



**İĞDIR' DA DOMATES (*Solanum lycopersicum* L.)'
TE HASTALIĞA NEDEN OLAN BAKTERİLERİN
İZOLASYONU VE TANISI**

Büşran SUNYAR

Yüksek Lisans Tezi

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

- 1. Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen
DÖNMEZ**
 - 2. Tez Danışmanı: Prof. Dr. İrfan ÇORUH**
- 2019**

T.C.
İĞDIR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İĞDIR' DA DOMATES (*Solanum lycopersicum* L.)' TE HASTALIĞA NEDEN
OLAN BAKTERİLERİN İZOLASYONU VE TANISI**

Büşran SUNYAR

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

İĞDIR

2019

Her hakkı saklıdır

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.

Büşran SUNYAR



Bu çalışma Iğdır Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Merkezi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2017-FBE-A21

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

IĞDIR' DA DOMATES (*Solanum lycopersicum* L.)' TE HASTALIĞA NEDEN OLAN BAKTERİLERİN İZOLASYONU VE TANISI

SUNYAR, Büşran

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

1. Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ
2. Tez Danışmanı: Prof. Dr. İrfan ÇORUH

Şubat 2019, 80 sayfa

Bu çalışmada, Iğdır ilinde domateste verim ve kalite kayıplarına neden olan bakteriyel hastalıklar araştırılmıştır. Bu amaçla survey çalışması yapılarak hastalık simptomsu gösteren bitki örnekleri toplanmıştır. Hastalıklı domates bitkilerinin gövde, yaprak ve meyvelerinden izolasyon yapılmış ve 98 bakteri straini elde edilmiştir. Bakteri strainlerine ait saf kültürler hazırlanarak -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Bakteri strainlerinin King B besiyerinde fluorescent pigment üretimi, levan koloni oluşumu, gram reaksiyon, pektolitik aktivite, oksidaz, amilaz, katalaz ve tütün bitkisinde hipersensitif reaksiyon özellikleri test edilmiştir. Patojenite için süper (5656) domates çeşidi kullanılmış ve bu test sonucunda 11 strainin patojen olduğu görülmüştür. Bakteri strainleri Mikrobiyal Identifikasyon Sistem (MIS) ve BIOLOG Gen III ile tanılanmıştır. Tanılama sonucunda patojen olan 11 izolatın 8 tanesi *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, 2 tanesi *Pseudomonas viridiflava* ve 1 tanesi *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: BIOLOG, MIS, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA DISEASES OF THE TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.) IN İĞDIR

SUNYAR, Büşran

Master Thesis, Plant Protection Main Discipline

1st Thesis Adviser: Asst. Prof. Dr. Mesude Figen DÖNMEZ

2nd Thesis Adviser: Prof. Dr. İrfan ÇORUH

February 2019, 80 pages

In this study, bacterial diseases causing loss of yield and quality in tomato were investigated in İğdir province. For this purpose, survey was conducted and diseased plant samples were collected. 98 bacterial strains were isolated from the bacterial symptoms on fruits and leaves. Bacterial strains were tested for fluorescent pigment production, levan colony formation, gram reaction, pectolytic activity, oxidase, amylase, catalase and hypersensitive reaction (HR) in tobacco HR positive bacterial strains were chosen for pathogenicity test. 11 bacterial strains were found to be positive in pathogenicity test on tomato plant (5656) grow in pots. The bacterial strains selected as pathogens were identified by using the Microbial Identification System (MIS) and Biolog Gen III automated system. The bacterial strains were identified by using the The identify of strains were determined as follow; 11 *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, 2 *Pseudomonas viridiflava* and 1 *Pseudomonas syringae* pv. *astomato*.

Key words: BIOLOG, MIS, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomat*

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Domates, dünyada en çok üretilen, tüketilen ve ticarete konu olan tarım ürünlerinin başında gelmesi, insan beslenmesinde vazgeçilmez ürünlerden olması ve gıda sanayinde turşu, salça, dondurulmuş ürün, ketçap, püre, konserve gibi çok çeşitli kullanım alanlarına sahip olması nedeniyle önemli sebze türlerinin başında gelmektedir. Ülkemiz için büyük önemi olan domates yetiştiriciliğinde karşılaşılan temel sorunların başında hastalık ve zararlılardan kaynaklanan verim ve kalite kayıpları gelmektedir. Domates bitkisinin ekimini ve verimini sınırlandıran en önemli patolojik sorunlar arasında ise bakteriyel etmenlerin neden olduğu hastalıklar yer almaktadır. Ancak bu bakteri hastalıkları ile iyi bir mücadele için patojenlerin inokulum kaynakları, bulaşma ve yayılma yolları iyi bilinmelidir. Bu bağlamda öncelikli olarak ele alınması gereken ilk konu ise patojenlerin doğru ve hızlı bir şekilde tanınmasıdır. Yapılan bu çalışmada Doğu Anadolu Bölgesi'nin en verimli ovalarından birisine sahip olan ve tarım potansiyeli yüksek olan Iğdır İli'nde domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda hastalığa neden olan patojen bakterilerin varlığı araştırılmıştır. Alınan hastalıklı bitki örneklerinden izole edilen bakteri strainleri saflaştırılmış ve tanısında klasik ve moleküler metotlar kullanılmıştır.

Çalışmamın her aşamasında benden yardımını esirgemeyen danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ'e, dönem arkadaşlarıma, her zaman yanımda ve destek olan çok değerli aileme teşekkür ederim.

Büşran SUNYAR

Şubat, 2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
3. MATERYAL ve METOT	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar	20
3.1.2. Çalışmada kullanılan çözelti ve besiyerleri.....	20
3.2. Metot.....	22
3.2.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması.....	22
3.2.2. Bakteri strainlerin izolasyonu ve muhafazası.....	23
3.2.3. Mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanılanması.....	23
3.2.3.a. Aerobik bakteri strainlerinin trypticase soy broth agar (TSBA) besiyerinde geliştirilmesi.....	24
3.2.3.b. Yağ asit metil esterlerinin saflaştırılması.....	24
3.2.3.c. Örneklerin Mikrobiyal Identifikasyon Sistemi ile analiz edilmesi.....	25
3.2.4. Tütünde aşırı duyarlılık (Hypersensitive Reaction=HR) testi.....	26
3.2.5. Patojenite testi.....	26
3.2.6. Morfolojik ve biyokimyasal testler.....	27
3.2.6.a. Morfolojik testler.....	27
3.2.6.b. Biyokimyasal testler.....	27
3.2.7. Bakteri strainlerini Biolog Gen III Sistem ile tanılanması.....	29
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	33
4.1. Survey Sonuçları.....	33

4.2. Bakteri Strainlerinin Yağ Asit Profillerine Göre Tanısı.....	33
4.3. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Reaction=HR) Testi.....	42
4.4. Patojenite Test Sonuçları.....	43
4.5. Koloni Morfolojisi.....	45
4.6. Hareketlilik Testi.....	46
4.7. Gram Reaksiyon Testi.....	46
4.8. Katalaz Testi.....	46
4.9. Oksidaz Testi.....	47
4.10. Nişasta hidrolizi.....	48
4.11. Arginine Dihidrolaz Testi.....	48
4.12. Levan (Fruktan) Testi.....	48
4.13. Fluorescent Pigment Üretim Testi.....	49
4.14. Pektinaz Testi.....	49
4.15. Bakteri Strainlerinin Biolog Gen III sistemi ile tanılanması.....	52
4.16. Tartışma.....	59
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	66
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	81

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
<i>Da</i>	Dekar
<i>dH₂O</i>	Distile su
<i>g</i>	Gram
<i>H₂O</i>	Su
<i>H₂O₂</i>	Hidrojen peroksit
<i>KOH</i>	Potasyum hidroksit
<i>K₂HPO₄·3H₂O</i>	Potasyum fosfat dibazik trihidrat
<i>NaCl</i>	Sodyum klorür
<i>NaOCl</i>	Sodyum hipoklorit
<i>Mg</i>	Miligram
<i>MgSO₄·7H₂O</i>	Magnezyum sülfat heptahidrat
<i>ml</i>	Mililitre
<i>pv</i>	Pathovar
<i>Sa</i>	Saat
<i>sdH₂O</i>	Steril distile su
<i>sp</i>	Tür
<i>spp</i>	Türler
<i>µl</i>	Mikrolitre

Kısaltmalar

<i>Cff</i>	<i>Curtebacterium flaccumfaciens</i> subsp. <i>flaccumfaciens</i>
<i>Cmi</i>	<i>Clavibacter michiganense</i> subsp. <i>insidiosum</i>
<i>Ecc</i>	<i>Erwinia caratovora</i> subsp. <i>caratovora</i>
<i>FAME</i>	Yağ asit metil ester (Fatty acid methyl ester)
<i>HR</i>	Tütünde aşırı duyarlılık testi
<i>KB</i>	King B
<i>LAB</i>	Laktik asit bakterisi

MIS	Mikrobiyal tanı sistemi (Mikrobiyal Identifikasyon Sistemi)
NA	Nutrient agar
NAS	Nutrient starch agar
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
Pst	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
Pss	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>
Psp	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>
TSA	Triptikaz soy agar
YDC	Yeast dekstroz kalsiyum karbonat agar
YDCA	Yeast ekstrakt kalsiyum karbonat agar
TSBA	Triptik soy broth agar
Xav	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i>
Xcp	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>
Xcpf	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli fuscans</i>

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 4.1. İzolasyon için katı besiyerinin hazırlanması (a) ve bakteri strainlerine ait stok kültürlerin oluşturulması (b).....	23
Şekil 4.2. Bakteri strainlerinden yağ asitlerinin izolasyonu için türlere ait kolonilerin TSA besiyerinden toplanması (a) ve yağ asit metil esterlerinin asidik fazdan ayrışarak organik fazda toplanması için tüplerin çalkalayıcıda çalkalanması (b).....	25
Şekil 4.3. Gaz kromatografisi tüplerine ekstraksiyon tüpünün üst fazında toplanan yağ asitlerinin pastör pipetle alınması.....	26
Şekil 4.4. Bakteri strainlerinin BIOLOG IFA çözeltisinde süspanse edilmesi (a) ve turbidimetre ile konsantrasyonun ayarlanması (b).....	30
Şekil 4.5. Bakteri süspanسیونun BIOLOG Microplate'nin inokule edilmesi.....	30
Şekil 4.6. Patojen ile inokule edilen Mikroplate'lerin inkübasyon sonrası Biolog Gen III Okuyucu Sistemi'nde okutulması.....	31
Şekil 4.7. Patojen bakterilerin yağ asit metil ester analizi sonucunda elde edilen dendogram.....	42
Şekil 4.8. BS-120 strainine ait tütünde HR testi sonucu.....	43
Şekil 4.9. Domates (Süper 5656) fidelerinde patojenite testi.....	43
Şekil 4.10. BS-231 strainin domates bitkisine inokulasyonu (a) ve yaprakta oluşturduğu semptom (b).....	44
Şekil 4.11. Kürdanla bitkinin gövdesinde yara açılması ve bakterinin inokule edilmesi.....	44
Şekil 4.12. BS-237 strainin patojenite testi sonucunda bitkide oluşturduğu solgunluk belirtisi.....	45
Şekil 4.13. BS-160 strainin (a) YDC besi yerinde koloni gelişimi ve (b) NA besiyerinde koloni gelişimi.....	45
Şekil 4.14. BS-232 strainin gram reaksiyon testi sonucu (Gram negatif).....	46
Şekil 4.15. BS-237 straininin katalaz testi sonucunda oluşturduğu kabarcık görüntüsü (Katalaz pozitif).....	47

Şekil 4.16. BS-178, BS-231 ve BS-232 strainlerinin oksidaz test sonucu.....	47
Şekil 4.17. (a) Amilaz testi pozitif (BS-38) ve (b) amilaz testi negatif (BS-168)....	48
Şekil 4.18. %5 SNA besiyerinde koloni gelişimi (a) levam pozitif sonuç (BS-120) ve (b) NA (BS-120) besiyerinde koloni gelişimi.....	49
Şekil 4.19. Patateste pektinaz test sonucunda meydana gelen çürüme (a) ve negatif sonuç (b).....	50



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1: Biolog Gen III Microplate'nin içerdği karbon kaynakları.....	32
Çizelge 4.2: Çalışmada elde edilen bakteri strainlerine ilişkin bilgiler.....	33
Çizelge 4.3: İzole edilen mikroorganizmaların yağ asitlerine bağlı tanı sonucu ve morfolojik özellikler.....	34
Çizelge 4.4: Patojen bakterilerinin içerdği yağ asit metil esterleri ve % bulunma oranları.....	39
Çizelge 4.5: Patojen bakteri strainlerinin morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları	51
Çizelge 4.6: Patojen bakteri strainlerinin Biolog Gen III Plate 'inde yer alan karbon kaynaklarını kullanma özellikleri.....	53

1. GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicum* L.); Solanaceae familyası içerisinde yer alan ılıman iklimlerde yıllık, tropikal bölgelerde ise çok yıllık olan önemli bir bitkidir (Wang *et al.*, 2010). Anavatanı Orta Amerika ile Güney Amerika'nın kuzey kesimleri, ekvatorun 30° kuzey ve güneyinde kalan bölge ve içinde yer alan Peru ve Meksika'dır. Peru'dan diğer ülkelere yayıldığı, Türkiye'ye ise Adana'dan girdiği bilinmektedir (Ercan ve ark., 2002).

