomonas stutzeri* ve *Chryseomonas luteola* türlerine ait 30 bakteriyel strainin hepsinin fosfatı çözebilme kabiliyetinde oldukları ancak, en etkilisinin *V. proteolyticus* olduğu belirtilmektedir (Vazquez *et al.* 2000). Bu çalışmada da izole edilen 2 *Vibrio* türünden ileride yapılacak çalışmalarda bu özellikleri test edilerek faydalanılabilir.

Yapılan bazı çalışmalarda; *P. agglomerans*'a genetik manipulasyonlarla bazı özellikler aktarılabildiği (Barbirato *et al.* 1997, Chou *et al.* 1998). Bir çalışmada çözünemeyen inorganik fosfatı çözünebilir hale getiren bakterilerden olarak bilinen *P. agglomerans*'ın bu özelliği toprak pH'sında herhangi bir değişikliğe sebep olmadan genetik manipulasyonlarla artırılabilmiştir (Kim *et al.* 1998). Bu çalışmada da biyolojik

kontrolde bazı bakterilerin değişik kombinasyonlarında başarılı sonuçlar alınmış olup, bu bakterilerde yapılacak bazı genetik manipulasyonlar ile başarı şanslarının daha da artırılabilceği düşünölmektedir.

Yapılan bir başka çalışmada *P. agglomerans* strainlerinden izole edilen lipopolisakkaritlerinin farelerdeki kanserli hücrelerin gelişimini sınırlandırdığının tespit edilmesi bu bakterinin farklı alanlarda da kullanılabilceğini gündeme getirmekte olup önemini daha da artırmaktadır (Goto *et al.* 1996).

İzole edilen saprofitik organizmaların sadece biyolojik mücadelede kullanılabilirlikleri açısından değerlendirilmeleri yanlış olur. Bu bakteriler içerisinde bitki büyümesini teşvik edenlerin olabileceğinin yanı sıra, özellikle meyve ağaçlarında sorun olan çeliklerin köklendirilmesinde de kullanılabilcekleri belirtilmektedir (Damiano ve Monticelli 1998). Örneğin bu çalışmada da izole edilmiş olan *A. rhizogenes*'in patojen olmayan türleri de mevcut olup Damiano ve Monticelli (1998) yapmış oldukları bir çalışmada hormon uygulaması yapmadan *in-vitro* şartlarda *A. rhizogenes* strain 1855 ile muamele edilen elma, armut ve erik çeliklerinde köklenmenin teşvik edildiğini belirtmektedirler. Yine izole edilen 7 adet *A. radiobacter* ve 2 adet *A. rubi* straini ileride yapılacak çalışmalarda meyve çeliklerinin köklendirilmesi amacıyla kullanılabilceği düşünölmektedir. Ancak, yapılan bir başka çalışmada *A. radiobacter* ve *A. tumefaciens* Biovar 3'ün asmalarda kök çürümesine sebep olduğu belirtilmektedir (Burr *et al.* 1987). Dolayısıyla bu strainlerin biovarlarının belirlenmesi ve detaylı patojenite testlerinin yapılması gerekliliği gözden kaçırılmamalıdır. Kırmızı yoncada bitki büyümesini teşvik etmek ve nodul oluşumunu artırmak amacı ile yapılan bir çalışmada; *B. megaterium*, *Bordetella avium* ya da *Curtobacterium luteum* bakterilerinin tek tek veya *Rhizobium leguminosarum* BV *trifolii* ile birlikte yapılan kombinasyonlarında bitki büyümesini teşvik ettikleri; *Bacillus insolitus*, *B. brevis* ya da *A. rhizogenes* bakterilerinin *Rhizobium leguminosarum* BV *trifolii* ile birlikte yapılan kombinasyonlarında bitkide nodul oluşumunu teşvik ettikleri belirtilmektedir (Sturz *et al.* 1997).

Son yıllarda ABD ve Kanada gibi biyoteknoloji alanında ileri olan ülkelerde transgenik bitki ve GMO (Genetically modified organism)'ların geliştirilerek biyolojik mücadelede kullanıma sunulması ile tarımsal üretimde kimyasal tüketiminin azaltılması noktasında önemli başarılar elde edilmiştir (Kirschenmann and Kirschenmann,1998). Ancak, bu tür genetik yapısı değiştirilmiş bitki veya mikroorganizmaların sorumsuz ve kontrolsüz bir şekilde doğaya bırakılmasının gelecekte çeşitli biyolojik ve ekolojik sorunlara (biyolojik çeşitlilikte değişim, yeni patojen ve zararlıların üretilmesi, mikrobiyal kirlilik gibi) neden olabileceği noktasına birçok bilim adamı ortak görüşe sahiptir (Giddings 1998, Gorkack 1994, Stephenson and Warnes 1996). Ekolojik dengenin korunması için tarımsal üretimde doğal (genetik yapısı değiştirilmemiş) biyolojik ajanların kullanılmasının daha doğru olacağı düşünülmektedir.

Doğu Anadolu meyve ağaçlarında özellikle çiçek açma döneminde don zararının çok yaygın olarak görüldüğü bir bölgedir. Bu çalışmada biyolojik mücadelede etkili oldukları gözlenen potansiyel biyoajanların, buz nükleasyon karakterleri belirlenip, don zararına karşı etkinlikleri daha sonraki çalışmalarda test edilecektir. Yapılan bir çalışmada, INA<sup>-</sup>(buz nükleasyon negatif) oldukları tespit edilen *P. fluorescens* ve *P. putida* bakterileri kullanılarak, sera ve bahçe şartlarında *P. s. pv. syringae*'nin ve buna bağlı olarak don zararının %98 oranında kontrol altına alınabildiği belirtilmektedir (Cody *et al.* 1987). Bir diğer çalışmada INA<sup>-</sup> *P. syringae* strainlerinin, çileklerde tomurcuklar üzerindeki INA<sup>+</sup> (buz nükleasyon pozitif) *P. syringae* strainlerine karşı don zararını önleyebildiği ama INA<sup>+</sup>*P. fluorescens*'lara karşı etkili olmadığı; INA<sup>-</sup> *P. fluorescens* strainlerinin ise *P. syringae* strainlerine karşı diğer *P. fluorescens* strainlerinden daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Lindemann and Suslow 1987).

Biyolojik kontrol çalışmalarında çok olumlu sonuçlar veren bu bakterilerin, ileride yapılacak toksisite çalışmaları sonucunda da olumlu sonuçların alınması durumunda ticari formülasyonlarının üretilmesi düşünülmektedir. Biyokontrol test sonucunda çok olumlu sonuç veren ancak, insan sağlığı açısından risk taşıyabilecek olan organizmalar mevcuttur. Fontana *et al.* (2001) yapmış oldukları bir çalışmada; insanların solunum yolundan izole edilen *K. pneumonia*, *E. coli* ve *E. cloacae* strainlerinin %90'dan

fazlasının 6, *E. aerogenes* ve *S. marcescens* strainlerinin %90'dan fazlasının 3 antibiyotiğe karşı dayanıklılık kazandığını belirtmektedirler. Bazı organizmalar da vardır ki çok basit bir takım çevresel sınırlayıcı faktörlerden dolayı insan sağlığı açısından hiçbir risk taşımamaktadır. *P. syringae* strain ESC-10 ve ESC-11'in hasat sonrası depolama aşamasında elma, armut ve turinçgillerde problem oluşturan bazı fungal hastalıklara karşı etkili bir koruma sağladığı, bu bakterinin maksimum 32 °C'ye dayanabildiği ve insanın vücut sıcaklığının 37 °C olması dolayısı ile canlılığını sürdüremeyeceği belirtilmektedir (Hollis 2000).

Yapılan *in-vitro* ve/veya *in-vivo* çalışmaları her ne kadar potansiyel biyoajanların uygulanabilirliği konusunda ipucu verse de arazi koşullarında da bu organizmaların etkinliklerinin mutlaka test edilmesi gerekmektedir. Ateş yanıklığının biyolojik kontrol çalışmalarında gerek bu hastalığa karşı aşırı duyarlı olması gerekse bir yıllık genç sürgünlerin aşırı çiçek üretim kapasitesine sahip olması dolayısı ile crab elma tomurcuklarının iyi bir model oluşturduğu belirtilmektedir. Yapılan bakteri uygulamasını takiben 24 saatlik nemli bir periyodun sonucunda biyokontrol bakterilerin popülasyonunun çiçek tomurcuklarında arttığı ve hastalık etmenini baskı altına aldığı belirtilmektedir (Pusey 1997).

Bu çalışmada *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* üzerine etkili olduğu görülen potansiyel biyoajanların sadece bu patojenlerin mücadelesinde kullanılabileceklerini düşünmek yanlış olur. Aynı tür organizmaların diğer birçok bakteriyel ve fungal patojenlerin mücadelesinde kullanılabilirliğine yönelik çok sayıda çalışma vardır. Bu açıdan etkili bulunan organizmaların diğer fungal ve bakteriyel patojenler üzerine etkileri daha sonraki çalışmalarda denenecektir.

Bakteriyel hastalıklarla mücadelede tek bir mücadele yöntemi kullanılmasının yerine entegre mücadele programları üzerinde durulması gerekmektedir. Sonuç olarak ateş yanıklığına karşı ıslah programlarına ağırlık verilmeli, yüksek kaliteli ve mukavim çeşitler geliştirilerek adaptasyon çalışmaları yapılmalı, ayrıca entegre mücadele



programları uygulanmalıdır. Kültürel tedbirler ve karantinaya da gereken özen gösterilmelidir.

Biyojenlerin biyokontrol için aranan temel özelliklerinden (antibiyosis, rekabet, hiperparazitizm ve sistemik dayanıklılığın uyarılması) mümkünse hepsine, değilse en az birden fazlasına sahip olması, farklı iklim ve muamele şartlarına dayanıklı olması, değişik bitki patojenlerine (bakteri, fungus ve virüs) karşı etkili (geniş spektrumlu) olması, başta insan ve hayvanlar olmak üzere, çevre üzerine direk yada indirek olumsuz etkilerinin olmaması, hazırlanan ticari formülasyonların uzun süreli depolanma şartlarına dayanıklı olması biyojenlerde aranan temel özelliklerdir (Whipps 1992).

Biyolojik mücadelenin en önemli avantajlarından birisi de kullanılan biyojenlerin tek bir patojen organizma üzerine etkili olmayıp birçok patojen organizma üzerine etkili olmasıdır. Yapılan bir çalışmada *E. herbicola* strain C9-1'in ürettiği herbicolin O ve herbicolin I antibiyotiklerinden özellikle herbicolin O'nun *E. amylovora*'nın yanı sıra geniş bir prokaryotik bakteri grubunu inhibe ettiği belirtilmektedir (Ishimaru *et al.* 1988).

Patojen organizmaların antibiyotiklere dayanıklılığının yanı sıra, potansiyel biyokontrol organizmaların da antibiyotiklere dayanıklılığı söz konusudur. Biyokontrol organizma için avantaj teşkil eden bu durum antibiyotikler ile biyojenlerin birlikte kullanılabilirliğini gündeme getirmiştir. Yapılan bir çalışmada streptomycin ve oxytetracycline dayanıklı olduğu görülen *P. fluorescens* strain A506 biyokontrol bakterisinin antibiyotikler ile birlikte kombine kullanılması durumunda, armut ağaçlarındaki ateş yanıklığı ve don zararına karşı %40-50 oranında başarı sağladığı tespit edilmiştir (Lindow *et al.* 1996).

Günümüzde mikroorganizmaların tanısında her ne kadar modern tekniklerin kullanılması hızla yaygınlaşsa da, klasik tanı teknikleri özellikle modern tekniklerin pahalılığı ve yetişmiş elemanlara ihtiyaç duyması dolayısıyla ile birçok araştırmacı tarafından hala güncelliğini korumaktadır. Bu çalışmada da bazı morfolojik ve

biyokimyasal testler yapılmıştır (çizelge 4.9,10). İzole edilen patojenik ve potansiyel biyokontrol ajanların tamamının hareketli ve çubuk formunda olduğu ve değişik renkte koloni oluşturdukları gözlenmiştir. Ancak, *A. piechaudii*, *E. intermedius* ve *P. agglomerans* türlerinin mukoid yapıda koloni oluşturmaları tipik bir özellik olarak göze çarpmaktadır. Bu türlerin çok hızlı bir şekilde geliştikleri bu yüzden de *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* türü bakterilerin izolasyonunu güçleştirdikleri gözlenmiştir. Test sonuçlarında *B. pumilus* dışındaki bütün bakteri türlerinin katalaz ve potasyum hidroksit test sonuçları da + çıkmıştır. *A. piechaudii* türlerinin tamamının yanı sıra, *P. putida* RK-142, RK-28, RK-238, RK-239 ve RK-249, *P. aeruginosa* RK-168, *P. cichorii* RK-166, ve *C. violaceum*'un patojenik olmayan RK-165 nolu strainleri oksidaz + sonuç verirken; diğer bütün bakteriyel strainler negatif sonuç vermiştir. *C. violaceum*'un patojenik olan RK-231 ve RK-259 strainlerinin - sonuç vermesi patojenik olanlardan bu yönü ile bir farklılık göstermiştir. Bu strainlerin nitrat üretimi testi de diğer patojenik olmayan strainin aksine - olarak belirlenmiştir. Oksidaz testi ve nitrat üretimi testi bu türün patojenik ve saprofitik türlerinin birbirlerinden ayırt edilmesinde kullanılabilir.

Bütün *P. s. pv. syringae* strainlerinin arginin testlerinin – sonuç verirken diğer *Pseudomonas* türlerinden *P. aeruginosa*, *P. cichorii*, *P. huttiensis* ve *P. putida* biyotip A'nın bütün strainlerinin + sonuç vermesi, bu pathovarin diğer türlerden ayırt edilmesinde kullanılabileceğini göstermektedir. Yapılan bir çalışmada bulunan sonuçlar bu çalışmada bulunan sonuçları destekler niteliktedir (Sobieczewski *et al.* 1991).

