



**ELMA AĞAÇLARINDA ATEŞ YANIKLIĞI HASTALIĞINA
NEDEN OLAN *Erwinia amylovora*' NİN RİZOBAKTERİLER
İLE BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI**

Sevgi KAYA
Yüksek Lisans Tezi

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
I. Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ
II. Danışman: Prof. Dr. İrfan ÇORUH
2019

T.C.
İĞDIR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELMA AĞAÇLARINDA ATEŞ YANIKLIĞI HASTALIĞINA NEDEN OLAN *Erwinia amylovora* ' NİN RİZOBAKTERİLER İLE BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Sevgi KAYA

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

İĞDIR

2019

Her hakkı saklıdır

Dr. Öğrt. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ ve Prof. Dr. İrfan ÇORUH danışmanlığında Sevgi KAYA tarafından hazırlanan bu çalışmatarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Bitki Koruma Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. İrfan ÇORUH.....İmza:

Üye: Dr. Öğrt. Üyesi Mustafa USTA..... İmza:

Üye: Dr. Öğrt. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ.....İmza:

Üye: Dr. Öğrt. Üyesi Ramazan GÜRBÜZ İmza:

Üye: Dr. Öğt. Üyesi Tuba GENÇ KESİMCİ.....İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun / /2018 tarih ve 2018/sayılı kararı ile onaylanmıştır.

(imza)

.....

Doç. Dr. Süleyman TEMEL

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

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

Sevgi KAYA



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

ÖZET

ELMA AĞAÇLARINDA ATEŞ YANIKLIĞI HASTALIĞINA NEDEN OLAN *Erwinia amylovora* ' NİN RİZOBAKTERİLER İLE BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

KAYA, Sevgi

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

1. Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ

2. Tez Danışmanı: Prof. Dr. İrfan ÇORUH

Aralık 2019, 57 sayfa

Bu çalışmada 130 PGPR strainin ateş yanıklığı etmeni *Erwinia amylovora*' nın gelişimi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Patojen olarak Iğdır ilinde hastalıklı elma ağaçlarından izole edilen 5 *Erwinia amylovora* straini (E-3, E-20, E-67, E-99 ve E-100) kullanılmıştır. *In vitro* ortamda 130 bakteriden 34 strain patojen üzerinde etkili bulunmuştur. Etkili bulunan BY-6-*Pseudomonas putida* ve MÜ-1-*Pantoea agglomerans* 'ın % 80 hastalığı engelleme oranı ile *in vivo* ortamda en başarılı strainler olduğu tespit edilmiştir. Diğer strainlerin ise hastalık gelişimini % 9–60 oranında engelledikleri saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik Kontrol, *Erwinia amylovora*, PGPR, Elma, Ateş Yanıklığı

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF BIOLOGICAL CONTROL POSSIBILITIES BY USING PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA AGAINST *Erwinia amylovora* CAUSES FIRE BLIGHT ON APPLE

KAYA, Sevgi

Master Thesis, Plant Protection Main Discipline

1stThesis Adviser: Assist. Prof. Dr.Mesude Figen DÖNMEZ

2ndThesis Adviser: Prof. Dr. İrfan ÇORUH

December 2019, 57 pages

In this study, the effect of 130 PGPR strains on the development of *Erwinia amylovora* was investigated. Five *Erwinia amylovora* strains (E-3, E-20, E-67, E-99 and E-100) isolated from diseased apple trees in Iğdır province were used as pathogen. *In vitro*, 34 strains out of 130 bacteria were found to be effective on the pathogen. *In vivo* BY-6-*Pseudomonas putida* and MÜ-1 -*Pantoea agglomerans* were found to be the most successful strains with 80% disease inhibition rate. Other strains were found to inhibit the disease development by 9-60 %.

KeyWords: Biological Control, *Erwinia amylovora*, PGPR, Apple, Fire Blight

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Ülkemizde tarımsal üretimin önemli problemlerinden birisi, tarımsal ilaçların bilinçsizce ve dengesiz olarak bitkisel üretimde kullanılmasıdır. Bu sorun günümüzde giderek artmış ve insan sağlığını tehdit eder bir duruma gelmiştir. Aşırı kimyasal kullanımı sonucunda bitkiler, mikroorganizmalar, doğal düşmanlar, hayvanlar ve insanlar zarar görmüş, ekosistemin dengesi bozulmuştur. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında *Erwinia amylovora*'nın neden olduğu ateş yanıklığı hastalığı ülkemizde önemli bir ekonomik sorun teşkil etmektedir. Karantinaya tabi bu hastalık için kültürel önlemler yetersiz kalmakta, kimyasal kontrol yöntemleri de hem çevreye, hem de başta insanlar olmak üzere tüm canlılara zarar vermektedir. Bu durumu düzeltebilmek ve daha yaşanılabilir bir dünyada yaşamak için hastalıklara karşı biyolojik kontrol çalışmalarına başlanmıştır ve birçok çalışmadan olumlu sonuçlar alınmıştır.

Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler ile biyolojik mücadele hakkında mesleki birikimleri ile beni bu çalışmada yönlendirip yardımcı olan ve emek gösteren, kıymetli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi M. Figen DÖNMEZ'e, her zaman yanıbaşımdayken ve desteklerini esirgemeyen çok değerli aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Sevgi KAYA

Aralık, 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Elmanın Önemi ve Yetiştiriciliği.....	1
1.2. Ateş Yanıklığı Hastalığı (<i>Erwinia amylovora</i>)	3
1.2.1. Hastalık etmeni.....	4
1.2.2. Yaşam döngüsü ve epidemiyolojisi.....	6
1.3. Hastalığın Mücadelesi.....	10
1.3.1. Yasal önlemler.....	10
1.3.2. Kültürel Mücadele.....	10
1.3.3. Kimyasal mücadele.....	12
1.3.4. Hastalıklara dayanıklı bitki kullanımı.....	13
1.3.5. Biyolojik mücadele.....	14
1.4. Biyolojik Mücadele Mekanizmaları.....	17
2. KAYNAK ÖZETLERİ	21
3. MATERYAL ve METOT	26
3.1. Materyal.....	26
3.1.1. Çalışmada kullanılacak patojen.....	26
3.1.2. Çalışmada kullanılan aday antagonist bakteriler	26
3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri.....	27
3.1.4. Çalışmada kullanılan test bitkisi	27
3.2. Yöntem.....	27
3.2.1. <i>In vivo</i> ortamda aday antagonist strainlerinin <i>E. amylovora</i> 'ya karşı biyokontrol etkisinin belirlenmesi.....	27
3.2.2. Aday antagonist strainlerinin elma yapraklarında fitotoksik etkisini	

test edilmesi.....	29
3.2.3. Patojen ve aday antagonist strainlerine ait süspansiyonları hazırlanması.....	29
3.2.4. <i>In vivo</i> ortamda aday antagonist strainlerin <i>E. amylovora</i> 'ya karşı biyokontrol etkisinin belirlenmesi.....	29
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	31
4.1. <i>In vitro</i> Ortamda Aday Antagonist Strainlerinin <i>E.amylovora</i> 'ya Karşı Biyokontrol Etkisinin Belirlenmesi.....	31
4.2. Aday Antagonist Strainlerinin Elmada Fitotoksik Etkisinin Test Edilmesi....	39
4.3. <i>In vivo</i> Ortamda Aday Antagonist Strainlerin <i>E. amylovora</i> 'ya Karşı Biyokontrol Etkisinin Belirlenmesi.....	39
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ	58

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%.....	Yüzde
°C.....	Santigratderece
µl.....	Mikrolitre
Cm.....	Santimetre
Da.....	Dekar
dk.....	Dakika
Fe ⁺³	Demir
g.....	Gram
Kg.....	Kilogram
L.....	Litre
Mg.....	Miligram
ml.....	Mililitre
mm.....	Milimetre
N.....	Azot
Nm.....	Nanometre
pv.....	Pathovar
s.....	Saniye
sa.....	Saat
sp.....	Tür

Kısaltmalar

Cmm	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>
Ea	<i>Erwinia amylovora</i>
Eh	<i>Erwinia herbicola</i>
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
NA	Nutrient Agar
NAS	Nutrient Starch Agar
NB	Nutrient Brot

<i>MIS</i>	Mikrobiyal tanı sistemi (Microbial Identification System)
<i>PCR</i>	Polimeraz zincir reaksiyonu
<i>PGPR</i>	Bitki gelişimini arttıran kök bakterileri
<i>SA</i>	Salisilik asit
<i>SAR</i>	Systemic Aquaried Resistance
<i>SIR</i>	Systemic Induced Resistance
<i>Xav</i>	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i>
<i>Xcv</i>	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. <i>Erwinia amylovora</i> 'nın yaşam döngüsü.....	9
Şekil 3.2. Bakterilerin besiyerine çizgi ekim yapılması ve gelişimlerinin kontrolü.....	28
Şekil 3.3. Petride aday PGPR strainlerinin antagonistik özelliklerinin belirlenmesi...	28
Şekil 4.4. Strain YÖ-12'nin hızlı bir şekilde gelişerek E-3 patojen strainini engellemesi.....	34
Şekil 4.5. a) Strain NK-18'in patojen E-67'ye olan antagonistik etkisi b) strain YS-14'ün patojen E-3'e olan antagonistik etkisi.....	35
Şekil 4.6. A) İnokulasyon sonucu yapraklarda oluşan hastalık belirtisi ve negatif kontrol etkisi B) MÜ-1 strainin hastalık gelişimini engellemesi.....	42
Şekil 4.7. A) MÜ-1 uygulaması sonrasında yaprakta hastalığın engellenmesi B) BY6 uygulaması sonrasında yaprakta hastalığın engellenmesi.....	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 4.1: Aday antagonist bakteri strainlerine ait bazı özellikler.....	31
Çizelge 4.2: Bakteri strainlerinin petri üzerindeki antagonistik özelliklerinin değerlendirilmesi	37
Çizelge 4.3: PGPR'lerin <i>Erwinia amylovora</i> 'nın oluşturduğu hastalık şiddetine etkisi.....	40
Çizelge 4.4: PGPR'lerin hastalık şiddetine ekisi (A) ve engelleme etkisi (%) (B).	43



1.GİRİŞ

1.1. Elmanın Önemi ve Yetiştiriciliği

Türkiye, dünya üzerindeki coğrafi konumu sebebiyle çok sayıda meyve çeşidi için oldukça elverişli bir iklime sahiptir. Bu bakımdan Türkiye, bahçe bitkileri kültürünün doğduğu yer ve dünyada yetişmekte olan birçok meyve çeşidinin ana vatanı konumundadır (Ağaoğlu ve ark., 1997). Türkiye’de yetiştiriciliği yapılmakta olan meyve çeşitlerinin önemli bir bütünü ılıman iklim meyve türleri oluşturmaktadır. Bu meyveler içerisinde yer alan elma, fındık, armut, şeftali, kayısı, erik, kiraz, ceviz, kestane, ayva, badem ve antep fıstığı gibi çeşitler yaygın bir biçimde yetiştirilmektedir (Anonim, 2016).

Elma insanların beslenmesi açısından büyük önem taşımakta, herkes tarafından zevkle yenilmektedir. Besin değeri çok yüksek olan bu meyve fazla oranda C vitamini, fenolik bileşenler ve kanser riskini, DNA hasarını azaltmayı sağlayan değerli antioksidantları yapısında bulundurmaktadır. Elde edilen meyvenin bir kısmı taze olarak tüketildiği gibi, bir kısmı da kurutulularak değerlendirilmektedir. Konserve sanayinde çeşitli ürünler halinde işlenmekte, içki ve şarap endüstrisinde (şarap, brandy vb.) kullanılmaktadır. Ayrıca şurup, marmelat, reçel ve pasta üretiminde, meyve suyu ve sirke üretilmesinde oldukça fazla kullanımıyla önem taşımaktadır (Özçağırın ve ark., 2011).

Rosaceae familyasından yer alan elmanın (*Malus domestica*), ilk olarak Kuzey Anadolu’da, Güney Kafkaslar, Rusya’ nın güney batısında kalan bölgeler ve Kazakistan’ nın doğusu dolaylarında ortaya çıktığı düşünülmektedir. Türkiye’ de ise hemen hemen tüm illerde elma yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bununla birlikte ticari olarak elma üretiminde daha çok Niğde, Isparta, Karaman, Antalya ve Konya illeri öne çıkmakta ve bu iller Türkiye’nin toplam elma üretim alanlarının %50’sini oluşturmaktadır. Türkiye’de toplam elma üretiminin %20,4’ü Isparta’da gerçekleştirilirken, Isparta’yı Karaman (%13,6) ve Niğde (%12) illeri takip etmektedir (Anonim, 2018).

Dünya’da 2017/18 sezonunda 76.208 milyon ton elma üretilmekte ve bu üretimin 44.500 milyon tonu Çin Halk Cumhuriyet’ inde yapılmaktadır. Türkiye, dünya ülkeleri arasında elma yetiştiriciliğinde beşinci sırada yer almaktadır ve %3,61’ lik bir

paya sahiptir. Türkiye’de 2018 yılında miktar olarak 3.032.164 ton elma üretimi yapılmıştır (FAO, 2018).

TÜİK’in 2018 yılı verilerine göre; ülkemizde toplam tarım alanı yaklaşık 38 milyon hektardır. Toplam meyve alanı içerisinde ise; yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarının (elma, armut, ayva, yenidünya, muşmula) toplam alanı 3.457.000 hektar olup, toplam 95.205.000 adet ağaçtan 4.342.569 ton ürün elde edilmektedir (TUİK, 2018).

Abiyotik (sıcaklık, nem, besin elementleri, toprak şartları, don, dolu, rüzgar, kuraklık vs.) ve biyotik (böcekler, funguslar, bakteriler, virüsler, nematodlar, mikoplazmalar, yabancı otlar vs.) etmenler, tarım ürünlerinde meydana gelen verim ve kalite kayıplarının en önemli sebepleri arasında yer almaktadır (Lamey and Stack, 1993; Anonim, 2001; Kotan, 2002). Olumsuz toprak ve iklim şartlarına, patojen mikroorganizmaların etkisine maruz kalan bitkilerin alışılmış yaşamsal düzenlerindeki bozulma ve buna bağlı bir biçimde meydana gelen, direkt veya dolaylı zararlanmaların tamamı bitki hastalığı olarak isimlendirilmektedir (Agrios, 1997).

Yumuşak çekirdekli meyvelerde çeşitli faktörlerin etkisi ile meydana gelen hastalık düzeyi; konukçunun duyarlılığı, patojenin saldırganlığı ve çevre şartlarına bağlı olarak değişmektedir. Ancak, kültürel uygulamalar, genetik tolerans, ağacın olgunluğu, stres şartları, ekim sıklığı ve dormansi periyodu hastalıkların epidemi oluşturmasında anahtar rol oynayan diğer faktörlerdir. 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 (Goldberg, 2000).

Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında hastalığa neden olan en önemli patojenler; *Erwinia amylovora* (ateş yanıklığı), *Pseudomonas syringae pv. papulans* (kanser), *Agrobacterium tumefaciens* (kök uru ve kanseri), *Apple mosaic virus* (elma mozaik virüsü), *Apple chlorotic leaf spottricho virus (ACLSV)* (elma klorotik yaprak leke virüsü), *Alternaria alternata* (elmada alternaria meyve çürüklüğü), *Monilinia fructigena* (meyve monilyası (mumya)), *Armillaria mellea* (meyve ağaçlarında armillaria kök çürüklüğü), *Venturia inaequalis* (kara lekeli hastalığı) ve *Podospaera leucotricha* (külleme)’dir (Zwet and Keil, 1979).

Elmanın ülkemizde en çok üretilen meyve olması hastalık ve zararlılar bakımından ayrı bir özenin gösterilmesi gerektiğini göstermektedir. Bu bağlamda ateş yanıklığı hastalığı, yumuşak çekirdekli meyvelerde görülen en tehlikeli bakteriyel bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastalığın ekonomik önemi çok yüksektir. *Erwinia amylovora*, özellikle duyarlı çeşitlerin kullanıldığı alanlarda, meyve plantasyonlarını ve sonuçta meyve üretim miktarını önemli derecede etkilemektedir. Hastalığın kısa süre içerisinde tüm Türkiye genelinde yayılması ve etkilediği meyve plantasyonlarını yangın yerine çevirmesi, onun epidemik karakterini ve önemini daha iyi açıklamaktadır. Eğer etkili ve kalıcı önlemler alınmazsa, yumuşak çekirdekli meyve ve fidan üretiminde önemli düşüşler olabilecektir. Bu nedenle ateş yanıklığı hastalığı, hem meyvecilik hem de ülke ekonomisi açısından ele almamız gereken çok önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır (Hacıoğlu, 1993).

1.2. Ateş Yanıklığı Hastalığı (*Erwinia amylovora*)

Erwinia amylovora'nın sebep olduğu ateş yanıklığı hastalığı, yumuşak çekirdeğe sahip meyve ağaçlarının en tahripkar bakteriyel hastalığıdır. Patojenin, *Pyrus* ve *Malus* cinslerinin dışında *Rosaceae* familyasının 37 cinsine ait 129 türde hastalık meydana getirdiği bildirilmiştir. Bu cinslerden en tahripkar şekilde belirti oluşturanlar ve ekonomik olarak önemli derecede zarar görenler öncelikle *Pyrus* ve *Malus* olmak üzere *Cydonia*, *Eriobotrya*, *Cotoneaster*, *Crataegus*, *Pyracantha* ve *Sorbus* cinsleridir. Özellikle armutlarda büyük zararlara neden olan hastalık, dünyada ilk defa belirlenen bitki bakteri hastalığı olma özelliği taşımaktadır (Zwet and Keil, 1979).

Hastalığa ateş yanıklığı denilmesinin sebebi, patojen bakterinin enfeksiyonundan sonra ağacın yangından çıkmış gibi bir görünüm almasındandır. Hastalık literatürde çiçek yanıklığı, meyve yanıklığı, dal yanıklığı, elma yanıklığı ve armut yanıklığı olarak da isimlendirilmektedir (Karaca, 1977).

Hastalığın bilinen en eskiye dayanan gözlemleri 1780'de ABD'de Newyork Hudson Vadisi'ndedir. Bu süreci takiben, hastalık önce ABD olmak üzere dünya üzerinde bulunan tüm ülkelere hızlı bir biçimde yayılmıştır. Öktem ve Benlioğlu, (1988)'nin ülkemiz için 1985 yılında Afyon ili Sultandağı ilçesindeki armut ağaçlarındaki ilk tespit raporundan sonra Momol ve Yeğen, (1993), Türkiye'nin bütün

armut yetiştirme alanlarında ateş yanıklığı görüldüğünü ve çoğu bölgemizde zararın ciddi boyutta olduğunu bildirmişlerdir.