Domates, dünyada en çok üretilen, tüketilen ve ticarete konu olan tarım ürünlerinin başında gelmesi, insan beslenmesinde vazgeçilmez ürünlerden olması ve gıda sanayinde turşu, salça, dondurulmuş ürün, ketçap, püre, konserve gibi çok çeşitli kullanım alanlarına sahip olması nedeniyle önemli sebze türlerinin başında gelmektedir. FAO 2016 verilerine göre 1,1 milyar ton olan yaş sebze üretiminde domates 177 milyon ton ile %13'lük paya sahiptir. Dünya domates üretiminde 2016 yılı itibariyle 56,4 milyon ton üretim ile Çin ilk sırada yer alırken 18,4 milyon ton üretimle Hindistan ikinci, USA 13,03 milyon ton ile üçüncü ve 12,6 milyon ton üretim ile Türkiye dördüncü sırada yer almaktadır.

Dünya domates ticaretine yönelik 2016 yılı verilerine göre domates ihracatında Meksika birinci sırada yer alırken Hollanda ikinci, İspanya ise üçüncü sırada yer almaktadır. Beşinci sırada yer alan Türkiye'nin 2016 yılında ihracattaki payı ise 486 bin ton olarak belirlenmiştir. Domates ithalatında ise 1,8 milyon ton ithalat miktarı ile ABD dünya ithalat miktarlarında tek başına %42,1 lik bir pay ile birinci sırada yer alırken, 731 bin tonluk ithalatıyla Almanya ikinci sırada, Fransa ise 537 bin ton ithalatıyla üçüncü sırada yer almıştır. Türkiye'nin ithalatı ise önceki yıla oranla % 60 artarak 494 tondan 787 tona yükselmiştir. Domates ithalat miktarında dünya sıralamasında elli dördüncü sırada yer alan Türkiye ihracat miktarındaki payı ile dünyada beşinci sırada yer alması ile dikkati çekmektedir (TUİK, 2016).

Doğu Anadolu Bölgesi'nin en verimli ovalarından birisine sahip olan ve tarım potansiyeli yüksek olan Iğdır İli 707.117 da tarım arazisine sahiptir. 2016 yılı verilerine göre bu tarım alanlarının 38.378 da'nını nadas alanı (% 5,43) oluşturmaktadır. Iğdır ilinde işlenebilir tarım alanlarının yaklaşık 564.437 da (% 79,82) gibi büyük bir bölümünde tarla

bitkileri yetiştiriciliği yapılmaktadır. İlde ayrıca 52.596 da alanda meyve yetiştiriciliği (% 7,44) ve 51.706 da alanda sebze yetiştiriciliği (% 7,31) yapılmaktadır. Sebzeler içerisinde domates üretimi ise 56.083 ton olarak belirlenmiştir (TUİK, 2016).

Ülkemiz için büyük önemi olan domates yetiştiriciliğinde karşılaşılan temel sorunların başında hastalık ve zararlılardan kaynaklanan verim ve kalite kayıpları gelmektedir. Domates bitkisinin ekimini ve verimini sınırlandıran en önemli patolojik sorunlar arasında ise bakteriyel etmenlerin neden olduğu hastalıklar yer almaktadır. Bu bakteriyel hastalıklar arasında bakteriyel benek [*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Young *et al.*, 1978)], bakteriyel kanser ve solgunluk [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Davis *et al.*, 1984)], bakteriyel yaprak lekesi [*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Gardner and Kendrick, 1923)], bakteriyel solgunluk [*Ralstonia solanacearum* (Yabuuchi *et al.*, 1995)], bakteriyel gövde ve meyve çürüklüğü [*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Bergey *et al.*, 1923)] ve domates öz nekrozu [*Pseudomonas corrugata* (Scarlet *et al.*, 1978), *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas viridiflava* (Wilkie and Dye, 1974)] hastalıkları oldukça büyük önem taşımaktadır (Wilkie *et al.*, 1973).

Bu hastalıklar içerisinde yer alan; *X. a.* pv. *vesicatoria* (*Xav*) etmeni ilk olarak 1914 yılında Güney Afrika'da teşhis edilmiştir. *Xav*' nin sebep olduğu bakteriyel leke hastalığı, domates ve biber tarımı yapılan bölgelerde ciddi problemler oluşturmaktadır (Swings and Civerole, 1993). Etmen yeast dekstroz kalsiyum karbonat agar (YDC) besiyeri üzerinde düz ve sarı renkli koloniler oluşturan, gram negatif ve obligat aerobik bir bakteridir. Nitratları nitritlere dönüştürme özelliği olmayan, oksidaz testinde negatif veya zayıf pozitif sonuç veren, katalaz aktivitesi pozitif olan bir mikroorganizmadır. Ayrıca karbonhidratlardan asit üretebildiği fakat gaz çıkarmadığı tespit edilmiştir (Bradbury, 1984).

Patojen yaprağa stoma ve yaralardan, gövdeye ise rüzgarla taşınan ufak kum zerreciklerinin veya böceklerin açtığı yaralardan, ya da dolu ve tarımsal işlemler sırasında açılan mekaniksel yaralardan penetrasyon yapabilir (Bashan, 1986; Pohronezny *et al.*, 1990).

Bakteri hasatla, hasta fidelerin şaşırılması ile, enfekteli veya bulaşık tohumların ekilmesiyle çapalama, toprak işleme ve sulama suyunun ya da yağmur sularının etrafa sıçraması ile tarla içinde ve tarlalar arasında yayılmaktadır (Pohronezny *et al.*, 1990). Bununla birlikte *Xav* domates tohumları ile taşınmakta, bulaşık tohumlardan gelişen fidelerde karakteristik hastalık belirtileri meydana gelmektedir. Patojen domates bitkisinin tohumlarında 20 sene canlı kalabilmekte ve hastalığın primer inokulum kaynağını oluşturmaktadır. Ayrıca bitki artıklarında ve yabancı otlar (*Datura* spp., *Hyoscyamu* spp., *Lycium* spp., *Physali* spp., *Solanum* spp.) üzerinde epifitik olarak yaşabilmekte ve bitki artıklarında 18 ay canlılığını devam ettirebilmektedir (Black *et al.*, 2001; Lamichhane *et al.*, 2010).

Hastalık nedeniyle hem fideliklerde hem de üretim alanlarında kayıplar görülmektedir. Fidelikte az veya çok bulaşık olan bitkiler tarla veya seraya şaşırıldığında, uygun koşullarda 6 hafta içerisinde gözle görülür hastalık belirtileri ortaya çıkmaktadır (Bashan *et al.*, 1990). Domates bitkisinin yapraklarındaki belirtiler çoğunlukla yüksek nemli koşullarda ortaya çıkmaktadır. Yaşlı yapraklarda oluşan lekeler küçük, siyah ve bir dereceye kadar köşelidir. Yaprak yüzeyi yarı saydam merkezli, koyu kenarlı ve yağlımsı görünümündedir. Lekenin merkez kısmı kuruyarak incelmekte ve üzerinde çatlama meydana gelmektedir. Hastalığın şiddetli olduğu nemli iklim bölgelerinde tipik belirtilerden ziyade bitkilerde yanmış bir görünüm ortaya çıkmaktadır. Yanıklık belirtileri yaprak kenarları boyunca ve damarlar arasında sararma olarak başlamakta, sararan dokular suyla ıslanmış ve yağlımsı gibi bir görüntü almaktadır. Fidelerde ise hastalık belirtileri yaprak sararması ve dökülmesi şeklinde ortaya çıkmaktadır. Meyve belirtileri suyla ıslanmış bir görünümle başlamakta ve lekeler koyu benekler şeklinde görünmektedir. Meyveler olgunlaşmaya kadar lekeler genişlemeye devam etmektedir. İlerleyen dönemlerde ise lekeler siyah, hafifçe kabarmış ve merkezi parçalanmış şekildedir. Olgun meyvelerde suyla ıslanmış görünüm ortadan kaybolmakta ve merkezinde krater gibi bir çöküntü oluşmaktadır (Stall, 1993; Şahin, 1997).

Domatesin pazar değerini ve verimini azaltan diğer önemli hastalıklar ise Pseudomonaceae familyasında yer alan *Pst*, *P. viridiflava* ve *P. cichori* etmenleri tarafından oluşturulmaktadır. *Pseudomonas* cinsinde bulunan bakteriler 0.5-1.0×1,5-4.0 µm boyutlarında, düz ya da eğik çubuk şekilli, tek veya birkaç polar kamçılı, beyaz veya

krem renkli koloni oluşturan gram negatif özellikte etmenlerdir. Birkaç istisna dışında aerobik bakterilerdir. Katalaz pozitif, nitratı indirgeyen, bazı türler hariç King B gibi demir içermeyen besiyerinde fluoresan pigment üreten organizmalardır. *P. corrugata* hariç diğer patojen türlerin 41°C'de gelişme göstermediği ve karbon kaynaklarından D-arabinose'u kullanamadığı tespit edilmiştir (Saygılı ve ark., 2006).

Pseudomonas cinsi bakteriyel patojenlerden *P. s. pv. tomato (Pst)*' nun neden olduğu domates bakteriyel kara leke hastalığı domates yetiştiriciliğinde karşılaşılan problemlerin başında gelmektedir (Devash *et al.*, 1980; McCarter *et al.*, 1983; Miller and Jones, 2014). Aysan (1999), tarafından bildirildiğine göre Bryan (1933), hastalığı ilk olarak 1929' da Amerika Birleşik Devletleri' nin (ABD) Wisconsin eyaletinde 1930' da ise Florida eyaletinde saptamış ve 1931' de yeni bir hastalık olarak tanılamıştır. Hastalık ilk defa ABD'de saptandıktan sonra takip eden yıllarda İsrail, İsviçre, Yeni Zelanda, Avustralya, Kanada, Yunanistan, Fransa, Çek Cumhuriyeti, Portekiz, Fas, İtalya, Şili, Bulgaristan, Brezilya ve Eski Yugoslavya' da çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Miller and Jones, 2014). Ülkemizde ise ilk tespitler 70' li yılların sonlarında Ege (Saygılı, 1975) ve Akdeniz Bölge' lerinde (Çınar, 1977) yapılmıştır. Şahin (2001), Doğu Anadolu Bölgesi' nde tarlada yetiştirilen sofralık domateslerde bu hastalığın problem olduğunu bildirmiştir.

Pseudomonas syringae pv. tomato 13-28 °C arası sıcaklıkta ve yüksek nemde optimum gelişme göstermekte ve yayılmaktadır. Patojen bitkileri gelişimlerinin erken döneminde enfekte ettiğinde ortalama % 75, mevsim sonunda enfekte ettiğinde ise yaklaşık % 5' lik bir ürün kaybına neden olmaktadır. Enfeksiyon ya tohum kaynaklı bulaşmalardan ya da bir önceki üründen tarlada kalan hastalıklı bitki artıklarından sağlıklı fidelerin enfeksiyonu şeklinde başlamaktadır. Böylece hastalık etmeni bulaşık fideler aracılığıyla tarlaya aktarılmakta ve koşullar bakterinin gelişmesine uygun olduğunda epidemilere yol açmaktadır. Toprak üstündeki bulaşık bitki artıklarından sağlıklı bitkiye giriş yaralardan olmaktadır. Aynı zamanda sıcak ve nemli havalarda bitki turgor halindeyken bakteri stomalardan giriş yaparak gelişmekte ve tipik hastalık belirtilerini oluşturmaktadır. Yağmur ve rüzgar hastalığın bir bitkiden diğerine yayılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Aysan ve Saygılı, 2008; Miller and Jones, 2014).

Pseudomonas syringae pv. *tomato* bitkinin tüm toprak üstü organlarında hastalık belirtilerine neden olmaktadır. Başlangıçta fidelerin yaprak ve sap kısmında görülen hastalık bazı zamanlarda bütün fidelerin kurummasına ve ölmesine neden olmaktadır. Hastalığın belirtileri yapraklarda sarı bir hale ile çevrili koyu kahverengi-siyah lekeler şeklindedir. İlerleyen dönemlerde bu lekeler birleşerek yaprağın kurummasına neden olmaktadır. Bitkinin yan dallarında ve gövdesinde meydana gelen lekeler kahverengimsi siyah renkte, yüzeysel oval şekillidir. Hastalık ilk çiçeklerde görüldüğünde hasta çiçeklerin ölümüyle meyve tutumu engelleneceğinden büyük ürün kayıpları oluşur. Etmen özellikle yeşil meyveleri hastalandırmakta ve meyvelerde 1 mm çapında lekelerle sebep olmaktadır. Bu lekeler yüzeysel dokunmayla belli olacak kadar dışarı çıkıntılıdır (Miller and Jones, 2014).