*E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* türü bakterilerinin NAS besiyerinde levan koloni oluşturması bu iki patojenik bakterinin diğer saprofitik veya patojenik bakterilerden ayırt edilmesinde; *P. s. pv. syringae* strainlerinin ise KB besiyerinde pigment üretmesi bu iki bakterinin birbirinden kolayca ayırt edilmesi açısından önem arz etmektedir. Ancak, bu iki türe ilave olarak *C. violaceum* RK-165, RK-231 ve RK-239, *E. rhapsontici* RK-208, RK-219, RK-227, RK-234 ve RK-243, *P. huttiensis* RK-260, RK-261 ve RK-262 ve *P. putida* RK-238 ve 239'un da levan testi sonucunun + olması bu testin ayırt ediciliğinin tartışmaya açık olduğunu göstermektedir. Ancak, yapılan bir çalışmada klasik metodlarla birlikte seçici ve yarı seçici besiyerlerinin kullanılması ile *E.*

*amylovora*'nın diğer yaprak ve çiçek epifitik bakterilerinden ayırt edilebileceği belirtilmektedir (Bereswill *et al.* 1998). Yine Miller ve Schroth (1972) tarafından geliştirilen seçici besiyerinin kullanılarak *E. amylovora*'nın epifitik *P. agglomerans*'dan ayırt edilebileceği bildirilmektedir. Her ne kadar bu iki metoda dayanılarak tanı yapmak sağlıklı olmasa da, bu iki testin kullanılarak büyük bir mikroorganizma grubunun elemine edilmesi moleküler çalışmalara zaman avantajı sağlaması açısından önem taşımaktadır. Arginin testi ve KB testi *P. s. pv. syringae* ile *E. amylovora*'nın levan testi sonuçlarının benzerliğinin aksine bu iki bakteriyi birbirlerinden ayırt etmede kullanılabilir. Çok sayıda biyokimyasal özelliğin bir arada kullanılarak türler arasında bir ayırım yapılabileceği ancak, bunun çok zaman alacağı düşünülürse moleküler tekniklerin kullanılmasının ne kadar önemli olduğu gerçeğini bir kez daha ortaya koymaktadır.

Yapılan bir çalışmada;Türkiye'de farklı konukçu ve farklı bölgelerden izole edilen 595 *E. amylovora* straininin morfolojik ve fizyolojik karakterlerinin aynı olduğu, strainler arasında bir farkın olmadığı rapor edilmiştir (Demir ve Gündoğdu 1993). Bu çalışmada da morfolojik, biyokimyasal ve patolojik test sonuçları daha önce saptanan bulguları destekler nitelikte bulunmuş, strainler arasında hiçbir fark tespit edilememiştir. Ancak, *P. s. pv. syringae* strainleri arasında aynı benzerlik gözlenememiştir. Yapılan bir çalışmada bütün patojenik pseudomonasların floresant ve oksidaz negatif olduğu belirtilmektedir (Buchanan and Gibbons 1974). Bu çalışmada elde edilen patojen *P. s. pv. syringae* strainleri arasında morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları benzerlik göstermektedir. Ancak, yapılan bir diğer çalışmada armut ağaçlarından izole edilen 39 epifitik ve endofitik *P. syringae* bakterilerinin genomik DNA parmak izlerinde, armut ve kiraz meyveleri üzerinde yapılan patojenite testlerinde, tütünde aşırı duyarlılık testlerinde ve buz nükleasyon aktivite testlerinde geniş bir değişkenliğin olduğu tespit edilmiştir (Whitesides and Spotts 1991).

MIS tanı sonuçlarında farklı türler arasında gerek içerdikleri yağ asidi türleri gerekse de yüzdeleri bakımından bir farklılığın olduğu görülmektedir (çizelge 4.3,4). *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* türleri arasında her iki türünde 12:0, 16:0, 17:0 cyclo ve 18:1 w7c

yağ asitlerini içermeleri yönü ile bir benzerlik olmasına karşın, diğer yağ asitleri türü yönüyle aralarında önemli farklılıkların olduğu görülmektedir. 12:0 2OH, 12:0 3OH yağ asitleri bütün *P. s. pv. syringae* strainlerinde bulunurken *E. amylovora*'da test edilen 40 strainden sadece 5 tanesinde görülmüştür. Her iki türünde strainleri arasında büyük oranda bir benzerlik belirlenirken bazı yağ asitleri yönüyle de bir değişkenliğin olduğu göze çarpmaktadır. Ancak, bu değişkenliğin tamamen konukçu ya da izole edildikleri coğrafik alan farklılığından kaynaklanmadığı düşünülmektedir. Çünkü aynı konukçu ve aynı coğrafik alanlardan izole edilen strainler arasında da bazı yağ asitleri yönü ile farklılıkların olduğu görülmektedir. *Pseudomonas* türleri arasında da belirgin farklılıkların olduğu açıktır. Yağ asidi profillerindeki farklılıklar genetiksel akrabalıkların dolaylı bir göstergesi olduğu, *Xanthomonas* ve *Pseudomonas* patovaryalarının yağ asidi profillerindeki farklılıklara göre ayırt edilebileceği belirtilmektedir (Louws *et al.* 1994). Yapılan literatür araştırmalarında daha önce bu sistemin *E. amylovora*'nın tanısında hiç kullanılmadığı, bu yönüyle bu çalışmanın ilk kayıt olduğu önem arz etmektedir. MIS sisteminin rutin çalışmalar için gerek zaman açısından gerekse de ekonomok olması bakımından çok uygun bir tanı yöntemi olduğu düşünülmektedir.

Moleküler teknikler kullanılarak hastalık simptomsu sergilemeyen bitki dokusunda epifitik bir bakteri gibi bulunan çok düşük oranlardaki patojenik bakterilerin bile tanısı yapılabilmektedir (Momol *et al.* 1997). Bu nedenle son yıllarda filogenetik taksonomistler bakterilerin aile, cins ve tür düzeyinde tanılanması için standart bir metod olarak 16S-23S rRNA bölgelerinin analizinde faydalanmışlardır (Woese 1987). rDNA'lar canlı organizmaların hayatta kalmaları için gerekli ve muhafaza edilmiş zorunlu olan genlerdir (Hirano and Upper 1983). Ancak, 16S rDNA'nın başarılı bir şekilde amplifikasyonunun, bakteriyel popülasyonun homojenitesine ve DNA'nın elde edilme kalitesine bağlı olarak değişebileceği ve bu metodun direk bitki örneklerinden patojenin tanılanması için uygun olmadığı belirtilmektedir (Bereswill *et al.* 1995). Bakterilerin tanısı için 16S rRNA gen dizilerine ilave olarak 16S-23S rDNA bölgelerinin bakterilerdeki mevcudiyetindeki heterojenlik ve ITS (Intergenic spacer region) bölgelerinin bulunması durumunda metodun kullanılabilirliği belirtilmektedir (Tyler *et al.* 1995). Oligonükleotit primerler 16S-23S rRNA (16S-23S rDNA)'yı

kotlayan genlerin ITS değişken olmayan bölgelerine spesifiktirler ve bu durum birçok bakterinin tanı ve karakterizasyonuna izin vermektedir (Jensen *et al.* 1993). Bu teknik kullanılarak *E. amylovora*'nın tür düzeyinde tanılanması yapıldığı gibi farklı kaynaklardan izole edilen birçok bakteri türünün tanısında da kullanılmıştır (McManus and Jones 1995b). Bu metot birçok insan patojeni *Pseudomonas* türlerinin kolaylıkla ayırt edilmesine de imkân sağlamaktadır (Tyler *et al.* 1995).

Bu çalışmada PCR'da çoğaltılan 16S-23S rDNA bölgelerinin elektroforez jelde yürütülmesi sonucu; *A. piechaudii* strain RK-155; 850 ile 650 bç moleküler ağırlığında iki bant oluştururken, *B. pumilus* GS. Subgroup B strain RK-106; 600 ile 450 bç iki bant, *C. violaceum* strain RK-231; 800 bç tek bant, *E. intermedius* strain RK-90; 750 ile 800 bç iki bant, *E. amylovora* strain RK-5 ve *E. rhapontici* strain RK-219; 1000, 800 ile 650 bç üç bant, *P. agglomerans* strain RK-87; 250 ile 150 bç iki bant, *P. aeruginosa* strain RK-168; 800 ile 250 bç iki bant, *P. cichorii* strain RK-166 ve *P. putida* strain RK-28; 800 bç tek bant, *P. huttiensis* strain RK-260; 650 bç tek bant ve *P. s. pv. syringae* RK-257; 750 bç tek bant oluşturmuştur (şekil 4. 22). *E. amylovora* strainleri 1000, 800 ile 650 bç üç bant oluştururken *P. s. pv. syringae* strainleri 750 bç tek bant oluşturmuştur. Aynı jelde yürütülen RK-189 strain numaralı *E. rhapontici*, *E. amylovora*'larla aynı 1000, 800 ile 650 bç üç bant oluştururken, RK-215 strain numaralı *P. huttiensis* de *P. s. pv. syringae* strainlerinden farklı olarak 650 bç tek bant oluşturmuştur (şekil 4. 23). Aynı bölge aynı konukçu, farklı bölge farklı konukçu özellikleri dikkate alınarak seçilen *E. amylovora* strainlerinin hepsi 1000, 800 ile 650 bç üç bant oluşturmuştur (şekil 4. 24). Aynı hususlar dikkate alınarak seçilen *P. s. pv. syringae*'lerin 750 bç tek bant oluşturduğu görülmüştür (şekil 4. 25). Gerek *E. amylovora* gerekse de *P. s. pv. syringae* strainleri arasında bant sayısı ve uzunluğu açısından herhangi bir farklılık görülmemiştir. Ancak, *E. amylovora* ile *E. rhapontici* ve *P. s. pv. syringae* ile *Pseudomonas huttiensis*'in 16S-23S rDNA bant profillerinin çok benzer olduğu bu metod ile ayırt edilemeyeceği görülmüştür. Patojen bakterilerin 16S-23S rDNA bant profillerindeki farklılıklar; farklı coğrafik koşullardan olabileceği gibi Burr *et al.* (1993)'de belirtildiği gibi strainler arasında ilaçlara dayanıklılıktaki farklılıktan da kaynaklanabileceği sanılmaktadır. Bu çalışmada seçici ve yarı seçici

besiyerlerinin kullanımı ile birlikte, 16S-23S rDNA PCR tekniği ile *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* türlerinin birbirlerinden kolayca ayırt edilebileceği görülmüştür. *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* strainler arasında da 16S-23S rDNA bant profilleri açısından herhangi bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar daha önce *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* strainleri ile yapılan çalışmalarda elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir.

Jeng *et al.* (2001) yaptıkları bir çalışmada; meyve bahçelerinden izole edilen patojenik ya da saprofitik Gram negatif bakterilerin tanılanmasında 16S-23S rDNA tekniğini kullanmışlar, 16S-23S rDNA interspacer bölgedeki PCR ürününün cins düzeyi kadar tür düzeyinde de 11 bakteriyel strain arasında farklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir. Buna göre *P. fluorescens* 850 bp'lik tek bir bant oluştururken, *P. syringae* strainleri buna benzer ancak, 900 bp'likten daha küçük, *Xanthomonas arbuticola* 800 bp'lik, *Agrobacterium vitis* ise 1500 bp'lik tek bir bant oluşturmuştur. Aynı çalışmada elma ve armuttan izole edilen *E. amylovora* strainleri birbirlerine benzer 4 belirgin bant oluştururken, Cotoneaster'den izole edilen 2, ahudududan izole edilen ise 3 belirgin bant oluşturmuştur. PCR'da amplifiye edilen ITS bölgelerinin *HaeIII* restriction profillerinde *P. fluorescens* strainleri 520-350 bp'lik iki bant oluştururken *P. syringae* strainleri 520-380 bp'lik, elma ve armuttan izole edilen bütün *E. amylovora* strainleri 3, ahudududan izole edilen *E. amylovora* strainleri ise 2 belirgin bant oluşturmuştur. Bu çalışmada *Pseudomonas* türlerinin 16S-23S rDNA bant profilleri birbirlerine çok benzer çıkmış; ancak, aralarındaki farklılıklar Eric PCR yöntemi ile belirlenmiştir. Aynı farklılıkların RFLP yöntemi ile de ortaya koyulabileceği düşünülmektedir. Ponsonnet ve Nesme (1994), *Agrobacterium* türlerinde de 16S-23S rDNA arasındaki interspacer bölgede yüksek oranda bir polimorfizm olduğunu ve bu metodun PCR-RFLP metoduna ilave olarak strainler arasındaki farklılığın belirlenmesinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Anzai *et al.* (2000) ise 16S rRNA PCR tekniği ile *Pseudomonas* cinsindeki bazı bakterilerin tür düzeyinde tanılabileceğini belirtmişlerdir.

Eric PCR ürünlerinin bant profillerinde ise; *A. piechaudii* strain RK-155; 700, 600, 350 ile 200 bp moleküler ağırlığında dört bant oluştururken, *B. pumilus* GS. Subgroup B



strain RK-106; 350, 300 ile 200 bç üç bant, *C. violaceum* strain RK-231; 800, 320, 300 ile 200 bç dört bant, *E. intermedius* strain RK-90; 800, 650 ile 300 bç üç bant, *E. amylovora* strain RK-5; 1500, 1200, 1000, 900, 500, 400, 350 ile 250 bç sekiz bant, *E. rhapontici* strain RK-219; 1200, 1100, 850, 750, 650, 550, 450, 350 ile 200 bç dokuz bant, *P. agglomerans* strain RK-87; 1800, 1700, 1100, 900, 850 bç beş bant, *P. aeruginosa* strain RK-168; 1200, 900, 650, 600 ile 450 bç beş bant, *P. cichorii* strain RK-166; 1400, 1150 ile 850 bç üç bant, *P. putida* strain RK-28; 1400 ile 650 bç iki bant, *P. s. pv. syringae* RK-257; 2100, 2000, 1500, 1000, 750, 550, 100 ile 60 bç sekiz bant ve *P. huttienensis* strain RK-260; 1800, 1400, 500 ile 700 bç dört bant oluşturduğu görülmüştür (şekil 4. 26).

*E. rhapontici* ile *E. amylovora* ve *P. huttienensis* ile *P. s. pv. syringae* strainleri arasında gerek bant sayıları gerekse bant uzunlukları (genetik figerprint) açısından önemli farklılıklar bulunmuştur (şekil 4. 27). Farklı bölge ve konukçu durumu da dikkate alınarak seçilen *E. amylovora* strainlerinin bant profillerinde çok büyük oranda bir benzerlik görülmüştür (şekil 4. 228). 250 bç'lik bant bazı strainlerde çok belirgin görülürken bazı strainlerde ya hiç görülmemiş ya da çok belirgin değildir. Aynı farklılık 1500 bç'lik bantta da mevcuttur. Genel bant profili açısından aynı benzerlik *P. s. pv. syringae* strainlerinin kendi arasında da mevcuttur (şekil 4. 229). Bazı strainler arasında tam bir benzerlik gözlenirken, bazı strainler arasında çok ufak farklılıklar belirlenmiştir. Bu farklılıklar konukçu ve lokasyon farklılığına bağlı olabileceği gibi deneydeki hassaslık hatasından da kaynaklanabilmektedir.

Farklı türlerin Eric-PCR bant profillerinde, önemli derecede farklılıkların olduğu görülürken *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* strainleri arasında önemli bir farklılığın olmadığı görülmüştür. Ancak, çok yakın akraba tür olarak bilinen *E. rhapontici*-*E. amylovora* ve *P. huttienensis*-*P. s. pv. syringae* arasındaki farklılıkların önemli derece olduğu görülmüştür. Direk bitki dokusunda organizmanın tanınmasına imkân veren PCR tekniğinde Eric PCR yöntemi ile *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae*'nin kolaylıkla birbirinden ayırt edilebileceği görülmüştür. Konukçu ve lokasyon farklılığı göz önüne alındığında 16S-23S rDNA-PCR bant profillerinde *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae*

strainerleri arasında hiçbir farklılığın olmadığı; Eric-PCR bant profillerinde ise *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* strainleri arasında çok büyük bir oranda benzerliğin olduğu, çok düşük bir oranda görülen farklılıkların da konukçu veya lokasyona bağlı olmadığı görülmüştür. Bu metod ile bitki dokusunda çok düşük populasyonlarda bulunan bakterilerin bile tanılanabilmesi, özellikle koruyucu ilaçlamanın çok önemli olduğu bakteriyel hastalıkların mücadelesinde önem arz etmektedir.