Ateş yanıklığı dünyada kaybı milyonlarca doları bulan bir hastalık olarak ön plana çıkmaktadır. ABD'de Kings Conty'de sayısı 43.700 olan armut ağacının tamamı iki yıl içerisinde telef olmuş, San Joaquin vadisindeki armut ağaçlarının ise % 95' i ateş yanıklığı zararı nedeni ile sökülmüş ve bölgede bir daha armut yetiştiriciliği yapılmamıştır. 1927-1928'de Yeni Zelanda'da elmalardaki şiddetli sürgün enfeksiyonu sonucu kayıp % 100 olarak tespit edilmiştir. ABD'de 1936'da toplam armut üretimi % 14 oranında azalmıştır. 1958-1969 yıllarında İngiltere'deki toplam kayıplar; 20.000 armut, 20.000 *Crataegus*, 15.000 *Cotoneaster* ve 2000 *Pyracantha* olarak belirlenmiştir. 1963'de Kaliforniya'da ateş yanıklığı zararı armutta % 14, elmada % 5 kaydedilmiş ve armutlardaki kaybın 20 milyon dolar olduğu ifade edilmiştir. 1975'de Hollanda'da 2.000.000'dan çok *Cotoneaster*, 13.000 *Pyracantha*, 8.700 *Stranvaesia* ve 4.500 *Sorbus* tahrip olmuştur. 1976 yılında ise Kaliforniya'da, yalnızca armutlarda, 47 milyon dolarlık kayıp olduğu bildirilmiştir (Van der Zwet and Keil, 1979; Van der Zwet and Beer, 1991).

1.2.1. Hastalık etmeni

1882 senesinde Burrill tarafından patojenin ilk bakteriyel tanısı yapılmış *Micrococcus amylovorus* şeklinde adlandırılmıştır. Etmene son olarak 1920 senesinde Winslow *et al.*, tarafından *Erwinia* cinsi içinde yer verilerek *Erwinia amylovora* olarak adlandırılmıştır (Van der Zwet and Keil, 1979).

E.amylovora 'nın taksonomik pozisyonu aşağıda verilmiştir (Anonim, 2014).

Alem: Bacteria

Bölüm: Proteobacteria

Sınıf: Gammaproteobacteria

Familya: Enterobacteriaceae

Takım: Enterobacteriales

Cins: *Erwinia*

Tür: *Erwinia amylovora*

Ateş yanıklığı hastalığı etmeni gram negatif, fakültatif anaerob, 3,0 nm uzunluğunda, 0,5-1,0 nm çapında, çubuk şeklinde ve peritrik kamçılı bir bakteridir. Laboratuvar ortamında genel olarak 21- 28 °C arasında gelişebilen bakterinin, termal ölme derecesi 45-50 °C' dir. Genellikle gelişebildiği ph 6,0-7,5'dir (Schroth and Hilderbran, 1980). *E. amylovora*, sakkaroz içeren besiyerlerinde mukoid koloniler oluşturan, birçok şeker, organik asit ve şeker alkoloitlerini karbon kaynağı olarak kullanabilen, büyüme faktörü olarak nitrojen ve nikotik asidin amino kaynaklarına ihtiyaç duyan bir patojendir (Schroth *et al.*, 1974; Fahy and Persley, 1983; Agrios, 1997).

Bakteri, nemli havalarda sıvı formda veya ipliksi yapıda sürgün, meyve, ağaç kabuğu gibi çeşitli bitki kısımlarında damla şeklinde "ooze" ismi verilen bakteriyel akıntı ve strand ismini verdiğimiz bakteriyel iplik şeklinde yapılar meydana getirmektedir (Keil and Van der Zwet, 1972; Van der Zwet and Keil, 1979). *E. amylovora*, çiçeklerin stigmalarında kolonize olurken (Rundle and Beer, 1987), epifitik olarak yaprak ve sürgün yüzeyinde (Baldwin and Goodman, 1963), bazen de endofitik olarak vasküler sistemin sağlıklı parankima dokusunda bulunmaktadır (Keil and Van der Zwet, 1972; Beer and Opgenorth, 1976).

Hastalık etmeni yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarının çiçek, yaprak, dal ve meyvelerinde önemli belirtiler oluşturmaktadır. İlkbahar döneminde ne sıcak ne de soğuk olan, su oranı yüksek havalarda, ilk belirtiler genel olarak çiçeklerde görülmektedir (Fahy and Persley, 1983). Çiçek kısımları başta sulanmış gibi bir görünüm almakta sonraki süreçte hızlı bir şekilde pörsüyerek, önce kahverengi sonra siyah renge dönüşmekte ve genellikle ağaçta asılı kalmaktadır (Baştaş ve Saygılı, 2008). Çiçekte görülen belirtiler yakınında bulunan yapraklara sıçramaktadır. Yaprak kısmında ana damarda ve yaprağın kenar kısımlarında kahverengimsi-siyahımsı görüntüler oluşmaktadır. Siyahlaşma oranı artarken, yaprak kıvrılmakta, aşağı yöne doğru askıda kalmaktadır (Maden, 1989). Bu yapraklar yazın koyu yeşil yapraklı sıhhatli sürgünlerde, zıt bir görünüm oluşturmaktadır (Baştaş ve Saygılı, 2008). Hastalıktan etkilenen sürgünler uçtan geriye doğru solmaktadır. Bu sürgünlerin kabuğu kahverengi-siyaha dönmekte, sonra çökerek sertleşmektedir. Yanık sürgünlerde en karakteristik semptom, sürgünlerin uç kısımlarının çoban değneği ya da kanca gibi bir yapıya dönmesidir.

Simptomlar meyve mahmuzları ve uçlardaki dal kısımlarından alt tarafa doğru ilerlemekte ve yanı başındaki dal kısımlarına geçerek yanıklıklar meydana getirmektedir (Van der Zwet and Keil, 1979; Baştaş ve Saygılı, 2008).

Meyve enfeksiyonları ise genellikle sapdan olmaktadır. İrileşmiş olan meyveler sulanmış bir görüntü oluşturmakta, sonraki süreçte kahverengimsi bir renge dönerek mumyalaşmakta ve son süreçte kararmaktadır. Ölmüş olan meyveler uzun süre ağaçta asılı kalmaktadır (Fahy and Persley, 1983; Maden, 1989). Nemli koşullar altında, meyve üzerinde süt rengi yapışkan akıntı görülmektedir. Akıntı rengi hava ile temas eder etmez kahverengileşmektedir. Bakteriyel akıntıyı oluşturan damlalar birleşip daha büyük damlaları oluşturmakta ve akararak bitki yüzeyine yayılmaktadır. Son olarak kök kısmına kadar ilerleyen bakteriler bütün ağaç ve sürgünlerinin kuruyup ölmesine neden olmaktadır (Baştaş ve Saygılı, 2008). Gövde, kök boğazı ve köklerde meydana gelen bu hastalık, ağacın kısa sürede ölmesine neden olmakta ve ticari amaçlı meyvelerin yetiştirildiği bahçelerde, önemli oranda kayıplara sebebiyet vermektedir (Van Der Zwet and Beer, 1991; Evrenosoğlu ve ark., 2014).

1.2.2. Yaşam döngüsü ve epidemiyolojisi

Hastalığın kısa sürede çok hızlı yayılmasının ve ciddi zararlar oluşturmasının nedeni patojenin yaşam döngüsü ve epidemiyolojisi ile ilgilidir. Bakteri daha önceki mevsim döneminde meydana gelen yanıklıkların kenar kısımlarında, yanıklıklarda, tomurcuklarda ve odun dokularında kışı geçirmektedir. Genellikle büyük dal kısımlarında yaşamını geçirmekte ve 1 cm çaptan daha minik sürgünlerde nadiren kışlamaktadır. Patojen bahar döneminde havalarda ısınmasıyla, sağlıklı kaldığı bu yanıklıklarda hareketli duruma gelerek çoğalmakta ve yakınındaki sağlıklı kabuğa geçmektedir. Nem oranı fazla ya da yağmurlu havalarda bakteri hücrelerinin bir kısmı lentiseller ve doku üzerinde bulunan yarıklardan dışarı çıkmaktadır. Bakteriyel akıntı veya salgı şeklinde isimlendirilen bu öz suyu, milyonlarca bakteri hücresinden oluşmaktadır. Arı, sinek, karınca gibi böcek türleri bu tatlımsı ve yapışkanimsi akıntı tarafından cezbedilmekte ve bu vektörler aracılığıyla etmen yayılmaktadır. Bazı durumlarda patojen yanıklıklardaki akıntıdan sıçraticı yağmur taneleri ile de sağlıklı bitkilere bulaşabilmektedir. Akıntılar suyunu tamamen kaybettiği zaman bakteriyel strand adı verilen havai iplikler oluşmakta, bunlar da rüzgar vasıtasıyla yer değiştirerek

inokulum görevini üstlenmektedir (Van der Zwet and Keil, 1979; Baştaş ve Saygılı, 2008).

Hastalık etmeni nektarda hızlı bir biçimde çoğalmakta, nektartodlara gelerek çiçeğin dokularının iç kısmından penetrasyon oluşturmaktadır. Enfeksiyonlu bir çiçeği ziyaret eden arılar nektardaki patojeni, sonra ziyaret ettiği tüm çiçeklere taşımaktadır. Patojen çiçeklerden aşağı doğru çiçeğin sap kısmına, oradan da meyve mahmuzunun kabuğunun iç kısmına doğru ilerlemektedir. Mahmuzun enfeksiyonu onun üzerindeki bütün çiçeklerin, yaprakların ve meyvelerin tahribine sebep olmaktadır (Van der Zwet and Keil, 1979).Yapraklardaki stoma ve hidatodlar patojene içeri girmesi için kapı görevi yaparak yardımcı olmasına rağmen yapraktaki hastalıkların büyük kısmı böcek, dolu gibi sebeplerle açılan yaralı kısımlardan olmaktadır. Etmen palisad parankimasından çok süngerimsi mezofilde daha iyi ve daha hızlı gelişmekte, damar parankimasından petiole geçmekte ve petiol yoluyla gövdeye ulaşabilmektedir (Baştaş ve ark., 2008).

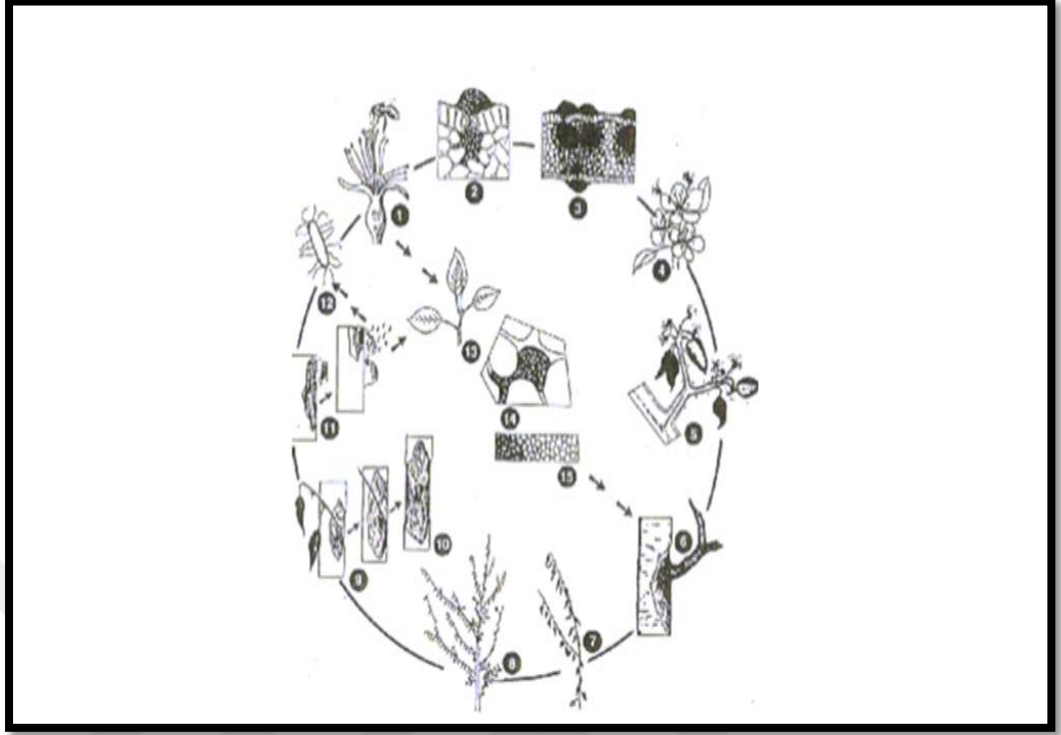
Genç, taze filizler, filizlerdeki lentiseller, değişik şekillerde açılan yaralar ve böcekler yoluyla enfekte edilebilmektedir. Aynı zamanda çiçek ve yaprak enfeksiyonları yoluyla da, filizler enfekte olabilmektedir. Filizler içinde bakteriler hücreler arasında yaşamakta ve kısa zamanda kortikal hücrelerde çökme ve parçalanmaya sebep olmaktadır. Genç filizlerdeki patojen floeme ulaşabilmekte ve buradan yukarı doğru filiz ucuna ve yapraklara taşınabilmektedir. Enfeksiyonun ilerlemesi, dokunun sulu oluşuna, sıcaklık ve rutubete bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Baştaş ve ark., 2008).

Hastalığın yayılmasında, genel olarak böcekler en önemli sebeplerden biri olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda 77 böcek cinsinin patojenin yayılmasında başarılı olduğu belirtilmiştir. Bunlardan bazıları: *Aphis pomi* (Elma afidi), *Aphis mellifera* (Bal arısı), *Bombus terrestris* (Yaban arısı), *Byrobia rubrioculus*, *Drosophila spp.* (Sirke sineği), *Edwardsianarosae*, *Eriosoma lanigerum* (Elma pamuklu biti), *Formica spp.* (Karıncalar), *Haplocampatestudinea* (Avrupa elma testereli arısı), *Lygus pratensis*, *Musca domestica* (Karasinek), *Panonychus ulmi* (Avrupa kırmızı akarı), *Pegomya spp.*, *Psylla pyricola* (Armut pisillası), *Scolytus spp.* (Yazıcı böcekler),

Tetranychus spp. (Kırmızı örümcek), *Vespula spp.* (Eşek arısı) olarak belirlenmiştir (Van der Zwet and Keil, 1979; Thomson, 2000; Baştaş ve Saygılı, 2008).

Yağmur, patojenin yayılmasında önemli bir faktördür. Bakteriler ağacın üst kısımlarından yağmur taneleri ile aşağı kısımlara doğru ilerlemektedir. Yağmurun dolaylı bir etkisi de çiçekler içindeki nektar kısmıyla ilgilidir. Nemsiz havanın olduğu durumlarda çiçekler içindeki nektar, bakterinin çoğalması için fazlaca konsantredir. Ancak yağmur tanelerinin etkisiyle konsantre haldeki nektar seyreltik bir duruma gelip bakterinin çoğalmasını ve enfeksiyonunu kolaylaştırmaktadır. *E. amylovora'* nın salgıladığı bakteriyel iplikçiklerin hava dalgalarının etkisiyle çok uzak kısımlara kadar ulaştığı ve yağmur taneleriyle konukçularına bulaştığı gözlenmektedir (Van der Zwet and Keil, 1979; Baştaş ve Saygılı, 2008).

Ateş yanıklığı hastalığının yayılımında kuşların rolü olduğu ve *Sturnus vulgaris* (sığırcık), *Phylloscopus trochilus* (bülbul) gibi göçmen kuşların bakteriyi ülkeler arasında taşıdıkları düşünülmektedir (Van der Zwet ve Beer, 1991; Van der Zwet and Beer, 1995). Ülkemizde bu hastalığın ilk saptandığı Afyon Sultandağı ilçesinin yakın kısımlarında bulunmakta olan göllerin, güneyden gelen göçmen kuşların barınma ve dinlenme yeri olduğu belirlenmiş ve özellikle Mısır ve Kıbrıs'tan göç eden kuşların hastalığı ilk kez bu bölgeden ülkemize bulaştırdıkları kanısına varılmıştır (Öktem ve Benlioğlu, 1988; Baştaş ve Saygılı, 2008). Ayrıca hastalık insanlar, bahçede kullanılan gereçler, meyve ya da çelikle de bulaşabilmektedir. Budamada kullanılan aletler, simptomlu sürgünler ve gövdenin budanmasından sonra temizlenmezlerse, hastalığın çabucak öteki sürgünlere ve ağaçlara aktarılmasına sebep olmaktadır. Hastalık etmeni ile bulaşık olan kıyafetler, botlar ve araçların tekerleri de hastalığın yayılmasına sebep olmaktadır (Van der Zwet and Keil, 1979; Baştaş ve Saygılı, 2008).



Şekil 1.1. *Erwinia amylovora*'nın yaşam döngüsü (Van der Zwet and Beer, 1995).

Şekil 1.1.'de görüldüğü gibi hastalığı oluşturan hayat döngüsünün aşamaları aşağıdaki sırayla gerçekleşmektedir. Bu aşamalar:

1. Bakterinin arılarla çiçekten çiçeğe taşınması
2. Bakterinin yara veya stomalardan çiçek içerisine girmesi
3. Bakterinin hücre arası boşluklarda çoğalması ve yayılması
4. Enfekteli çiçeklerin kuruması ve ölmesi
5. Etmenin diğer çiçek, meyve, sürgün ve yapraklara yayılması
6. Dallar ve gövde üzerinde yeni kanserlerin oluşumu
7. Ateş yanıklığından etkilenen yaprak ve sürgünlerin kuruması
8. Genç ağaçların hastalıktan zarar görmesi
9. Bakterinin eski kanserlerin kenarlarında kışlaması
10. Kanserlerin büyümesi, dalları ve gövdeyi sarması ve ooze oluşması
11. Sızıntıdaki bakterinin böcekler ve yağmurla yayılması

12. *E. amylovora* etmeni
13. Genç sürgünlerin direkt enfeksiyonu
14. Bakterinin kabuk dokusundaki hücreler arasında çoğalması ve yayılması
15. Etmenle bulaşık kabuk dokusunun ölümü (Taşdemir, 2010).