Pseudomonas viridiflava ise meyve, gövde, yaprak ve petiol olmak üzere bitkinin bütün toprak üstü aksamında belirti oluşturmaktadır. Etmen olgun domates bitkilerinin gövdelerinde düzensiz lekelerle, petiol ve yan sürgünler dahil olmak üzere özde kahverengileşme ve boşalmaya, iletim demetlerinde renk değişimine bunun sonucu olarakta solgunluğa neden olmaktadır. Meyve belirtileri ise başlangıçta küçük siyah lekeler şeklinde daha sonra lekeler etrafında yumuşak çürüklük olarak gelişmektedir. Hastalığın inokulum kaynaklarını toprak, bulaşık bitki artıkları, tohumlar ve yabancı otlar oluşturmaktadır (Mariano and McCarter, 1993).

Domatesin verimini ve ürün kalitesini olumsuz yönde etkileyen bu bitki bakterisi hastalıkları ile iyi bir mücadele için patojenlerin inokulum kaynakları, bulaşma ve yayılma yolları iyi bilinmelidir. Bu bağlamda öncelikli olarak ele alınması gereken ilk konu ise patojenlerin doğru ve hızlı bir şekilde tanılanmasıdır. Ayrıca ülkemizin ciddi bir hibrit tohum ithalatçısı olduğu düşünüldüğünde bu patojenlerin tanısı ve tespitinin ayrı bir önem taşıdığı görülmektedir. Bu patojenlerle mücadelede çeşitli kültürel tedbirler, sertifikalı üretim metaryali kullanımı çeşitli kimyasal ve biyolojik uygulamalar, toprak solarizasyonu ve dayanıklı çeşit kullanımını içine alan entegre mücadele yöntemi önerilmektedir. Ancak bu amaç doğrultusunda ilk olarak, erken dönemde patojenlerin tanısı büyük önem arz etmektedir. Mikroorganizmaların tanısı, modern moleküler biyoloji tekniklerinin gündeme gelişine kadar morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve patolojik karakterlerinden faydalanılarak yapılmıştır. Son yıllarda moleküler biyoloji

alanındaki ilerlemeler, yeni mikrobiyal tanı tekniklerinin geliştirilmesini hızlandırmış, buna bağlı olarak da moleküler yöntemler geliştirilmiş ve kullanıma sunulmuştur. Metabolik enzim profillerinin belirlenmesi (Biolog), yağ asit analizleri (Mikrobiyal Identifikasyon Sistemi), serolojik teknikler, gen amplifikasyonu ve genetik profiller gibi elektroforetik yöntemler son yıllarda sık olarak kullanılan moleküler metotlar olmuştur (Chase *et al.*, 1992).

Yapılan bu çalışmada; Iğdır ilinde ülkemiz için ekonomik öneme sahip olan domates bitkisinde hastalığa neden olan bakterilerin varlığının araştırılması, alınan hastalıklı bitki örneklerinden bakteri strainlerinin izole edilmesi, saflaştırılması ve tanısında klasik ve moleküler metotların kullanılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Günümüzde mikroorganizmaların tanısında klasik yöntemler ile Mikrobiyal Identifikasyon Sistem (MIS) ve Biolog Sistem teknolojilerinin başarıyla kullanıldığına dair çok sayıda araştırma sonucu elde edilmiştir (Klopmeier and Kelman, 1988; Guillorit and Samson, 1993; Gardan *et al.*, 1995; Paisley, 1995; Mashayit *et al.*, 2009). Bu sistemlerden MIS; mikroorganizmaları hücre yapılarında (sitoplazma ve membranda) bulunan yağ asitlerinin sayısına, çeşitliliğine ve % miktarlarına göre tanıyan bir sistem olup 1985 yılında geliştirilmiştir (Ndowora, 1995; Miller and Berger, 1985). Sistem bilgisayar kontrolünde çalışmakta, gaz kromatografisi, bu kromatografiyi besleyen gaz tankları (hidrojen, azot ve hava), bilgisayar ünitesi, bilgisayar ünitesi ile uyumlu çalışan kütüphaneler ve yazıcı olmak üzere 5 kısımdan meydana gelmektedir (Lelliott and Stead, 1987). Anaerobik ve aerobik bakteriler, actinomycetes, maya ve gelişmiş funguslar bu sistem sayesinde kolaylıkla ve çok kısa sürede tanımlanabilmektedir (Miller and Berger, 1985). Özellikle 1990' dan sonraki yıllarda ise farklı kaynaklardan izole edilen mikroorganizmaların tanısında ve taksonomik olarak sınıflandırılmasında Biolog Sistem (Biolog Inc, Hayward, CA, USA) yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Bochner, 1989; Park *et al.*, 2003).

Lelliott *et al.* (1967), tarafından 15 antagonistik *Pseudomonas* straini King B (KB) besiyerinde UV ışık altında mavimsi yeşil renkte fluoresans verme, levan oluşumu, oksidaz, patatesten yumuşak çürüklük, arginin dehidrolaz, nitrat redüksiyonu, tütün de aşırı duyarlılık ve 37 °C'de gelişme testleri ile tanımlanmıştır.

Angeles *et al.* (1991), tarafından Dominik Cumhuriyeti'nde fasulye yetiştiriciliği yapılan alanlarda *Xap* ve *Xapf* patojenleri tespit edilmiştir. Patojenlerden *Xap*, yarı seçici MXP besiyerinde tipik sarı koloni oluşturmaları ve amilaz testi ile *Xapf* ise modifiye Nutrient Broth Yeast Extract ve KB besiyerinde ekstraselüler melanin pigmentini üretme özelliği ile belirlenmiştir.

Sijam *et al.* (1992), tarafından CKTM seçici besi ortamında 2-5 günlük inkübasyon sonrası *Xav* strainlerinin kolonilerinin etrafında temiz bir zon olduğu ve meydana gelen bu zon içerisinde dört günde minik kristal yapıların geliştiği belirtilmiştir. 2-4 gün içerisinde domates izolatlarının kolonilerin çevresinde mat beyaz renkli hale

geliştiği, biberde hastalığa neden olan izolatların kolonilerinin çevresinde ise halenin gelişmediği, bunun sonucu olarak bu besiyerinin kullanımı ile biber ve domates izolatlarının ayırt edilebileceği bildirilmiştir.

Sawada *et al.* (1992), tarafından yapılan çalışmada *Agrobacterium* cinsine bağlı 16 strainin biovar' larının belirlenmesinde FAME analizi başarıyla kullanılmıştır. Bakteri strainlerinden biovar 1' in, biovar 3' den 16:1 ve 18:1 yağ asitlerinin nicel olarak değişkenlik göstermesi ve 17:0 CYCLO yağ asitinin bulunması ile ayrıldığı tespit edilmiştir. Biovar 1 ve 3' den biovar 2' nin 19:0 CYCLO yağ asitinin nicel farklılığı, 15:0 ISO 3OH' ın varlığı ve 18:1 3OH' ın olmaması ile ayırt edilebildiği bildirilmiştir. NCPPB 1650 ve 2 *A. rubi* (IFO 13261 ve 13260) straininin yağ asit profilleri incelendiğinde 17:0 CYCLO hariç biovar 3 ile uyumlu olduğu bulunmuştur. Kividen (K-Ag-3, 4) ve kirazdan (Ch-Ag-4, 5, 7 ve 8) izole edilen 6 *A. tumefaciens* strainlerinin profillerinin ise biovar 2' yi işaret ettiği belirlenmiştir.

Gleason (1993), tarafından gram-pozitif bakteriler için oluşturulan Biolog plateleri ile *Cmm* strainlerini yüksek benzerlik yüzdesi ile tanılanmış ve bu sistemle etmenin karakterizasyonu için gereken srenin oldukça dştği bildirilmiştir.

Yang *et al.* (1993), tarafından yapılan bir çalışmada *Xanthomonas* cinsine ait yedi farklı türü içeren (*X. albilineans*, *X. campestris*, *X. oryzae*, *X. fragariae*, *X. populi*, *X. maltophilia*, *X. axonopodis*) 975 bakteri straini elde edilmiştir. Elde edilen strainler yağ asit metil ester (FAME) analizi ile tanılanmıştır. Analiz sonucunda *Xanthomonas* cinsi bakterilerin hücrelerinde 65 farklı yağ asiti tespit edilmiştir. *Xanthomonas* cinsinde yer alan bakteri strainlerinin % 99' unda belirlenen yağ asitlerinden 9 tanesinin (16:0, 11:0 iso 3OH, 16:1 cis 9, 13:0 iso 3OH, 11:0 iso, 17:1 iso F, 15:0 iso, 12:0 3OH ve 17:0 iso) ortak olduğu saptanmıştır. 11:0 iso 3OH, 13:0 iso 3OH ve 11:0 iso ve yağ asitlerinin ise *Xanthomonas* cinsi için karakteristik olduğu, bu nedenle diğer bakterilerden ayırt edilmelerinde bir kriter olarak değerlendirilebilceği ifade edilmiştir.

Bouzar *et al.* (1994), tarafından *Xav'* nin 20 straini karbon bileşiklerinin kullanılması, yağ asit metil ester analizi, domates hatları zerindeki HR reaksiyonu ve amilaz testi ile belirlenmiştir. Domateste hastalık etmeni *Xav* strainlerinin amilaz testi sonuçlarının farklılık gösterdiği tespit edilmiştir

Paradis *et al.* (1994), tarafından Kanada'da yapılan bir araştırmada 31 adet patojenik ve patojenik özellikte olmayan *Streptomyces scabies* türünün yağ asit metil ester içerikleri belirlenmiştir. Analiz sonucunda 31 bakteri straininin 2 gruba ayrıldığı, birinci grupta olanların hücrelerinde 16:0, ikinci grupta yer alanlarda ise 15:0 yağ asitinin baskın olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tüm strainlerde 15:0 iso, 15:0 ve 16:0 yağ asitlerinin, total yağ asidi kompozisyonunun %20'sini oluşturduğu tespit edilmiştir.

Bouzar *et al.* (1995), tarafından incirden elde edilen 32 patojenik *A. tumefaciens* straini Biolog Sistem ile karakterize edilmiştir. Strainlerin % 80' den fazlasının Biyolog GN Microplate üzerinde bulunan Tween 40, D-Glucuronic Acid, Glycogen, Acetic asit, Tween 80, N-Acetyl-D-Glucosamine, L-Lactose, D-Melibiose, β -Methylglucoside, D-Raffinose, Xylitol, D-Galactonix acid Lactone, Hydroxy-L-Proline, Propionic Acid, D-Gluconic Acid, Glycyl-L-Aspartic Acid, L-Threonine, L-pyroglutamic Acid, cis-Aconitic Acid, Glucose-1-Phosphate, Glycerol ve Glucose-6-Phosphate'ı karbon kaynaklarını olarak kullandığı saptanmıştır. Strainlerin % 20-80'inin de β -Hydroxybutyric Acid, α -Ketobutyric Acid, Formic Acid, α -D-Lactose Lactulose, D-Alanine, α -Hydroxybutyric Acid ve N-Acetyl-D-Galactosamine'ı kullandığı tespit edilmiştir.

Jarvis *et al.* (1996), tarafından *Rhizobium*, *Agrobacterium* ve *Sinorhizobium* cinslerinin çok sayıda tür içerdikleri ve bu türlerin hızlı bir şekilde tanısında ve birbirlerinden ayırt edilmesinde yağ asiti profillerinin başarı ile kullanıldığı bildirilmiştir. Bakteri strainlerinin kaydedilen yağ asit profilleri içerisinde karakteristik olanlarının tespiti ile aralarındaki benzerlikler ve türler arası akrabalığın belirlenebileceği ispat edilmiştir.

Şahin ve Miller (1996), tarafından izole edilen *Xav* izolatlarının tanısı biyokimyasal testler ve yağ asiti metil ester analizi ile yapılmıştır. İzole edilen strainlerin hepsinin tütün bitkisinde hipersensitif reaksiyon testinde pozitif sonuç verdiği ve 76 bakteri straininin Marengo (hassas biber çeşiti) üzerinde patojen özellikte olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda strainlerin büyük bir kısmının (%89) biberin yanısıra OH 8245 (hassas domates çeşiti) üzerinde de patojenik olduğu belirlenmiştir.