Eric PCR metodunun *P. syringae* patovarlarının karakterizasyonunda kullanılmasına yönelik çalışmalar mevcuttur (Louws *et al.* 1994, Weingart and Völksch 1997, Little *et al.* 1998). Yapılan bir çalışmada farklı konukçulardan izole edilen *P. s. pv. syringae* strainlerinin Eric PCR yöntemi kullanılarak karakterizasyonu yapılmış; şeftali, armut, fasulye, gül, limon, kivi, darı, öküzkuşruğu ve domatesten izole edilen strainler arasındaki bant profillerinde 104 strainin 95'inde 4 bantın benzer olduğu ancak, diğer bantlar arasında belirgin bir farklılığın olduğu belirlenmiştir (Little *et al.* 1998). Ancak, aynı çalışmada kaysıdan izole edilen bütün strainlerin genetik profilleri benzer çıkmıştır. Bu sonuçların taş çekirdeklielerde hastalık oluşturan *P. s. pv. syringae* strainleri arasında konukçuya özelleşmenin olduğunu gösterdiği belirtilmiştir. Yapılan benzer bir çalışmada *P. syringae* patovaları arasında Eric PCR sonucuna göre genetik akrabalıklara bakılmış; patovarla arasında önemli farklılıkların olduğu ancak, aynı patovanın farklı strainleri arasında herhangi bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir (Louws *et al.* 1994). Weingart ve Völksch (1997), Eric, Rep ve IS50 PCR metodlarının *P. syringae* patovarlarının karakterizasyonunda basit, hızlı ve düşük maliyetli bir yöntem olarak başarıyla kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

*E. amylovora*'nın tanılanmasına yönelik farklı çalışmalar da mevcuttur. Bereswill *et al.* (1992) 29-kb plazmitindeki DNA parçalarına spesifik primerler kullanılarak yapılan PCR yöntemi ile simptomsuz bitki dokusundaki *E. amylovora*'nın tanılanabileceğini belirtmektedirler. Yapılan bir diğer çalışmada 127 *E. amylovora* straini plazmid pEA29'un bir gen parçasının PCR'da amplifikasyonu ile test edilmiş ve DNA zincirlerinde bir mutasyonun olduğu görülmüştür (Lecomte *et al.* 1997). Aynı çalışmada DNA ürününün uzunluğuna göre strainler 3 gruba ayrılmış, analiz edilen strainlerin

çoğunluğunun 2 grupta toplandığı, diğer strainlerin ise coğrafik orijinlerine göre 3. grupta kümelendiği belirlenmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada; *E. amylovora*'nın homogeneous bir tür olduğu düşünülmüş ancak, bu önemli karakterin farklı coğrafik orijinlerden elde edilen strainlerin birbirlerinden ayırt edilmesinde RFLP (Restriction fragment length polymorphism) tekniğinin kullanılamayacağı kaydedilmiştir (Vanneste 1995). Yapılan literatür araştırmasında Eric-PCR yöntemi kullanılarak *E. amylovora*'nın tanınmasına yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu yönüyle de yapılan bu çalışma *E. amylovora*'nın tanınmasında Eric-PCR yönteminin kullanılabileceğinin ilk kayıdır. Ayrıca 16S-23S rDNA ve Eric-PCR yöntemi ile *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae* strainlerinin yanı sıra yumuşak çekirdekli meyvelerde patojen olduğu saptanan diğer patojen bakteri strainlerinin de tanı ve karakterizasyonunun yapılabileceği ilk defa bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Türkiye ekonomisinde gerek iç tüketim gerekse ihracat açısından çok önemli olan yumuşak çekirdekli meyvelerde ekonomik anlamda kayıplara sebep olan bakteriyel hastalıkların belirlenmesi, mücadele programlarının geliştirilmesi açısından önem arz etmektedir. Son yıllarda, gerek insan sağlığına gerekse hayvan sağlığına zararlı olan, doğal dengenin bozulmasında önemli katkıları olduğu bilinen kimyasal mücadelenin artık arzu edilmeyen bir mücadele yöntemi olduğu aşikardır. Bunun için sürekli alternatif mücadele yöntemleri geliştirilmektedir. Bu çalışmada etkili oldukları belirlenen biyoajanların, toksisite çalışmalarının da yapılarak olumlu sonuçların bulunması durumunda ticari preparatlarının yapılarak piyasaya sürülmesi önemli avantajlar sağlayacaktır. Yine moleküler metodlardan 16S-23S rDNA-PCR ve Eric-PCR teknikleri kullanılarak çok hızlı bir şekilde bu patojenlerin tanınması, gerek hastalıklarla mücadelede erken önlemlerin alınması, gerekse de bu hastalıkların yayılmasında en önemli etken olduğu düşünülen hastalıklı fidanların belirlenmesinde avantajlar sağlayacağı düşünülmektedir.

Yapılan bu çalışmada; *E. amylovora* ve *P. s. pv. syringae*'nin bütün strainlerinin yanısıra *A. piechaudii*, *B. pumilus*, *C. violeceum*, *E. intermedius*, *E. rhapontici*, *P. agglomerans*, *P. aeruginosa*, *P. cichorii*, *P. huttensis* ve *P. putida*'nın da bazı

strainlerinin yumuşak ekirdeklilerde patojen olduğu belirlenmiştir. Yapılan literatür araştırmalarında *E. amylovora*, *P. s. pv. syringae* ve *B. pumilus*'un haricindeki diğer türlerin yumuşak ekirdeklilerde patojen olduklarına dair bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu alışma; *A. piechaudii*, *C. violeceum*, *E. intermedius*, *E. rhapontici*, *P. agglomerans*, *P. aeruginosa*, *P. cichorii*, *P. huttiensis* ve *P. putida*'nın yumuşak ekirdeklilerde patojen olduğunun ilk kaydıdır. Bu türler içerisinde *A. piechaudii*, *C. violeceum* ve *P. aeruginosa* insan sağlığı açısından da önem arz eden türlerdir. Özellikle de pişirilmeden tüketilen bazı sebze ve meyvelerin potansiyel klinik bakterilerini taşıyabileceği riski unutulmamalıdır.



## KAYNAKLAR

- Abdalla, Y., 2001. Sudden decline of date palm trees caused by *Erwinia chrysanthemi*. Plant Dis., 85, 24-26.
- Agrios, G. N., 1997. Plant Pathology. Department of Plant Pathology University of Florida, Academic Press, 635, USA.
- Alexandra, T., Bernards, L., Dijkshoorn, J., Van der Toorn, B., Bochner, R. and Van Boven, C. P. A., 1995. Phenotypic characterization of *Acinetobacter* strains of 13 DNA-DNA hybridisation groups by means of the biolog system. J. Med. Microbiology, 42, 113-119.
- Andrade, O. A., Mathre, D. E. and Sands, D. C., 1994. Suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in Montana soils and its transferability between soils. Soil Biol. and Biochem., 26, 397-402.
- Anonymous, 1991. Integrated Pest Management for Apples and Pears. Division of Agriculture and Natural Resources, University of California, Publication 3340, 164-169, USA.
- Anonymous, 1993. Food and Agricultural Organization (FAO), 1993 Production Year Book. FAO, Rome.
- Anonymous, 1994. Ateş yanıklığı hastalığı Bursa'da meyve bahçelerini kasıp kavuruyor. Hasad, 10,113, 19-23.
- Anonymous, 1996. Bölgeler itibariyle Türkiye tarımsal üretim değerleri. Devlet İstatistik Enstitüsü (DİE), [ftp://ftp.dpt.tr/pub/ekutup/99/il/99/il\\_99-43.xls](ftp://ftp.dpt.tr/pub/ekutup/99/il/99/il_99-43.xls).
- Anonymous, 1997. Control of fire blight on pome fruit trees with *Erwinia herbicola*, 08/958, 475, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, <http://ott.arsusda.gov/Inv/a958475.html>.
- Anonymous, 2000a. Fire blight of pome fruit. <http://www2.dpi.qld.gov.au/dpinotes/hortic/deciduous/h98045.html>.
- Anonymous, 2000b. Commercial biocontrol products for use against soilborne crop disease. On-Line: <http://www.barc.usda.gov/psi/bpdprod/bioprod.html>.
- Anonymous, 2000c. *Pseudomonas syringae* (saprophytic strain) and fruit yeasts. [http://www.Nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/pseudomonas\\_s.html](http://www.Nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/pseudomonas_s.html).
- Anonymous, 2001a. <http://www.die.gov.tr/TURKISH/ISTATIS/ESG1/TURKIYE/tarim3.htm>.
- Anonymous, 2001b. [http://www.tarim.gov.tr/istatistikler/TR/tr\\_meyve\\_uretimi.html](http://www.tarim.gov.tr/istatistikler/TR/tr_meyve_uretimi.html).
- Anonymous, 2001c. <http://www.msstate.edu/Entomology/plantpath/fruit/pome/pomeinfo.html>.
- Anzai, Y., Kim, H., Park, J. Y., Wakabayashi, H. and Oyaizu, H., 2000. Phylogenetic affiliation of pseudomonads based on 16S rRNA sequence. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 50,4, 1563-1589.
- Arçelik, M., Kamuran, A., Çakır, İ., Doğan, H. B., Gürgün, V., Halkman, A. K., Kaleli, D., Kuleaşan, H., Özkaya, D. F., Tunail, N. ve Tükel, Ç., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 522, Ankara.
- Ark, P. A., 1937. Variability in the fire-blight organism *Erwinia amylovora*. Phytopathology, 27,1-28.

- Aysan, Y. ve Çınar, Ö., 1991. Turunçgil dal yanıklığının mevsimsel gelişimi ve yaşan süresi üzerinde araştırmalar. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 7-11 Ekim 1991, İzmir, Türkiye, 414-418.
- Aysan, Y., Tokgönül, S., Çınar, Ö. and Küden, A., 1994. Researches on resistant reactions of pears against *Erwinia amylovora* (Burr.) Winsiow *et al.* 9. Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası-Aydın, Türkiye, 311-313.
- Bagnara, G. L., Rivalta, L., Loghi, M., Quarta, R. and Lecomte, P., 1993. Cross combinations for fire blight resistance in pear. *Acta Hort.*, 338, 369-373.
- Baird, R. E. and Gitaitis, R. D., 1997. First report of cotton lint rot by *Pantoea agglomerans* in Georgia. *Plant Dis.*, D-1997-0326-01N (on-line).
- Balestra, G. M. and Varvaro, L., 1997. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* causal agent of disease on floral buds of *Actinidia deliciosa* (A. Chev) Liang et Ferguson in Italy. *J. Phytopathology*, 145, 375-378.
- Barbirato, F., Languier, A., Conte, T., Astruc, S. and Bories, A., 1997. Sensitivity to pH, product inhibition, and inhibition by NAD<sup>+</sup> of 1,3-propanediol dehydrogenase purified from *Enterobacter agglomerans* CNCM 1210. *Archives of Microbiology*, 168 (2), 160-163.
- Barker, B. T. P. and Grove, O., 1914. A bacterial disease of fruit blossom. *Ann. Appl. Biol.*, 1, 85-97.
- Baştaş, K. K., 1998. *Erwinia amylovora*'nın Konya İlinde yaygınlığının tespiti üzerine araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 66.
- Bayot, R. G. and Ries, S. M., 1986. Role of motility in apple blossom infection by *Erwinia amylovora* and studies of fire blight control with attractant and repellent compounds. *Phytopathology*, 76, 441-445.
- Beer, S. V. and Opgenorth, D. C., 1976. *Erwinia amylovora* on fire blight canker surfaces and blossoms in relation to disease occurrence. *Phytopathology*, 66, 317-322.
- Beer, S. V., Shabi, E. and Zutra, D., 1986. Fireblight in Israel-1985 observations and recommendations, *Bull. OEPP/EPPO*, 16, 639-645.
- Beiderbeck, H., Risse, D., Budzikiewicz, H. and Taraz, K., 1999. A new pyoverdinin from *Pseudomonas aureofaciens* (Part LXXVIII of the series Bacterial Constituents). *Z. Naturforsch.*, 54, 1-5.
- Bej, A. K., Mahbubani, M. H., and Atlas, R. M., 1991. Amplification of nucleic acids by polymerase chain reaction (PCR) and other methods and their applications. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 26, 301-334.
- Bender, C., Palmer, D., Penaloza-Vazquez, A., Rangaswamy, V. and Ullrich, M., 1996. Biosynthesis of coronatine, a thermoregulated phytotoxin produced by the phytopathogen *Pseudomonas syringae*. *Arch. Microbiol.*, 166, 71-75.
- Benlioğlu, K. ve Özakman, M. 1992. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen ateş yanıklığı hastalığı (*Erwinia amylovora*) ve mücadelesi. Zirari Mücadele Araştırma Enstitüsü, Ankara.
- Bereswill, S., Bugert, P., Bruchmuller, I. and Geider, K., 1995. Identification of the fire blight pathogen, *Erwinia amylovora* by PCR assays with chromosomal DNA. *App. and Env. Microbiology*, 61, 2636-2642.