1.3.Hastalığın Mücadelesi

Hastalıklar bitkisel ürünlerin verim ve kaliteleri üzerinde büyük kayıplara neden olmakta ve bu kayıplar depolama süresince de devam etmektedir (Döken ve ark., 2000). Zamanın öngördüğü tarımsal metodlarla daha fazla ürün elde etme çabası gösterilirken, hastalık ve zararlılardan oluşan kayıpların da daha düşük seviyede tutulması amaçlanmaktadır (Toros ve Maden, 1991). Bitki hastalıklarının oluşturduğu kayıplar bitki, ürün, patojen, bölge, çevre ve kontrol yöntemlerine bağlı olarak değişiklik göstermekte ve uygulanan kontrol yöntemleri yasal önlemler, kültürel mücadele, kimyasal mücadele, dayanıklı bitki kullanımı ve biyolojik mücadele olmak üzere 5 kısımda toplanmaktadır (Bora ve Özaktan, 1998; Döken ve ark., 2000).

1.3.1.Yasal önlemler

Ateş yanıklığının yayılmasını önlemede ve mücadelesinde etkili olan, en öncelikli yöntemlerden birisi karantinedir. Bu hastalığın görüldüğü ülkelerden, Rosaceae familyasına ait bitkilerdeki, meyve, tohum, dal ve öteki bitki aksamalarının alınmaması en gerekli karantina düzenlemesidir. Avrupa Bitki Koruma Teşkilatı (EPPO) Avrupada bulunan ülkeler için, uymaları gereken A2 karantina sayfasındaki bakterilerin sebep olduğu hastalıklar içerisinde *E. amylovora* bulunmaktadır. Ayrıca ülkemizde 6968 sayılı Ziraî Mücadele ve Ziraî Karantina yönetmeliğinde girmesi yasaklanmış bakteriyel hastalıklardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır (Maden ve Toros, 1991).

1.3.2.Kültürel mücadele

Tüm bitki hastalıklarıyla mücadelede olduğu gibi ateş yanıklığı hastalığı ile mücadelede de bulaşık olmayan sürgün kullanılması alınabilecek öncelikli tedbirlerden birisidir. Bilhassa yeni bir bahçenin tesis edilmesi esnasında büyük önem taşıyan bu işlem, sonraki dönemlerde de patojenin giriş yapmasını engelleyen etkili bir çözümdür (Zwet and Keil,1979). İnokulumun girişini önlemek ve hastalığın yayılımını engellemek

amacıyla hastaliksız bitkilerden alınan aş gözleri, fidanlar ya da temiz klon anaçlar kullanılmalıdır (Sobiczewski *et al.*, 1997).

Ateş yanıklığı ile en eski mücadele metodları enfekteli uç sürgünleri, dal kısımlarını ve taze filizleri hastalıklı kısımların 15-30 cm altından keserek temizlemeyi kapsamaktadır. Eğer budama, ateş yanıklığı enfeksiyonu görülür görülmez yapılırsa, yeni enfeksiyon için inokulum kaynağı oluşturan bakteriler genellikle elimine edilebilmektedir. Yalnızca budama uygulamasının % 67,42 oranında etkili olduğu bulunmuştur. Öte yandan Minnesota'da yapılan bir çalışmada, haziran başında elmalarda yapılan yaz budaması ateş yanıklığı enfeksiyonunu önemli ölçüde arttırmıştır. Başka bir çalışmada ise yanık dalları budamanın, kimyasal kontrol programı ile desteklendiğinde daha faydalı olduğu bildirilmiştir (Zwet and Keil, 1979). Budama makasları ile patojenin yayılmasını engellemek amacıyla, yapılan kesimden sonra makaslar dezenfekte edici bir materyalin içine bırakılmalıdır. Yaygın olarak evlerde kullanılan sodyum hipoklorid %10'luk budama aletleriyle bulaşmayı önlemede başarıyla kullanılmaktadır (Tokgönül ve Başpınar, 1995).

Eradikasyon ölçüleri, armut ve elma bahçelerinin bulunduğu alana yakın olan bütün yabani, hassas konukçu bitkileri (*Crataegus*, *Cotoneaster*, *Pyracantha*, *Stranvaesia* ve *Sorbus*) yok etmektir. Yeterli olmayan oksijenden dolayı kısıtlı kök gelişiminin yer aldığı ya da su oranının aşırı bulunduğu arazilerdeki ağaçların, bakteri girişine duyarlılığının aşırı olduğu gözlenmektedir. Bu sebeple elma yetiştirmek için yeni bir arazi seçerken verimi yüksek ve iyi drene edilmiş alanlar tercih edilmelidir. (Zwet and Keil, 1979).

Azotlu gübreler, bitkilerin çabuk büyümesini teşvik ettiği gibi ateş yanıklığı hastalığına karşı duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır. Yapılan bir çalışmada, oransal olarak düşük karbonhidratlı ve yüksek azot içeren elma dokularının hastalığa karşı bitkinin duyarlı hale gelmesine neden olduğu görülmüştür. Ayrıca körpe sürgün ekstraktı ve düşük karbonhidrat, yüksek azot içeren besiyerinde patojen hızlı gelişmiş, ancak yüksek oranda karbonhidrat ve düşük oranda azot içermesi nedeniyle sert sürgün ekstraktı içeren besiyerinde çok zayıf geliştiği tespit edilmiştir. Azot, potasyumla birlikte kullanıldığında hastalığın şiddetinde bir artış gözlemlenmemiş, fakat azot-fosfor ya da azot-fosfor-potasyum karışımında sürgünler daha fazla duyarlı hale gelmiştir.

Ağaçlardaki en az duyarlılık fazla kalsiyum uygulananlarda görülmüş, düşük orandaki bor uygulaması ise duyarlılığın azalmasına neden olmuştur. İyi drene edilmemiş arazilerde potasyum oranının az ve ateş yanıklığının daha tahripkar, drenajı iyi yapılmış arazilerde ise potasyumun fazla oranda ve hastalığın daha minimum tahripkar olduğu gözlenmiştir (Zwet and Keil, 1979).

1.3.3. Kimyasal mücadele

Çevreye ve doğal dengeye olan zararlı etkilerine rağmen, şu anda ateş yanıklığı hastalığına en tesirli mücadele yöntemlerinden birisi ilaçlı mücadele olarak kabul edilmektedir. Hastalığın mücadelesinde Fosetyl-Al, flumequin, oxolinic asit ve CGA 73089 önemli ölçüde başarılar elde edilen kimyasallar olurken (Vanneste, 2000), bakır oksiklorür ve maneb karışımının özellikle çiçek enfeksiyonları için memnun edici sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Momol and Yeğen, 1993). Ateş yanıklığı kontrolündeki en önemli gelişmelerden biri, 1950' lerde antibiyotiklerin keşfi ve uygulanmaya başlanması olmuştur. Genelde, streptomisin sülfat, elma ve armutlarda hastalığın kontrolünde bakırdan daha iyi sonuç vermekte ve meyve paslanması görülmemektedir. Araştırmalar sonucu streptomisin insan ve çevre sağlığı açısından meyvede toksik kalıntılardan endişelenilmesi ve ayrıca antibiyotiğe dayanıklı bakteri strainlerinin oluşumu sebebiyle uygulamalar sınırlandırılmıştır (Zwet and Keil, 1979; Moller *et al*, 1981). Ancak, antibiyotiklerin ülkemizde kullanılması halen yasaklı olduğu bilinmelidir. Ancak kısa süreli uygulamalarda bakırlı bileşikler ile etkili sonuçlar alınabilmesine rağmen kullanılan bakırlı bileşiklerin meyvelerde paslanmaya sebep olduğu tespit edilmiştir (Baştaş ve Saygılı, 2008). Genelde bakırlı bileşiklerin, hastalık şiddetinin düşük ve orta derecede olduğu durumlarda, daha iyi sonuç verdikleri görülmüştür, ancak nemli ya da yağışlı periyotlar sırasında uygulandıklarında fitotoksiteye sebep oldukları belirlenmiştir. Ayrıca bilinçsiz ve aşırı kimyasal kullanımı mikroorganizmalarda dayanıklı ırkların gelişimi, ekonomik kayıplar, insanlarda akut ve kronik zehirlenmeler, çevre kirliliği, mikrobiyal flora içerisindeki interaksiyonların negatif etkilenmesi ve doğal dengenin bozulması gibi birçok olumsuz etkiyi de beraberinde getirmiştir (Moller and Thomson, 1981; Bora ve Özaktan, 1998; Singh *et al.*, 1998, Baştaş ve Maden, 2004).

1.3.4. Hastalıklara dayanıklı bitki kullanımı

Ateş yanıklığına dayanıklılık açısından konukçu bitkilerin türleri arasında farklılıklar olduğu bilinmektedir. Hastalığa dirençli, ticari önemi yüksek 5 armut çeşidi *E. amylovora*'ya dayanıklılık derecesine göre, dayanıklıdan hassasa doğru *Pyrus ussuriensis*, *Pyrus calleryana*, *Pyrus betulafolia*, *Pyrus pyrifolia* ve *Pyrus communis* şeklinde bir sıralama göstermektedir (Zwet and Keil, 1979). Ülkemizde genel olarak armut türleri patojene karşı hassastır. Elma meyvesinden en fazla hassas olanlar *Jonathan*, *Rhode Island Greening*, *Yellow Transparent*, *Idared*, *Rome Beauty*, klon anaçlarından ise; M.9, M.26 ve M.27' dir. Suni inokulasyon denemelerinde Türkiye'de üretimi yapılan elma çeşitlerinin *E. amylovora*' ya karşı reaksiyonlarının belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmalarda testlenen 15 elma çeşidi içinde en duyarlı çeşidin "Sport Golden" çeşidi olduğu ortaya konulmuştur. Testlenen 22 armut çeşidinin ise etmene farklı düzeylerde reaksiyon gösterdiği ancak "Abbefetel" armut çeşidinin en duyarlı çeşit olduğu saptanmıştır. Çalışmada 5 ayva çeşidi etmene duyarlılığı yönünden denemeye alınmış ve "İstanbul" çeşidi en duyarlı ayva çeşiti olarak bulunmuştur (Demir ve Gündoğdu, 1991).

Ateş yanıklığı hastalığına karşı dayanıklılık mekanizmasının karışık bir durum olması ve birden fazla gen tarafından idare edilebilen poligenik bir özelliğe sahip olması (Layne and Quamme, 1968) sebebiyle ıslah çalışmalarında genel olarak "kontrollü melezlemeler" kullanılmaktadır (Bell and Zwet, 1982). Dünya üzerinde uzun senelerdir yapılmakta olan çalışmalar neticesinde çok düşük oranda hastalığa dayanabilen çeşitler oluşturulmuştur ve bu çeşitlerin kalite düzeyleri üzerinde yapılan çalışmalar hala sürdürülmektedir. Türkiye'de bu hastalığa karşı dayanıklı çeşitlerin ıslah edilmesi üzerine çalışmalar çok az sayıdadır. Genellikle seleksiyon yolu ile elde edilen yerel çeşitler üzerinde dayanıklılık durumları gözlenmeye çalışılmıştır. Yapılmakta olan bu tür çalışmalarda ya bir tane *E. amylovora* straini kullanıldığı ya da doğal hastalıkla seçimlerin yapıldığı gözlenmiştir. Dayanıklılık çalışmalarında patojenin var olan bütün farklı genotiplerinin kullanılması ile elde edilebilen dayanıklılık güvenilebilirlik açısından büyük bir önem taşımaktadır (Evrenosoğlu ve ark., 2010).

1.3.5.Biyolojik mücadele

Kültürel önlemlerin her zaman istenilen sonucu vermemesi, hastalık kontrolünde tek başına yeterli olmaması, çok fazla işgücü gerektirmesi ve ülkemizde kültürel mücadeleye gereken önemin gösterilmemesi, çevreye ve insan sağlığına zararlı olmayan uygun bakterisidlerin yokluğu, çiftçilerin kesin ve kısa sürede sonuca ulaşma yolu olarak gördükleri bakırlı preparatların bilinçsiz kullanılması hastalığın mücadelesini güçleştirmiştir (Aysan ve ark., 2008). Normal ıslah yöntemleri kullanılarak, bilinmekte olan dayanıklılığı sağlayan genlerin bir bitkiden diğerine gönderilmesi uzun zaman sürdüğü gibi genellikle başarılı sonuçlar da alınamamaktadır. Bu yolla tek bir hastalık etmenine karşı dayanıklılığı fazla bitki varyeteleri geliştirilmesi mümkün olmasına rağmen, aynı zamanda birden fazla bitki hastalık etmenine karşı dayanıklılığı yüksek bir bitki geliştirebilmek olanaklı değildir. Kimyasal mücadelenin ise; devamlı olarak kullanılan ilaçlara hastalık etmenlerinin dayanıklılık kazanması, kullanılan ilaçların uzun süreli kullanımında insan ve hayvan sağlığının bozulması, doğal dengeyi tehdit etmesi ve üreticiler için yüksek bir maliyet gerektirmesi gibi birden fazla olumsuz yönleri bulunmaktadır (Aysan ve ark., 2008). Ortaya çıkan bu tablo hastalığın kontrolünde biyolojik mücadele çalışmalarının gerekliliğini bizlere göstermiştir. Bu nedenle günümüzde mevcut kontrol stratejilerinden daha ucuz, daha etkili ve hem insan sağlığına, hem de çevreye daha dost olan biyolojik kontrol uygulamalarına ağırlık verilmeye başlanmıştır. Yapılan en geniş kapsamlı tarifiyle; biyolojik mücadele doğal veya genetik yapısı değiştirilmiş mikroorganizmalar ya da bu mikroorganizmaların meydana getirdiği metabolitler kullanılarak hastalık oluşturan mikroorganizmaların ortadan yok edilmesi veya baskı altına alınabilmesini sağlayan mücadele yöntemlerinden birisidir. Biyolojik yöntemin esas prensibi ve hedefi; insan ve çevre üzerinde olumlu etkileri olan, maliyeti az, geniş spektrumlu ve her zaman çeşitli çevre koşullarında kullanılma imkânı olan mikroorganizmaların belirlenmesi, tarla, sera ve depo şartlarında bitki patojenlerinin kontrol edilmesinde kullanılabilmesidir. Bu bağlamda sürdürülebilir bir tarımsal üretim için tüm ekosistemi dikkate alarak canlılar arasında var olan doğal dengeyi koruyan, çevreyi kirletmeyen ve kalıntı sorunu oluşturmayan, üretim maliyetini düşüren biyolojik kontrol uygulamaları ön plana çıkmaktadır (Ross, 1961).

Ülkemiz yumuşak çekirdekli meyve üretimi açısından önemli bir potansiyele sahiptir ve üretimin oldukça fazla olduğu bu sektörün hastalıklar yönünden en az zararlanmasını sağlayacak, yeni yöntem ve tekniklerin uygulanmasına zemin hazırlayacak çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla biyolojik mücadele çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bakteriler genellikle *Acinetobacter*, *Aereobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Artrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodobacter*, *Rhodospirillum*, *Serratia* ve *Xanthomonas* cinslerine ait strainlerden oluşmaktadır. Bugün ticari formulasyonları hazırlanmış bitki gelişimini arttıran ve günümüzde bitki hastalıklarına karşı pratikte kullanılan pek çok mikrobiyal pestisit bulunmaktadır (Vessey, 2003).

Biyolojik mücadele elemanlarını kullanarak hastalıklardan dolayı oluşan kayıplar önlenebileceği gibi, milli ekonomiye katkı sağlanabilecek ve çevre dostu bir mücadele yöntemi geliştirilebilmesi mümkün olabilecektir. Bu faydalı organizmaların mikrobiyal gübre ve biyopestisit olarak tarımda kullanımına yönelik dünyada çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Yapılan bu çalışmalar sadece bilimsel bir makale olarak yayınlanmakla kalmamakta günlük hayatta kullanımına yönelik patentler, tesciller alınarak piyasaya sürülmektedir (Gökçe, 2013).

Bitkilerde meydana gelen hastalıkların biyolojik mücadelesi 1920'li senelerde dikkat çekmeyi başarmıştır. Floresan *Pseudomonas*' lar patojenin gelişimini engelleyebilme özellikleri ve bitkilerin büyüme hızını yükseltmeleri sebebiyle en çok çalışılan PGPR'ler olmuştur. Bitkilerin kök kısmında yaşamını sürdüren mikroorganizmaların yanı sıra yeşil bitki aksamaları üzerinde yaşamlarını sürdüren mikroorganizmaların da başarılı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Özellikle *E. amylovora* (Burril) Winslow *et. al.*'nin biyolojik mücadelisinde yaprakların alt ve üst yüzeylerinde yaşamını sürdüren *Pantoea agglomerans* (Beijerinck, 1888), sinonim *Erwinia herbicola* (Löhnis, 1911), (Dye, 1964)' dan çok etkili sonuçlar elde edilmiştir (Bora ve Özaktan, 1998).

Elde edilen PGPR'lerin belirli bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir. PGPR'ler bir ya da birden fazla mekanizma ile hastalık oluşumunu engelleyebilme etkisini taşıyabilme özelliğini bulundurmalı ve bu gösterdiği etki uzunca bir zaman

sürebilmelidir. Yaşamını geçirdiği alanda öteki PGPR' lerle uyum içerisinde bulunmalı ve diğer zararsız mikroorganizmalara olumsuz bir etkileşimi bulunmamalıdır. Yetiştigi dönem süresince fazla populasyon oluşturup hayatını devam ettirebilme özelliğine sahip olmalı ve olumlu olmayan doğa şartlarında da hayatını sürdürebilme yeteneğinde olmalıdır. Üzerinde yaşamını sürdürdüğü bitkinin birden fazla hastalık etmenine karşı etkisi olabilmelidir. Farklı doğa şartlarında bırakıldığında ya da biyopreparat haline getirildiğinde genlerinde ve bu genlerin yapısında hiçbir şekilde deforme söz konusu olmamalıdır. Kullanılan pestisitlerden etkilenme oranı minimum olmalıdır. Antagonist, kolayca kültüre alınıp üretilebilmeli ve kitle üretimi için hızlı çoğalabilme özelliğine sahip olabilmelidir. Bizlerin sağlığına zarar verici ikincil ürünler meydana getirmemeli ve hedeflerinin dışında yer alan canlılara kötü bir etkide bulunmamalıdır. Biyopreparat şekline getirilince, raf ömrü ve pazar potansiyeli yüksek olabilmelidir (Bora ve Özaktan, 1998).