Assouline *et al.* (1997), tarafından karpuz tohumlarında *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*'nin varlığının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada seçici besi yerine ekim,

karpuz fidelerinde patojenite testi, ELISA ve yağ asidi metil ester analizi (FAME) ile patojenin varlığı ortaya konulmuştur.

Isakeit *et al.* (1997), tarafından ABD' nin Teksas eyaletinde kavun yetiştirilen alanlarda meyvelerde yuvarlak, 3-10 mm genişliğinde meyvenin et kısmına işlemeyen lezyonlar ve lezyonların etrafında su emmiş lekeler gözlenmiştir. Hastalıklı örneklerden yapılan izolasyonlarda 11 adet fluoresan olmayan, gram reaksiyonu negatif olan bakteri strainleri elde edilmiştir. Strainler karpuz ve kavun fidesinde yapılan patojenite testi ve karbon kaynaklarını kullanım özelliklerine (Biyolog) göre *A. avenae* subsp. *citrulli* olarak tanılanmış ve hastalığın bölgede karpuzdan sonra kavunda ilk kez hastalık oluşturduğu rapor edilmiştir.

Wang *et al.* (1997), tarafından Çin' de pamuk yetiştiriciliği yapılan alanlarda iyi gelişim gösteren bitkilerin rizosfer bölgesinden 30 adet toprak örneği alınmıştır. Örneklerden yapılan izolasyon çalışması sonucunda elde edilen bakteri strainleri morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre teşhis edilmiş ve bakteri strainlerinin *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus* olduğu saptanmıştır.

Walcott *et al.* (2000), tarafından karpuz, kantalop kavunu ve kabak tohum, fide ve meyvelerinden izole edilen 121 adet *A. citrulli* straininin tanısında FAME analizi kullanılmış ve strainler arasındaki akrabalık araştırılmıştır. FAME analizi sonucunda *Acidovorax citrulli* strainlerinin iki farklı fenotipik grup oluşturduğu tespit edilmiştir. Kavun ve kabaktan elde edilen strainler grup 1 de yer alırken, karpuzdan elde edilenlerin grup 2 de yer aldığı saptanmıştır.

Martin and Horlock (2002), tarafından Avustralya' da yapılan bir çalışmada kabak bitkisinin kotiledon yapraklarında uçtan petiollere kadar uzanan köşeli su emmiş lekeler, gerçek yapraklarda damarlarla sınırlı kahverengi, köşeli, su emmiş lekeler gözlenmiş ve örnekler alınmıştır. Laboratuvarında örneklerden hastalıklı ve sağlıklı kısmı içeren parçalar kesilmiş ve üzerine su damlatılarak mikroskopta incelenmiştir. Mikroskopik incelemede kesitten su içerisine doğru bakteriyel akıntı görülmüş ve hastalığın bakteriden olabileceği düşünülmüştür. Hastalıklı örneklerden KB besiyerine yapılan izolasyonlarda krem-beyaz renkte, gram negatif ve yavaş gelişim gösteren bakteri strainleri elde

edilmiştir. Strainler patojenite testi, karbon kaynaklarını kullanım özelliği (Biyolog) ile *A. avenae* subsp. *citrulli* olarak tanılanmış ve patojen bakteri Avustralya'da kabakta hastalık oluşturan bakteri olarak ilk kez rapor edilmiştir.

Şahin ve ark. (2002), tarafından Doğu Anadolu Bölgesi'nde yapılan bir araştırmada domates yetiştiriciliği yapılan yerlerden izole edilen 16 bakteri FAME analizi ile % 47-89 benzerlik indeksiyle *Cmm* olarak tanılanmıştır.

Godfrey and Marshall (2002), tarafından Yeni Zelanda' da yapılan bir çalışmada hasat sonrası havuçlarda yumuşak çürüklüğe neden olan etmenin tanısı çeşitli biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle yapılmıştır. Biyolog ve 16S rRNA analizi sonucunda hastalığa neden olan patojenlerin tanısı *P. viridiflava* ve *P. marginalis* olarak kaydedilmiştir.

Ünlü ve Basım (2002), tarafından Türkiye' nin farklı coğrafik bölgelerinden elde edilen enfekteli yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarına ait bitki materyallerinden izolasyonlar yapılmış ve strainlerin ham armut, tütünde hipersensitif reaksiyon ve patojenite testlerine ait özellikleri değerlendirilmiştir. Bakteri strainlerinin tanılanmasında ise katalaz, oksidaz, amilaz, pektinaz testleri, nitrattan nitrit üretimi testi, asetoin oluşumu testi, indol üretimi testi, hidrojen sülfid testi, sakkarozdan indirgenen maddeler testi, sıcaklığa hassasiyet testi, %5 NaCl' ye tolerans testi, KOH testi ve jelatinin hidrolizi testi uygulanmış ve örneklerde *E. amylovora* 'nın varlığı tespit edilmiştir.

Suzuki *et al.* (2003), tarafından Japonya'da hastalık semptomu gösteren bezelye bitkilerinden alınan örneklerden yapılan izolasyon sonucunda 34 bakteri straini elde edilmiştir. Hastalığa neden olan etmenin gram negatif, çubuk şeklinde ve 1-6 polar kamçıya sahip olduğu belirlenmiştir. Strainlerden 16 tanesi yapılan LOPAT (Levan, Oksidaz, Patateste Yumuşak Çürüklük, Arginin Dehidrolaz ve Tütünde Aşırı Duyarlılık) testleri ile (+ - - - +) bezelye bakteriyel yanıklık etmeni *Psp* olarak tanılanmıştır.

Sahin *et al.* (2003), tarafından *Zinnia elegans* bitkisinin yapraklarında lezyon oluşturan bakteri strainlerinin biyokimyasal, morfolojik ve fizyolojik özellikleri belirlenmiştir. Yapılan patojenite testi ve yağ asit metil ester analizi ile hastalık etmeni *X. campestris* pv. *zinniae* olarak tanılanmıştır.

Dönmez (2004), tarafından Erzurum ve Erzincan illerinde yetiştirilen fasulye bitkilerinden verim ve kalite bakımından ciddi kayıplara neden olan patojenler izole edilmiş, klasik (morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal, patolojik) ve moleküler (MIS, ELISA, Biolog, 16S-23S rDNA) tekniklerle tanılanmıştır. Araştırma sonucunda toplam 19 farklı türe ait 321 bakteri straini elde edilmiştir. Bu çalışmada bakteri strainlerin 94 *X. campestris* pv. *phaseoli* (*Xcp*), 23 *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli fuscans* (*Xcpf*), 149 *P. s.* pv. *phaseolicola* (*Psp*), 7 *P. s.* pv. *syringae* (*Pss*), 1 *Agrobacterium tumefaciens*, 16 *C. m.* subsp. *indiosum*, 2 *E. c.* subsp. *caratovora*, 11 *C. f.* subsp. *flaccumfaciens*, 6 *C. f.* subsp. *poinsettiae*, 1 *Bacillus cereus*, 2 *Enterobacter intermedins*, 1 *B. lentimorbus*, 5 *Pantoea agglomerans*, 8 *Acinetobacter baumannii*, 1 *A. oxydans*, 1 *Arthrobacter agilis*, 1 *Kocuria varians*, 1 *Phenylobacterium immobile* ve 1 *Hydrogenophaga palleronii* olarak tanılanmıştır. MIS analizleri sonuçlarına göre *Xanthomonas* cinsine ait strainlerin değişkenlik göstermekle beraber 14:0 ISO, 10:0 3OH, 11:0 ISO, 13:0 ISO, 11:0 3OH, 11:0 ANTEISO, 11:0 ISO 3OH, 18:1 w7c, 14:0, 12:0 3OH, 13:0 2OH, 13:0 ISO 3OH, 14:1 w5c, 8:0 3OH, 15:0 ANTEISO, 15:0 ISO, 16:1 w9c, 10:0, 12:0 ISO 3OH, 16:0, 16:0 ISO, 15:1 ISO F, 15:1 w6c, 17:1 w6c, 15:0, ISO 17:1 w9c, 18:1 w9c olmak üzere 27 farklı yağ asiti içerdikleri saptanmıştır. *Pseudomonas* cinsi strainlerin ise 22 farklı yağ asiti (10:0, 12:1 3OH, 11:0 ISO 3OH, 12:0, 17:0 CYCLO, 16:0 3OH, 14:0, 18:1 w5c, 12:0 3OH, 15:0, 16:0, 8:0 3OH, 17:0 ISO, 18:0, 18:1 w7c, 18:1 w9c, 10:0 3OH, 12:0 2OH, 11 METHYL 18:1 w9c, 19:0 10 METHYL, 17:0, 19:0 CYCLO w8c) tanımlanmıştır. Biolog sonuçlarına göre *Pseudomonas* cinsi strainlerin hepsinin Glycogen, L-Arabinose, γ -Amino Butyric Acid, α -D- Glucose, Tween 40, D-Psicose, Sucrose, Methyl Pyruvate, Mono-Methyl-Succinate, Bromo Succinic Acid, Acid Lactone, D-Saccharic Acid, Formic Acid, D-Galactonic, Succinic Acid, L-Proline, Citric Acid, D-Gluconic Acid, L-Asparagine, Propionic Acid, cis-Aconitic Acid, D-Mannose, L-Aspartic Acid, Quinic Acid, Malonic Acid, Uridine Succinamic Acid, L-Alaninamide, D-Alanine, L-Alanine, Glycyl-L-Glutamic Acid, D-Fructose, L-Glutamic Acid, Acetic Acid, L-Alanyl-Glycine, L-Serine, ve Glycerol'den oluşan 36 karbon kaynağını kullandığı tespit edilmiştir. *Xanthomonas* cinsine ait bakterilerin kullandığı karbon kaynakları ise; Glycogen, D-Cellobiose, α -Keto Glutaric Acid, D-Galactose, L-Alanyl-Glycine, Succinamic Acid, L-Fucose, α -D-Glucose, D-Mannose, D-Melibiose, D-Psicose, D-Trehalose, Turanose, Gentibiose, Methyl Pyruvate, Dextrin, Mono-Methyl-

Succinate, cis-Aconitic Acid, Formic Acid, Itaconic Acid, Sucrose, D-Fructose, Succinic Acid, L-Alaninamide, D-Alanine, Bromo Succinic Acid, L-Alanine, Tween 40, Glycyl-L-Glutamic Acid, L-Serine, L-Aspartic Acid ve D,L- α -Glycerol Phosphate olarak belirlenmiştir.

Burdman *et al.* (2005), tarafından İsrail’de 2000-2003 yılları arasında karpuz ve kavunlardan izole edilen 12 adet strain patojenite testi, FAME profili ve substrat kullanım profillerine göre *A. citrulli* olarak tanılanmıştır.

Chao *et al.* (2006), tarafından yapılan çalışmada Tayvan’da saksılı süs bitkisi olan *Aglaonema* türlerinde (*Aglaonema rotundum* ve *A. marantifolium*) yumuşak çürüklük simptomsunun görüldüğü yapraklardan örnekler alınmıştır. Alınan örneklerden yapılan izolasyon sonrası elde edilen strainlerin tanısı biyokimyasal, patolojik ve moleküler testlerle yapılmış ve etmen *E. chrysanthemi* olarak belirlenmiştir.

Örnek (2006), tarafından Adana, İstanbul ve Manisa illerinde yetiştirilen yumrulu begonya bitkisinin yapraklarında düzenli olmayan lekeler ve yanıklık; gövde kısmında ise yumuşaklık ve bakteriyel eksudat simptomsu tespit edilmiştir. Hastalık belirtisi gösteren begonya bitkilerinin yaprak ve gövdelerinden örnekler alınmış ve YDC besiyerine izolasyon yapılmıştır. Bakteri strainlerinden 17 tanesinin besiyerinde sarı renkli, mukoid koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Strainlerin patojenite testi bakteri inokulumunun yumrulu begonya yapraklarına püskürtülmesi şeklinde yapılmış ve bitkilerde 7-10 gün içinde yapraklarda hastalık simptomsunun olduğu görülmüştür. Patojen bakteri strainleri klasik bakteriyolojik teknikler, FAME analizi ve indirekt-ELISA ile *X. axonopodis* pv. *begoniae* olarak saptanmıştır. Strainlerden 4 tanesinin FAME analiz çalışması yapılmış ve % 23-76 benzerlik oranı ile bakteriler *X. axonopodis* pv. *begoniae* olarak belirlenmiştir. Analiz sonucunda strainlerin hücrelerinde 23 farklı yağ asit ve bulunma oranları [10:0 (%1,03), 15:0 ISO (%28,33), 14:0 (%2,44), 11:0 ISO-3OH (%1,7), 11:0 3OH (%0,30), 12:0 3OH (%4,03), 10:0 3OH (%0,48), 17:0 ISO (%5,77), 13:0 ISO-3OH (%3,41), 15:1 w6c (%0,8), 11:0 ISO (%4,78), 15:0 ANTEISO (%9,14), 16:0 ISO (%1,65), 16:1 w9c (%2,38), 16:0 (%5,72), 17:0 w8c (%3,02), 15:0 (%1,93), ISO 17:1 w9c (%4,25), 17:1 w6c (%0,63), 18:0 ISO (%0,49)] saptanmıştır. Strainlerin hepsinde 11:0 ISO, 16:0 12:0-3OH, 15:0 ANTEISO, ISO17:1 w9c, 13:0 ISO-

3OH, 15:0 ISO ve 17:0 ISO yağ asitlerinin ortak olduğu, belirlenen diğer yağ asitlerinin yüzde miktarlarının ise değişkenlik gösterdiği bulunmuştur.