- Bereswill, S., Jock, S., Bellemann, P. and Geiger, K., 1998. Identification of *Erwinia amylovora* by growth morphology on agar containing copper sulfate and by capsule staining with lectin. *Plant Dis.*, 82, 158-164.
- Bereswill, S., Pahl, A., Bellemann, P., Berger, F., Zeller, W. and Geider, K., 1993. Efficient detection of *Erwinia amylovora* by PCR analysis. *Acta Hort.*, 338, 51-58.
- Bereswill, S., Pahl, A., Bellemann, P., Zeller, W. and Geider, K., 1992. Sensitive and species-specific detection of *Erwinia amylovora* by polymerase chain reaction analysis. *App. and Env. Microbiology*, 58, 11, 3522-3526.
- Billing, E., 1979. Warning systems for fire blight. *EPPO Bull.*, 9, 45-51.
- Bishop, A. L., Burr, T. J., Mittak, V. L. and Katz, B. H., 1989. A monoclonal antibody specific to *Agrobacterium tumefaciens* Biovar 3 and its utilization for indexing grapevine propagation material. *Phytopathology*, 79, 995-998.
- Blondeaux, A and Cochet, N., 1994. Ice-nucleating activity of *Pseudomonas syringae* cultivated on natural substrate; influence of phosphate. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 4, 6, 627-631.
- Bochner, B., 1989. 'Breathprints' at the microbial level, *ASM News*, 55, 536-539.
- Boom, W. G. and Fisher, P., 1989. Blister spot of apples, [http:// www. gov. on. ca/ OMAFRA / english/ crops/ facts/ 89-100.htm](http://www.gov.on.ca/OMAFRA/english/crops/facts/89-100.htm).
- Bora, T. ve Özaktan, H., 1998. Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş. *Prizma Matbaası*, 205, İzmir, Türkiye.
- Bora, T., Özaktan, H., ve Yıldız, M., 1995. Tarla koşullarında kavun ve karpuz *Fusarium* solgunluklarının siderofor üreten flouresnt pseudomonaslarla önlenmesi üzerine araştırmalar. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 26-29 Eylül 1995, Adana, Türkiye, 216-219.
- Bouzar, H., Moore, L. W. and Schaup, H. W., 1988. Lipopolysaccharide from *Agrobacterium tumefaciens* B6 induces the production of strain-specific antibodies. *Phytopathology*, 78, 1237-1241.
- Bradshaw-Rouse, J. J., Sequeira, L., Kelman, A. and Dickey, R. S., 1988. Partial characterization and serological specificity of the lipopolysaccharide of *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology*, 78, 996-999.
- Braun-Kiewnick, A., Jacobsen, B. J. and Sands, D. C., 1997. Possible biocontrol mechanisms in the *Pseudomonas syringae*-*Pantoea agglomerans* interaction. *Phytopathology*, 87,11. Publication no P-1997-0077-AMA.
- Braun-Kiewnick, A., Jacobsen, B. J. and Sands, D. C., 2000. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, the causal agent of basal kernel blight of barley, by antagonistic *Pantoea agglomerans*. *Phytopathology*, 90, 368-375.
- Broekaert, W. F., Cammue, B. P. A., De Bolle, M. F. C., Thevissen, K., De Samblanx, G. W. and Osborn, R. W., 1997. Antimicrobial peptides from plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 16, 297-323.
- Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E., 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8<sup>th</sup> ed., Williams and Wilkins Company, 1269, Baltimore.
- Budzikiewicz, H., Münzinger, M., Taraz, K. and Meyer, J. M., 1997a. Schizokinen the siderophore of the plant deleterious bacterium *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* ATCC 11696. *Z. Naturforsch.*, 52, 496-503.

- Budzikiewicz, H., Kilz, S., Taraz, K. and Meyer, J. M., 1997b. Identical pyoverdins from *Pseudomonas fluorescens* 9AW and from *Pseudomonas putida* 9BW. *Z. Naturforsch*, 52, 721-728.
- Burr, T. J. and Hurwitz, B., 1981. Seasonal susceptibility of Mutsu apples to *Pseudomonas syringae* pv. *papulans*. *Plant Dis.*, 65, 334-336.
- Burr, T. J., Bishop, A. L., Katz, B. H., Blanchard, L. M. and Bazzi, C., 1987. A root-specific decay of grapevine caused by *Agrobacterium tumefaciens* and *A. radiobacter* Biovar 3. *Phytopathology*, 77, 1424-1427.
- Burr, T. J., Katz, B. H. and Bishop, A. L., 1987. Populations of *Agrobacterium* in vineyard and nonvineyard soil and grape roots in vineyards and nurseries. *Plant Dis.*, 71, 617-620.
- Burr, T. J., Norelli, J. L., Katz, B., Wilcox, W. F. and Hoying, S. A., 1988. Streptomycin-resistance of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in apple orchards and its association with a conjugative plasmid. *Phytopathology*, 78, 410-413.
- Burr, T. J., Norelli, J. L., Reid, C. L., Capron, L. K., Nelson, L. S., Aldwinckle, H. S. and Wilcox, W. F., 1993. Streptomycin-resistant bacteria associated with fire blight infections. *Plant Dis.*, 77, 63-66.
- Canfield, M. L. and Moore, L. W., 1991. Isolation and characterization of opine-utilizing strains of *Agrobacterium tumefaciens* and fluorescent strains of *Pseudomonas* spp. From rootstocks of *Malus*. *Phytopathology*, 81, 440-443.
- Canfield, M. L., Baca, S. and Moore, L. W., 1986. Isolation of *Pseudomonas syringae* from 40 cultivars of diseased woody plants with tip dieback in Pacific Northwest nurseries. *Plant Dis.*, 70, 647-650
- Cao, H, Li X, and Dong X, 1998. Generation of broad-spectrum disease resistance by overexpression of an essential regulatory gene in systemic acquired resistance. *Proc. of the Nat. Acad. Of Sci., USA*, 95, 653-6536.
- Cartwright, D. K. and Benson, D. M., 1995. Optimization of biological control of *Rhizoctonia* stem rot of poinsettia by *Paecilomyces lilacinus* and *Pseudomonas cepacia*. *Plant Dis.*, 79, 301-308.
- Chet, I., Barak, Z. and Oppenheim, A., 1993. Genetic engineering of microorganisms for improved biocontrol activity. *biotechnology in plant disease control*. J. Wiley (ed), New York, USA, 397.
- Chiou, C. S. and Jones, A. L., 1991. The analysis of plasmid-mediated streptomycin resistance in *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, 81, 710-714.
- Chiou, C. S. and Jones, A. L., 1993. Nucleotide sequence analysis of a transposon (*Tn5393*) carrying streptomycin resistance genes in *Erwinia amylovora* and other gram-negative bacteria. *J. Bacteriol.*, 175, 732-740.
- Chou, J. C., Mulbry, W. W. and Cohen, J. D., 1998. The gene for indole-3-acetyl-L-aspartic acid hydrolase from *Enterobacter agglomerans*: Molecular cloning, nucleotide sequence, and expression in *Escherichia coli*. *MGG-Molecular&General Genetics*, 259(2), 172-178.
- Clark, R. G., Hale, C. N. and Harte, D., 1993. A DNA approach to *Erwinia amylovora* detection in large scale apple testing and in epidemiological studies. *Acta Hort.*, 338, 59-66.
- Cody, Y. S., Gross, D. C., Proebsting, E. L. Jr. and Spotts, R. A., 1987. Suppression of Ice nucleation-active *Pseudomonas syringae* by antagonistic bacteria in fruit tree orchards and evaluations of frost control. *Phytopathology*, 77, 1036-1044.

- Collman, S. J., 2000. Ctoneaster problems. [http://www.plantamnesty.org/6024\\_pages/old\\_gold\\_archives/phcCotoneaster.shtml](http://www.plantamnesty.org/6024_pages/old_gold_archives/phcCotoneaster.shtml).
- Colyer, P. D. and Mount, M. S., 1984. Bacterization of potatoes with *Pseudomonas putida* and its influence on postharvest soft rot diseases. *Plant Dis.* 68, 703-706.
- Cook, R. J. and Baker, K. F., 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS, 539, St Paul, Minn.
- Costa, E., Teixido, N., Usall, J., Amares, E. and Vinas, I., 2001. Production of the biocontrol agent *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 using commercial products and by-products. <http://link.springer.de/link/service/journals/00253/contents/.../s002530100666ch100.htm>.
- Cross, J. V. and Polonenko, D. R., 1996. An industry perspective on registration and commercialization of biocontrol agents in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 18, 446-454.
- Crosse, J. E., Goodman, R. N. and Shaffer, W. H., 1972. Leaf damage as a predisposing factor in the infection of apple shoots by *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, 62, 176-182.
- Çınar, Ö. ve Aysan, Y., 1995. Domates bakteriyel leke etmeninin (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) canlılığı üzerine toprak solarizasyonunun ve biyolojik kontrolde antagonistlerin kullanılma olanaklarının araştırılması. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 26-29 Eylül 1995, Adana, Türkiye, 423-425.
- Damiano, C. and Monticelli, S., 1998. *In-vitro* fruit trees rooting by *Agrobacterium rhizogenes* wild type infection. *Electronic Journal of Biotechnology*, ISSN: 0717-3458, vol.1, no. 3.
- Davies, J., 1994. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science*, 264, 375-382.
- De Boer, S. H. and Sasser, M., 1986. Differentiation of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* and *E. carotovora* ssp. *atroseptica* on the basis of cellular fatty acid composition. *Can. J. Microbiol.*, 32, 796-800.
- De Lucca, A. J., Jacks, T. J. and Brogden, K. A., 1995. Binding between lipopolysaccharide and cecropin A. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 151, 2, 141-148.
- Demir, G. and Gündoğdu, M., 1993. Fireblight of pome fruit trees in Turkey, Distribution of the disease, chemical control of blossom infections and susceptibility of some cultivars. *Acta Hort.*, 338, 67-74.
- Demir, G. ve Gündoğdu, M., 1991. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et al.) hastalığı üzerinde araştırmalar. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildiriler, 7-11 Ekim, İzmir, Türkiye, 299-302.
- Demir, G., 1995. Kasımpatı üretim alanlarında kök uru (*Agrobacterium tumefaciens*) hastalığı ve kontrolü. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 26-29 Eylül, Adana, Türkiye, 398-401.
- Demir, G., Gündoğdu, M. ve Üstün, N., 2002. Kök kanseri (*Agrobacterium tumefaciens* (Towsend) Conn) hastalığına karşı biyolojik kontrol yönteminin geliştirilmesi üzerinde araştırmalar. <http://www.tagem.gov.tr/projeler/97/bsag/bsag6.html>.

- Dickey, R. S., 1979. *Erwinia chrysanthemi*: A comparative study of phenotypic properties of strains from several host and other *Erwinia* species. *Phytopathology*, 69, 324-329.
- Dickey, R. S., Clafin, L. E. and Zumoff, C. H., 1987. *Erwinia chrysanthemi*: Serological comparisons of strains from *Zea mays* and other hosts. *Phytopathology*, 77, 426-430.
- Doidge, E. M., 1917. A bacterial blight of pear blossom occurring in South Africa. *Ann. Appl. Biol.*, 4, 50-74.
- Droby, S., Cohen, L., Daus, A., Weiss, B., Horev, B., Chalutz, E., Katz, H., Keren-Tzun, M. and Shachnai, A., 1998. Commercial testing of aspire: a yeast preparation for the biological control of postharvest decays of citrus. *Biological Control*, 12, 97-101.
- Dye, D. W., Bradbury, J. F., Goto, M., Hayward, A. C., Lelliott, R. A. and Schroth, M. N., 1980. International standards for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and list of pathovars names and pathotypes. *Review of Plant Pathology*, 59, 153-168.
- Ellis, M. A. and Madden, L. V., 2000. Effectiveness of fosetyl-aluminum and streptomycin alone and in combination for control of blister spot on 'Mutsu' apples in Ohio and New York. *Plant Health Progress*, DOI:10.1094/PHP-2000-1204-01-RS.
- Endert, E. and Ritchie, D. F., 1984. Detection of pathogenicity, measurement of virulence and determination of strain variation in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Dis.*, 68, 677-680.
- Erdoğan, O., 1999. İsparta ilinde yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında ateş yanıklığı etmeni (*Erwinia amylovora*)'ne karşı antagonist bakteriyel mikrofloranın saptanması üzerinde çalışmalar. Adnan Menderes Üniversitesi. Yüksek Lisans Tezi. 48.
- Evrenasoğlu, Y., 1998. *Erwinia amylovora*'ya dayanıklı ve hassas armut çeşitlerinde fenolik bileşiklerin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 81.
- Fahy, P. C. and Hayward, A. C., 1983. Media and methods for isolation and diagnostic tests. *plant bacterial disease*. Academic Press, 337-378, Sydney.
- Fattal, O and Deville, G., 2000. *Leclercia adecarboxylata* peritonitis in a child receiving chronic peritoneal dialysis. *Pediatr. Nephrol*, 15, 186-187.
- Fermin-Munoz, G. A., Meng, B., Ko, K., Mazumdar-Leighton, S., Gubba, A. and Carroll, J. E., 2000. A new era plant pathology plant protection. *Biotechnology*, <http://www.scisoc.org/feature/BioTechnology/Top.html>.
- Fontana, R., Cascio, G. L., Ligozzi, M., Fiscia, O. and Oldoni, T., 2001. Antimicrobial susceptibility of respiratory isolates of *Enterobacteriaceae* and *Staphylococcus aureus* in Italy: Incidence and trends over the period 1997-1999. <http://link.springer.de/link/service/journals/10096/contents/.../s100960100628ch100.htm>.
- Foster, R. C., Rovira, A. D. and Cock, T. W., 1983. Ultrastructure of the root-soil interface. *St. Paul: Am. Phytopathol. Soc.*, 157.
- Fridlender, M., Inbar, J. and Chet, I., 1993. Biological control of soil-borne pathogens by a B-1,3 glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biol. and Biochem.*, 25, 1211-1221.



- Gardan, L., Shafik, H. L. and Grimont, P. A. D., 1995. DNA relatedness among pathovars of *P. syringae* and related bacteria. In: Abstract of the 5<sup>th</sup> International Conference on *Pseudomonas syringae* Pathovars and Related Pathogens. Biologische Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft, Braunschweig, Germany. 142.
- Giddings, G., 1998. The release of genetically engineered micro-organisms and viruses into the environment. *New Phytologist*, 140, 2, 173-184.
- Gitaitis, R. D., 1997. First report of a leaf blight, seed stalk rot and bulb decay of onion by *Pantoea ananas* in Georgia. *Plant Dis.* D-1997-0731-02N (on-line).
- Gloyer, W. O., 1934. Crowngall and hairy root of apples in nursery and orchard. N. Y. *Agric. Exp. Stn. Bull.* 638. 30.
- Goldberg, N. P., 2000. Apple disease control. [http://www.cahe.nmsu.edu/pubs/\\_h/h-317.html](http://www.cahe.nmsu.edu/pubs/_h/h-317.html).
- Gorlack, K., 1994. Problems in the introduction of genetically-engineered microorganism into the environment. *Acta Microbiologica Polonica*, 43, 2, 121-131.
- Goto, S., Sakai, S., Kera, J., Suma, Y., Soma, G. and Takeuchi, S., 1996. Intradermal administration of lipopolysaccharide in treatment of human cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 42, 4, 255-260.
- Gross, D. C. and Cody, Y. S., 1985. Mechanism of plant pathogenesis by *Pseudomonas* species. *Can. J. Microbiol.*, 31, 403-409.
- Gross, D. C., 1991. Molecular and genetic analysis of toxin production by pathovars of *Pseudomonas syringae*. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 29, 247-278.
- Gross, D. C., Cody, Y. S., Proebsting, Jr. E. L., Rademaker, G. K. and Spotts, R. A., 1984. Ecotypes and pathogenicity of ice nucleation active *Pseudomonas syringae* isolated from deciduous fruit tree orchards. *Phytopathology*, 74, 241-248.
- Guillorit-Rondeau, C. and Samson, R., 1993. Serological specificity of the lipopolysaccharides, the major antigens of *Pseudomonas syringae*. *Journal of Phytopathology*, 137, 157-171.
- Guillorit-Rondeau, C., Malandrin, L. and Samson R., 1996. Identification of two serological flagellar types (H1 and H2) in *Pseudomonas syringae* pathovars. *European Journal of Plant Pathology*, 102, 99-104.
- Guimaraes, P. M., Palmano, S., Smith, J. J., de Sa, M. F. G. and Saddler, G. S., 2001. Development of a PCR test for the detection of *Curtobacterium fleccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. *Antonia Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 80, 1, 1-10.
- Hacıoğlu, E., 1993. *Erwinia amylovora*'ya karşı *in-vitro* ve *iv-vivo* koşullarda bazı kimyasalların bitki ekstraktlarının ve antagonistlerin etkileri. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 81.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Rodriguez-Kabana, R. and Kloepper, J. W., 1998. Interaction between *Meloidogyne incognita* and endophytic bacteria in cotton and cucumber. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 7, 925-937.
- Handelsman, J. and Stabb, E. V., 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *The Plant Cell*, 8, 1855-1869.
- Hattingh, M. J., Isabel, M., Roos, M. and Mansvelt, E. L., 1989. Infection and systemic invasion of deciduous fruit trees by *Pseudomonas syringae* in South Africa. *Plant Disease*, 73, 10, 784-789.