Son senelerde toprakta kendiliğinden var olan ve bitkinin kök kısımları vasıtasıyla yararlı bir etki içerisinde yer alan mikroorganizmaların önemi git gide büyümektedir. Bu mikroorganizmalar arasında, Bitkinin Gelişmesini Artırabilen Kökte bulunan Bakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) hem antagonistik özellikleri, hemde bitkinin gelişmesi ve ürün veriminde yükselme oluşturmaları sebebiyle önemli bir konumdadır (Gül ve ark., 2008). PGPR'lerin bitki gelişmesini teşvik mekanizmalarının bu bakterilerin oksin (Jeon *et al.*, 2003), sitokinin (García de Salamone *et al.*, 2001), gibberallin (Gutiérrez-Mañero *et al.*, 2001) ve etilen (Glick *et al.*, 1995) gibi bitki kaynaklı hormonları salgılanması, asimbiyotik olarak azotu (N) fiksetmesi (Şahin *et al.*, 2004, Çakmakçı *et al.*, 2007); mineral fosfatı (P) ayrıştırabilmesi, doğal fosfat ve öteki besin elementlerini minerallerine ayırması (Jeon *et al.*, 2003, Aslantaş *et al.*, 2007, Güneş ve ark., 2013), siderofor, enzim ve antimikrobiyal bileşikler oluşturarak veya rekabet gibi mekanizmalarla patojenlere karşı antagonistik etkileşim göstermesi, geniş spektrumlu patojenlere karşı bitkide sistemik dayanıklılığı uyarması ve çeşitli kompleks karbon kaynaklarını mineralize etmesi (Bloemberg and Lugtenberg, 2001; Kurze *et al.*, 2001; Dobbelaere *et al.*, 2002; Karagöz, 2009) şeklinde bilinmektedir. Ayrıca potansiyeli yüksek biyolojik mücadele elemanlarının çok sayıda hastalık etmenine karşı etkisinin yüksek olmasının biyolojik

mücadelede büyük bir avantaj olduğu kaydedilmiştir (Whipps, 1992; Zeller and Wolf, 1996; Kucheryava *et al.* 1999).

1.4.Biyolojik Mücadele Mekanizmaları

Hastalık etmeni ve PGPR arasında oluşan etkileşimlerin öğrenilmesi başarılı bir biyolojik mücadelenin gerçekleşmesi için vazgeçilmezdir. Biyolojik mücadelenin biyokontrol canlı ile hastalık etmeni ve çevrede bulunan diğer mikrobiyal canlılar arasında bulunan birlikteliğine yönelik beş temel mekanizması vardır. Bunlar;

- Antibiyosis
- Yer ve besin elementleri açısından rekabet
- Hiperparazitizm
- Hipovirülens
- Konukçu bitkide patojenlerin geniş bir grubuna ya da abiyotik stres

faktörlerine karşı konukçu bitkideki sistemik dayanıklılık mekanizmalarının teşvik edilmesidir (Aysan ve ark., 2008).

Antibiyosis: bir canlının, antibiyotik veya buna benzer bileşikler üreterek diğer bir canlıyı engelleyebilmesi olayıdır. Biyolojik kontrolde tanımlanan ilk antibiyotik *Pseudomonas fluorescens* strain 2-79 ve *Pseudomonas aureofaciens* strain 30-84'den elde edilen ve buğdayda kara pasın kontrolünde kullanılan phenazine olmuştur. Yine *Agrobacterium radiobacter* strain K-84'ün odun dokusunda ürettiği Agrocine 84 antibiyotığının, bitkilerde tümör oluşumuna sebep olan *Agrobacterium tumefaciens*'in kontrolünde kullanıldığı bilinmektedir. Biyokontrol organizmaların birden fazla antibiyotik üretmeleri sebebiyle farklı antibiyotiklere karşı oluşacak dayanıklılık çok düşük frekansta olmaktadır. Doğada biyokontrol organizmalar tarafından üretilen antimikrobiyal kimyasallara karşı dayanıklılık, kimyasal ilaçlara karşı oluşan dayanıklılığa oranla çok daha yavaş olmaktadır. Biyokontrol organizmalar kimyasal ilaçlar gibi geniş bir alana yayılarak, patojen veya patojen olmayan geniş bir organizma grubunu etkisi altına almamaktadır. Bu da canlılarda dayanıklılık riskini azaltan bir faktördür (Aysan ve ark., 2008).

Yer ve besin elementleri açısından rekabet; rekabet, yeterince kaynağın olmadığı alanlarda iki veya daha çok canlı arasında oluşan alandan yararlanabilme üstünlüğü

biçiminde tanımlanmıştır (Karagöz, 2009). Biyokontrol ilişkide iki besin elementi büyük önem arzeder ki, bunlar karbon ve demir elementleridir. Doğal olarak var olan veya biyolojik mücadele amacıyla dışardan ilave edilen mikroorganizmalar toprakta bitki kök bölgesine kolonize olmakta ve bitkiler tarafından salgılanan eksudatları karbon kaynağı olarak tüketmektedir. Sellüloz, hemisellüloz ve pektin gibi kompleks karbonhidratları içeren kök musilajları sadece bazı özelleşmiş mikroorganizmalar tarafından parçalanabilmektedir. Kompleks karbonhidratları kullanma kabiliyeti olan organizmalar mikrobiyal rekabette avantajlı oldukları için daha iyi kolonize olmaktadır. Bu nedenle biyokontrol elemanlarının patojenlere göre karbon kaynağı kullanımında daha üstün rekabet kabiliyetine sahip olması gerekmektedir (Aysan ve ark., 2008).

Patojen ve antagonist mikroorganizmalar arasındaki ilişkide önem arzeden bir diğer besin elementi de demirdir. Mikroorganizmalar demir ihtiyaçlarını karşılamada siderofor adı verilen pigment proteinlerinden faydalanmaktadır. Sideroforlar lipopeptid yapısında düşük molekül ağırlıklı proteinler olup, demir iyonlarına (Fe^{+3}) bağlanarak demiri bakteri hücresine taşırlar. *Fluorescent pseudomonas* bakteriler, demir oranı düşük topraklarda sarı-yeşil renkli *sideroforlar*, *pyoverdin* ve *pseudobactin* üretmektedir. Özellikle demir elementi bakımından güçsüz arazilerde (rhizosfer bölgesinde) siderofor üretebilen mikroorganizmalar, demir alımını engelleyerek patojen organizmanın demirden faydalanma kabiliyetini azaltmakta ve sonuçta patojeni baskı altına almaktadır (Aysan ve ark., 2008).

Hiperparazitizm; bir canlının hücre duvarlarını eritip yok edebilen ya da parçalayabilen enzimlerin üretimine bağlıdır. Bu amaçla kullanılan biyolojik mücadele elemanları, meydana getirdikleri hidrolitik enzimler ile hastalık etmenlerinin hücrelerini yıkıma uğratarak patojen gelişimini baskı altında tutmaktadır. Proteaz, sellüloz, β -1,3 glukanaaz ve kitinaz gibi hidrolitik enzimleri salgılayabilen birden fazla bakteri ve fungus hiperparazitik olarak tarımda hastalıklara karşı mücadelede kullanılabilir (Aysan ve ark., 2008).

Hipovirülenslik; hastalık etmeni ile virülanslığı daha az olan canlı arasında bulunan hibridizasyon sonucunda hastalık etmeninin virülanslığının düşmesi durumudur (Bora ve Özaktan, 1998).

Sonradan kazanılmış sistemik dayanıklılık mekanizması; çeşitli mikroorganizmalar kullanılarak, konukçu bitkilerin sistemik dayanıklılık mekanizmalarının aktif hale getirilmesi esasına dayanan bir başka önemli biyolojik mücadele metotudur. Bu mekanizmayı; SIR ve SAR olmak üzere iki grupta ele almak mümkündür.

SIR (Systemic Induced Resistance): Bu sistemde patojen olmayan organizmaların bitkide dayanıklılığa yol açtıkları bilinmektedir. Bu şekildeki bir dayanıklılık, toprakta yaşayan PGPR bakterileri (bitki gelişimini uyaran) ile olmaktadır. Topraktaki bu bakteriler bitki gelişimi üzerinde olumlu etkiler yaparken, toprakta yaşayan patojenlere karşı da engelleyici etkilerde bulunmaktadır. Yapılan pek çok çalışma bu bakteri gruplarının kök sisteminde oluşturdukları bu dayanıklılığın bitkinin yaprak hastalıklarında veya sistemik hastalıklarında etkili olabildiklerini göstermiştir. Bu durum, jasmonik asidin hücreler arasındaki boşluklarda toplanmasına bağlıdır ve patojenite ile ilgili PR proteinlerini kodlayan genlerin aktivasyonu ile karakterize edilmektedir. Son zamanlarda seçilen non- patojenik ve köklere kolonize olmayan biyokontrol bakterilerinin de sistemik dayanıklılık mekanizmasını başlattığı belirtilmektedir (Aysan ve ark., 2008).

SAR (Systemic Acquired Resistance): SAR yani sistemik kazandırılmış dayanıklılıkta, bir patojen ile bulaştırılan bitkide dayanıklılık geliştiğinde uyarılma gerçekleşir. Bitki büyüdükçe aynı patojene olduğu gibi diğer patojenlere de dayanıklılığı devam etmektedir. Salisilik asit (SA) ve benzoik asit (Benzothia- diazole BTH) türevlerinin birer, bitki aktivatörü olarak konukçu bitkilerde patojenite ile ilgili PR proteinlerinin birikmesine neden olduğu bilinmektedir. Buna bağlı olarak bitkilerde fitoaleksinler olarak adlandırılan düşük moleküler ağırlıklı bu antimikrobiyal maddeler, enfeksiyonu takiben enfeksiyon noktasında veya çevresinde birikerek bitkilerde sistemik olarak bir dayanıklılık mekanizmasının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Konukçu bitkileri farklı patojen gruplarına karşı uzun süreli olarak koruması, sistemik oluşu, hastalık etmenlerinin yeni strain oluşturulmasına yönelik daha stabil olması ve uyarılmış dirençlilik gösterebilen bitkilerden ekstrakte edilebilen bitki aktivatörleri ile tohumların ilaçlanması ve püskürtme şeklinde bitkilere uygulanabilmesi SAR'ın bazı avantajlarını oluşturmaktadır (Aysan ve ark., 2008).

Birçok *fluorescent* *Pseudomonas*' lar tarafından üretilen pyochelin ve salisilik asit gibi sidereforların konukçu bitkinin dayanıklılık mekanizmasını faaliyete geçirerek, biyokontrol organizma ile patojen arasındaki rekabette, patojen organizmanın aleyhine bir durum oluşturduğu bilinmektedir. Bir diğer *fluorescent* *Pseudomonas*lardan *Pseudomonas putida*'nın, SAR ile alakalı olan PRLa proteinlerini şifreleyebilen genlerin expressionunu uyardığı tespit edilmiştir (Aysan ve ark., 2008).

Daha önce yapılan çalışmalarda Iğdır İlinde elma yetiştiriciliği yapılan alanlarda *E. amylovora*'nın varlığı tespit edilmiş, hatta zararın bazı bahçelerde oldukça büyük olduğu ve ağaçların eradikasyonu ile sonuçlandığı görülmüştür (Gökçe, 2015). Hastalık karantinaya tabidir ve mücadelesi oldukça zordur. Ayrıca hastalığın epidemiyolojisi düşünülecek olursa; kuşlar ve 77 farklı böcek ile kolaylıkla taşındığı ve hastalığın hızlıca yayıldığı açıktır. Tüm bunlara mücadelesinde kullanılan kimyasalların bitkilerde oluşturdukları fitotoksosite, canlı ve çevre üzerinde oluşturduğu zarar ve etmenin kimyasallara karşı zamanla dayanıklılık kazanması da eklenince konukçu-patojen-PGPR etkileşimlerini içeren biyolojik mücadele çalışmalarına ağırlık verilmesi bir gereklilik olarak ortaya çıkmaktadır. Bu düşünceden hareketle, bu çalışmada yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarının en yıkıcı hastalığı olan ateş yanıklığı hastalığı etmeni *E. amylovora*'nın Iğdır ilinden izole edilen PGPR'ler ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Patojen ülkemizde ilk olarak 1985'te Sultandağ ilçesinde ve Afyon ilinde ardından 1987 senesinde Isparta ve Burdur illerinde tespit edilmiştir (Öktem ve Benlioğlu, 1988). Farklı çalışmalarla bazı bölgelerdeki durum ortaya konmuş, Ege Bölgesi'nde %23,93 ve Doğu Akdeniz Bölgesi'nde %42,37 oranında bulaşıklık saptanmıştır (Tokgönül ve Çınar, 1991; Demir ve Gündoğdu, 1993). Doğu Anadolu Bölgesi'nde konuyla ilgili sürvey çalışması yapılmamış olmasına rağmen, yumuşak çekirdekli meyvelerdeki hastalıkların belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada en fazla ateş yanıklığının sorun olduğu görülmüştür (Kotan, 2002).Yapılan bu çalışmalar hastalığın ülkemizde yumuşak çekirdekli meyve yetiştiriciliği yapılan hemen her bölgede önemli bir sorun oluşturduğunu göstermektedir.

Türkiye'de de ateş yanıklığı ile mücadelede kullanılmak üzere, biyolojik kontrol stratejilerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Momol, 1990; Momol ve ark.,1991; Tokgönül ve Çınar, 1991; Demir ve Gündoğdu, 1991; Özaktan ve Türküsay, 1994; Özakman, 1995; Tokgönül ve Başpınar, 1995; Erdoğan, 1999; Özaktan ve ark., 2001, Kotan, 2002).

Ishimaru *et al.* (1988), tarafından yapılan çalışmada *Pantoea agglomerans* str. C9-1 'in üretmiş olduğu, herbicolin 0 ve herbicolin 1 antibiyotiklerinin *E. amylovora* 'nın gelişimini inhibe ettiği saptanmıştır.

Vanneste *et al.* (1990), tarafından yapılan çalışmada *Pseudomonas flourescens* str.A506 ve *Pantoea agglomerans* str. C9-l'nin armut çiçeklerindeki epifitik popülasyonları tespit edilmiştir. Özellikle *Pantoea agglomerans* ve *Pseudomonas flourescens* strainlerinin diğerlerine nazaran daha etkili sonuç verdiği belirlenmiştir.

Özaktan ve Türküsay (1994), tarafından yapılan araştırmada armut ağaçlarından izole edilen epifitik bakterilerin ateş yanıklığına etkileri *in vitro* ortamda test edilmiş, *E. herbicola*'nın %64'nün, *flouresant* *Pseudomonas* strainlerinin ise %57'sinin patojene karşı çok fazla etkili olduğu bulunmuştur.

Ilickey and Travis (1995), tarafından yapılan çalışmada *E.amylovora*'nın neden olduğu çiçek yanıklığı enfeksiyonlarına karşı, *Pantoea agglomerans*'ın, *Pseudomonas flourescens* 'ten daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Zeller and Wolf (1996), tarafından yapılan çalışmada farklı bitkilerden yapılan izolasyon sonucunda elde edilen 80'den fazla bakteri straininin hastalığa karşı antagonistik aktiviteleri test edilmiş, çalışmalar *in vitro* ortamda 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. Çok etkili olarak gözlenen *Erwinia herbicola*'nın E.h.89 nolu straininin arazi koşullarında dağ muşmulası bitkisinde %70 kontrol sağladığı belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada *in vitro* ve tarla testlerinde strainlerin aktiviteleri arasında iyi bir korelasyon görülmemiş ancak, *E. herbicola* E.h.89 straininin bütün testlerde iyi sonuç verdiği bulunmuştur.

Alay (1997), tarafından yapılan araştırmada *Pantoea agglomerans*'ın ABD ve Fransa'daki elma bahçelerinde sorun olan ateş yanıklığının kontrolünde streptomycin kadar iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir.

Erdoğan (1999), tarafından yapılan araştırmada Isparta ilinde yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında ateş yanıklığına karşı antagonist bakterilerin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmada 22 *fluoresant* Pseudomonas straininin *in vitro* ortamda patojeni engellediği belirlenmiştir.

Ülke (1999), tarafından yapılan çalışmada *E. amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*'nin neden olduğu ateş yanıklığı hastalığına karşı epifitik bakteri strainlerinin antagonistik yetenekleri *in vitro* ve *in vivo* ortamda araştırılmıştır. Adana, İçel, Niğde ve Karaman illerinde kurulmuş olan elma ve armut bahçelerindeki ağaçların yaprak, çiçek ve sürgünlerinden yapılan izolasyonlar sonucu toplam 250 adet aday antagonist bakteri straini elde edilmiştir. Bu strainler, *in vitro* ortamda antagonistik aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla besi ortamı ve ham armut meyve dilimleri üzerinde testlenmiştir. Besi ortamı üzerinde strainlerin 28 tanesinin inhibisyon zonu oluşturduğu bulunmuştur. En geniş inhibisyon zonu oluşturan 12 strainden 9 tanesinin %70' in üzerinde bir etkiyle ham armut meyve dilimleri üzerinde *E. amylovora*'nın gelişimini engellediği tespit edilmiştir. Aynı bakteri strainleri *in vivo* ortamda antagonistik aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla *Pyrus communis* ev. Deveci (armut) ve *Pyracantha sp.* (ateş dikenini)' nin sürgünleri üzerinde testlenmiştir. Armut fidanları üzerinde, 6 antagonist strainin *E. amylovora*'nın sürgün enfeksiyonunu yaklaşık %80 oranında önlediği tespit

edilmiştir. Bu strainlerden ateş yanıklığı etmeni antagonisti olarak *Erwinia herbicola* GSPB 450 straininin patojene karşı etkili streptomycin sülfat (200ppm) kadar başarılı sonuç verdiği bulunmuştur.

Mercier and Lindow (2001), tarafından yürütülen bir çalışmada çiçekler üzerinde *E. amylovora*'ya karşı antagonist etki gösteren strainler belirlenmiş ve ateş yanıklığı hastalığına karşı etkileri araştırılmıştır. Gözlemlenen strainlerden bazılarının, hastalığın kontrolünde kullanılan *P. flourescens* A506'dan daha iyi veya benzer sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

Smith (2001), tarafından ABD'de *E. amylovora*'ya karşı kullanılan *P. flourescens* A506 straininin ticari preparatı BlightBan'ın erken uyarı sisteminin uyarısıyla ağaçlarda bakteri enfekte olmadan kullanıldığı takdirde daha etkili sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Bu biyokontrol ürün, ateş yanıklığına karşı geliştirilen ilk ticari biyokontrol preparat olup 1995 yılında ticari olarak piyasaya sürülmüştür .