Çetinkaya ve Yıldız (2007), tarafından yapılan çalışmada Adana, Mersin, Antalya, Artvin, Bursa ve İzmir illerinden alınan hasta domates bitkilerinden 57 adet bakteri straini elde edilmiştir. Strainler morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal, serolojik, moleküler (PCR) ve yağ asit metil ester analiz yöntemleri sonucunda *C. m. subsp. michiganensis (Cmm)* olarak tanımlanmıştır. Strainlerden altı tanesinin yağ asit metil ester analizi yapılmış ve hücrelerinde 12 farklı yağ asitinin [15:1 ANTEISO (%3,46), 18:1 w6c (%0,29), 15:0 ISO (%1,83), 10:0 OH (%0,58), 16:0 ISO (%11,59), 15:0 ANTEISO (%48,6), 17:0 ANTEISO (%28,45), 16:00 (%6,56), 17:0 ISO (%1,29), 18:1 ISO H (%1,28), 18:00 (%0,65) 16:0 ISO 3OH (%0,49)] varlığı tespit edilmiştir. Belirlenen yağ asitlerinin doymuş (16:00, 18:00), doymamış (18:1 w6c), bir metil grubuna bağlanmış (15:0 ANTEISO, 15:0 ISO, 17:0 ISO, 16:0 ISO, 15:1 ANTEISO A, 18:1 ISO H 17:0 ANTEISO, 16:0 ISO 3OH) ve hidroksil (10:0 OH) olmak üzere 4 gruptan oluştuğu görülmüştür. Yağ asitlerinden 4 tanesinin (16:0 ISO, 15:1 ANTEISO A, 17:0 ANTEISO, 16:00,) *Cmm* strainlerinin hepsinde bulunduğu belirlenmiştir. 15:1 ANTEISO A yağ asidinin varlığı ise 5 strainde saptanmıştır. Diğer yağ asitlerinin ise bakteri strainlerinin hücrelerinde değişen oranlarda bulunduğu tespit edilmiştir.

Krejzar *et al.* (2008), tarafından Çek Cumhuriyeti' nde yapılan bir çalışmada *Zantedeschia* cinsine ait bitkilerin yumrularından yapılan izolasyon sonucunda 30 bakteri straini elde edilmiştir. Elde edilen bakteri strainlerinin kullandıkları karbon kaynakları BIOLOG sistem ile değerlendirilmiş ve tanı sonucu *P. marginalis* olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu strainlerin patates dilimlerinde pektolitik aktivite test sonuçlarının pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Mirik ve ark. (2008), tarafından Marmara Bölgesi' nde zeytinlerden alınan örneklerden 208 bakteri straini elde edilmiştir. Zeytin fidanlarında yapılan patojenisite testlerinde 38 bakterinin ur simptomu oluşturduğu gözlenmiştir. Meydana gelen bu urlardan tekrar izolasyon yapılmış ve 88 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlerin hepsinin, tütünde HR testine pozitif, oksidaz, patatete çürüklük, levan üretim ve arginine dehidrolaz testine negatif reaksiyon verdikleri tespit edilmiştir. Klasik metotlar sonucu elde edilen tanı sonuçlarını doğrulamak için BIOLOG, PCR ve yağ asit metil ester

analizlerini içeren tanı sistemleri kullanılmıştır. Strainlerin yağ asit kompozisyonu referans kültür *Pseudomonas savastanoi* straini ile karşılaştırılmış ve sonuç olarak strainlerin fenotipik olarak % 96,7, BOX-PCR'a dayanan analizlere göre de % 97.4 oranında benzer oldukları saptanmıştır.

Kendi (2009), tarafından İç Anadolu Bölgesi' ndeki 12 ilden ve ekonomik anlamda fasulye yetiştiriciliği yapılan alanlardan alınan tohum örneklerinden izolasyon yapılmıştır. Elde edilen 175 bakteri strainin ön tanısında NA ve KB besiyerlerinde gelişim özelliği, levan tipde koloni oluşumu, oksidaz, pektolitik aktivite, arginine dehidrolaz, farklı karbon kaynaklarının kullanım özelliği, arbutin hidrolizi, jelatinin hidrolizi, nitrat indirgenmesi, H₂S üretimi, tütün yaprağında HRve Dermason çeşiti fasulye bitkilerinde patojenite tesleri esas alınarak yapılmıştır. Çalışma sonucunda bakteri strainlerinden 38 tanesi *P. s. pv. phaseolicola* olarak tanılanmıştır.

Bathily *et al.* (2010), tarafından *B. pumilus* strainlerinin kullanmış oldukları karbon kaynakları BIOLOG GP2 kitinde değerlendirilmiş ve strainlerin iki temel grup oluşturduğu saptanmıştır. Birinci gruptaki strainlerin hepsinin Fructose ve Uridine' i kullandığı, α -cyclodextrin, Lactulose, α -Methyl-D-Mannoside, D-arabitol, Lactamide, D-Malic Acid, Inulin, Mannan, β -Hydroxy Butyric Acid, L-Fucose, D-galacturonic acid, Sedoheptulosan, Propionic Acid, L-Pyroglutamic Acid, p-Hydroxy Phenyl Acetic Acid ve m-Inositol karbon kaynaklarının ise hiçbir bakteri straini tarafından kullanılmadığı tespit edilmiştir.

Lin *et al.* (2010), tarafından Çin'de yapılan bir çalışmada muzda yumuşak çürüklüğe neden olan etmenin tanısı amacıyla izolasyon yapılmış ve çeşitli biyokimyasal ve moleküler testler (Biolog ve 16S rDNA) ile *E. chrysanthemi* olarak tanılanmıştır. Biolog sistem ile yapılan tanı sonucunda üç bakteri straininin benzerlik indeksi 0,803 olarak tespit edilmiştir.

Martin-Sanz *et al.* (2010), tarafından İspanya'da yapılan bir araştırma sonucunda *P. viridiflava*'nın bezelye bitkisinde bakteriyel yanıklık hastalığına neden olduğu ilk kez rapor edilmiştir. Hastalıklı bitkilerden yapılan izolasyonlar sonrasında 30 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlerin hepsinin KB besiyerinde fluoresan pigment ürettiği, gram reaksiyon, arginin dehidroliz ve oksidaz testlerinin negatif, levan koloni oluşumunun,

patateste pektololitik aktivitesinin ve tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonunun pozitif olduğu tespit edilmiştir. Yapılan patojenisite testi sonucunda 30 izolattan 9'unun bezelye bitkilerinde hastalık symptomuna neden olarak patojen olduğu bulunmuştur. Ayrıca strainlerin karbon kaynaklarını kullanım özelliği değerlendirilmiş ve karbon kaynağı olarak gliserol, inositol, eritritol, riboz, D-ksiloz, galaktoz, D-glukoz, L-arabinoz, D-mannoz, sorbitol, D-raffinoz, D-fruktoz, mannitol, D-fukoz ve D-arabitol'u kullandıkları belirlenmiştir.

Tripathi *et al.* (2011), tarafından yapılan başka bir çalışmada ise; 14 *Streptomyces* straininin metabolik enzim profilleri GP2 BIOLOG kit ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; strainlerin iki grupta yer aldığı ancak D-riboz karbon kaynağının iki grubun üyelerince de kullanıldığı tespit edilmiştir. Karbon kaynaklarından 10 tanesinin birinci grupta yer alan strainler tarafından, 3 farklı karbon kaynağının ise ikinci grupta yer alan strainlerin hiçbiri tarafından kullanılmadığı belirlenmiştir.

Almeida *et al.* (2012), tarafından havuç tohumları örnekleri ile yapılan bir çalışmada izolasyon sonucunda besiyerinde dairesel, konveks, krem renkli koloniler oluşturan strainler elde edilmiştir. Strainlerin KB besiyerinde fluoresan yeşil pigment ürettikleri, tütün bitkisinde yapılan HR testi ve patateste yapılan pektinaz testi için pozitif sonuç verdiği belirlenmiştir. Levan koloni gelişimi, oksidaz ve arginine test sonuçlarının ise negatif özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Alınan morfolojik ve biyokimyasal test sonuçlarına bağlı olarak çalışmada elde edilen strainler *P. viridiflava* olarak tanımlanmıştır.

Ertan (2012), tarafından 2009-2010 yıllarında İzmir ilinde 40, Aydın ilinde 15 tarlada bezelye bitkilerinin gövde, yaprak ve kapsüllerinde suda haşlanma, kahverengileşme ve yelpaze şeklinde nekrotik leke symptomu gösteren örnekler toplanmıştır. King B besiyerine yapılan izolasyonlar sonrasında toplam 47 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlerin ön tanısı patojenite testi, KB besiyerinde fluoresan pigment oluşumu, KOH ve LOPAT (levan oluşumu, oksidaz, patateste yumuşak çürüklük testi, arginin hidrolizi, tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu) testleri ile yapılmıştır. Biyokimyasal, serolojik ve 16S rDNA sekans analizi ile strainlerden 46 tanesi *Psp* ve bir tanesi *P. viridiflava* olarak tanımlanmıştır.

Sivri (2012), tarafından Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis illerindeki zeytin üretim alanlarından elde edilen urlu örneklerden izolasyon yapılmıştır. Besiyerinde beyaz-krem renkli gelişen bakteriler seçilerek saflaştırılmış ve 143 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlerden 103 tanesinin tütün bitkisinde HR testinde pozitif sonuç verdiği saptanmıştır. Bir yaşındaki zeytin fidelerinde yapılan patojenite testi sonucunda ise 103 strain arasından 31 tanesinin ur oluşturduğu görülmüştür. Patojen olarak belirlenen strainler temel tanı yöntemi olarak LOPAT (levan üretimi, oksidaz reaksiyonu, patates pektolitik aktivitesi, arginin dehidrolazı ve tütün aşırı duyarlılık testi) kullanılarak test edilmiş ve (- - - +) sonucu elde edilmiştir. BIOLOG sistem ile zeytin dal kanserinden elde edilen bakteri strainlerinin metabolik reaksiyon profilleri, sistemin kütüphanesinde bulunan metabolik profilleri bilinen bakteriler ile karşılaştırılmış ve 7 bakteri türüyle (*Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii*, *P. savastanoi* pv. *fraxini*, *P. syringae* pv. *glycinea* ve *P. syringae* pv. *delphinii*, *P. syringae* pv. *aceris*, *P. syringae* pv. *pisi*, *P. syringae* pv. *phaseolicola*) farklı oranlarda benzer oldukları tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda 12 izolatın 11'i *P. savastanoi* pv. *nerii* (% 26,5 - % 73,6) olarak; 1 tanesi de *P. savastanoi* pv. *fraxini* (% 55,2) olarak belirlenmiştir. Biolog's Microbial Identification System software programında *P. savastanoi* pv. *savastanoi* bulunmadığından dolayı dolayı bu türe en yakın tür olan *P. savastanoi* pv. *nerii* ile benzer olduğu kabul edilmiştir. Ayrıca PCR metodu ile elde edilen strainlerin *P. savastanoi* pv. *savastanoi* olarak tanımlanmıştır.