- Hauben, L., Moore, E. R. B., Vauterin, L., Steenackers, M., Mergaert, J., Verdonk, L. and Swings, J., 1998. Phylogenetic position of phytopathogens within the Enterobacteriaceae. *Syst. Appl. Microbiol.*, 21, 384-397.
- Henson, J. M and French R., 1993. The polymerase chain reaction and plant disease diagnosis. *Ann. Rev. of Phytopathology*, 31, 81-109.
- Hirano, S. S. and Upper, C. D., 1983. Ecology and epidemiology of foliar bacterial plant pathogen. *Ann. Rev. of Phytopathology.*, 21-243-269.
- Hoffland, E., Hakulinen, J. and van Pelt, J. A., 1996. Comparison of systemic resistance induced by avirulent and nonpathogenic *Pseudomonas* species. *Phytopathology*, 86, 757-762.
- Hohineicher, U., Hartmann, R., Taraz, K. and Budzikiewicz, H., 1996. Pyoverdine, ferribactin, azotobactin a new triade of siderophores from *Pseudomonas chlororaphis* ATCC 9446 and its relation to *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525. <http://www.uni-koein.de/math-nat-fak/orgchem/budzi/htm/abstr1.html>.
- Hollis, L., 2000. Biopesticide fact sheet. <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/factsheets/fs006441e.htm>.
- Holmes, B., Costas, M., Ganner, M., On, S. L. W. and Stevens, M., 1994. Evaluation of biologic system for identification of some gram-negative bacteria of clinical importance. *Journal of Clinical Microbiology*, 1970-1975.
- Hunter, D. M., 1993. Pear breeding for the 21 st century-program and progress at Harrow. *Acta Hort.*, 338, 377-381.
- Ishimaru, C. A., 2000. Biotechnology and plant associated bacteria: Genes, genomes, GEMs and beyond. *Phytopathology*, 90, 109.
- Ishimaru, C. A., Klos, E. J. and Brubaker, R. R., 1988. Multiple antibiotic production by *Erwinia herbicola*. *Phytopathology*, 78, 746-750.
- Jackman, P. J. H., 1985. Bacterial taxonomy based on electrophoretic whole-cell protein patterns. *The Society for Applied Bacteriology*, 415-429.
- Janisiewicz, W. J. and Jeffers, S. N., 1997. Efficacy of commercial formulation of two biofungicide for control of blumold and gray mold of apples in cold storage. *Crop Protection*, 16, 629-633.
- Janisiewicz, W. J. and Marchi, A., 1992. Control of storage rots on various pear cultivar with saprophytic strain of *Pseudomonas syringae*. *Plant Disease*, 76, 555-560.
- Janisiewicz, W. J. and Roitman, J., 1988. Biological control of blue mold and gray mold on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology*, 78, 1697-1700.
- Janisiewicz, W. J., 1987. Postharvest biological control of blue-mold on apples. *Phytopathology*, 77, 481-485.
- Jarvis, B. D. W., Sivakumaran, S., Tighe, S. W. and Gillis, M., 1996. Identification of *Agrobacterium* and *Rhizobium* species based on cellular fatty acid composition. *Plant and Soil*, 184, 143-158.
- Jay, L. G. and Aaron, I. M., 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *App. and Env. Microbiology*, 2351-2359.
- Jeng, R. S., Svircev, A. M., Myers, A. L., Beliaeva, L., Hunter, D. M. and Hubbes, M., 2001. The use of 16S and 16S-23S rDNA to easily detect and differentiate common Gram-negative orchard epiphytes. *Journal of Microbiological Methods*, 44, 69-77.



- Jensen, M. A., Webster, J. A. and Straus, N., 1993. Rapid identification of bacteria on the basis of the polymerase chain reaction-amplified ribosomal DNA spacer polymorphisms. *App. and Env. Microbiology*, 59, 945-952.
- Johnsen, K., Andersen, S. and Jacobsen, C. S., 1996. Phenotypic and genotypic characterization of phenanthrene-degrading fluorescent *Pseudomonas* biovars. *App. and Env. Microbiology*, 3818-3825.
- Johnson, K. B. and Stocwell, V. O., 1998. Management of fire blight: a case study in microbial ecology. *Ann. Rev. Phytopathology*, 36, 227-248.
- Jones, A. L. and Aldwinckle, H. S., 1991. Compendium of apple and pear diseases. APS PRESS, The American Phytopathological Society, 61-66.
- Jones, A. L., Norelli, J. L. and Ehret, G. R., 1991. Detection of streptomycin-resistant *Pseudomonas syringae* pv. *populans* in Michigan apple orchards. *Plant Dis.*, 75, 529-531.
- Jones, J. B., McCarter, S. M., and Gitaitis, R. D., 1981. Association of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* with a leaf spot disease of tomato transplants in southern Georgia. *Phytopathology*, 71, 1281-1285.
- Jones, J. D., Grady, K. L., Suslow, T. V. and Bedbrook, J. R., 1986. Isolation and characterization of genes encoding two chitinase enzymes from *Serratia marcescens*. *EMBO J.*, 5, 467-473.
- Kado, C. I. and Heskett, M. G., 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60, 969-976.
- Kenneth, J., Virginia, S., Randy, M., David, S., Joyce, L. and Rodney, R., 2001. Effect of antagonistic bacteria on establishment of honey-bee dispersed *Erwinia amylovora* in pear blossoms and on fire blight control. <http://www.omgk.hu/tekrfb.html>.
- Kerstens, K., 1985. Numerical methods in the classification of bacteria protein electrophoresis. *Society for General Microbiology*, 337-368.
- Kilz, S., Lenz, Ch., Fuchs, R. and Budzikiewicz, H., 1999. A fast screening method for the identification of siderophores from fluorescent *Pseudomonas* spp. by liquid chromatography/electrospray mass spectrometry. *J. Mass Spectrom*, 34, 281-290.
- Kim, -K. Y., Jordan, D. and McDonald, G. A., 1998. *Enterobacter agglomerans* phosphate solubilizing bacteria and microbial activity in soil: effect of carbon sources. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 8-9, 995-1003.
- King, E. O., Ward, M. K. and Raney, D. E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *J. Lab. Clin. Med.*, 44, 301-307.
- Kinzel, O., Tappe, R., Gerus, I. and Budzikiewicz, H., 1998. The synthesis and antibacterial activity of two pyoverdinin-ampicillin conjugates, entering *Pseudomonas aeruginosa* via the pyoverdinin-mediated iron uptake pathway. *J. Antibiotics*, 51, 499-507.
- Kirschenmann, A. and Kirschenmann, F., 1998. Genetic engineering and organic food: The proposed USDA rule on organic agriculture. *Biotechnology and Development Monitor*, 34, 18-20.
- Klement, Z., 1967. Rapid detection of the pathogenicity of some phytopathogenic bacteria by the hypersensitive reaction of plants. *Proc. of the first workshop on*

- phytobacteriology (2nd ed.) Edited by Goodman. Univ. Missouri, Columbia, Missouri.
- Klement, Z., Farkas, G. L. and Lovrekovich, L., 1964. Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. *Phytopathology*, 54, 474-477.
- Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D. C., 1990. Methods in phytopathology. Akademiai Kiado, 153-180, Budapest.
- Klopmeier, M. J and Kelman, A., 1988. Use of monoclonal antibodies specific for pectate lyase as serological probes in the identification of soft rot *Erwinia* spp. *Phytopathology*, 78, 1430-1434.
- Klopmeier, M. J and Ries, S. M., 1987. Motility and chemotaxis of *Erwinia herbicola* and its effect on *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, 77, 909-914.
- Koda, N., Aoki, M., Kawahara, H., Yamade, K. and Obata, H., 2000. Characterization and properties of intracellular proteins after cold acclimation of the ice-nucleating bacterium *Pantoea agglomerans* (*Erwinia herbicola*) IFO12686. *Cryobiology*, 41, 3, 195-203.
- Kogan, S. K., Doherty, M. D. and Gitschier, J. G., 1987. *New England J. of Medicine*. 317, 16, 985-990.
- Koike, S. T., Barak, J. D., Henderson, D. M. and Gilbertson, R. L., 1999. Bacterial blight of leek: A new disease in California caused by *Pseudomonas syringae*. *Plant Dis.*, 83, 165-170.
- Konopka, A., Oliver, L. and Turco, Jr., R. F., 1998. The use of carbon substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology. *Microb., Ecol.*, 35, 103-115.
- Kotan, R. and Sahin, F., 2002. First record of bacterial cancer by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, on apricot trees in Turkey. <http://www.bspp.org.uk/ndr/july2002/2002-11.htm>.
- Kotan, R., Sahin, F., Demirci, E., Ozbek, A., Eken, C. and Miller, S. A., 2000. Evaluation of antagonistic bacteria for control of *Fusarium* dry rot of potato. *Phytopathology*, 89, 41.
- Kotan, R., 1997. Biber ve domatesteki bakteriyel leke hastalığı (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye.)'nın biyolojik ve kimyasal kontrolü. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Yüksek Lisans Tezi. 49.
- Kovacs, N., 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*, London, 170, 173.
- Kucheryava, N., Fiss, M., Auling, G. and Kroppenstedt, R. M., 1999. Isolation and characterization of epiphytic bacteria from the phyllosphere of apple, antagonistic in vitro to *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab. *Systematic and Applied Microbiology*, 22, 3, 472-478.
- Kwon, S. W., Go, S. J., Kang, H. W., Ryu, J. C. and Jo, J. K., 1997. Phylogenetic analysis of *Erwinia* species based on 16S rRNA gene sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 47, 1061-1067.
- Lamey, H. A. and Stack, R. W., 1993. Disease of apples and other pome fruits. *Nort Dakota State University, NDSU Extension Service*, 454. USA. <http://www.ext.nodak.edu/extpubs/plantsci/hortcrop/pp454w.htm>.

- Laurent, J., Barny, M. A., Kotoujansky, A., Dufrique, P. and Vanneste, J., 1989. Characterization of a ubiquitous plasmid in *Erwinia amylovora*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2, 4, 160-164.
- Layne, R. E. C., 1964. Cowpea a new and useful host of *Erwinia amylovora*. *Can. J. Bot.* 42, 1711-1713.
- Lecomte, P., Manceau, C., Paulin, J. P. and Keck, M., 1997. Identification by PCR analysis on plasmid pEA29 of isolates of *Erwinia amylovora* responsible of an outbreak in central Europe. *European Journal of Microbiology*, 13, 91-98.
- Lee, M. R., Lee, R. E Jr., Strong-Gunderson, J. M. and Minges, S. R. 1995. Isolation of ice-nucleating active bacteria from the freeze-tolerant frog, *Rana sylvatica*. *Cryobiology*, 32, 4, 358-365.
- Leeman, M., Van Pelt, A.J., Den Ouden, F.M., Heinsbroek, M., Bakker, P.A.H.M. and Schippers, B., 1995. Induction of systemic resistance against fusarium wilt of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology*, 85, 9, 1021-1027.
- Leibinger, W., Breuker, B., Hahn, M. and Mendgen, K., 1997. Control of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic microorganisms in the field. *Phytopathology*, 87, 1103-1110.
- Leita, R. P., Minsavage, G. V., Bonas, U. and Stall, R. E., 1994. Detection and identification of phytopathogenic *Xanthomonas* strains by amplification of DNA sequences related to *hrp* genes of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *App. and Env. Microbiology*, 60, 1068-1077.
- Lelliot, R. A. and Stead, D. E., 1987. *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. Black Well Scientific Publication, 157, Oxford.
- Lelliott, R. A., Billing, E. and Hayward, A. C., 1966. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. *J. Appl. Bacteriol.* 29, 470-489.
- Leong, J., 1986. Siderophores: Their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annu. Revi. Phytopathology*, 24, 187-209.
- Lin, C. P., Chen, T. A., Wells, J. M. and Van der Zwet, T., 1987. Identification and detection of *Erwinia amylovora* with monoclonal antibodies. *Phytopathology*, 77, 376-380.
- Lindemann, J. and Suslow, T. V., 1987. Competition between ice nucleation-active wilt type and ice nucleation-deficient deletion mutant strains of *Pseudomonas syringae* and *Pseudomonas fluorescens* biovar I and biological control of frost injury on strawberry blossoms. *Phytopathology*, 77, 882-886.
- Lindh, E., Kjaeldgaard, P., Frederiksen, W. and Ursing, J., 1991. Phenotypical properties of *Enterobacter agglomerans* (*Pantoea agglomerans*) from human, animal and plant sources. *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*, 99, 4, 347-352.
- Lindow, S. E., Arny, D. C. and Upper, C. D., 1982. Bacterial ice-nucleation: A factor in frost injury to plants. *Plant Physiol.*, 70, 1084-1089.
- Lindow, S. E., McGourty, G. and Elkins, R., 1996. Interactions of antibiotics with *Pseudomonas fluorescens* strain A506 in the control of fire blight and frost injury to pear. *Phytopathology*, 86, 8, 841-848.
- Little, E. L., Bostock, R. M. and Kirkpatrick, B. C., 1998. Genetic characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains from stone fruits in California. *App. and Env. Microbiology*, 64, 10, 3818-3823.