Özaktan ve ark. (2001), tarafından armut ağaçlarında *E.amylovora*'ya karşı etkili PGPR'lerin üretimi ve biyopreperatların geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmada *P. agglomerans* ve *P. flourescens*'in talk katkılı WP biyoformulasyonları tek başına ve karıştırılarak kullanılmıştır. Çalışma Dikili ve Burdur'da ateş yanıklığı patojenine enfekteli armut yeiştiriciliğin yapıldığı arazilerde yürütülmüştür. Uygulamalar iki sene ard arda, ağaçların tam çiçeklenme dönemlerinde yapılmıştır. Eh-24 straininden elde edilen talk katkılı WP biyoformulasyonunun hastalık etmeninin çiçeklerdeki enfeksiyonunu 1999-2000 'de % 63 ile % 76 oranlarında engelleyerek kimyasal mücadele preparatından çok daha iyi sonuç verdiği saptanmıştır.

Özaktan ve Bora (2004), tarafından yapılan çalışmada Türkiye florasına ait antagonist özellikte *Pantoea agglomerans* straininin Ege Bölgesi'ndeki armut alanlarında *Erwinia amylovora*'nın neden olduğu ateş yanıklığı hastalığının entegre mücadelesinde başarıyla kullanıldığı tespit edilmiştir.

Biondi *et al.*, (2007), tarafından armutlarda görülen ateş yanıklığına karşı *Bacillus subtilis*'in etkisinin araştırıldığı çalışmada 2005-2006 'daki deneylerde Serenade ilacının (Biyofungusit, litrede 2,5–3,5 gr *B. subtilis* içeren) enfeksiyonu % 62 - 68'e kadar azalttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda kullanılan Heliocuvire'nin (bakır

hidroksit) hastalığı %79 azalttığını, mukayesede kullanılan Spreptomycin'in ise hastalığı %91–97 azalttığı belirlenmiştir. Araştırmacılar bu sonuçlara bakarak entegre kontrol programlarına dahil etmek için *B. substilis* 'in uygun olduğunu belirtmiştir.

Ahari *et al.*, (2007), tarafından *E. amylovora*'ya karşı İran'da yapılan çalışmada kimyasal kontrol için bordo bulamacı ve biyolojik kontrol için *P. agglomerans* kullanılmıştır. Çalışma sonucunda armut ağaçlarındaki ateş yanıklığı belirtileri arasında ciddi farklar meydana geldiği bildirilmiştir. Armut ağaçları üzerinde en yüksek hastalık oranı %75,37 ve en düşük hastalık oranı bordo bulamacı yapılan ağaçlarda %1,85 bulunmuştur. Bakteri uygulaması yapılan bitkilerde ise %20,62 oranında hastalık tespit edilmiştir.

Cornea *et al.* (2007), tarafından yapılan çalışmada *E. amylovora*'ya karşı antagonistik etki gösteren antagonistleri seçmek için armut ve ayvaların yaprak ve çiçeklerinden izolasyon yapılmıştır. Potansiyel antagonistlerin ateş yanıklığına karşı seçiminde çok sayıda *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinsi bakteriler teste tabii tutulmuştur. *In vitro* koşullarda *Bacillus spp.*'nin iki straini, *Pseudomonas*'ın üç straininin *E. amylovora*'ya karşı antagonistik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Tanılama testleri sonucunda bu strainlerin, *Pseudomonas putida* P5 ve *Pseudomonas aeruginosa* P10 ve P14 olduğu belirlenmiştir.

Sundin and Yoder (2009), tarafından yapılan bir çalışmada ateş yanıklığının kontrolü için bakteriyel antagonistlerden *Pseudomonas fluorescens* A506, *P. agglomerans* C9-1, *P. agglomerans* E325, *B. substilis* QST 713 strainleri kullanılmıştır. 2001 ve 2007 yılları arasında yapılan testlerde çiçek enfeksiyonlarında ortalama olarak azalma gözlenmiş, değişkenlik %9,1 ile %36 arasında tespit edilmiştir.

Pusey *et al.* (2011), tarafından yapılan çalışmada ateş yanıklığının kontrolü için ticari olarak kullanılan *P. agglomerans* E325'in laboratuvar koşullarında spesifik olarak alkalın ve fosfat içerikli bir antibiyotik ürettiği saptanmış, elma ağaçlarında çiçek stigmaları üzerinde yapılan çalışmalarda *E. amylovora*'nın gelişmesinin baskılanmasında antibiyosis ilişkisinin olduğu bildirilmiştir.

Karabıçak (2012), tarafından yapılan denemede *E. amylovora*'nın bakteri strainleri ile biyolojik mücadelesi hem laboratuvar hem de arazi şartlarında

araştırılmıştır. İlaçlı mücadeleye alternatif olarak üç farklı bakteri straini (*Pantoea agglomerans* RK-79, *Pantoea agglomerans* RK-84 ve *Pseudomonas putida* RK-142), *in vivo* ortamda armut çiçek ve sürgünlerinde, tarla şartlarında ise armut sürgünlerinde patojene karşı kullanılmıştır. Çiçekler üzerine yapılan uygulamalarda *Pseudomonas putida* RK-142'nin %57 ve *Pantoea agglomerans* RK-84'ün ise %48 oranında hastalığı azalttığı tespit edilmiştir. Sürgünler üzerinde yapılan uygulamalarda ise; strainlerin hastalık etmeninin gelişimini engellendiği gözlenmiştir. Ancak bu engellenmenin sürgünlere yapılan uygulamaların sayısına göre farklılık gösterdiği ve bir süre sonra tamamen ortadan kaybolduğu görülmüştür. Patojene karşı, bakteri strainleri ile yapılacak koruyucu nitelikteki uygulamalarının, vejetatif kısımda vejetasyon süresince patojen gelişimini engellemede etkili olduğu saptanmıştır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan patojen

Çalışmada Gökçe GÖK tarafından 2016 yılında tamamlanan “İğdir ili elma bahçelerinde ateş yanıklığı hastalığına sebep olan *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.* (Ea) etmeninin biyokimyasal ve moleküler (MIS) yöntemle tanısı” isimli yüksek lisans tez çalışmasından elde edilen ve patojenitesi yüksek olan beş bakteri straini (E-3, E-20, E-67, E-99, E-100) kullanılmıştır.

3.1.2. Çalışmada kullanılan aday antagonist bakteriler

İğdir Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji laboratuvarı stoklarında bulunan, azot fikzasyonu, potasyum ve fosfat çözücü özellikleri tespit edilen 130 bakteri straini kullanılmıştır. Bu bakteri strainleri; 2 *Arthbacter pascens*, 8 *Arthbacter oxydans*, 3 *Arthbacter ourescens*, 1 *Arthbacter crysollopoietes*, 3 *Arthbacter globiformis*, 5 *Brevibacillus choshinensis*, 1 *Brevibacillus formosus*, 3 *Brevibacillus centrosporus*, 3 *Brevibacillus parabrevis*, 6 *Bacillus thuringiensis*, 10 *Bacillus viscosus*, 8 *Bacillus cerus*, 2 *Bacillus psychrosacchorolyticus*, 13 *Bacillus megaterium*, 4 *Bacillus subtilis*, 4 *Bacillus atrophaeus*, 1 *Bacillus alcalophilus*, 5 *Bacillus pumilus*, 5 *Bacillus* GC group 22, 1 *Bacillus coagulans*, 3 *Lysinibacillus sphaericus*, 3 *Herbaspirillum autotrophicum*, 4 *Herbaspirillum huttiense*, 6 *Kocuria rhizophila*, 10 *Kocuria rosea*, 2 *Kocuria kristinae*, 1 *Paucimonas lemoignei*, 3 *Pseudomonas putida*, 1 *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, 1 *Pseudomonas fluorescens*, 1 *Microbacterium esteraromaticum*, 3 *Pantoea agglomerans*, 1 *Alcaligenes piechaudii*, 2 *Bacillus mycoides* ve 1 *Enterobacter cloacae* ‘dan oluşmaktadır.

3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri

Stok kültürde bulunan bakterilerin geliştirilmesinde Nutrient Agar+Sukroz (NAS), inokulum üretilmesinde ise Nutrient Agar (NA) ve Nutrient Broth (NB) kullanılmıştır. Besiyerlerinin hazırlanışı aşağıdaki gibidir:

➤ **Nutrient agar:** 1 L distile su içerisine 28 g nutrient agar karışımı (Oxoid) ilave edilmiştir. Besiyeri otoklavda 121 °C’de 15 dk steril edildikten sonra 45 °C’ye kadar soğutulmuş ve steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.

➤ **Nutrient broth:** 13 g Nutrient Broth içeriği (Oxoid) 1 L distile su içerisine eklenmiştir. Karışım otoklavda 121 °C’de 15 dk steril edildikten sonra soğumaya bırakılmıştır.

➤ **Nutrient sukroz agar (NSA):** 23 g nutrient agar (Difco) ve 50 g sukroz tartılmış, 1 L H₂O’ya ilave edilmiştir. Besiyeri otoklavda 121 °C’de 15 dk. steril edildikten sonra 45 °C’ye kadar soğutulmuş ve steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.

3.1.4. Çalışmada kullanılan test bitkisi

İğdir ilinde yetiştirilen ve patojene hassas olan Pink Lady elma ağaçlarının sürgünleri kullanılmıştır.

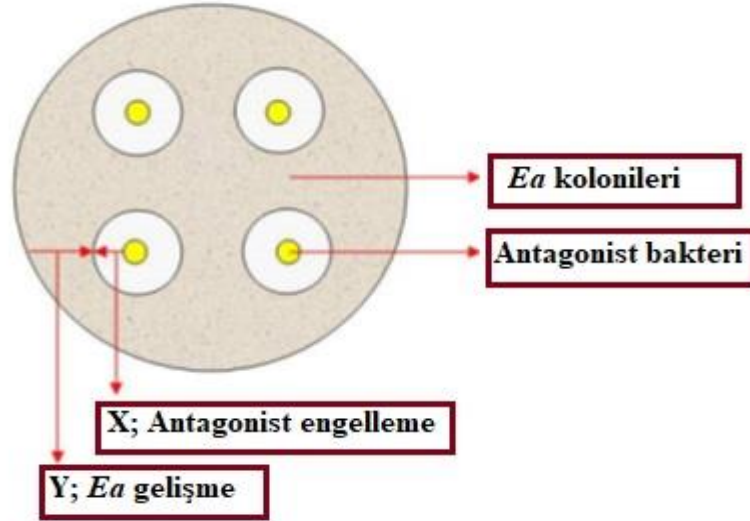
3.2. Yöntem

3.2.1. *In vitro* ortamda aday antagonist strainlerinin *E. amylovora*’ya karşı biyokontrol etkisinin belirlenmesi

Test edilen bakteri strainleri -80°C’de muhafaza edilen stok kültürlerden, NAS katı besiyerine 3 fazlı çizgi ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petrilere 24–48 saat süreyle 27 °C’ye ayarlı inkübatörde gelişmeleri için inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.2.). *E. amylovora*’nın 48 saatlik kültüründen NA besiyerine swap ile yayılarak ekim yapılmıştır. Ardından bu petrilere aday antagonist strainleri birbirlerine eşit uzaklıkta olacak şekilde dört noktaya ekim yapılmıştır. Test 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Petrilere bakterilerin gelişimi için 27 °C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Aday antagonist bakterilerin kolonilerinin çevresinde Ea gelişiminin engellendiği zon x ve petri çeperine olan mesafe y ölçülerek 0-5 skalasına göre değerlendirilmiştir (Şekil 3.3.).



Şekil 3.2. Bakterilerin besiyerine çizgi ekim yapılması ve gelişimlerinin kontrolü



Şekil 3.3. Petride aday PGPR strainlerinin antagonistik özelliklerinin belirlenmesi

Petride oluşan antibiyosis aşağıdaki skala değerlerine göre belirlenmiştir.

0; Engelleme yok

1; $x \leq 2$ mm

2; $2 \text{ mm} < x < y$

3; $2 \text{ mm} < x > y$

4; $y \leq 2 \text{ mm}$

5; $Y=0$

3.2.2. Aday antagonist strainlerinin elma yapraklarında fitotoksik etkisinin test edilmesi

In vitro ortamda etkili bulunan 34 straine ait 10^9 , 10^8 , 10^7 , 10^6 ve 10^5 cfu/ml konsantrasyonda hazırlanan solüsyonlar elma yapraklarına sprey edilerek bulaştırılmıştır. Kontrol amacıyla yapraklı sürgünlere sadece steril su püskürtülmüştür. İnokulasyon sonrası bitkiler 3 gün polietilen torbalar içerisinde muhafaza edilmiştir. Bakteri inokulasyonu sonucu oluşan sararmalar, deformasyon yada nekrotik kısımların oluşumu fitotoksik etki olarak değerlendirilmiştir. Deneme; laboratuvar ortamında, 3 tekerrürlü olarak kurulmuş, her tekerürde 3 adet yapraklı sürgün yer almıştır.

3.2.3. Patojen ve aday antagonist strainlerine ait süspansiyonların hazırlanması

NAS besiyerinde çoğaltılan bakteri hücreleri steril öze ile alınarak Nutrient Broth (NB) besiyerine aktarılmış ve bir gece sıcaklığı 27°C 'ye ayarlı çalkalayıcıda 140 rpm ' de inkübasyona bırakılmıştır. Hazırlanan inokulum steril saf su ile seyreltilerek turbidimetre ile konsantrasyonları ayarlanmıştır. İnokulum yoğunluğu aday antagonist bakteriler için 10^5 cfu/ml, patojen bakteriler içinse 10^7 cfu/ml olacak şekilde H_2O ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.4. *In vivo* ortamda aday antagonist strainlerin *E. amylovora*' ya karşı biyokontrol etkisinin belirlenmesi

Çalışmaya ilkbaharda elma ağaçlarının tam olarak yapraklandığı dönemde başlanmıştır. Yapraklı sağlıklı sürgünler 50 cm uzunluğunda kesilerek laboratuvara getirilmiştir. Bu sürgünler, içinde steril su bulunan steril erlenmayerlerin içerisine bırakılmıştır. Ardından yapraklara 10^5 cfu/ml konsantrasyonunda aday antagonist bakteri strainleri sprey edilmiştir. Uygulamadan 48 saat sonra ise, 10^7 cfu/ml konsantrasyonundaki 5 patojen bakteri straini (E-3, E-20, E-67, E-99 ve E-100) karıştırılarak sprey şeklinde inokule edilmiştir. İnokule edilen sürgünler polietilen torbalar içerisinde 3 gün tutulduktan sonra torbalar çıkarılmıştır. Çalışma, laboratuvar ortamında, 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Her tekerrür 3 tane yapraklı sürgünden

oluşmuştur. Patojen inokulasyonundan 15 gün sonra her tekerrürde yer alan yapraklardaki belirtiler 1-5 hastalık skalasına (1; Bitkide herhangi bir simptom yok, 2; Bitkide bir iki yaprakta birkaç leke var, 3; Yapraktaki lekeler bir araya gelerek ölü alanlar oluşturmuş, 4; Çok sayıda lekenin bir yaprakta bulunması sonucu yaprak ölmüş, 5; Bitki tamamıyla ölmüş) göre değerlendirilmiştir (Şahin, 1997). Her tekerrürdeki ortalama % hastalık şiddeti Townsend-Heuberger formülü ile hesaplanmıştır. % etkinlik değerleri ise aşağıdaki formüle göre saptanmıştır.

$$\% \text{ Hastalık Şiddeti} = [\Sigma(\text{SD} \times \text{BS})] \times 100 / \text{ESD} \times \text{TB} \quad (3.1)$$

SD: Skala değeri

BS: Aynı skala değerindeki bitki sayısı

ESD: En yüksek skala değeri

TB: Toplam bitki sayısı

Elde edilen hastalık şiddeti (%) sonuçları, Abbott (1925), formülü yardımı ile kontrole göre % etki değerleri olarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Etki} = (X - Y) / X \times 100 \quad (3.2)$$

X; Kontroldeki Hastalık Şiddeti

Y; Uygulamadaki Hastalık Şiddeti

Elde edilen verilere, SAS paket programı ile varyans analizi uygulanmış ve uygulamalar arasındaki farklılıklar $P < 0,05$ hata olasılığı ile yapılan DUNCAN testiyle belirlenmiştir.

4.BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. *In vitro* Ortamda Aday Antagonist Strainlerinin *E. amylovora*' ya Karşı Biyokontrol Etkisinin Belirlenmesi

In vitro ortamda *E.amylovora*' ya karşı antagonistik etkisi test edilen 130 bakteri straininden 34 tanesi etkili bulunmuştur. Etkili bulunan strainlere ait bazı bilgiler Çizelge 4.1.de belirtilmiştir.