Dadaşoğlu (2013), tarafından Erzurum, Artvin, Erzincan ve Iğdır il ve ilçelerinde bazı sebze ve meyvelerde yumuşak çürüklük semptomu gösteren meyve ve sebzelerden yapılan izolasyonlar sonucunda toplam 882 bakteri straini elde etmiştir. Mikrobiyal tanı sistemi (MIS) ile strainlerden 79 tanesinin (*18 Bacillus pumilus*, *17 Enterobacter cloacae*, *15 Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *7 P.c.* subsp. *atrosepticum*, *9 P. viridiflava*, *8 Chryseobacterium indologenes* ve *5 Dickeya chrysanthemi*) yumuşak çürüklük etmeni olduğu belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen gram pozitif strainlerin karbon kaynaklarını kullanımında gösterdikleri farklılıklar Biolog GP2 kitinde değerlendirilmiştir. F-562 hariç diğer bütün strainler tarafından D-Fructose ve Uridine karbon kaynaklarının tüm izolatlar tarafından kullanıldığı belirlenmiştir. Sucrose, Glucosamine, α -D-Glucose, D-Mannitol, Arbutin, D-Psicose, Salicin, D-Trehalose, β -Methyl D-Glucoside, N-Acetyl-D Turanose, D-Cellobiose, L-Malic Acid, D-Mannose,

Glycerol ve Thymidine olmak üzere 15 karbon kaynağının kullanıldığı tespit edilmiştir. α -Cyclodextrin, Inulin, Mannan, m-Inositol, α -D-Lactose, Xylitol, D-Arabitol, Acetic Acid, D-Melezitose, α -Hydroxy Butyric Acid, L-Fucose, D-Galacturonic Acid, Lactulose, β -Methyl D-Galactoside, D-Malic Acid, α -Methyl D-Mannoside, Stachyose, β -Hydroxy Butyric Acid, p-Hydroxy Phenyl, Lactamide, Propionic Acid, Sedoheptulosan, L-Pyroglutamic Acid ve Putrescine olmak üzere 23 karbon kaynağının ise hiçbir strain tarafından kullanılmadığı belirlenmiştir. BIOLOG GN2 kitinde gram negatif bakterilerin karbon kaynaklarını kullanım özellikleri incelendiğinde ise F-591 hariç diğer bütün strainlerin L-Asparagine' i karbon kaynağı olarak kullandığı, Sebacic Acid' i ise hiçbir strainin kullanmadığı görülmüştür.

Karagöz (2013), tarafından Erzurum ili patates üretim alanlarında uyuz belirtisi gösteren patates yumrularından izolasyonlar yapılmış ve 114 patojen *Streptomyces* straini elde edilmiştir. Elde edilen bakteri strainleri arasında patojenite testleri pozitif sonuç verenlerin tanısı klasik (spor zinciri şekli ve rengi, toksik maddelere duyarlılık, melanin ve çözünebilir pigment üretimi) ve moleküler metotlarla (yağ asidi metil ester profilleri ve PCR) yapılmıştır. Strainler yağ asit profillerine bağlı olarak cins düzeyinde *Streptomyces* olarak tanımlanmıştır. Tür düzeyinde ise 53 strainin *S. scabiei*, 33 strainin *S. olivaceus*, 18 strainin *S. violaceusniger*, 2 strainin *S. californicus*, 2 strainin *S. exfoliatus*, 2 strainin *S. rochei*, 2 strainin *S. cinnamomeum* ve 2 strainin *S. lavendulae* olduğu tespit edilmiştir.

Bülbül (2014), tarafından Tekirdağ ili kiraz bahçelerinde 2012-2013 yıllarında gerçekleştirilen survey sonucu bakteriyel kanser ve zamklanma semptomu gösteren ağaçlarda 129 bitki örneği toplanmıştır. Tekirdağ ilinde incelenen bahçelerin tümünde hastalığın %20-57 oranında yaygın olduğu, hasta ağaçların %20-85 oranında hastalık şiddetine sahip olduğu tespit edilmiştir. KB besiyerinde koloni gelişimi, gram reaksiyon, levan tipte koloni oluşumu, oksidaz testi, pektolitik aktivite testi, arginin dehidrolaz testi, tütünde aşırı duyarlılık testi yapılmıştır. Laboratuvarda yapılan çalışmalar sonucunda bu örneklerden 41 farklı *P. syringae* straini elde edilmiştir. Yapılan klasik ve moleküler tanı testleri ile 23 strainin *P. s. pv. morsprunorum*, 18 strainin ise *P. s. pv. syringae* olduğu saptanmıştır.

Şahin (2015), tarafından yapılan bir araştırmada Kahramanmaraş ve çevresinde biber üretim alanlarında biber bakteriyel leke hastalığını belirlemek için 18 farklı yerden hastalıklı bitki örnekleri toplanmıştır. Yapılan izolasyon sonucunda bitki örneklerinden 189 bakteri straini elde edilmiştir. Patojenite çalışması ile bu strainlerden 103 tanesinin biberde patojen olduğu belirlenmiştir. Kahramanmaraş'tan 57, Gaziantep'ten 46 biber bakteriyel leke hastalığı etmeni izole edilmiştir. Klasik tanılama yöntemlerinden KB, YDC ve NA besiyerinde bakteri gelişimine bakılmış ayrıca potasyum hidroksit, katalaz, pektolitik aktivite, litmus milk, tütünde aşırı duyarlılık, patojenite ve nişasta hidrolizasyon testleri ile biberden izole edilen 103 strainin 100 tanesinin *Xav* olduğu belirlenmiştir. Bölgeden izole edilen patojen bakteri strainleri morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlerin yanında Biolog Gen III Otomatik Tanılama Sistem ile de tanılanmıştır. Biolog Gen III Otomatik Tanılama Sistemi ile biber bakteriyel leke hastalığı strainlerinden rastgele 13 bakteri seçilerek tanısı yapılmıştır. Sonuçlara göre 13 strainin 4 tanesinin *Xcv* (% 66-71), 7 tanesinin *Xcp* (% 68-74) , 2 tanesinin *X. c. pv dieffenbachiae* (% 64- 72) olduğu belirlenmiştir.

Gök (2016), tarafından 2013 ve 2015 yıllarında, Iğdır ilinde yanıklık belirtisi gösteren elma ağaçlarından örnekler alınmış ve yapılan izolasyonlar sonucunda toplam 84 bakteri straini elde edilmiştir. Yapılan morfolojik (hücre ve koloni morfolojisi, hareketlilik testi), biyokimyasal (gram reaksiyon, katalaz, oksidaz, nişasta hidrolizi, levan, ham armut ve 36°C' de gelişim testleri) ve moleküler (MIS) testler sonucunda bakteri strainlerinin 51 tanesi *Erwinia amylovora* olarak tanılanmıştır. Bakteri strainlerinin yağ asit metil ester analizi sonucunda *E. amylovora* strainleri % 45-82 benzerlik oranı ile tanılanmıştır ve hücrelerinde 10:0, 12:0, 11:0 3OH, 12:0 2OH, 17:0 ANTEISO, 12:0 3OH, 14:0, 17:0, 13:0 2OH, 13:0, 15:1 w8c, 15:1 w6c, 15:1 w5c, 15:0 ISO, 19:0 ISO, 15:0 ANTEISO, 17:0 CYCLO, 11:0, 15:0, 14:0 2OH, 16:0 ISO, 16:1 w5c, 16:0, 15:0 3OH, 17:0 ISO, 17:1 w8c, 18:1 w9c, 18:1 w5c, 18:0, 19:0 CYCLO w8c, 19:0, 17:0 3OH, 18:1 2OH olmak üzere 39 farklı yağ asitinin varlığı saptanmıştır. Strainlerde ortak olarak bulunan yağ asiti çeşitlerinin ise 12:0, 13:0, 14:0, 14:0 2OH, 16:1 w5c, 16:0, 17:1 w8c, 17:0 CYCLO, 17:0, 18:1 w5c, 18:0, 19:0 olduğu tespit edilmiştir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar

Bu çalışmada Biolog Gen III mikroplate okuyucusu (BIOLOG MICROSTATION TM), biolog turbidimeter (PERGENT TRANSMITTANCE), otoklav (HIRAYAMA, HV-50L), inkübatör (MEMMERT, INB 500), mikroskop (LEICA, DM 500), Mikrobiyal Identifikasyon Sistem (AGILENT, 7890A), su banyosu (MEMMERT, WNB-14), otomatik pipetler (EPPENDORF), magnetik karıştırıcı (WISESTIR, MSH-20A), ph metre (METTLER TOLADO), derin dondurucu (VESTEL, FT 280), steril kabin (ESCO, Class II Type A2), hassas terazi (SHIMADZU, ATX224), buzdolabı (BEKO, D9463NMS), saf su cihazı (MILLIPORE, DIRECT-Q-3UV), vortex (WISEMIX, VM-10) ve çalkalayıcı (SATUART, ROTATOR SB3) kullanılmıştır.

3.1.2. Çalışmada kullanılanlar çözelti ve besiyerleri

Araştırma süresince kullanılacak çözeltilerin ve besiyerlerinin hazırlanış şekilleri aşağıdaki gibidir:

- **Lauryl broth (LB):** 1 L dH₂O' ya 10 g pepton, 10 g NaCl ve 5 g yeast extract katılmıştır. Sıvı besiyeri otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edilmiştir.
- **% 30 'luk gliserol:** 70 ml steril distile su içerisine 30 ml gliserol eklendikten sonra otoklavda 121 °C'de 15 dk steril edilerek hazırlanmıştır.
- **Lugol solüsyonu:** 1 g iyot ve 2 g KCl tartılarak, toplam hacim steril distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
- **Nutrient agar:** 1 L distile su içerisine 28 g nutrient agar karışımı ilave edilmiştir. Besiyeri otoklavda 121 °C' de 15 dk steril edildikten 45°C' ye kadar sonra soğutulmuş ve steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.
- **Nutrient broth:** 13 g nutrient broth içeriği 1 L distile su içerisine eklenmiştir. Karışım otoklavda 121°C' de 15 dk steril edilmiştir.
- **Trypticase Soy Broth Agar (TSBA) Besiyeri:** 30 g Trypticase soy broth (BBL # 11768), 15 g granüle agar (BBL # 11849) 2 L'lik bir erlenmayer içerisindeki 1 L dH₂O içerisine ilave edilerek, ısıtmalı magnetik karıştırıcı üzerinde agar

eriyinceye kadar karıştırılmıştır. Daha sonra karışım 121 °C’de 15 psi basınç altında 15 dk süreyle otoklav edilmiştir. Steril edilen ortam 60 °C’ ye ayarlı su banyosunda soğutulduktan sonra steril kabinde petrilere (100x15 mm) 20-25 ml’lik kısımlar halinde dökülerek, oda sıcaklığında katılaşmaya bırakılmıştır.

- **Thornley 2A Besiyeri:** 1 L dH₂O’ya 1 g pepton, 5 g NaCl, 3 g K₂HPO₄, 3 g agar, 0,01 g fenol kırmızısı ve 10 g arginine-HCl ilave edilerek magnetik karıştırıcıda çözüldü ve karışımın pH’sı 7.2’ye ayarlanmıştır. Çözeltiden 2’şer ml, 5 ml’lik cam test tüplerine aktarılarak ağızları pamuk tıkaçlarla kapatılmıştır. Tüpler otoklavda 121 °C’de 15 dk steril edilerek katılaşmaya bırakılmıştır.
- **King B besiyeri:** 1 L saf su içerisine 20 g protease peptone (Difco No:3), 1.5 g K₂HPO₄.3H₂O, 1.5 g MgSO₄.7H₂O, 15 g agar ve 10 ml gliserol ilave edilmiştir. Karışımın pH’sı 7.2’ ye ayarlandıktan sonra 121 °C’de 15 dk. steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası, besiyeri 45 °C’ ye kadar soğutulularak petrilere dökülmüş ve katılaşması sağlanmıştır.
- **Yeast dextrose carbonate agar (YDC):** 1 L saf su içerisine 10 g yeast extract, 20 g dextrose, 20 g CaCO₃ ilave edilmiştir. Karışım otoklavda 121 °C’de 15 dk steril edilmiştir. Besiyeri 45 °C’ ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.
- **Nutrient starch agar (NAS):** 23 g nutrient agar ve 10 g %1’ lik nişasta 1 L saf su içerisine konularak otoklavda 121 °C’ de 15 dk. steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası 45 °C’ ye kadar soğutulan besiyeri steril petrilere dökülmüş ve katılaşması sağlanmıştır.
- **Nutrient sukroz agar:** 1 L dH₂O içerisine 23 g nutrient agar ve 50 g sukroz ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım otoklavda 121 °C’de 15 dk. steril edildikten sonra 45°C’ ye kadar soğutulmuş ve steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.
- **% 3’lük KOH çözeltisi:** 3 g KOH 100 ml steril distile su içerisinde çözümlenerek hazırlanmıştır.
- **% 7’ lik H₂O₂ çözeltisi:** 7 ml H₂O₂’ in hacmi steril saf su ile 100 ml’ ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

- **Biolog universal growth agar + % 0.025 maltoz (BUG+M):** 1 L distile su içerisine besiyeri karışımı ilave edilerek otoklavda 121 °C’de 15 dk. steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası 45 °C’ ye kadar soğutulan besiyeri steril petrilere dökülerek katılaşması sağlanmıştır.
- **Hücre parçalama (Saponification) çözeltisi:** 150 ml metil alkol (HPLC Grade) ve 150 ml sdH₂O 1 L’ lik renkli çözelti şişesine ilave edilmiştir. Daha sonra katı formdaki 45 g sodyum hidroksit (ACS Grade) eklenerek iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır.
- **Metilleştirme (Methylation) çözeltisi:** 325 ml hidroklorik asit (6 N) ve 275 ml metil alkol (HPLC Grade) 1 L’lik renkli çözelti şişesi içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır.
- **Saflaştırma (Extraction) çözeltisi:** 200 ml metil-tert-butil-eter (HPLC Grade) 200 ml hexan (HPLC Grade) üzerine ilave edilerek 1 L’lik renkli çözelti şişesine aktarılmış ve iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır.
- **Bazik yıkama (Base Wash) çözeltisi:** 10,8 g katı formdaki sodyum hidroksit (ACS Grade) 900 ml sdH₂O içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırıldıktan sonra 1 L’lik renkli çözelti şişesine aktarılmıştır.
- **% 0.85’lik NaCl çözeltisi:** 8.5 g NaCl’ ün hacmi 1 L’ ye tamamlanarak çözelti otoklavda steril edilmiştir.