- Loper, J. E., Henkels, M. D., Roberts, R. G., Grove, G. G., Willett, M. J. and Smith, T. J., 1991. Evaluation of streptomycin, oxytetracycline, and copper resistance of *Erwinia amylovora* isolated from pear orchards in Washington State. *Plant Dis.*, 75, 287-290.
- Louws, F. J., Fulbright, D. W., Stephens, C. T. and Bruijn, F. J., 1994. Specific genomic fingerprints of phytopathogenic *Xanthomonas* and *Pseudomonas* pathovars and strains generated with repetitive sequences and PCR. *App. and Env. Microbiology*, 60, 2286-2295.
- Louws, F. J., Wilson, M., Campbell, H. L., Cuppels, D. A., Jones, J. B., Shoemaker, P. B., Sahin, F., and Miller, S. A. 2001. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. *Plant Dis.*, 85.
- Louws, F.J., Ritchie, D. F., Kousik, C. S., Romero, A. M. and Pollard, D. W., 1996. Evaluation of plant-activator CGA-245704 50W for control of bacterial spot of tomato. 12 th. annual Tomato Disease Workshop. 5-6 December 1996, Columbus, Ohio, ABD, 18-20.
- Lumsden, R. D., Lewis, J. A. and Fravel, D. R., 1995. Formulation and delivery of biocontrol agents for use against soilborne plant pathogens, *Biorational Pest Control Agents. Formulation and Delivery*, F. H. Hall and J. W. Barry (ed), American Chemical Society, Washington, DC, 166-182.
- Maden, S., Erzurum, K., Yürüt, A., Gürer, M. ve Ünal, E., 1995. M. M. 106 elma anaçlarında görülen kuruma nedenlerinin tespiti üzerinde araştırmalar. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildiriler, 26-29 Eylül, Adana, Türkiye, 199-203.
- Maes, M. and Garbeva, P., 1994. Detection of bacterial phytopathogens based on nucleic acid technology. *Parasitica*, 50, 75-80.
- Malvick, D. K. and Moore, L. W., 1988. Population dynamics and diversity of *Pseudomonas syringae* on maple and pear trees and associated grasses. *Phytopathology*, 78, 1366-1370.
- Manceau, C. and Horvais, A., 1997. Assessment of genetic diversity among strains of *Pseudomonas syringae* by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of rRNA operons with special emphasis on *P. syringae* pv. *syringae*. *App. and Env. Microbiology*, 498-505.
- Mansvelt, E. L. and Hattingh, M. J., 1986a. Bacterial blister bark and blight spurs of apple in South Africa caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Dis.*, 70, 403-405.
- Mansvelt, E. L. and Hattingh, M. J., 1986b. Pear blossom blast in South Africa caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Pathol.*, 35, 337-343.
- Mansvelt, E. L. and Hattingh, M. J., 1989. Scanning electron microscopy of invasion of apple leaves and blossoms by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *App. and Env. Microbiology*, 533-538.
- Maroofi, A. and Mostafavi, M., 1996. Evaluation of resistance of apple, pear and quince varieties to fire blight. *Acta Hort.*, 411, 395-399.
- Marrone, P. G., 1999. Microbial pesticides and natural product as alternatives. *Outlook on Agriculture.*, 28, 3, 149-154.
- Maurhofer, M., Hase, C., Meuwley, P., Metraux, J. P. and Defago, G., 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0: influence of *gacA* and of pyoverdine production. *Phytopathology*, 84, 139-146.



- McLaughlin, R. J., Chen, T. A. and Wells, J. M., 1989. Monoclonal antibodies against *Erwinia amylovora*, characterization and evaluation of a mixture for detection by enzyme-linked immunosorbent assay. *Phytopathology*, 79, 610-613.
- McManus, P. S. and Jones, A. L., 1995a. Detection of *Erwinia amylovora* by nested PCR and PCR-dot-blot and reverse-blot hybridizations. *Phytopathology*, 85, 618-623.
- McManus, P. S. and Jones, A. L., 1995b. Genetic fingerprinting of *Erwinia amylovora* strains isolated from tree-fruit crops and *Rubus* spp. *Phytopathology*, 85, 1547-1553.
- Meyer, J. M., Stintzi, A., Coulanges, V., Shivaji, S., Voss, J. A., Taraz, K. and Budzikiewicz, H., 1998. Siderotyping of fluorescent pseudomonads characterization of pyoverdines of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* strains from Antarctica. *Microbiology*, 144, 3119-3126.
- Meyer, J. M., Stintzi, A., De Vos, D., Cornelis, P., Tappe, R., Taraz, K. and Budzikiewicz, H., 1997. Use of siderophores to type pseudomonads the three *Pseudomonas aeruginosa* pyoverdine systems. <http://www.uni-koein.de/mathnat-fak/orgchem/budzi/htm/abstr16.html>.
- Michael, M., James, W. B., Virginia, K. Q. and James, C. M., 1993. Evaluation of biology for identification of members of the family Micrococcaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 67, 3170-3173.
- Midani, S. and Rathore, M., 1998. *Chromobacterium violaceum* infection. *South Med. J.*, 91, 464-466.
- Miller, I., and Berger, T., 1985. Bacteria identification by gas chromatography of whole cell fatty acids. Hewlett-Packard Gas Chromatography Application Note, Hewlett-Packard Co., Alto, CA., 228-238.
- Miller, J. M., James, W., Biddle, W., Virginia, K., Quenzer, K. and James, C. Mc., 1993. Evaluation of biolog for identification of members of the family Micrococcaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 36, 3170-3173.
- Miller, S. A. and Joaquim, T. R., 1993. Diagnostic techniques for plant pathogens. *Biotechnology in Plant Disease Control*, 17, 321-339.
- Miller, S. A. and Martin R. R., 1988. Molecular diagnosis of plant disease. *Phytopathology*, 26,409-432.
- Miller, T. D. and Schroth, M. N., 1972. Monitoring the epiphytic population of *Erwinia amylovora* on pear with a selective medium. *Phytopathology*, 62, 1175-1182.
- Mirik, M., 2000. Amasya ve Tokat illerinde yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarındaki ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*) hastalığının oranı, duyarlı ve dayanıklı çeşitlerin tespiti. Yüksek Lisans Tezi, [http://www.trakya.edu.tr/kutuphane/Tezler/Fen\\_Bilimleri/bitki\\_koruma.htm](http://www.trakya.edu.tr/kutuphane/Tezler/Fen_Bilimleri/bitki_koruma.htm).
- Moltmann, E., 1996. Experience with different prediction systems for control of fire blight in southwest Germany. *Acta Hort.*, 411, 131-134.
- Momol, M. T. and Yeğen, O., 1993. Fire blight in Turkey. *Acta Hort.*, 338, 37-39.
- Momol, M. T., 1990. Ateş yanıklığının epidemiyolojisi ve mücadelesi. *Ak. Ü. Zir. Fak. Derg.*, 3, 1-2, 25-38.
- Momol, M. T., Momol, E. A., Lamboy, W. F., Norelli, J. L., Beer, S. V. and Aldwinckle, H. S., 1997. Characterization of *Erwinia amylovora* strains using random amplified polymorphic DNA fragments (RAPDs). *J. Appl. Microbiol.*, 82, 389-398.

- Momol, M. T., Yeğen, O., Basım, H., Rudolph, K. and Zachowski, M. A., 1991. Batı Akdenizde *Erwinia amylovora*'nın neden olduğu ateş yanıklığının epidemisi ve mücadelesi. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 7-11 Ekim, İzmir, Türkiye, 301-305.
- Momol, M. T., Yeğen, O., Basım, H. and Rudolph, K., 1992. Identification of *Erwinia amylovora* and the occurrence of fire blight of pear in Western Mediterranean Region of Turkey. The Journal of Turkish Phytopath., 21, 1, 41-47.
- Montesinos, E. and Vilardell, P., 1990. Relationships among population levels of *Pseudomonas syringae*, amount of ice nuclei and incidence of blast of dormant flower buds in commercial pear orchards in Catalunya, Spain. Phytopathology, 81, 113-119.
- Moore, L. W. and Allen, J., 1986. Controlled heating of root-pruned dormant *Prunus* spp. seedlings before transplanting to prevent crown gall. Plant Dis., 70, 532-536.
- Moore, L. W. and Cooksey, D. C., 1981. Biology of *Agrobacterium tumefaciens*: Plant Interaction. Pages 15-46 in: The Biology of Rhizobiaceae. Suppl. Int. Rev. Cytol. Suppl. 113. K. Giles, ed. Academic Press, New York.
- Moore, L. W., Aichele, M. D., Millikan, D. F. and Johnson, H. G., 1980. Reevaluating hairy root disease. Am. Nurseryman, 151, 2, 116-117.
- Mourgues, F., Brisset, M. N. and Chevreau, E., 1998. Strategies to improve plant resistance to bacterial diseases through genetic engineering. Trends Biotechnol., 16, 203-209.
- Münzinger, M., Taraz, K., Budzikiewicz, H., Drechsel, H., Heymann, P., Winkelmann, G., and Meyer, J. M., 1999. S,S-rhizoferrin (enantio-rhizoferrin) a siderophore of *Ralstonia (Pseudomonas) pickettii* DSM 6297-the optical antipoda of R,R-rhizoferrin isolated fungi. BioMetals, 12, 189-193.
- Nelson, E. B., Chao, W. L., Norton, J. M., Nash, G. T. and Harman, G. E., 1986. Attachment of *Enterobacter cloacae* to hyphae of *Pythium ultimum* possible role in the biological control of *Pythium* preemergence damping off. Phytopathology, 76, 327-335.
- Nikaido, H., 1994. Prevention of drug access to bacterial targets: Permeability barriers and active efflux. Science, 264, 382-388.
- Norelli, J. L., Aldwinckle, H. S., Beer, S. V. and Lamb, R. C., 1987. The effects of virulence of *Erwinia amylovora* on the evaluation of fire blight resistance in *Malus*. Phytopathology, 77, 1551-1555.
- Norelli, J. L., Aldwinckle, H. S., Destefano-Beltran, L. and Jaynes, J. M., 1994. Transgenic 'Malling 26' apple expressing the attacin E gene has increased to *Erwinia amylovora*. Euphytica, 77, 123-128.
- Norelli, J. L., Aldwinckle, H. S. and Beer, S. V., 1984. Differential host X pathogen interactions among cultivars of apple and strains of *Erwinia amylovora*. Phytopathology, 74, 136-139.
- Norelli, J. L., Aldwinckle, H. S. and Beer, S. V., 1986. Differential susceptibility of *Malus* spp. Robusta 5, Novole and Ottawa 523 to *Erwinia amylovora*. Plant Dis., 70, 1017-1019.
- Norelli, J. L., Aldwinckle, H. S. and Beer, S. V., 1988. Virulence of *Erwinia amylovora* strains to *Malus* sp. Novole plants grown in vitro and in the greenhouse. Phytopathology, 78, 1292-1297.



- Norelli, J. L., Burr, T. J., Lo Cicero, A. M., Gilbert, M. T. and Katz, B. H., 1991. Homologous streptomycin resistance gene present among diverse gram-negative bacteria in New York State apple orchards. *App. and Env. Microbiology*, 57, 486-491.
- Norelli, J. L., Jensen, A., Momol, M. T. and Cummins, J. N., 1996. Increasing the resistance of apple rootstock to fire blight by genetic engineering. A progress report. *Acta Hort.*, 411, 409-411.
- Nunes, C., Usall, J., Teixido, N. and Vinas, I., 2001. Biological control of postharvest pear disease using a bacterium, *Pantoea agglomerans* CPA-2. *International Journal of Food Microbiology*, 70, 1-2, 53-61.
- Owings, M. A., 1996. Apple production Newsletter. Jr. Agricultural Extension Agent. <http://henderson.ces.state.nc.us/newsletters/apple/aug96/a.html>
- Öktem, Y. E. ve Benlioğlu, K., 1988a. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen ateş yanıklığı hastalığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*) üzerinde çalışmalar. V. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildiri Özetleri, 18-21 Ekim, Antalya-Türkiye, TUBITAK yayınları, TOAG,128, 643.
- Öktem, Y. E. and Benlioğlu, K., 1988b. Studies on fire blight (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*) of pome fruits. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 17, 3, 106.
- Özakman, M., 1995. Armut ağaçlarında *Erwinia amylovora*'nın epifitik popülasyonu üzerinde çalışma. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 32.
- Özaktan, H. ve Türküsay, H., 1994. Bazı epifitik bakterilerin ateş yanıklığı etmeni *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*'ya antagonistik etkileri üzerine araştırmalar. Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi, 25-28 Ocak, İzmir, Türkiye, 231-238.
- Paisley, R., 1995. MIS whole cell fatty acid analysis by gas chromatography. MIDI, Inc., Newark, DE, 5.
- Palleroni, N. J., Kunisawa, R., Contopoulou, R. and Doudoroff, N., 1973. Nucleic acid homologies in the genus *Pseudomonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 23, 333-339.
- Panogopoulos, C. G., and Crosse, J. E., 1964. Blossom blight and related symptoms caused by *Pseudomonas syringae* van Hall on pear trees. *Annu. Rep. East Malling Res. Stn. Kent*, 47, 119-122.
- Papavizas, G.C., 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Phytopathology*, 23, 23-54.
- Pascal, L., Charles, M., Jean-Pierre, P. and Marianne, K., 1997. Identification by PCR analysis on plasmid pEA29 of isolated of *Erwinia amylovora* responsible of an outbreak in Central Europe. Kluwer Academic Publishers, 92-98, Printed in the Netherlands.
- Pataky, N., 2000. Bacterial blast or fire blight? <http://www.ag.uiuc.edu/cespubs/hyg/htm/200004.html>.
- Paulitz, T. C., 1991. Effect of *Pseudomonas putida* on the stimulation of *Pythium ultimum* by seed volatiles of pea and soybean. *Phytopathology*, 81, 1282-1287.
- Paulitz, T. C., Anas, O. and Fernando, D. G., 1992. Biological control of *Pythium* damping-off by seed-treatment with *Pseudomonas putida*: relationship with ethanol production by pea and soybean seed. *Biocontrol Science and Technology*, 2, 193-201.

- Peel, M. M., Hibberd, A. J., Kink, B. M. and Williamson, H. G., 1988. *Alcaligenes piechaudii* from chronic ear discharge. *Journal of Clinical Microbiology*, 26, 8, 1580-1581.
- Pieterse, C. M. J., Wees, S. C. M., Hoffland, E., Pelt, J. A. and Loon, L. C., 1996. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. *Plant Cell*, 8, 8, 1225-1237.
- Ponsonnet, C. and Nesme, X., 1994. Identification of *Agrobacterium* strains by PCR-RFLP analysis of pTi and chromosomal regions. *Archives of Microbiology*, 161, 4, 300-309.
- Pusey, P. L., 1997. Crab apple blossoms as a model for research on biological control of fire blight. *Phytopathology*, 87, 1096-1102.
- Quigley, N. B., Mo, Y. Y. and Gross, D. C., 1993. *SyrD* is required for syringomycin production by *Pseudomonas syringae* pathovar *syringae* and is related to a family of ATP-binding secretion proteins. *Mol. Microbiol.*, 9, 787-801.
- Rademaker, J. L. W. and Bruijn, F. J., 1996. Characterization and classification of microbes by rep-PCR genomic fingerprinting and computer assisted pattern analysis. In: G. Caetano-Anolles & P. M. Gresshoff (eds): *DNA markers: Protocols, Applications and Overviews* J. Wiley & Sons, Inc., in press.
- Raupach, G. S. and Kloepper, J. W., 2000. Biocontrol of cucumber diseases in the field by plant growth-promoting rhizobacteria with and without methyl bromide fumigation. *Plant Dis.*, 84, 10, 1075.
- Remus, R., Ruppel, S., Jacob, H. J., Hecht-Buchholz, C. and Merbach, W., 2000. Colonization behaviour of two enterobacterial strains on cereals. *Biology and Fertility of Soil*. 30, 550-557.
- Rettori, D. and Duran, N., 1998. Production, extraction and purification of violacein and antibiotic pigment produced by *Chromobacterium violaceum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14, 5, 685-688.
- Reynoird, J. P., Mourgues, F., Norelli, J., Aldwinckle, H. S., Brisset, M. N. and Chevreau, E., 1999. First evidence for improved resistance to fire blight in transgenic pear expressing the *attacin E* gene from *Hyalophora cecropia*. *Plant Science*, 149, 21-31.
- Risse, D., Beiderbeck, H., Taraz, K., Budzikiewicz, H. and Gustine, D., 1998. Corrugatin a lipopeptide siderophore from *Pseudomonas corrugata*. *Z. Naturforsch*, 53, 295-304.
- Ritchie, D. F. and Klos, E. J., 1974. A laboratory method of testing pathogenicity of suspected *Erwinia amylovora* isolates. *Plant Disease Reporter*. 58, 2, 181-183.
- Robles, V. E., Ramirez, G. P., Gonzales, A. M. E., Sainz, M. G., Martinez, R. B., Duran, D. A. and Chavez, R. D., 1999. Application of gas chromatography in the identification of *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter agglomerans*. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*, 41, 1, 11-16.
- Romantschuk, M. and Bamford, D. H., 1986. The causal agent of halo blight in bean, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, attaches to stomata via its pili. *Microbial Pathogenesis*, 1, 139-148.
- Rommens, C. M. and Kishmore G. M., 2000. Exploiting the full potential of disease-resistance genes for agricultural use. *Current Opinion in Biotechnology*, 11, 120-125.