Çizelge 4.1. Aday antagonist bakteri strainlerine ait bazı özellikler

STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	SIM INDEX %	N	K	Ca	P	HR
BY-6	<i>Pseudomonas putida</i>	83	K ⁺	-	-	+	-
BY-10	<i>Bacillus mycoides</i>	61	+	-	-	+	-
BY-29	<i>Bacillus megatorium</i>	66	+	-	-	+	-
DT-9	<i>Pantoea agglomerans</i>	89	K ⁺	-	-	+	-
EP-1	<i>Kocuria rosea</i>	56	K ⁺	-	-	+	-
EP-7	<i>Bacillus viscosus</i>	72	K ⁺	-	-	K ⁺	-
EP-8	<i>Bacillus megaterium</i>	62	-	-	-	+	-
EP-19	<i>Bacillus cereus</i>	43	Z ⁺	+	+	K ⁺	-
EP-20	<i>Bacillus cereus</i>	72	+	-	-	K ⁺	-
EP-21	<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i>	69	+	-	-	Z ⁺	-
EP-22	<i>Bacillus cereus</i>	41	Z ⁺	-	-	+	-
MÜ-1	<i>Pantoea agglomerans</i>	57	+	-	-	K ⁺	-
MÜ-2	<i>Bacillus subtilis</i>	78	K ⁺	-	-	+	-
MÜ-3	<i>Alcaligenes piechaudii</i>	72	+	-	-	+	-
NK-18	<i>Bacillus mycoides</i>	55	+	-	-	K ⁺	-
SA-5	<i>Bacillus megaterium</i>	51	+	-	-	+	-
SA-13	<i>Pseudomonas putida</i>	43	+	-	-	K ⁺	-
SA-17	<i>Bacillus GC group 22</i>	63	+	-	-	+	-

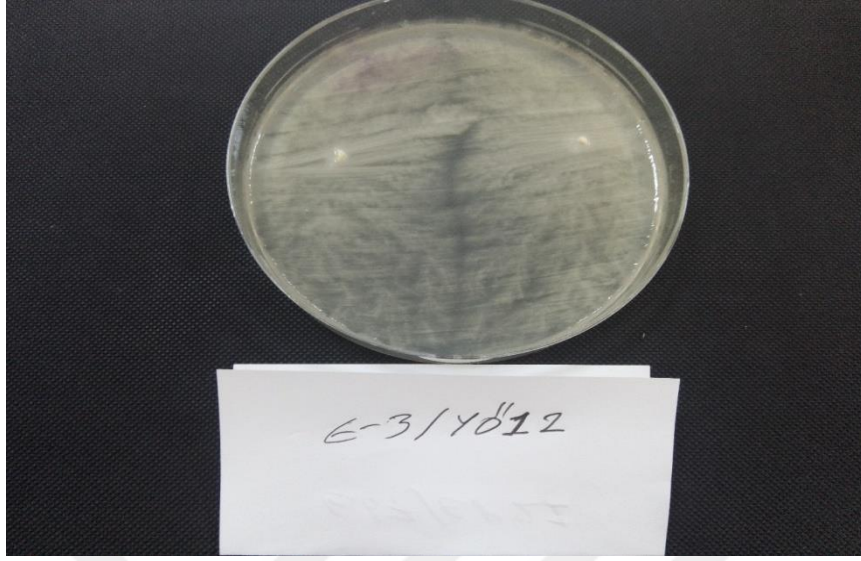
Çizelge 4.1. devamı

STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	SİM İNDEX %	N	K	Ca	P	HR
SA-20	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	50	K ⁺	Z ⁺	+	+	-
SK-18	<i>Bacillus cereus</i>	42	Z ⁺	-	-	Z ⁺	-
SK-39	<i>Microbacterium esteraromaticum</i>	41	K ⁺	+	+	K ⁺	-
SY-4	<i>Bacillus viscosus</i>	44	+	-	-	K ⁺	-
SY-5	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	83	+	-	-	+	-
SY-22	<i>Pseudomonas putida</i>	67	+	-	-	+	-
SY-30	<i>Pantoea agglomerans</i>	45	K ⁺	-	-	+	-
SY-32	<i>Enterobacter cloacae</i>	80	+	+	-	K ⁺	-
YÖ-12	<i>Bacillus mycoides</i>	74	+	-	-	-	-
YÖ-17	<i>Bacillus viscosus</i>	35	K ⁺	-	-	+	-
YÖ-24	<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i>	44	K ⁺	-	-	-	-
YÖ-39	<i>Pseudomonas putida</i>	64	+	-	-	+	-
YS-3	<i>Bacillus cereus</i>	76	K ⁺	-	-	Z ⁺	-
YS-14	<i>Bacillus megaterium</i>	59	+	-	-	+	-
YS-16	<i>Bacillus cereus</i>	64	+	-	-	Z ⁺	-
YS-18	<i>Bacillus alcalophilus</i>	29	+	-	-	+	-

MIS; Mikrobiyal Tanı Sistemi, **N;** azot fiske etme özelliği, **K;** potasyum çözme özelliği, **Ca;** kalsiyumu kullanma özelliği, **P;** fosforu çözme özelliği, **HR;** hipersensetive reaksiyon

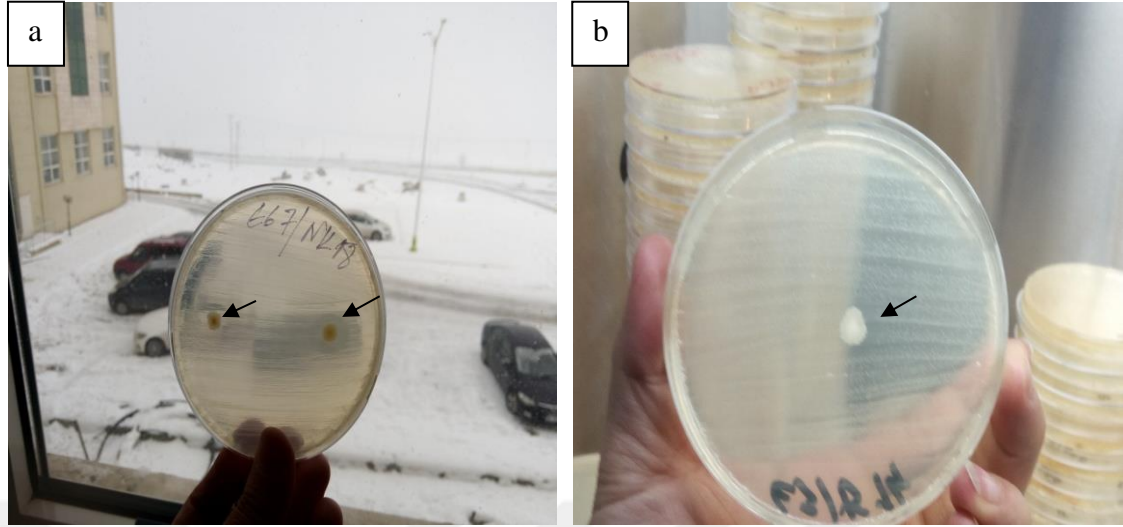
Strainlerden DT-9-*Pantoea agglomerans*, EP-20-*Bacillus cereus*, EP-21-*Bacillus thuringiensis*, SK-18- *Bacillus cereus*, SY-30- *Pantoea agglomerans*, YÖ-12-*Bacillus mycoides* ve YÖ-39-*Pseudomonas putida* çalışmada kullanılan beş *E. amylovora* straini için de 5 skala değeriyle en yüksek etkiyi göstermiştir.

Erwinia amylovora'nın E-3 straini üzerinde dört strainin (MÜ-1-*Pantoea agglomerans*, MÜ-2-*Bacillus subtilis*, MÜ-3-*Alcaligenes piechaudii* ve YÖ-24-*Bacillus thuringiensis*), E-20 straini üzerinde yedi strainin (MÜ-1-*Pantoea agglomerans*, MÜ-2-*Bacillus subtilis*, MÜ-3-*Alcaligenes piechaudii*, YÖ-24-*Bacillus thuringiensis*, SY-4-*Bacillus viscosus*, BY-6-*Pseudomonas putida* ve EP-19-*Bacillus cereus*), E-67 straini üzerinde sekiz strainin (SY-4-*Bacillus viscosus*, SY-5-*Pseudomonas fluorescens*, SY-32-*Enterobacter cloacae*, EP-8-*Bacillus megaterium*, EP-19-*Bacillus cereus*, YS-3-*Bacillus cereus*, SA-17-*Bacillus GC 22* ve YÖ-17-*Bacillus viscosus*), E-99 straini üzerinde on beş strainin (EP-1-*Kocuria rosea*, EP-19- *Bacillus cereus*, EP-22-*Bacillus cereus*, EP-7-*Bacillus viscosus*, SA-17- *Bacillus GC group 22*, SA-13- *Pseudomonas putida*, SA-20-*Pseudomonas pseudoalcaligenes*, YS-3-*Bacillus cereus*, YS-14-*Bacillus megaterium*, YS-16- *Bacillus cereus*, YS-18-*Bacillus alcalophilus*, YÖ-17-*Bacillus viscosus*, BY-10-*Bacillus mycoides*, SY-22-*Pseudomonas putida* ve SK-39-*Microbacterium esteraromaticum*), E-100 straini üzerinde ise dört strainin (YÖ-24-*Bacillus thuringiensis*, EP-8- *Bacillus megaterium*, BY-10-*Bacillus mycoides*, BY-29-*Bacillus megaterium* ve NK-18 *Bacillus mycoides*) etkili olduğu tespit edilmiştir. 5 skala değeri gösteren bu aday antagonistik bakterilerin patojenden çok daha hızlı gelişerek petriyi kapladıkları ve hastalık etmeninin gelişmesini engelledikleri gözlenmiştir (Çizelge 4. 2), (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Strain YÖ-12-*Bacillus mycooides* 'in hızlı bir şekilde gelişerek E-3 patojen strainini engellemesi

SA-5-*Bacillus megaterium*, YS-14-*Bacillus megaterium* ve NK-18-*Bacillus mycooides*'in ise antagonistik etki göstererek zon oluşturduğu ve sırasıyla E-3, E-3 ve E-20, E-67 patojenlerinin gelişimini engelledikleri saptanmıştır (Şekil 4.5 a.ve Şekil 4.5 b.).



Şekil 4.5. a) Strain NK-18-*Bacillus mycoides*'in patojen E-67'ye olan antagonistik etkisi b) Strain YS-14-*Bacillus megaterium*'un patojen E-3'e olan antagonistik etkisi

Yapılan bu çalışmada petri denemesinde patojene ait 5 strainin hepsinin gelişimini engelleyen bakteri strainlerinin (DT-9-*Pantoea agglomerans*, EP-20-*Bacillus cereus*, EP-21-*Bacillus thuringiensis*, SK-18-*Bacillus cereus*, SY-30-*Pantoea agglomerans*, YÖ-12-*Bacillus mycoides* ve YÖ-39-*Pseudomonas putida*) *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Pantoea* cinslerine ait türler olduğu görülmektedir. *E. amylovora*'nın biyolojik kontrolünün *in vitro* ortamda araştırıldığı farklı çalışmalarda da bu cinslere ait strainlerin başarılı bulunduğu belirlenmiştir. Bu konuda Ishimaru *et al.*, (1988), tarafından yapılan çalışmada *Pantoea agglomerans* C9-1 straininin ürettiği herbicilin 0 ve 1 antibiyotikleri sayesinde patojen gelişimini engellediği saptanmıştır. Özaktan ve Türküsay (1994), tarafından yapılan *in vitro* çalışmada *Pseudomonas* strainlerin % 57'sinin *E. amylovora*'ya karşı çok etkili olduğu tespit edilmiştir. Aynı konuda Erdoğan (1999), tarafından yapılan çalışmada 22 floresan *Pseudomonas* straininin *in vitro* ortamda patojeni engellediği belirlenmiştir. Cornea *et al.*, (2007), tarafından yapılan çalışmada *in vitro* koşullarda *Bacillus* spp.'nin iki straini, *Pseudomonas*'a ait üç straininin *E. amylovora*'ya karşı antagonistik etki gösterdiği tespit edilmiştir. *Pseudomonas* strainlerinin tanılama testleri sonucunda bu bakterilerin, *Pseudomonas putida* P5 ve *Pseudomonas aeruginosa* P10 ve P14 strainleri olduğu belirlenmiştir. Pusey *et al.*, (2011), tarafından yapılan çalışmada ise *P. agglomerans*

E-325'in laboratuvar koşullarında alkalın ve fosfat içerikli antibiyotikler ürettiği ve *E.amylovora'* nın baskılanmasında bu antibiyotiğin antibiyosisle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Giddens *et al.*, (2003) ve Hale and Mitchell (2002) tarafından yapılan çalışmalarda da *P. agglomerans'* in pantocin A, B ve pheazine antibiyotiklerini ürettikleri ve *E. amylovora* gelişimini baskıladıkları saptanmıştır. Bu tez kapsamında seçilen türlerin farklı araştırmada kullanılan bakteri strainleri ile uyumlu oldukları görülmektedir.



Çizelge 4.2. Bakteri strainlerinin petri üzerindeki antagonistik özelliklerinin değerlendirilmesi

İzolat	E-3			E-20			E-67			E-99			E-100		
	X (mm)	Y (mm)	Skala	X (mm)	Y (mm)	Skala	X (mm)	Y (mm)	Skala	X (mm)	Y (mm)	Skala	X (mm)	Y (mm)	Skala
BY-6	-	-	-	13.50	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BY-10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18.17	0	5	15.61	0	5
BY-29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11.79	0	5
DT-9	18.19	0	5	21.06	0	5	13.42	0	5	18.59	0	5	17.21	0	5
EP-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13.47	0	5	-	-	-
EP-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17.07	0	5	-	-	-
EP-8	-	-	-	-	-	-	14.63	0	5	-	-	-	16.98	0	5
EP-19	-	-	-	14.05	0	5	12.49	0	5	19.53	0	5	-	-	-
EP-20	14.38	0	5	14.79	0	5	16.57	0	5	17.94	0	5	10.34	0	5
EP-21	12.49	0	5	13.52	0	5	15.21	0	5	14.48	0	5	15.74	0	5
EP-22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18.55	0	5	-	-	-
MÜ-1	14.14	0	5	15.01	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MÜ-2	15.41	0	5	13.23	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MÜ-3	14.55	0	5	14.79	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NK-18	-	-	-	-	-	-	24.05	10.50	3	-	-	-	8.86	0	5
SA-5	09.07	31.27	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SA-13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14.04	0	5	-	-	-
SA-17	-	-	-	-	-	-	16.97	0	5	15.65	0	5	-	-	-
SA-20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.47	0	5	-	-	-
SK-18	17.10	0	5	12.78	0	5	14.64	0	5	15.11	0	5	15.51	0	5
SK-39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17.61	0	5	-	-	-
SY-4	-	-	-	17.66	0	5	16.35	0	5	20.80	0	5	15.37	0	5
SY-5	-	-	-	-	-	-	3.94	0	5	-	-	-	-	-	-

Çizelge 4.2. devamı

SY-22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19.24	0	5	-	-	-
SY-30	12.13	0	5	16.74	0	5	14.99	0	5	17.78	0	5	11.78	0	5
SY-32	-	-	-	-	-	-	4.31	0	5	-	-	-	-	-	-
YÖ-12	13.91	0	5	12.03	0	5	13.55	0	5	21.81	0	5	14.42	0	5
YÖ-17	-	-	-	-	-	-	18.72	0	5	18.39	0	5	-	-	-
YÖ-24	13.39	0	5	-	-	-	-	-	-	15.73	0	5	13.10	0	5
YÖ-39	17.95	0	5	17.14	0	5	3.47	0	5	15.59	0	5	13.26	0	5
YS-3	-	-	-	15.13	0	5	17.21	0	5	17.17	0	5	-	-	-
YS-14	7.46	31.55	2	-	-	-	-	-	-	18.43	0	5	-	-	-
YS-16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14.53	0	5	-	-	-
YS-18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17.78	0	5	-	-	-

4.2. Aday Antagonist Strainlerinin Elmada Fitotoksik Etkisinin Test Edilmesi

Bakteri strainlerine ait 10^9 , 10^8 , 10^7 ve 10^6 yoğunluktaki solüsyonların elma yapraklarında toksik etki gösterdiği belirlenmiştir. 10^5 konsantrasyonundaki bakteri solüsyonunun spreyinden sonra elma yapraklarında fitotoksik herhangi bir belirti gözlenmemiştir. Bundan dolayı çalışmada aday antagonistler 10^5 cfu/ml konsantrasyonda kullanılmıştır.

4.3. *In vivo* Ortamda Aday Antagonist Strainlerin *E.amylovora*‘ ya Karşı Biyokontrol Etkisinin Belirlenmesi

Elma sürgünlerinde kullanılan PGPR’ lerin ateş yanıklığı hastalığının gelişimine etkisi Çizelge 4.3’de sunulmuştur. Patojen inokule edilen pozitif kontrol uygulamasında yer alan bitkilerde hastalık semptomu gözlenmiş ve ortalama hastalık şiddeti % 100 olarak belirlenmiştir. Su sprey edilen negatif kontrol grubunda bulunan bitkilerde ise hastalık semptomu görülmemiştir. *In vitro* ortamda etkili bulunan strainlerden BY-6-*Pseudomonas putida* ve MÜ-1-*Pantoea agglomerans*’ın % 80 oranında hastalığı engelleyerek en yüksek etkiyi oluşturdukları görülmüştür (Şekil 4.6 ve Şekil 4.7).

Hastalık gelişimini başarılı bir şekilde baskıladıkları tespit edilen 11 strainin (BY-10-*Bacillus mycooides*, EP-21-*Bacillus thuringiensis*, EP-22-*Bacillus cereus*, NK-18- *Bacillus mycooides*, SA-13- *Pseudomonas putida*, SY-22- *Bacillus cereus*, YÖ-17- *Bacillus viscosus*, YÖ-24- *Bacillus thuringiensis*, YS-3- *Bacillus cereus*, YS-16- *Bacillus cereus* ve YS-18-*Bacillus alcalophilus*) % 60, iki strainin (BY-29-*Bacillus megaterium* ve MÜ-3-*Alcaligenes piechaudii*) % 49 ve dört strainin (DT-9- *Pantoea agglomerans*, EP-1-*Kocuria rosea*, SY-4-*Bacillus viscosus* ve YÖ-39- *Pseudomonas putida*) % 40 engelleme oranına sahip oldukları belirlenmiştir. Diğer strainlerin ise hastalık gelişimini % 9 - % 34 oranında engelledikleri saptanmıştır. SA-5- *Bacillus megaterium* ve SY-32-*Enterobacter cloacae* strainlerinin ise %100 hastalık şiddeti ile pozitif kontrol ile aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.4.).

İstatistik analizler $p < 0,05$ önem derecesine göre yapılmıştır. Tekerrürlerde belirlenen ortalama hastalık şiddeti değerlerine SAS istatistik paket programı

kullanılarak varyans analizi yapılmıştır. Ardından yapılan Duncan testi ile istatistiki olarak önemli bulunan bakteri uygulamaları farklı renklerle gösterilmiştir.