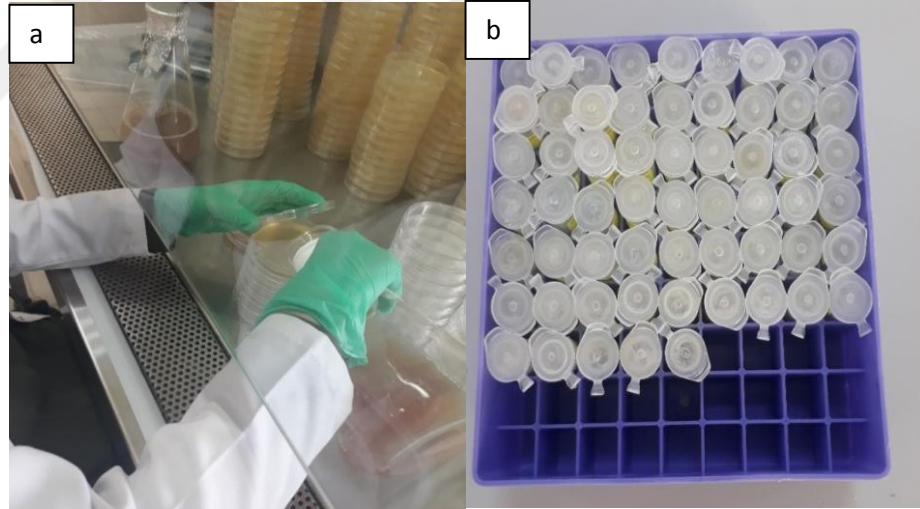
3.2. Metot

3.2.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması

Domates yetiştiriciliği yapılan alanları bakteriyel hastalıklar açısından incelemek amacıyla 2017 yılında Aralık, Tuzluca ve Karakoyunlu ilçelerine ve Iğdır merkeze bağlı Kasımcan, Oba ve Melekli köylerine gidilmiş, ilçe ve her köyden de 3’ er tarla seçilerek, basit tesadüfi örnekleme metoduna göre hastalıklı bitki örnekleri alınmıştır. Sürveyler bitkilerin fide ve meyve dönemleri olmak üzere 2 kez yapılmıştır. Alınan örnekler, polietilen torbalara konularak, buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilerek izolasyon işlemine kadar, 4°C’ de saklanmıştır.

3.2.2. Bakteri strainlerin izolasyonu ve muhafazası

Laboratuvara getirilen hastalıklı yaprak ve meyve örnekleri musluk suyunda yıkandıktan sonra, mikroskopik olarak incelenmiştir. Bu amaçla simptom içeren bitki kısmı kesilerek lam üzerine bırakılmış ve üzerine bir damla dsH_2O damlatıldıktan sonra lamelle kapatılarak preparatta bakteriyel akış olup olmadığı gözlenmiştir. Bakteri akışı görülen bitki örneklerinin, yüzeysel dezenfeksiyonu için % 70' lik etil alkol sprey edilerek kurumaları beklenmiştir. Daha sonra, sdH_2O yıkanan örneklerden, steril bir bistüri ile hastalıklı ve sağlıklı kısmı birlikte içerecek şekilde parçalar kesilerek, porselen veya cam havan içerisinde, saf su ile süspansiyon haline getirilip, besiyerine (NA) çizgi ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petripler, 27 °C ' ye ayarlı inkübatöre konularak bakteri gelişimi için inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen karışık bakteri kültürlerinden, farklı renk ve şekildeki koloniler alınıp tekrar besiyerine ekilerek saf kültürler elde edilmiştir (Dönmez, 2004)(Şekil 4.1).



Şekil 4.1. İzolasyon için katı besiyerinin hazırlanması (a) ve bakteri strainlerine ait stok kültürlerin oluşturulması (b)

3.2.3. Mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanınması

Saf kültür olarak -80 °C' de muhafaza edilen bakteri strainlerinden yağ asit metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırılması ve analizi yapılmıştır. Bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sistemi olan Mikrobiyal Identifikasyon Sistem (MIDI, Inc., Newark, DE) kullanılarak kültüre alınan strainlerin tür ve alt tür seviyesinde tanısı yapılmıştır (Schaad *et al.*, 2001).

3.2.3.a. Aerobik bakteri strainlerinin trypticase soy broth agar (TSBA) besiyerinde geliştirilmesi

Test edilecek mikroorganizmalar steril platin bir öze ile depo kültürden alınarak TSBA katı besiyerine 4 fazdan oluşan çizgi ekim yapılmıştır. Petriler bakterilerin gelişmesi için 24-48 sa süreyle 27 °C' ye ayarlı bir inkübatöre konulmuştur.

3.2.3.b. Yağ asit metil esterlerinin saflaştırılması

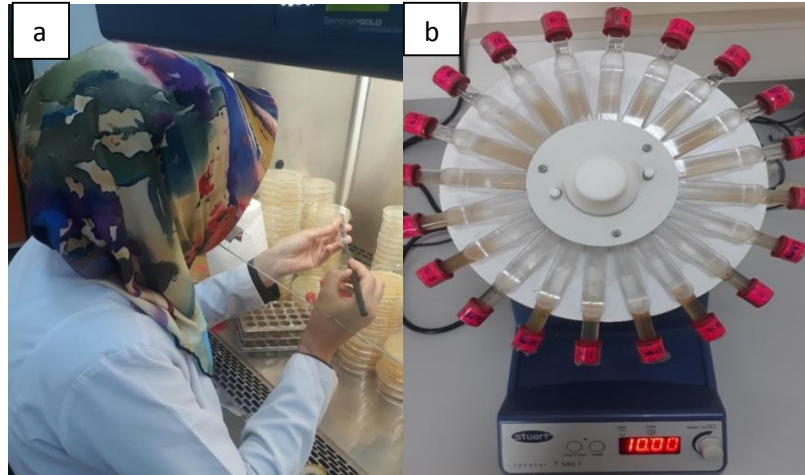
Mikroorganizmaların yağ asitlerini saflaştırmak için 4 farklı çözelti ile işlem yapılmıştır. Hazırlanan 4 çözelti ile aerobik bakterilerden yağ asit metil esterlerinin saflaştırılması aşağıdaki metot takip edilerek yapılmıştır.

- TSBA üzerinde geliştirilen bakterilerin inkübasyon periyodunu takiben, 4 fazlı çizim yapılmış petrilerin 3 ve 4 numaralı fazlarından canlı bakteri hücreleri steril bir özeyle toplanarak (~ 40 mg) steril teflon kapaklı cam test tüplerine (5 ml) aktarılmış ve tüpler etiketlenerek ağızları kapatılmıştır (Şekil 4.2.a).
- Her bir test tüpüne 1 ml hücre parçalayıcı çözelti ilave edilmiş ve 5-10 s çalkalandıktan sonra test tüpler 5 dk süreyle 100°C' lik su banyosunda bekletilmiştir. Ardından tekrar 5-10 s çalkalanan test tüpler 25 dk süreyle 100°C'lik su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Bu muamele ile canlı hücreler parçalanmış ve yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.
- Test tüplerine 2 ml metilleştirme çözeltilerinden eklendikten sonra 5-10 s' lik bir çalkalamadan sonra 80 °C' de 10 dk süreyle su banyosunda bekletilmiş ve hemen takiben 2 dk süreyle buz veya soğuk su içerisinde soğutulmuştur. Bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenmiş ve yağ asitlerinden yağ asit metil esterleri elde edilmiştir. Böylece yağ asitlerine yüksek sıcaklıklarda uçuculuk kazandırılmıştır.
- Soğutulan tüplere 1.25 ml saflaştırma çözeltilerinden eklenerek 10 dk süreyle çalkalayıcı da çalkalanmıştır. Tüplerin alt kısmında asidik (inorganik), üst kısmında da organik sıvı faz olmak üzere 2 ayrı faz oluştuğu gözlenmiştir. Yağ asit metil esterleri asidik fazdan ayrışarak organik faz bölgesinde toplandığından pastör pipeti kullanarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılarak ve organik faz muhafaza edilmiştir (Şekil 4.2.b).

- En son aşamada her tüpe 3 ml bazik yıkama çözeltisinden ilave edilmiştir. Tüpler 5 dk hematoloji çalkalayıcısında karıştırıldıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kullanılan çözelti bazik özellikte olduğundan, serbest yağ asit metil esterleri daha saf olarak elde edilmiştir. Bu aşamada da tüp içerisinde yine iki ayrı faz oluştuğu gözlenmiştir. Üst fazda toplanan ve yağ asit metil esterleri içeren faz pastör pipeti ile alınarak 2 ml gaz kromatografisi tüplerine transfer edildikten sonra ağızları sıkıca kapatılarak, MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmiştir (Şekil 4.3).

3.2.3.c. Örneklerin Mikrobiyal Identifikasyon Sistemi ile analiz edilmesi

Bakteri strainlerinin yağ asitlerini içeren numune tüpleri gaz kromatografi cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmiş ve cihaz çalıştırılmıştır. Klavuzda anlatıldığı gibi örnekler tek tek analiz edilerek sonuçları içeren tanı raporları alınmıştır. Her bir bakteri straini için elde edilen yağ asitlerinin türleri ve yüzde oranlarının ortalamaları belirlenmiştir. Tür ve strainler arası akrabalık oranları dendogram olarak ifade edilmiştir.



Şekil 4.2. Bakteri strainlerinden yağ asitlerinin izolasyonu için türlere ait kolonilerin TSA besiyerinden toplanması (a) ve yağ asit metil esterlerinin asidik fazdan ayrışarak organik fazda toplanması için tüplerin çalkalayıcıda çalkalanması (b)



Şekil 4.3. Gaz kromatografisi tüplerine ekstraksiyon tüpünün üst fazında toplanan yağ asitlerinin pastör pipetle aktarılması

3.2.4. Tütünde aşırı duyarlılık (Hypersensitive Reaction=HR) testi

Elde edilen bütün bakteri strainleri NA besiyerine ekilerek, 24-48 sa 27 °C' ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen kültürlerden sH₂O ile konsantrasyonu 10⁸ hücre/ml olan solüsyonlar hazırlanmıştır. Solüsyonlar 3 cc' lik plastik enjektörlerle tütün yapraklarının alt kısmından damar aralarına enjekte edilmiştir. İnokule edilen bitkiler en az 48 saat ışıklı bir ortamda muhafaza edilerek inokulasyonun yapıldığı kısımda nekroz oluşup oluşmadığı tespit edilmiştir. Ölü doku oluşumu HR pozitif, oluşmaması ise HR negatif olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.*, 1966). Karşılaştırma kültürü olarak GG-3 *E. amylovora* straini kullanılmıştır.

3.2.5. Patojenite testi

Test edilecek bakteriler NA besiyerine ekilerek 27 °C' de 24 sa süreyle inkübe edilmiştir. Gelişen bakteri kültürlerinden konsantrasyonu 10⁸ hücre/ml olan inokulum hazırlanmıştır. Bitkilerin yapraklarına sprej şeklinde bulaştırılmış, gövdelerine ise kürdan yardımıyla yara açılmış ve bakteri inokule edilmiştir. Negatif kontrol olarak ise sdH₂O kullanılmıştır. İnokulasyon sonrası bitkiler üzerine polietilen torbalar geçirilerek oda sıcaklığında 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda torbalar çıkartılarak, 7-10 gün boyunca hastalık belirtilerinin oluşumu gözlenmiştir (Lelliot and Stead, 1987; Saygılı, 1995).

3.2.6. Morfolojik ve biyokimyasal testler

Elde edilen fitopatojen bakterilerin morfolojik (hücre ve koloni morfolojisi, hareketlilik testi) ve biyokimyasal (gram reaksiyon testi, katalaz, oksidaz, nişasta hidrolizi, levan (Fructan)) özellikleri belirlenmiştir. Her bir test aynı şartlarda 3 kez tekrarlanmıştır.