- Ross, A.F., 1961. Localized acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive hosts. *Virology*, 14, 329-339.
- Roy, M. A., 1988. Use of fatty acids for the identification of phytopathogenic bacteria. *Plant Dis.*, 72, 460.
- Ryals, J., Uknes, S. and Ward, E., 1994. Systemic acquired resistance. *Plant Physiol.*, 104, 1109-1112.
- Sahin, F., Kotan, R. and Dönmez, M. F., 1999. First report of bacterial blight of Mulberries caused by *Pseudomonas syringae* pv. *mori* in the eastern Anatolia Region of Turkey. *Plant Dis.*, 83, 1176.
- Saiki, R., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K. B., Horn, G. T., Erlich, H. A., and Arnheim, N. 1985. Enzymatic application of  $\beta$ -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230:1350-1354.
- Saleh, O. I., Huang, P. U. and Huang, S. H., 1997. *Bacillus pumilus*, the cause of bacterial blotch of immature balady peach in Egypt. *J. Phytopathology*, 145, 447-453.
- Sasser, M., 1990. Identification of bacteria through fatty acid analysis in *Methods in phytobacteriology* (Z. Klement, K. Rudolph, and D. Sands, eds.). Akademia Kiado, Budapest, 199-204.
- Sato, M., Nishiyama, K. and Shirata, A., 1983. Involvement of plasmid DNA in the productivity of coronatine by *Pseudomonas syringae* pv. *atropurpurea*. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 49, 522-528.
- Saygılı, H. and Üstün, N., 1996. Studies on effectiveness of some chemicals to fire blight pathogen (*Erwinia amylovora* Burr. Winslow *et al.*). *Acta Hort.*, 411, 331-335.
- Saygılı, H., 1995. Fitobakteriyoloji. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 203, Bornova-İZMİR.
- Schaad, N. W., 1994. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. APS Press, The American Phytopathological Society, 164, St. Paul, Minnesota 55121, USA.
- Scheck, H. J., Canfield, M. L., Pscheidt, J. W. and Moore, L. W., 1997. Rapid evaluation of pathogenicity in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* with a lilac tissue culture bioassay and syringomycin DNA probes. *Plant Dis.*, 81, 905-910.
- Scheck, H. J., Pscheidt, J. W. and Moore, L. W., 1996. Copper and streptomycin resistance in strains *Pseudomonas syringae* from Pacific Northwest Nurseries. *Plant Dis.*, 80, 1034-1039.
- Scherff, R. H., 1973. Control of Bacterial blight of soybean by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Phytopathology*, 63, 400-402.
- Scholz, B. K., Jakobek, J. L. and Lindgren, P. B., 1994. Restriction fragment length polymorphism evidence for genetic homology within a pathovar of *Pseudomonas syringae*. *App. and Env. Microbiology*, 1093-1100.
- Schroth, M. N. and Hancock, J. G., 1982. Disease suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science*, 216, 1376-1381.
- Schroth, M. N., Thomson, S. V. and Moller, W. J., 1971. Streptomycin resistance in *Erwinia amylovora*. *Phytopathology*, 69, 565-568.
- Schwartz, T., Bernhard, F., Theiler, R. and Geider, K. 1991. Diversity of fire blight pathogen in production of dihydrophenylalanine a virulence factor of some *Erwinia amylovora* strains. *Phytopathology*, 81, 873-878.

- Scortichini, M. and Morone, C., 1997. Bacterial blister bark of apple trees in Italy. *J. Phytopathology*, 145, 401-403.
- Scortichini, M., Janse, J. D., Rossi, M. P. and Derks, J. H. J., 1996. Characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* strains from different host by pathogenicity test and analysis of whole-cell fatty acids and whole-cell proteins. *J. Phytopathol.*, 144, 69-74.
- Shapira, R., Ordentlich, A., Chet, I. and Oppenheim, A. B., 1989. Control of plant diseases by chitinase expressed from cloned DNA in *Escherchia coli*. *Phytopathology*, 79, 1246-1249.
- Sholberg, P. L. and Quamme, H. A., 1999. Dieback of pome fruit rootstocks caused by *Pseudomonas syringae*. *Can. J. Planth Sci.*, 79, 387-394.
- Shulaev, V., Leon, J. and Raskin, I., 1995. Is salicylic acid a translocated signal of systemic acquired resistance in tobacco? *The Plant Cell*, 7, 161-1701.
- Silverman, P., Nuckles, E., Ye, X.S., Kuc, J. and Raskin, I., 1993. Salicylic acid, ethylene, and pathogen resistance in tobacco. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 6, 6, 775-781.
- Smith, E. F., 1920. An introduction to bacterial diseases of plants. W. B. Saunders, Philadelphia, 1, 688.
- Smith, T. J., 2001. Principles of fire blight control in the Pacific Northwest USA. <http://www.ncw.wsu.edu/fireblt6.htm>.
- Sobieczewski, P., Chiou, C. S and Jones, A. L., 1991. Streptomycin-resistant epiphytic bacteria with homologous DNA for streptomycin resistance in Michigan apple orchards. *Plant Dis.*, 75, 1110-1113.
- Stead, D. E., 1988. Identification of bacteria by computer-assisted fatty acid profiling. *Acta Hort.*, 225, 39-46.
- Stead, D. E., 1992. Grouping of plant pathogenic and some other *Pseudomonas* spp. by using cellular fatty acid profiles. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42, 281-295.
- Stefan, B., Peter, B., Beate, V., Matthias, U., Caro, L. B. and Klaus, G., 1994. Identification and relatedness of coronatine-producing *Pseudomonas syringae* pathovars by PCR analysis and sequence determination of the amplification products. *App. and Env. Microbiology*, 2924-2930.
- Stelljes, K. B. and Senft, D., 1998. Fire blight control nature's way, *Agricultural Research*, 9, 14-16.
- Stephenson, J. R. and Warnes, A., 1996. Release of genetically modified micro-organisms into the environment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 65, 1, 5-14.
- Strittmatter, G., Janssens, J., Opsomer, C., and Botterman, J., 1995. Inhibition of fungal disease development in plants by engineering controlled cell death. *Biotechnology*, 13, 1085-1088.
- Sturz, A. V., Christie, B. R., Matheson, B. G. and Nowak, J., 1997. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stem and foliage and their influence on host growth. *Biology and Fertility of Soil*, 25, 13-19. (ISSN: 1432-0789 electronic version).
- Sundheimk, L., Poplawski, A. R. and Ellingboe, A. H., 1988. Molecular cloning of two chitinase genes from *Serratia marcescens* and their expression in *Pseudomonas* species. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 33, 483-491.

- Sundin, G. W. and Bender, C. L., 1993. Ecological and genetic analysis of copper and streptomycin resistance in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *App. and Env. Microbiology*, 59, 1018-1024.
- Şahin, F., 1999. Mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanısı (Microbial Identification System). *Uygulamalı Moleküler Biyoloji Teknikleri Kursu*. Atatürk Üniversitesi Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, 66, Erzurum-Türkiye.
- Şahin, F., Kotan, R., Demirci, E. ve Miller, S. A., 2000. Domates ve biber bakteriyel leke hastalığı ile biyolojik savaşta actigard ve bazı antagonistlerin etkinliği. *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 31, 1, 11-16.
- Teviotdale, B. L. and Gubler, W. D., 2000. Apple bacterial blossom blast. UC., IPM Pest Managment Guidelines Apple., 7/98. <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r4100811.html>.
- Thomas, M. B. and Willis, A. J., 1998. Biocontrol-risky but necessary? *Trends in Ecology & Evolution*. 13, 8, 325-329.
- Thomson S. V., 1986. The role of the stigma in fire blight infections. *Phytopathology*, 76, 476-482.
- Thornley, M. J., 1960. The differentiation of *Pseudomonas* from other gram negative bacteria on the basis of arginin metabolism. *J. Appl. Bact.*, 23,37-52.
- Tokgönül, S. ve Başpınar, N., 1995. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında ateş yanıklığı hastalığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*)'nın mücadelesi üzerinde çalışmalar. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildiriler, 26-29 Eylül, Adana, Türkiye, 411-413.
- Tokgönül, S., 1991. Doğu Akdeniz Bölgesinde armutlarda ateş yanıklığı hastalığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*)'nın tanısı ve yaygınlığı üzerine araştırmalar. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Yüksek Lisans Tezi. 61.
- Tokgönül, S. ve Çınar, Ö., 1991. Doğu Akdeniz Bölgesinde armutlarda ateş yanıklığı hastalığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*)'nın tanısı ve yaygınlık durumu üzerinde araştırmalar. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, İzmir, Türkiye, 303-306.
- Tokgönül, S. ve Çınar, Ö., 1995. Doğu Akdeniz Bölgesinde armutlarda ateş yanıklığı hastalığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*)'nın enfeksiyon risklerinin iklim koşulları ile ilişkisi üzerinde çalışmalar. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Adana, Türkiye, 407-410.
- Tokgönül, S., 1991. Doğu akdeniz bölgesinde armutlarda ateş yanıklığı hastalığı *Erwinia amylovora* (Burr. Winslow *et al.*)'nın tanısı ve yaygınlık durumu üzerine araştırmalar. Ziraat Mücadele Araştırma Enstitüsü, 49, Adana, Türkiye.
- Tokgönül, S., 1994. Reactions of some loquat cultivars to fire blight (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*) 9. Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası-Aydın, Türkiye, 291-292.
- Tokunaga, Y., Keon, J.P.R. and Hargreaves, J.A., 1998. Benzothiadiazole activates systemic acquired resistance gene expression and disease resistance in barley. *ICPP98 7th International Congress of Plant Pathology*, 2, Theme 1, 1, 4, 23.
- Turan, K. ve Tokgönül, S., 1993. Akdeniz Bölgesi meyve fidanlıklarında görülen fungal ve bakteriyel hastalıkların tespiti üzerinde çalışmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 33, 3-4, 109-118.



- Türkoğlu, K. ve Öktem, Y. E., 1976. Ateş yanıklığı etmeni (*Erwinia amylovora* (BURR.) WINSLOW ET AL.)'nin teşhisinde kullanılmak üzere antiserum hazırlanması üzerinde çalışmalar. Bitki Koruma Bülteni., 16, 2, 101-105.
- Tyler, S. D., Strathdee, C. A., Rozee, K. R. and Johnson, W. M., 1995. Oligonucleotide primers designed to differentiate pathogenic *Pseudomonas* on the basis of the sequencing of genes coding for 16S-23S rRNA internal transcribed spacers. Clin. Diag. Lab. Immunol, 2, 448-453.
- Utkhede, R. S., 1996. Potential and problems of developing bacterial biocontrol agents. Can. J. of Plant Path., 18, 455-462.
- Ülke, G., 1999. Ateş yanıklığı hastalığı etmeni (*Erwinia amylovora*)'nin biyolojik mücadelesi üzerine bir araştırma. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Yüksek Lisans Tezi. 42.
- Üstün, N., 1995. Ateş yanıklığı etmeni (*Erwinia amylovora* Burril Ninslow *et al.*)'ne etkili kimyasalların belirlenmesi üzerinde araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 23.
- Van der Zwet, T. and Beer, S. V., 1991. Fireblight its nature, prevention and control, a practical guide to integrated disease management. U. S. Department of Agriculture, Agriculture Information Bulletin No: 631, 83.
- Van der Zwet, T. and Beer, S. V., 1995a. Fire blight-its nature, prevention and control, USDA Agriculture Information Bulletin Number 631. <http://www.caf.wvu.edu/kearneysville/tables/pearfireblightsus.htm>.
- Van der Zwet, T. and Beer, S. V., 1995b. Fire blight-its nature, prevention and control, USDA Agriculture Information Bulletin Number 631. <http://www.caf.wvu.edu/kearneysville/tables/fbsus.htm>.
- Van der Zwet, T. and Keil, H. L., 1979. Fire Blight-A Bacterial Disease of Rosaceous Plants. U. S. Dep. Agric. Handb., 510, USA.
- Van der Zwet, T., 1996. Present worldwide distribution of fire blight. Acta Hort., 411, 331-335.
- Van der Zwet, T., Steiner, P., Barrat, J. G., Hickey, K. D. and Yoder, K. S., 1987. Development of a blossom blight prediction system for Appalachian fruit growing region. Acta Hort., 217, 125-132.
- Van der Zwet, T., Yoder, K. S. and Biggs, A. R., 2001. Blister spot, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. [http://www.caf.wvu.edu/kearneysville/disease\\_descriptions/omblist.html](http://www.caf.wvu.edu/kearneysville/disease_descriptions/omblist.html).
- Van der Zwet, T., Zoller, D. C. and Thomson, S. V., 1988. Controlling fire blight of pear and apple by accurate prediction of the blossom blight phase. Plant Dis., 72, 467-472.
- Van Loon, L. C. and Antoniw, J. F., 1982. Comparison of the effects of salicylic acid and ethephon with virus induced hypersensitivity and acquired resistance in tobacco. Plant Pathology, 88, 237-256.
- Van Zyl, E. and Steyn, P. L., 1990. Differentiation of phytopathogenic *Pseudomonas* and *Xanthomonas* species and pathovars by numerical taxonomy and protein gel electrophoregrams. Syst. Appl. Microbiol., 13, 60-71.
- Vanneste, J. L., 1995. *Erwinia amylovora*. In: Singh US, Singh RP and Kohmoto K (eds) Pathogenesis and host specificity in plant disease: histopathological, biochemical, genetic and molecular bases. Vol. 1 Prokaryotes, 21-41, Pergamon Press, Oxford, London.