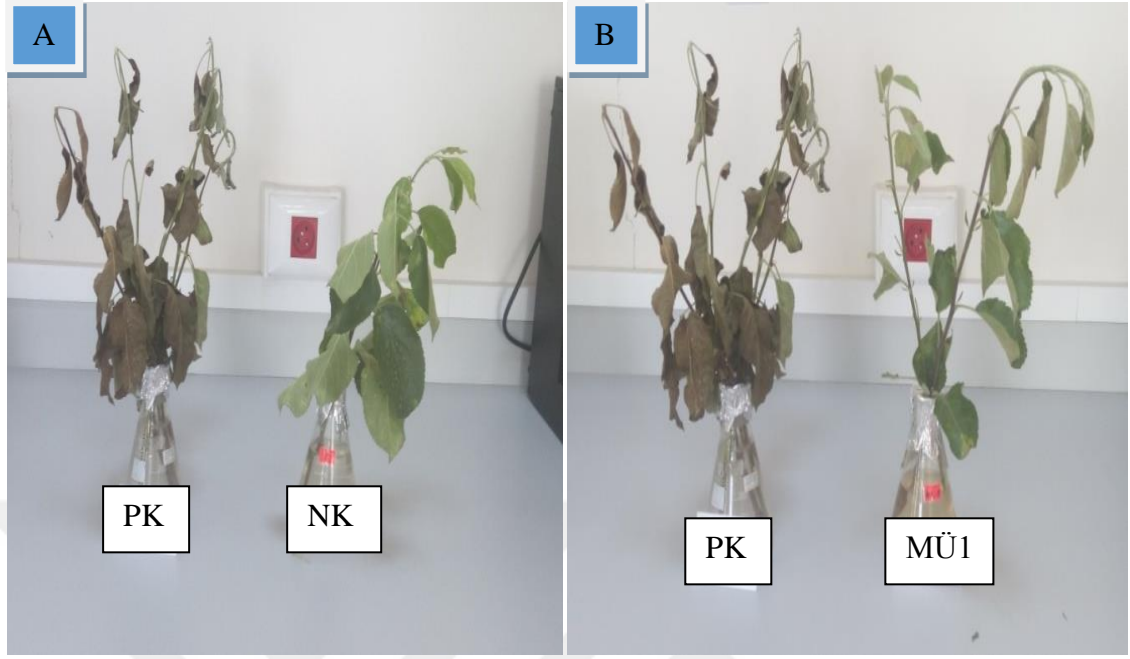
Çizelge 4.3. PGPR'lerin *E. amylovora*'nın oluşturduğu hastalık şiddetine etkisi

STRAIN NO	HASTALIK ŞİDDETİ	% ETKİ
BY-6 <i>Pseudomonas putida</i>	20	80
BY-10- <i>Bacillus mycoides</i>	40	60
BY-29 <i>Bacillus megaterium</i>	51	49
DT-9 <i>Pantoea agglomerans</i>	60	40
EP-1- <i>Kocuria rosea</i>	60	40
EP-7- <i>Bacillus viscosus</i>	91	9
EP-8 <i>Bacillus megaterium</i>	70	30
EP-19- <i>Bacillus cereus</i>	77	23
EP-20- <i>Bacillus cereus</i>	77	23
EP-21 <i>Bacillus thuringiensis</i>	40	60
EP-22- <i>Bacillus cereus</i>	40	60
MÜ-1 <i>Pantoea agglomerans</i>	20	80
MÜ-2- <i>Bacillus subtilis</i>	77	23
MÜ3 <i>Alcaligenes piechaudii</i>	51	49
NK-18- <i>Bacillus mycoides</i>	40	60
SA-5- <i>Bacillus megaterium</i>	100	0
SA-13 <i>Pseudomonas putida</i>	40	60
SA-17- <i>Bacillus GC 22</i>	91	9

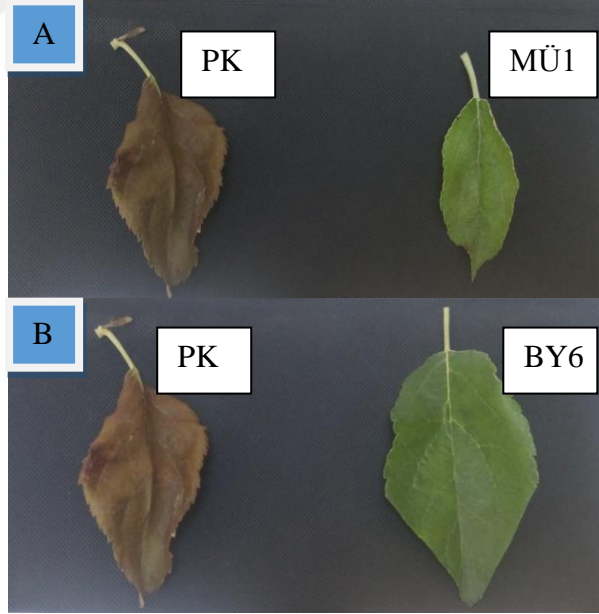
Çizelge 4.3. devamı

STRAIN NO	HASTALIK ŞİDDETİ	%ETKİ
SA-20 <i>Pseudomonaspseudoalcaligenes</i>	80	20
SK-18- <i>Bacillus cereus</i>	80	20
SK39 <i>Microbacteriumesteraromaticum</i>	80	20
SY-4- <i>Bacillus viscosus</i>	60	40
SY-5- <i>Pseudomonasfluorescens</i>	71	29
SY-22- <i>Pseudomonas putida</i>	40	60
SY-30- <i>Pantoea agglomerans</i>	77	23
SY-32- <i>Enterobacter cloacae</i>	100	0
YÖ-12- <i>Bacillus mycoides</i>	77	23
YÖ-17- <i>Bacillus viscosus</i>	40	60
YÖ-24- <i>Bacillus thuringiensis</i>	40	60
YÖ-39- <i>Pseudomonas putida</i>	60	40
YS-3- <i>Bacillus cereus</i>	40	60
YS-14- <i>Bacillus megaterium</i>	66	34
YS-16- <i>Bacillus cereus</i>	40	60
YS-18- <i>Bacillus alcalophilus</i>	40	60
NK	0	100
PK	100	0

NK; negatif kontrol, **PK;** pozitif kontrol

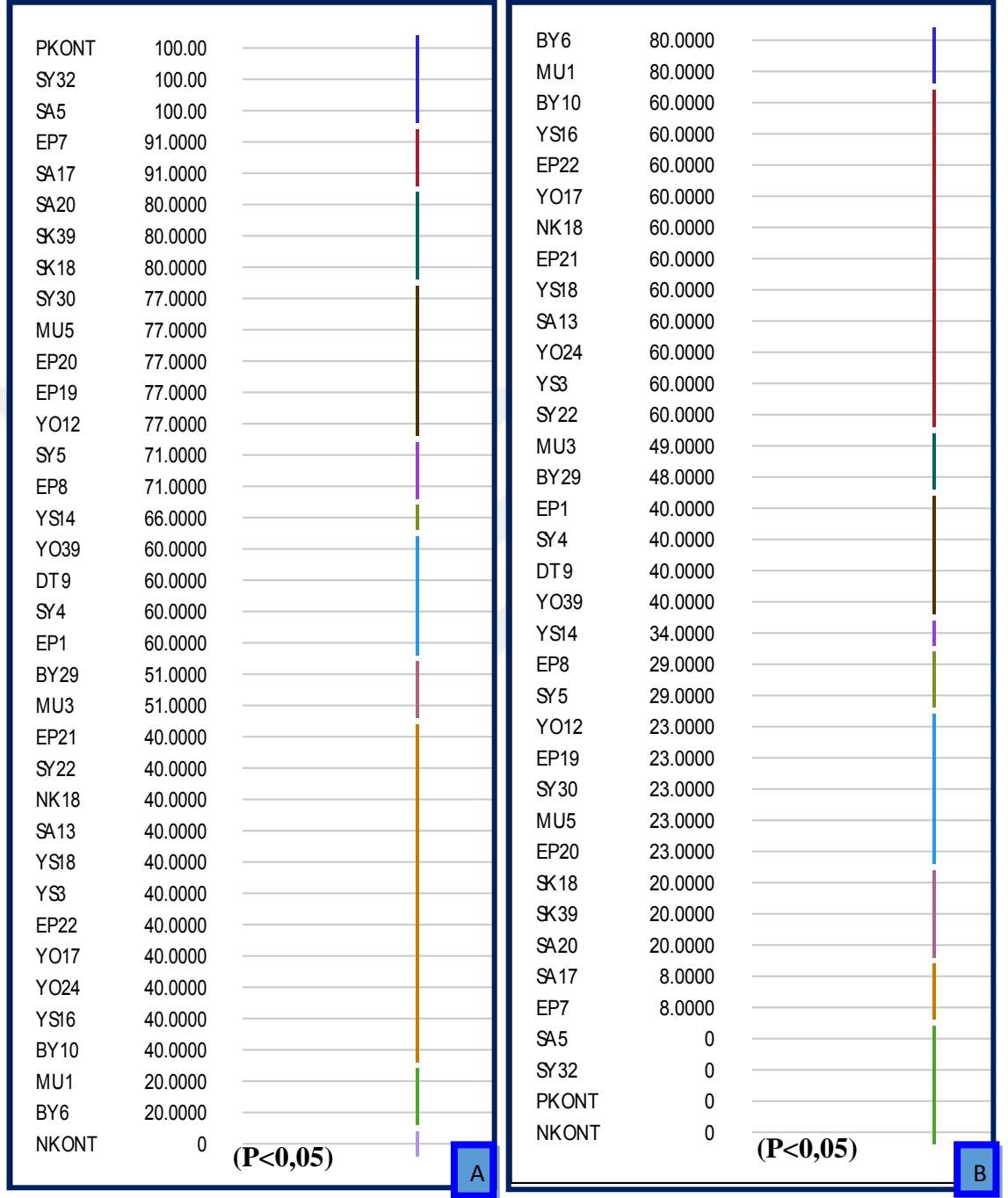


Şekil 4.6. A) İnokulasyon sonucu yapraklarda oluşan hastalık belirtisi ve negatif kontrol **B)** MÜ-1-*Pantoea agglomerans* strainin hastalık gelişimini engellemesi



Şekil 4.7. A) MÜ-1- *Pantoea agglomerans* uygulaması sonrasında yaprakta hastalığın engellenmesi **B)** BY-6-*Pseudomonas putida* uygulaması sonrasında yaprakta hastalığın engellenmesi

Çizelge 4.4. PGPR'lerin hastalık şiddetine etkisi (A) ve engelleme etkisi (%) (B)



Değerler 3 tekrür ortalamasıdır ve aynı renk skalasında bulunan uygulamalar arasında farklılık yoktur

Çalışma sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde *E. amylovora*'nın neden olduğu hastalığın baskılanmasında *Pseudomonas* ve *Bacillus* türlerine ait strainlerin daha etkili olduğu görülmüştür. % 80 etki ile başarılı bulunan strainler *P. putida* ve *Pantoea agglomerans* olarak belirlenmiştir. Yine % 60 hastalığı engelleme başarısı gösteren 11 strainden 2 tanesinin *P. putida* ve 9 strainin *Bacillus* cinsine ait bakteriler olduğu bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak Vanneste *et al.*, (1990), tarafından yapılan çalışmada da özellikle *Pantoea agglomerans* ve *Pseudomonas fluourescens* strainlerinin diğer strainlere nazaran daha etkili sonuç verdiği belirlenmiştir. Özaktan ve Türküsay (1994), tarafından yapılan araştırmada, *E. herbicola*'nın %64'nün, *fluouresan Pseudomonas* strainlerinin ise %57'sinin patojene karşı çok daha fazla etkili olduğu bulunmuştur. Iickey ve Travis (1995), tarafından yapılan çalışmada *E. amylovora*'nın neden olduğu çiçek yanıklığı enfeksiyonlarına karşı, *Pantoea agglomerans*'ın, *Pseudomonas fluourescens*'ten daha etkili olduğu belirlenmiştir. Boudyach *et al.*, (2001), tarafından *Pseudomonas* türlerinin çok hızlı çoğaldıkları, bunun ise kök salgılarıyla ilişkili olduğunu bu sayede bakterilerin besin ihtiyaçlarının karşılandığı belirtilmiştir. Ayrıca ürettikleri antimikrobiyal bileşikler ile biyolojik kontrolde kullanılabileceklerini bildirmişlerdir. Biondi *et al.*, (2007), *Bacillus subtilis*'in armutlarda görülen ateş yanıklığına karşı etkisinin araştırıldığı çalışmada 2005-2006' daki deneylerde Serenade ilacının (Biyofungusit, litrede 2,5–3,5 gr *B. subtilis* içeren) enfeksiyonu % 62 - 68'e kadar azalttığı tespit edilmiştir. Sundin and Yoder (2009), tarafından yapılan bir başka çalışmada ise ateş yanıklığının kontrolü için bakteriyel antagonistlerden *Pseudomonas fluourescens* A506, *P. agglomerans* C9-1, *P. agglomerans* E325 ve *B. subtilis* QST 713 strainleri kullanılmıştır. 2001 ve 2007 yılları arasında yapılan testlerde çiçek enfeksiyonlarında ortalama olarak azalma gözlenmiş, değişkenlik %9,1 ile %36 arasında tespit edilmiştir. Alay (1997), tarafından yapılan araştırmada da *Pantoea agglomerans*'ın ABD ve Fransa'daki elma bahçelerinde sorun olan ateş yanıklığının kontrolünde streptomycin kadar iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir. Mercier and Lindow (2001), tarafından yürütülen çalışmada çiçekler üzerinde *E. amylovora*'ya karşı antagonist etki gösteren strainler belirlenmiş ve ateş yanıklığı hastalığına karşı etkileri araştırılmıştır. Elde edilen *P. fluourescens* strainlerinin patojene karşı en yüksek antagonistik etki gösterdiği saptanmıştır. Smith (2001), tarafından ABD'de *E. amylovora*'ya karşı kullanılan *P. fluourescens* A506 straininin ticari preparatı

BlightBan'ın erken uyarı sisteminin uyarısıyla ağaçlarda bakteri enfekte olmadan kullanıldığı takdirde daha etkili sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Ahari *et al.*, (2007), tarafından *E. amylovora*'ya karşı İran'da yapılan çalışmada kimyasal kontrol için bordo bulamacı ve biyolojik kontrol için *P. agglomerans* kullanılmış ve hastalığın kontrolünde olumlu sonuçlar alınmıştır. Pusey *et al.*, (2011), tarafından yapılan çalışmada ateş yanıklığının kontrolü için ticari olarak kullanılan *P. agglomerans* E325'in laboratuvar koşullarında spesifik olarak alkalın ve fosfat içerikli bir antibiyotik ürettiği saptanmıştır. Karabıçak (2012), tarafından yapılan denemede ise ilaçlı mücadeleye alternatif olarak 3 farklı bakteri straini (*Pantoea agglomerans* RK-79, *Pantoea agglomerans* RK-84 ve *Pseudomonas putida* RK-142), patojene karşı kullanılmıştır. Çiçekler üzerine yapılan uygulamalarda *Pseudomonas putida* RK-142'nin % 57 ve *Pantoea agglomerans* RK-84'ün ise % 48 oranında hastalığı azalttığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar antagonist bakteri strainlerinin bir ya da daha fazla biyolojik kontrol mekanizmasını kullanarak hastalığın gelişiminde etkin rol oynadığını göstermektedir. Görüldüğü gibi bu tez çalışmasında elde edilen veriler ateş yanıklığı hastalığına karşı antagonistlerin kullanıldığı birçok çalışma sonucu ile uyumludur. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda *Pseudomonas* ve *Pantoea* cinslerine ait strainler dışında da ateş yanıklığı hastalığına karşı başarılı bakteri strainleri bulunmuştur. Zeller and Wolf (1996), tarafından yapılan çalışmada *Erwinia herbicola*'nın E.h.89 nolu straininin patojenin gelişimini engellediği ve arazi koşullarında dağ muşmulası bitkisinde %70 kontrol sağladığı belirlenmiştir. Ülke (1999), tarafından yapılan çalışmada armut fidanları üzerinde, altı antagonist strainin *E. amylovora*'nın sürgün enfeksiyonunu yaklaşık %80 oranında önlediği tespit edilmiştir. Bu strainlerden ateş yanıklığı etmeni antagonisti olarak *Erwinia herbicola* GSPB 450 straininin patojene karşı etkili streptomycin sülfat (200 ppm) kadar başarılı sonuç verdiği bulunmuştur.

Biyolojik kontrol çalışmalarında rizobakterilerin kullanımları *in vitro* da, serada ve arazi şartlarında test edilmekte, ancak arazi çalışmalarındaki farklı şartlar bazen sonuçların doğru bir şekilde alınabilmesini zorlaştırabilmektedir. Farklı araştırmalarda arazideki pH değişimlerinin, yüksek sıcaklığın, az miktarda yağışın, nem ve besinlerin olmaması gibi şartların kendini göstermesi sonucunda mikroorganizmaların koloni

oluřturma oranlarının dūřtūęu, buna baęlı olarak antagonistik etkilerin negatif etkilendięi bildirilmiřtir (Dobbelaere *et al.*, 2001; řahin ve ark., 2004).



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan bu tez çalışması sonucunda 130 bakteri straininin etkisi *E. amylovora*'ya karşı test edilmiştir. *In vitro* ortamda 130 bakteri straininden 34 tanesinin etkili olduğu bulunmuştur. 34 strainden ise 3 tanesinin antibiyosis etki gösterdiği, diğer 31 strainin ise besi ortamında çok hızlı gelişerek patojen bakterinin gelişimini baskıladığı tespit edilmiştir. Patojen strainlerinin karışım şeklinde uygulandığı deneme sonucunda ise 2 strainin (BY-6-*Pseudomonas putida* ve MÜ-1-*Pantoea agglomerans*) % 80, 11 strainin % 60, 4 strainin % 49, 4 strainin % 40 ve diğer strainlerin % 9- 34 oranında hastalık gelişimini engellediği bulunmuştur.

Karşılaştığımız sorunların çözümlerini de yaşadığımız çevre oluşturur, bu yönüyle hastalık etmeni ve PGPR arasındaki etkileşim en güzel örneklerden birisidir. Çevre kirliliği sorunları, tarım arazilerinde kullanılmakta olan kimyasalların bizlerin sağlığında, yaşadığımız ortamda meydana getirdiği zararlar, kullandığımız kimyasallara belli bir müddet sonra bağışıklık kazanılması ve bizlerin ilaçsız olarak üretilebilen meyve ve sebzeleri tüketme isteği dikkate alındığında biyolojik kontrolün bütün dünya üzerinde önemli bir hal aldığı görülmektedir. Konuya bu yaklaşımla bakıldığında *E. amylovora*'ya karşı etkili bakteri strainlerinin tespiti oldukça önem taşımaktadır. Bu nedenle tez çalışmasında elde edilen strainlerini tek veya karışımlar halinde patojenin kontrolünde entegre mücadelenin bir parçası olarak kullanılabilceği kanaatindeyiz. Bu çalışma konusunun devamı olarak elde edilen bakteri strainlerinden iyi sonuç verenler elma bahçelerinde deneme alanları kurularak hastalığı baskılama performansları araştırılabilir. Ayrıca başarılı bulunan bakteri strainleri gerek bitki gelişimini teşvik etmeleri gerekse farklı konukçu x patojen sistemlerinde hastalıkların çıkışını engelleme veya hastalık şiddetine olan etkileri bakımından test edilerek özellikleri belirlenebilir.