- Vauterin, L., Yang, P. and Swings, J., 1996. Utilization of fatty acid methyl esters for the differentiation of new *Xanthomonas* species. *Int. Journal of Systematic Bacteriology*, 298-304.
- Vazquez, P., Holguin, G., Puente, M. E., Lopez-Cortes, A. and Bashan, Y., 2000. Phosphate solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of manroves in a semiarid coastal lagoon. *Biology and Fertility of Soils*, 30, 5/6, 460-468.
- Verma, S. C., Ladha, J. K. and Tripathi, A. K., 2001. Evaluation of plant growth promoting and colonization and ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *Journal of Biotechnology*, 91, 2-3, 127-141.
- Verniere, C., Pruvost, O., Civerolo, E. L., Gambin, O., Jacquemound-Collet, J. P. and Luisetti, J., 1993. Evaluation of the biolog substrate utilization system to identify and assess metabolic variation among strains of *Xanthomonas campestris* pv. *citr.*, *App. and Env. Microbiology*, 243-249.
- Vicedo, B., Penalver, R., Asins, M. J. and Lopez, M. M., 1993. Biological control of *Agrobacterium tumefaciens* colonization and pAgK 84 transfer with *Agrobacterium radiobacter* K84 and the tramutant strain K1026. *App. and Env. Microbiology*, 59, 309-315.
- Watkins, J. E., 1992. Fire blight of apple, pear and woody ornamentals. *Plant Diseases*, G92-1120-A, Electronic version. <http://www.ianr.unl.edu/pubs/plantdisease/g1120.htm>
- Wayne Moss, C., Samuels, S. B. and Weaver, R. E., 1972. Celluler fatty acid composition of selected *Pseudomonas* species. *App. and Env. Microbiology*, 24, 596-598.
- Wayne Moss, C., Samuels, S. B., Liddle, J. and McKinney, R. M., 1973. Occurrence of branched-chain hydroxy fatty acid in *Pseudomonas maltophilia*. *Journal of Bacteriology*, 12, 1018-1024.
- Weingart, H. and Völksch, B., 1997. Genetic fingerprinting of *Pseudomonas syringae* pathovars using ERIC-, REP-, and IS50-PCR. *J. Phytopathology*, 145,339-345.
- Whiteman, S. A. and Stewart, A., 1998. Suppression of *Botrytis cinerea* sporulation on irradiated grape leaf tissue by the antagonistic bacterium *Serratia liquefaciens*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, H98022.
- Whipps, J. M., 1992. Status of biological disease control in horticulture. *Biocontrol Science and Technology*. 2, 3-24.
- White, B. A., 1993. PCR Protocols Current Methods and Applications. Humana Press, 397, New Jersey, USA. Blister spot of apples. <http://www.gov.on.ca/OMAFRA/english/crops/facts/89-100.htm>
- White, F. F., Ghidossi, G., Gordon, M. P. and Nester, E. W., 1982. Tumor induction by *Agrobacterium rhizogenes* involves the transfer of plasmid DNA to the plant genome. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 79, 3193-3197.
- Whitesides, S. K. and Spotts, R. A., 1991. Frequency, distribution and characteristics of endophytic *Pseudomonas syringae* in pear trees. *Phytopathology*, 81, 453-457.
- Woese, C. R., 1987. Bacterial evolution. *Microbial. Rev.*, 51, 221-271.
- Wright, S. A., Zumoff, C. H., Schneider, L. and Beer, S. V., 2001. *Pantoea agglomerans* strain EH318 produces two antibiotics that inhibit *Erwinia amylovora* in vitro. *App. and Env. Microbiology*, 67, 1, 284-292.
- Yahyaoğlu, M. M., 1998. Bursa yöresinde ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* (Burr) Winslow *et al.*) üzerinde çalışmalar. Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 55.

- Yen-Li Chou, M. D., Po-Yi Yangi, M. D., Chung-Chi Huang, M. D., Hsieh-Shong Leu, M. D., Thomas, C. Y. and Tsao, M. D., 2000. Fatal and non-fatal chromobacterial septicemia report of two cases. *Chang Gung Med. J.*, 23, 492-497.
- Yessad-Carreau, S., Manceau, C. and Luisetti, J., 1994. Occurrence of specific reactions induced by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on bean pods, lilac and pear plants. *Plant Pathology*, 43, 528-536.
- Young J. M., Bradbury, J. F., Davis, R. E., Dickey, R. S., Ercolani, G. L., Hayward, A. C. and Vidaver, A. K., 1991. Nomenclatural revisions of plant pathogenic bacteria and list of names 1980-1988. *Rev. of Plant Path.*, 70, 211-221.
- Young, J. M., 1991. Pathogenicity and identification of the lilac pathogen, *Pseudomonas syringae* van Hall (1902): *Ann. Appl. Biol.* 18, 283-298.
- Zdor, R. and Anderson, A. J., 1992. Influence of root colonizing bacteria the defense response on of bean. *Plant Soil*, 140, 99-107.
- Zeller, W. and Wolf, B., 1996. Studies on biological control of fire blight. *Acta Hort.*, 411, 341-345.
- Zhang, J. H., Quigley, N. B. and Gross, D. C., 1997. Analysis of the *syrP* gene, which regulates syringomycin synthesis by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *App. and Env. Microbiology*, 63, 2771-2778.
- Zhang, Y. and Geider, K., 1997. Differentiation of *Erwinia amylovora* strains by pulsed-field gel electrophoresis. *App. and Env. Microbiology*, 63, 4421-4426.

## EKLER

## EK 1

E024047.92A [1053] Rk257

Page 1

Volume: DATA File: E024047.92A Seq Counter: 12 ID Number: 1053  
 Type: Samp Bottle: 11 Method: TSBA40  
 Created: 4/4/02 11:33:49 PM  
 Sample ID: Rk257

## Profile:

RT	Response	Av/Hi	RFact	ECL	Peak Name	Percent	Comment1	Comment2
1.565	1.672E+8	0.023	----	7.029	SOLVENT PEAK	----	< min rt	
1.678	9943	0.023	----	7.265		----	< min rt	
1.740	13956	0.026	----	7.395		----	< min rt	
1.776	5668	0.020	----	7.471		----	< min rt	
1.807	3040	0.034	----	7.535		----	< min rt	
1.869	1099	0.021	----	7.663		----	< min rt	
2.247	1765	0.095	----	8.457		----	< min rt	
2.693	197	0.028	1.405	9.387	8:0 3OH	0.20	ECL deviates -0.005	
2.987	252	0.026	1.345	10.000	10:0	0.25	ECL deviates 0.000	Reference -0.010
3.537	436	0.028	----	10.838		----		
4.008	4905	0.027	1.219	11.419	10:0 3OH	4.36	ECL deviates -0.003	
4.514	7133	0.030	1.173	11.999	12:0	6.27	ECL deviates -0.001	Reference 0.009
4.614	653	0.035	1.167	12.093	11:0 ISO 3OH	0.55	ECL deviates -0.001	
5.838	3286	0.035	1.091	13.176	12:0 2OH	2.61	ECL deviates -0.001	
6.200	4617	0.037	1.073	13.453	12:0 3OH	3.61	ECL deviates -0.001	
9.719	50531	0.044	0.942	15.816	Sum In Feature 3	34.68	ECL deviates -0.006	16:1 w7c/15 iso 2OH
10.017	39064	0.041	0.934	16.000	16:0	26.57	ECL deviates 0.000	Reference -0.006
11.080	540	0.032	0.905	16.631	17:0 ISO	0.36	ECL deviates 0.001	Reference 0.005
11.513	1346	0.040	0.894	16.888	17:0 CYCLO	0.88	ECL deviates 0.000	Reference -0.006
12.250	635	0.036	----	17.318		----		
12.598	1173	0.045	0.867	17.520	16:0 3OH	0.74	ECL deviates 0.001	
13.120	28223	0.046	0.855	17.822	18:1 w7c	17.57	ECL deviates -0.001	
13.426	858	0.039	0.848	17.999	18:0	0.53	ECL deviates -0.001	Reference 0.007
13.564	698	0.035	0.844	18.079	11 methyl 18:1 w7c	0.43	ECL deviates -0.002	
15.774	683	0.038	0.796	19.366	19:0 10 methyl	0.40	ECL deviates -0.002	
----	50531	----	----	----	Summed Feature 3	34.68	16:1 w7c/15 iso 2OH	15:0 ISO 2OH 16:1 w7c

ECL Deviation: 0.003

Reference ECL Shift: 0.008

Number Reference Peaks: 6

Total Response: 145429

Total Named: 144358

Percent Named: 99.26%

Total Amount: 137268

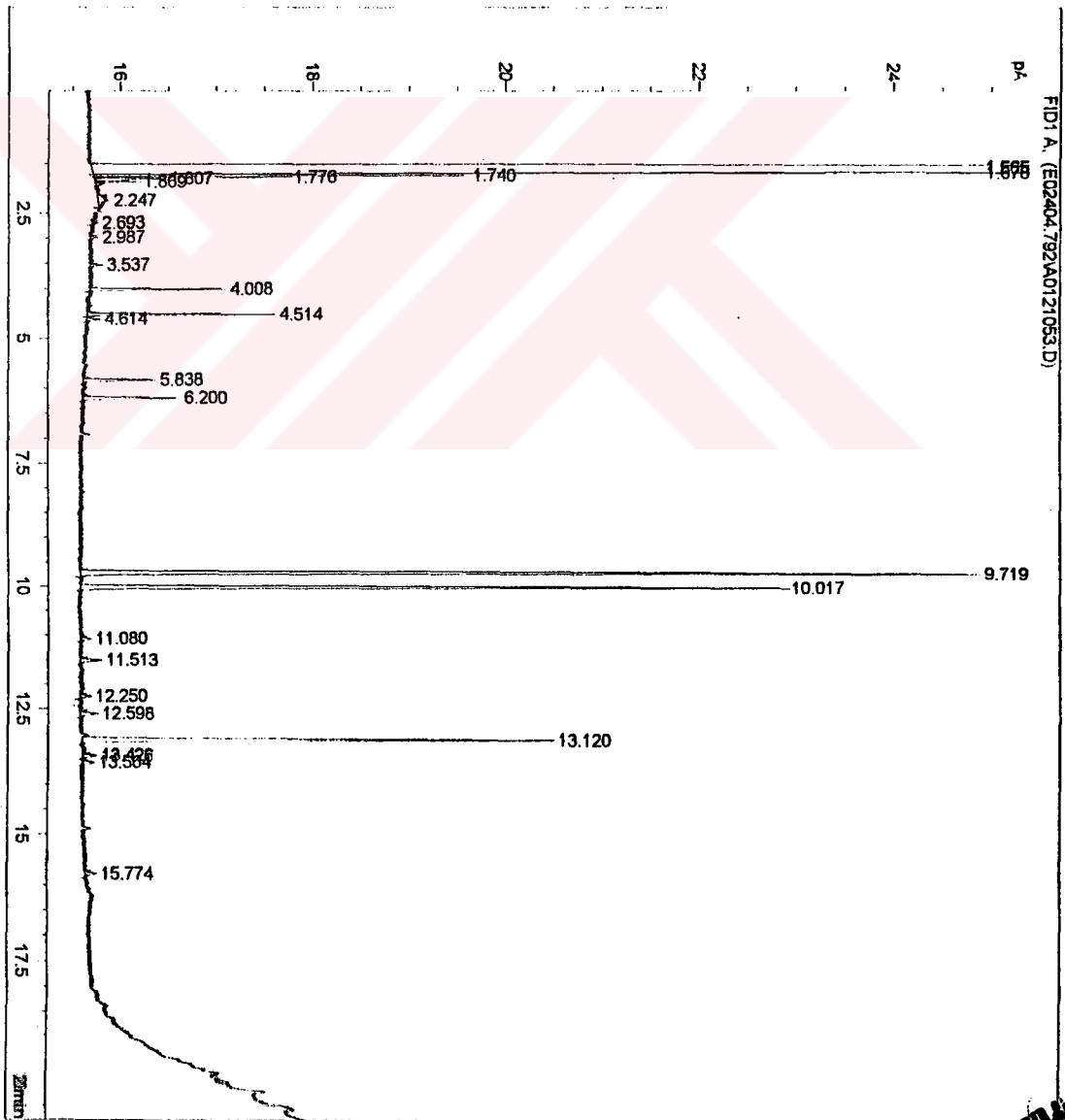
## Matches:

Library	Sim Index	Entry Name
TSBA40 4.10	0.851	Pseudomonas-syringae-syringae
	0.827	Pseudomonas-syringae-phaseolicola
	0.783	Pseudomonas-syringae-glycinea
	0.771	Pseudomonas-fluorescens-biotype F
	0.734	Chromobacterium-violaceum
	0.675	Pseudomonas-viridiflava*
	0.658	Pseudomonas-syringae-papulans
	0.644	Pseudomonas-syringae-maculicola
	0.644	Pseudomonas-savastanoi pv. fraxinus
	0.633	Pseudomonas-syringae-pisi
	0.625	Pseudomonas-syringae-tabaci
	0.620	Pseudomonas-cichorii*
	0.615	Pseudomonas-putida-biotype B*
	0.590	Pseudomonas-syringae-morsprunorum
	0.575	Pseudomonas-syringae-atrofaciens
	0.562	Pseudomonas-syringae-tomato
	0.561	Pseudomonas-coronafaciens

EK 2

Data File C:\SHERLOCK\RAW\E02404.792\A0121053.D  
Sherlock Id: Rk257

=====  
Injection Date : 4/4/02 11:37:17 PM  
Sample Name : 1053  
Acq. Operator :  
Vial : 11  
Inj : 1  
Inj Volume : 2 ul  
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\SMIDIŞA.M  
Last changed : 4/4/02 11:33:49 PM  
MIDI Aerobe method saved on ChemStation Version 4.02  
Switched to new integration algorithm 11-Nov-98  
=====



\*\*\* End of Report \*\*\*

**ZC YÖNEKÇÜLÜK MÜHÜRÜ**  
**DOKÜMANTASYON BİRİMİ**



## ÖZGEÇMİŞ

Erzurum'un Şenkaya İlçesi Gaziler Köyü'nde 1968 yılında doğdu. İlk ve orta öğrenimini aynı yerde, lise öğrenimini ise Erzurum'da tamamladı. 1987 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nden 1991 yılında mezun oldu. 1995 yılında aynı bölümde yüksek lisansa başladı. 1996 yılında yüksek lisans tez çalışmasını yapmak üzere 6 ay süreyle Amerika Birleşik Devletleri, Ohio State Üniversitesi'ne gitti. 1997 yılında yüksek lisansını bitirdi ve aynı bölümde doktora başladı. 1998 yılında Atatürk Üniversitesi Oltu Meslek Yüksekokulu Gıda Teknolojisi Bölümü'ne araştırma görevlisi olarak atandı. Hâlen bu görevini sürdürmektedir.