KAYNAKLAR

- Agrios, G.N., 1997. *Plant Pathology*, Second Edition. *Academic Pres*, New York, London, 703,426-429.
- Ağaoğlu, Y.S., Çelik, H., Çelik, M., Fidan, Y., Gülşen, Y., Günay, A., Halloran, N., Köksal, A.İ., Yanmaz, R., 1997, *General Horticulture*. AU. ZF. No:4, 394.
- Aharı, A.A.B., Pour, A.Y.A., Rahimian, H.A., Torabi, E., 2007. Evaluation of chemical and biological controls of fire blight. *Journal of Agricultural Science*, 17(3), 129–141.
- Alay, A., 1997. *Pyrus türlerinde ateş yanıklığı (Erwinia amylovora)' nın mücadelesinde konukçu dayanıklılığı ve önemi*. Yüksek Lisans Semineri, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Anonim,2001.<http://www.msstate.edu/Entomology/planthpath/fruit/pome/pomeinfo.html>. (Erişim tarihi: 05.09.2019)
- Anonim, 2014. Classification of Genera, <http://www.bacteria.net/-classificationdi.html-Erwinia> (Erişim tarihi: 05.11.2019)
- Anomin, 2016. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, *Elma Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele*, 2011, Ankara.
- Anonim, 2018. Tarım ve Orman Genel Müdürlüğü <https://arasturma.tarimorman.gov.tr/tepge> Erişim tarihi (05 Eylül 2019)
- Aslantaş, R., Çakmakçı, R., Şahin, F., 2007. Effect of plant growt hpromoting rhizobacteria on young apple tree grow than fruityield under or chard conditions. *Scientia Horticulturae*, 111, 371-377.
- Aysan, Y., Şahin, F., Kotan, R., Mirik, M., Saygılı, H., Üstün, N., 2008. *Bitki Bakteri Hastalıkları ile Mücadele*. 317 s.
- Baldwin, C.H., Goodman, R.N., 1963. Prevalence of *Erwinia amylovora* in Apple Buds as Detected by Phage Typing. *Phytopathology* 53, 1299-1303.

- Baştaş, K. K., Maden, S., 2004. Ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*)'nın Prohexadione-Ca (BAS 125 10 W) ve Benzothiadiazole+Metalaxyl (BION MX 44 WG) ile savaşımı üzerinde araştırmalar. **Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi** 18(33), 49-58.
- Baştaş, K. K., Saygılı, H., 2008. Ateş yanıklığı hastalığı, fire blight, *Erwinia amylovora*. **Bitki Bakteri Hastalıkları Kitabı** 61-68 s.
- Bell, R.L., Zwet T., Blake R.C., 1982. The Pear Breeding Program of the United States Department of Agriculture. **The Pear**, pp, 157-170.
- Beer, S.V., Orgenorth, D.C., 1976. *Erwinia amylovora* on Fire blight Canker Surfaces and Blossoms in Relation to Disease Occurance. **Phytopathology** 66, 317-322.
- Biondi, E., Brunelli, A., Ladurner, E., Portillo, I., Lancioni, P., Benuzzi, M., Bazzi, C., 2007. Efficiency of *Bacillus subtilis* against fire blight in pears. **Informazione Agraria**, 63 (19), 58-60.
- Bloemberg, G. V., Lugtenberg, B. J., 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Current Opinion in Plant Biology**, 4, 343-350.
- Bora, T., Özaktan H., 1998. **Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş**. Prizma Matbaası, 205 s.
- Boyer, J., Liu, R. H., 2004. Apple phytochemicals and their health benefits. Department of Food Science and Institute of Comparative and Environmental Toxicology, Cornell University, **Beslenme dergisi**, 3, 5 (2004)
- Boudyach, E. H., Fatmi, M., Akhayat, O., Benizri, E., Ait Ben Aoumar, A., 2001, Selection of Antagonistic Bacteria of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and Evaluation of Their Efficiency Against Bacterial Canker of Tomato, **Biocontrol Science and Technology**, 11,141-160
- Cornea, C.P., Voaides, C., Kupferberg, S., Dinu, S., Ciuca, M., Babeanu, N., Oancea, F., 2007, In vitro inhibition of *Erwinia amylovora* by some antagonistic bacteria. **Bulletin**, 63(64), 545

- Çakmakçı, R., Dönmez, M.F., Erdoğan, Ü., 2007. The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on barley, seed lingrowth, nutrient uptake, somesoil properties and bacterial counts. *Turk Journal of Agricultere and Forestry*, 31, 189-199.
- Demir, G., Gündoğdu, M., 1993. Fire blight of pome fruit trees in Turkey: distribution of the disease, chemical control of blossomin fections and susceptibility of some cultivars, *Acta Horticulture*, 338, 67-74
- Demir, G., Gündoğdu, M., 1991. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*) hastalığı üzerinde araştırmalar. *VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri*, İzmir, 299 s.
- Döken, M. T., Demirci, E., Zengin, H., 2000. Fitopatoloji. *Atatürk Üniversitesi Yayınları* No: 729, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 314, Ders Kitapları Serisi No: 66, 256 s.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Vanderleyden, J., Dutto, P., Labandera-Gonzalez, C., CaballeroMellado, J., Aguirre, J.F., Kapulnik, Y., Brener, S., Burdman, S., Kadouri, D., Sarig, S., Okon, Y., 2001. Responses of agronomicallyim portantcrops to inoculation with Azospirillum. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28, 871-879.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y., Vanderleyden, J., 2002. Effect of inoculation with wild type Azospirillum brasilense and A. Irakense strains on develop ment and nitrogen up take of spring wheat and grainmaize. *Biology and Fertility of Soils*, 36, 284-297.
- Erdoğan, O., 1999. *Isparta İlinde yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarında Ateş Yanıklığı Etmeni (Erwinia amylovora)'ne Karşı Antagonist Bakteriyel Mikrofloranın Saptanması Üzerinde Çalışmalar*. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Evrenesoğlu, Y., Mısırlı, A., Akçay, M.E., Ünal, A., Acarsoy, N., Özdemir, N., Bilen, E., Boztepe, Ö., Günen, E., 2010. Variability of Different Pear Hybrid Population in Terms of Hybridization Performance and the Responce to Fire

Blight (*Erwinia amylovora*) Attact. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38,(1), 241-247.

Evrenosoğlu, Y., Mısırlı, A., Aysan, Y., Saygılı, H., Boztepe, Ö., Horuz, S., Acarsoy, N., Bilen, E., Baykul, A., Yazıcı, İ., 2014. F1 melez armut populasyonunun ateş yanıklığı hastalığı etmeni *Erwinia amylovora* karşı reaksiyonunun belirlenmesi, Ege Üniversitesi, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 51 (2), 185-190.

Fahy, P. C., Persley, G. J., 1983. Plant bacteria diseases, A diagnostic guide. *Academic Pres, New York*, pp,393.

FAO 2018 Tarım ve Orman Genel Müdürlüğü
<https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tebge>(Erişim tarihi 25.11.2019)

Garcia de Salamone, I. E., Hynes, R. K., Nelson, L. M., 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of Microbiology*, 47, 404-411.

Giddens, S. R., Houliston, G. J., Mahanty, H. K., 2003. The influence of antibiotic production and pre-emptive colonization on the population dynamics of *Pantoea agglomerans* (*Erwinia herbicola*) Eh1087 and *Erwinia amylovora* in planta. *Enviromental Microbiology*, 5(10), 1016-1021.

Glick, B. R., Karaturović, D. M., Newell, P. C., 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. *Canadian Journal of Microbiology*, 41, 533-536.

Goldberg, N. P., 2000. *Apple disease control*. http://www.cahe.nmsuedu/pubs/_h/h-317.html.

Gökçe, A.Y., Kotan, R., 2014. Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) fungusunun PGPR ve antagonist bakteriler kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. *Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi*, Antalya, 358 s.

- Gökçe, G., 2015. *Iğdır ili elma ağaçlarında ateş yanıklığı hastalığına neden olan Erwinia amylovora (burr.) Winslow et al. etmeninin biyokimyasal ve moleküler (ms) yöntemle tanısı*. Yüksek Lisans Tezi, Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 73 s.
- Gutiérrez-Mañero, F.J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouchi, J., Tadeo, F.R., Talon, M., 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 111, 206- 211.
- Gül, A., Özaktan, H., Tüzel, Y., Öztan Kıdoğlu, F., 2008. Önemli sera sebze türlerinde bazı kök bakterilerinin bitki gelişimi, verim ve besin maddesi alınımına etkileri, İzmir: TÜBİTAK.
- Güneş, A., Turan, M., Güllüce, M., Sahin, F., Karaman, M. R., 2013. Farklı bakteri uygulamalarının kaya fosfatının çözünürlüğü üzerine etkileri. *Toprak Su Dergisi*, 2 (1), 53-61.
- Hacıoğlu, E., 1993. *Erwinia amylovora'ya karşı in vitro ve in vivo koşullarda bazı kimyasalların bitki ekstraktlarının ve antagonistlerin etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, 81 s.
- Hale, C., Mitchell, R., 2002. The peptide antibiotic produced by *Pantoea agglomerans* Eh252 is a microcin. *Proceedings of the 9 th International Workshop on Fire Blight*, New Zealand.
- Ishimaru, C.A., Klos, E.J., Brubaker, R.R., 1988. Multi pleanti biotic production by *Erwinia herbicola*. *Phytopathology*, 78, 746-750.
- Jeon, J. S., Lee, S. S., Kim, H. Y., Ahn, T. S., Song, H. G., 2003. Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. *Journal of Microbiology*, 41, 271- 276.
- Karabıçak, Y., 2012. *Armut ağaçlarında ateş yanıklığı etmeni Erwinia amylovora'ya karşı bakteri uygulamaları ile biyolojik mücadele İmkanlarının araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Ünivversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 58 s.

- Karaca, İ., 1977. *Fitobakteriyoloji ve Bakteriyal Hastalıklar*. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bornova- İzmir.
- Karagöz, K., 2009. *Bazı PGPR Bakterilerin Marulun Gelişimi ve Marul Yaprak Leke Hastalığı Üzerine Etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 95 s.
- Keil, H.L., Van der Zwet, T., 1972. Recovery of *Erwinia amylovora* from Symptomless Stems and Shoots of Jonathan Apple and Barlett Pear Trees. *Phytopathology*, 62, 3942.
- Kotan, R., Şahin, F., 2002. Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede bakteriyel organizmaların kullanılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33(1), 111-119.
- Kotan, R., 2002. *Doğu Anadolu Bölgesi'nde Yetiştirilen Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarından İzole Edilen Patojen ve Saprofitik Bakteriyel Organizmaların Klasik ve Moleküler Metotlar ile Tanısı ve Biyolojik Mücadele İmkânlarının Araştırılması*. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum 217 s.
- Kucheryava, N., Fiss, M., Auling, G., 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
- Lamey, H. A., Stack, R. W., 1993. Disease of apples and other pome fruits. *Nort Dakota State University*, NDSU Extension Service, 454. USA.
- Layne, E.C., Quamme, H.A., 1975. *Advances in Fruit Breeding*. pp, 39-70.
- Maden, S., 1989. Bitki Bakteri Hastalıkları. Ankara Üniversitesi. *Ziraat Fakültesi Yayınları*, 1161, Ders Kitabı: 328, Ankara.
- Mercier, J., Lindow, S.E., 2001. Field performance of antagonistic bacteria identified in a novel laboratory assay for biological control of fire blight of pear. *Biological Control*, 22 (1), 66-71.

- Moller, W. J., Schroth, M. N, Thomson, S. V., 1981. The scanario of fire blight and streptomycin resistance. *Plant Disease*, 65, 563-568.
- Momol, M.T., 1990. Ateş yanıklığının epidemiyolojisi ve mücadelesi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3 (1), 25-38
- Momol, M.T., Yeğen, O., Basım, H., Rudolp, K., Zachowski, M.A., 1991. Batı Akdenizde *Erwinia amylovora*'nın neden olduğu ateş yanıklığının epidemisi ve mücadelesi. *VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri*, İzmir
- Momol, M. T., Yeğen, O., 1993. Fire blight in Turkey: 1985-1992. *Acta Horticulturae*, 338, 37-39.
- Öktem, Y., Benlioğlu, K., 1988. Studies on fire blight (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*) of pome fruits. Journal of Turkish Phytopathology Vol. 17 No.3, *5th. Turkish Phytopathological Congress*. Antalya.
- Özakman, M., 1995. *Armut Ağaçlarında Erwinia amylovora'nın Epifitik Populasyonu Üzerinde Çalışma*. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Özaktan, H., 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*, İzmir
- Özaktan, H., Bora, T. ve Altın, N., 2001. *Armutlarda Ateş Yanıklığı Hastalığına Etkili Antagonistik Bakterilerin Kitle Üretimi ve Biyopreperatlarının Meyve Bahçelerinde Kullanılması Üzerine Araştırmalar*. 32 s, Ankara.
- Özaktan, H., Bora, T., 2004. Biological control of fire blight in pear orchards with a formulation of *Pantoea agglomerans* strain Eh 24. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(3), 224-229.
- Özçağırın, R., Ünal, A., Özeker, E., İsfendiyaroğlu, M., 2011. *Ilman İklim Meyve Türleri*, Cilt 2 Yumuşak Çekirdekli Meyveler.
- Pusey, P.L., Stockwell, V.O., Reardon, C.L., Smits, T.H.M., Duffy, B. 2011. Antibiosis activity of *Pantoea agglomerans* biocontrol strain E325 against *Erwinia amylovora* on apple flower stigmas. *Phytopathology*, 101 (10), 1234- 1241.

- Ross, A.F., 1961. Localized acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive hosts. *Virology*, 14, 329-339.
- Rundle, J.R., Beer, S.V., 1987. Population Dynamics of *Erwinia amylovora* and a Biological Control Agent, *Erwinia herbicola*, on Apple Blossom Parts. *Acta Horticulturae* 217, 223-228.
- Schroth, M.N., Thomson, S.V., Hildebrand, D.C., 1974. Epidemiology and Control of Fire Blight. Ann. Rev. of *Phytopathology*, 12, 389-412
- Schroth, M. H., Hilderbrand, D. C., 1980. *Erwinia*. *Erwinia amylovora* or true *Erwinia* group. Pages 26-30 in: Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. N. W. Schaad, ed. *American Phytopathology Society, St. Paul, MN*. 72 pp.
- Singh, S. P., Cardona C., Morales F. J., Pastor-Corrales M. A., Voysest O., 1998. Gamete selection for uprightcarioca bean with resistance to five disease and a leafhopper. *Crop Science*, 38 (3), 666-672.
- Smith, T.J., 2001. Principles of fire blight control in the Pacific Northwest USA. <http://www.ncw.wsu.edu/fireblt6.htm> (15.11.2019).
- Sobiczewski, P., Deckers T., Pulawska, J., 1997. *Fire blight (Erwinia amylovora) some aspects of epidemiology and control*. Research Institute of Pomology and Floriculture, Skierniewice, Poland, 390/97 P, 9-38
- Sundin, G.W., Yoder, K.S., 2009, Field evaluation of biological control of fire blight in the Eastern United States. *Plant Disease*, 93,(4), 386–394.
- Şahin, F., 1997. *Detection, Identification and Characterization of Strains of Xanthomonas campestris pv. vesicatoria by Traditional and Molecular Methods and Resistance in Capsicum Species to Xanthomonas campestris pv. vesicatoria Pepper Race*. 6. Ph D Thesis. The Ohio State University. Ohio.
- Şahin, F., Çakmakçı, R. and Kantar, F., 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphates solubilizing bacteria. *Plant Soil*, 265, 123-129.

- Taşdemir, S. A., 2010 *Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Van Gölü Havzasında Yetişen Elma ve Armut Genotiplerinin Ateş Yanıklığı (Erwinia amylovora (Burr.) Winslow et al.)'na dayanıklılık düzeylerinin anaçlara bağlı olarak belirlenmesi* Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
- Thomson, S. V., 2000. Epidemiology of fire blight. In J. L. Vanneste (Ed.), *Fire Blight: the disease and its causative agent, Erwinia amylovora* (pp. 9-36).
- Tokgönül, S., 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.62s.
- 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 Bildirileri*, Adana.62s.
- Toros, S., Maden S., 1991. Tarımsal savaşım yöntem ve ilaçları. Ankara Üniversitesi, *Ziraat Fakültesi Yayınları*, Ankara, 332 s.
- TÜİK 2018. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). (http://www.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel_zul)
- Van Der Zwet, T. and H. L. Keil, 1979. Fire Blight. A Bacterial Disease of Rosaceous Plants. *Agriculturae Handbook*. Number: 510., 199p, United States Agriculture.
- Van Der Zwet, T., S.V. Beer., 1991. Fire blight -it'snature, prevention and control: A practical guidetointegrated disease management. United States Department of Agriculture, *Agriculture Information Bulletin* No. 631, pp, 83.
- Van der Zwet, T., Beer, S.V., 1995. Fire Blight – it'snature prevention and control. A practical guide to integrateddiseases management. United States Department of *Agriculture Information Bulletin*, No, 631, 91
- Vanneste, J.L., Smart, L.B., Zumoff. C.H., Yu, J. and Beer, S.V., 1990. Control of tire blight by *Erwinia herbicola* Eh 252 role of antibiotic production. *Acta Horticulture*, 273, 393-394.

- Vanneste, J. L., 2000. *Fire blight, the disease and its causative agent, Erwinia amylovora*, 370p, CAB Publishing, UK.
- Vessey, J. K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as bio fertilizers. *Plant and Soil*. 255,571-586.
- Whipps, J. M., 1992. Status of biological disease control in horticulture. *Biocontrol Science and Technology*, 2 (3), 24.
- Ülkü G., 1999. *Ateş yanıklığı etmeni (Erwinia amylovora)'nin biyolojik mücadelesi üzerine bir araştırma*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 41 s.
- Zeller, W. and Wolf, B., 1996. Studies on biological control of fire blight. *Acta Horticulture*, 411,341-345

ÖZGEÇMİŞ

Şanlıurfa ilinin Siverek ilçesinde 10.05.1992 senesinde dünyaya geldi. İlk ve orta okul öğrenimini Şanlıurfa ilinde tamamladı. Lise eğitimini Diyarbakır ilinde tamamladıktan sonra 2011 yılında Iğdır Üniversitesi, Ziraat, Bitki Koruma Bölümü'nü kazandı. 2015 yılında bölümünü başarılı bir şekilde tamamlayıp Ziraat Mühendisi ünvanı almaya hak kazandı. Aynı yıl Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı.