3.2.6.a. Morfolojik testler

➤ Koloni morfolojisi

Mikroorganizmalar NA üzerine çizgi ekim şeklinde kontamine edilmiştir. Bakteriler 48-72 sa 27 °C ' de inkübe edildikten sonra koloni gelişimi gözlenmiş ve besi yerinde gelişen kolonilerin rengi tespit edilmiştir (Saygılı, 1995).

➤ Hareketlilik testi

Bir litre dH₂O içerisine 10 g tryptone, 5 g NaCl ve 5 g agar ilave edilmiştir. Karışımın pH'sı 7.2' ye ayarlanmış ve bu karışımdan tüplere 5' er ml konularak otoklavda 121 °C 'de 15 dakika steril edilmiştir. Hazırlanan besiyerine bakteri strainleri inokule edilmiş ve 25 °C' de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 8., 24., ve 48. Saatinde bakteri gelişimi kontrol edilmiştir. Besiyerinde inokülasyon noktasından çevreye doğru ilerleyen koloni gelişimi pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir (Schaad *et al.*, 2001). Karşılaştırma kültürü olarak GG-8 *E. amylovora* straini kullanılmıştır.

3.2.6.b. Biyokimyasal testler

➤ Gram reaksiyon testi

Bakteri strainlerinin hücre duvarlarındaki farklılığı belirleyebilmek için bir lam üzerine, %3' lük KOH çözeltisinden bir iki damla damlatılmıştır. Ardından 24-48 sa'lik inkübasyon sonrası NA üzerinde gelişen bakteri kültüründen özeyle alınarak KOH çözeltisi ile 5-10 s karıştırıldıktan sonra öze yukarıya doğru kaldırılmıştır. Bunun sonucunda viskoz bir uzama gözlenmesi gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Saygılı, 1995). Pozitif kontrol olarak GG-25 *E. amylovora* (gram negatif) ve MFD-460 *Curtebacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* kullanılmıştır.

➤ Katalaz testi

Katalaz, elektron transfer zincirinin sonunda açığa çıkan H₂O₂ ' in parçalanarak O₂ ve H₂O' ya dönüşümünü sağlayan bir enzimdir. Katalaz enzimin varlık veya yokluğunu belirlemek için bakteri strainleri NA ortamında 24-48 saat geliştirilmiştir.

Gelişen bakteri kültüründen bir öze alınmış ve üzerine 1 damla H₂O₂ ilave edilmiştir. Kabarcık oluşumu katalaz pozitif, oluşmaması ise katalaz negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.*, 1990). Pozitif kontrol olarak MFD-119 *X. campestris* pv. *phaseoli* kullanılmıştır.

➤ **Oxidaz testi**

Elektron transferinde bakterilerin cytochrome c proteinine sahip olup olmadıkları bu testle saptanmıştır. Solunum prosesinde cytochrome c proteini (oxidaz c) görev almakta ve elektron transfer sisteminde maddeleri birinden diğerine indirgeyerek hücrel enerji (ATP) oluşumuna neden olmaktadır. Test için % 1 tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride içeren diskler kullanılmıştır. Bu diskler 1 damla sdH₂O ile doyurulmuş ve sonra üzerleri 24-48 sa'lik bakteri ile kaplanmıştır. Gözlemlenen mavimsi-mor renk pozitif, bu rengin oluşmaması ise negatif sonuç olarak kabul edilmiştir (Kovaks, 1956; Narayanasamy, 1997).

➤ **Nişasta hidrolizi**

Nişasta molekülünü parçalayarak biyolojik enerjiye dönüştürmede görev yapan amilaz enziminin var olup olmadığı bu testle belirlenmiştir. NA besiyerine bakteriler nokta ekimle kontamine edilmiştir. 2-7 günlük bir inkübasyon sonrasında bakteri kolonisinin etrafında görülen renk açıklığı veya hale amilaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. Sonuç çıplak gözle fark edilemediğinde lugol solüsyonundan 5 ml petrilere dökülerek mavi renk verenler negatif, mavi renk vermeyip ekim çizgileri etrafında açık renk hale verenler pozitif olarak tespit edilmiştir (Klement *et al.*, 1990; Narayanasamy, 1997). Pozitif kontrol olarak MFD-490 *X. c. phaseoli fuscans*, negatif kontrol olarak MFD-227 *P. s. pv. phaseolicola* kullanılmıştır.

➤ **Arginine dehidrolaz testi**

Mikroorganizmaların bu özelliğini belirlemek için tapılan testte Thornley 2A besi yeri kullanılmıştır. Bakteri strainleri öze ile tüpteki ortama ekilerek ve üzerleri 50 °C'ye kadar soğutulan % 3' lük su agarından 1 ml aktararak parafilm ile kaplanmıştır. Kültürler 27 °C'de 7-15 gün süre ile inkübe edilmiştir. Bakterinin arginine' i kullanması sonucu meydana gelen pembemsi kırmızı renk arginin pozitif, açık pembe renk ise arginin negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.*, 1990; Schaad, 1994; Saygılı, 1995).

➤ **Levan (Fructan) testi**

Test için NAS besiyeri kullanılmıştır. Kùltürler çizgi ekim şeklinde ekilerek 27°C’ de 5 gün inkübe edilmiştir. Levan sucrase enziminin sukrozu kullanması sonucu oluşan konveks, mukoid yapıda koloniler levan pozitif olarak belirlenmiştir (Klement *et al.* 1990, Lelliot and Stead, 1987). Pozitif kontrol olarak GG-3 *E. amylovora*, negatif kontrol olarak MFD-602 *C. m. subsp. insidiosum* kullanılmıştır.

➤ **Fluorescent pigment üretim testi**

Fluorescent pigment üreten strainlerin tespiti amacıyla KB besiyeri hazırlanmıştır. Her bir strain besiyerine çizgi ekimle kontamine edildikten sonra, 25 °C sıcaklığa sahip inkübatörde 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen bakteriler UV lamba altında gözlemlenmiş, yeşil fluorescens renkte ışımaya gösterenler pozitif, diğerleri negatif sonuç olarak tespit edilmiştir (Fahy and Persley, 1983; Lelliot and Stead, 1987).

➤ **Pektinaz testi**

Bakteri strainlerinin pektolitik aktivitesini belirlemek için patates yumruları kullanılmıştır. Patates yumrularının yüzeysel dezenfeksiyonu için yumrular önce deterjanlı su ile fırçalanmış ve daha sonra % 1’ lik NaOCI’de 3 dk bekletilmiştir. Patates yumruları NaOCI’ün uzaklaştırılması için 3 kez sdH₂O ile yıkanmıştır. Ardından steril bir bistüri ile patatesler soyulmuş ve yaklaşık bir cm kalınlığında kesilmiştir. Kesilen patates dilimleri içerisinde steril ıslak filtre kağıdı bulunan petrilere yerleştirilmiştir. 48 sa’lik bakteri kolonileri öze ile patates dilimi üzerine çizgi şeklinde yayılmıştır. 25°C’ de iki günlük inkübasyon sonrası bakteri bulaştırılan patates dilimleri değerlendirilmiş ve patates diliminde meydana gelen yumuşak çürüklük şeklindeki belirti pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir (Lelliot and Stead, 1987). Karşılaştırma kùltürü olarak MFD-310 *Erwinia caratovora subsp. caratovora* kullanılmıştır.

3.2.7. Bakteri strainlerini Biolog Gen III Sistem ile tanınması

Elde edilen bakteri strainlerinin metabolik enzim profillerinin belirlenmesi için BUG agar besiyeri kullanılmıştır. Patojen olarak seçilen bakteri strainleri BUG agar besiyerine ekilmiş ve 32 °C’ de 24 saat inkübe edilmiştir. Gelişen bakteri kùltürleri IF-A tampon çözeltisinde süspanse edilmiş ve tüplerdeki bakteri konsantrasyonu turbidimetre ile absorbans değeri %92-98 olacak şekilde ayarlanmıştır (Şekil 4.4). Yoğunlukları ayarlanan bakteri süspanسیونlarından mikropelatelerdeki herbir çukurcuğa 100 µl ilave

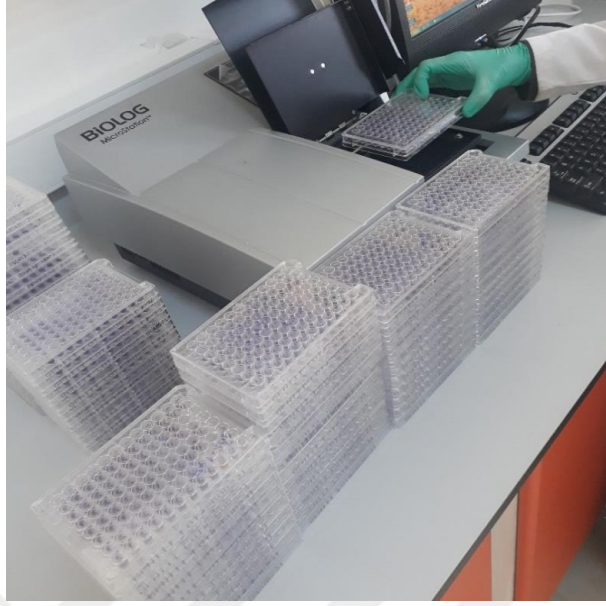
edilmiş ve 32°C’ de 4-24 saat inkübe edilmiştir (Şekil 4.5) (Anonymous, 2008). Daha sonra mikroplate okuyucuda okutularak sistemin veri bankası ile karşılaştırılarak bakteri teşhisi yapılmıştır (Şekil 4.4). Biolog Gen III otomatik tanılama sisteminde Microlog 35.2.01 33 versiyonu kullanılmıştır. Biolog Gen III Microplate’nin içerdiği karbon kaynakları Çizelge 3.1’ de belirtilmiştir.



Şekil 4.4. Bakteri strainlerinin BIOLOG IFA çözeltilisinde süspansiyon edilmesi (a) ve turbidimetre ile konsantrasyonun ayarlanması (b)



Şekil 4.5. Bakteri süspansiyonunun BIOLOG Microplate’in inokule edilmesi



Şekil 4.6. Patojen ile inokule edilen Mikro plate'lerin inkübasyon sonrası Biolog Gen III Okuyucu Sistemi'nde okutulması

Çizelge 3.1 Biolog Gen III Microplate'inin içerdiği karbon kaynakları

	A	B	C	D	E	F	G	H
1.	Negatif kontrol	D-Raffinose	α -D-Glukose	D-sorbital	Gelatin	Pectin	4-Hydroxy Phenylacetic acid	Tween 40
2.	Dextrin	α -D-Lactose	D-Mannose	D-mannital	Glycyl-L-Proline	D-Galactronic Acid	Methyl pyruvate	9-Amino-N-Butyric acid
3.	D-Maltose	D-melibiose	D-Fruktose	L-Arabitol	L-Alanine	L-Galactonic Acid Lactone	D-Lactic Acid Methyl ester	α -Hydroxybutyric acid
4.	D-Trloseeh	3-methyl-D Glucoside	D-Galaktose	Myo- İnositol	L-arginine	D-Gluconic acid	L-Lactic acid	β -Hydroxy Butyric acid
5.	D-Cellobiose	D-salicin	3-Methyl Glucose	Glycerol	L-Aspartic acid	D-Glucuronic acid	Citric acid	α -Keto Butyric acid
6.	Gentibiose	N-acetyl-D-glucosamine	D-fukose	D-Glucose-6 Phosphate	L-Glutamic acid	Glucoron amide	α -Keto Glutaric acid	Acetoacetic acid
7.	Sucrose	N-acetyl-D-mannosamine	L-fucose	D-fructose-6-phosphate	L-Histidine	Mucid acid	D-Malic acid	Propionic acid
8.	D-Turanose	N-acetyl-D-galaktosamine	L-Rhamnose	D-Aspartic acid	L-Pyroglutamic acid	Quinic acid	L-Malic acid	Acetic acid
9.	Stachyose	N-acetyl Neuraminic acid	Inosine	D-Serine	L-Serine	D-Saccharic acid	Bromosuccinic acid	Formic acid
10.	Pozitive Control	%1 NaCl	%1 sodium lactate	Troleandomycin	Lincomycin	Vancomycin	Nalidixic acid	Aztreonam
11.	pH 6	%4 NaCl	Fusidic acid	Rifamycin Sv	Guanidine HCL	Tetrazolium Violet	Lithium Chloride	Sodium Butyrate
12.	pH 5	%8 NaCl	D-Serine	Minocycline	Niaproof 4	Tetrazolium Blue	Potassium Tellurite	Sodium Bromate

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Survey Sonuçları

Hastalıklı domates bitkilerinin yaprak ve meyvelerinden izolasyon yapılmış, elde edilen karışık kültürlerin saflaştırılması işleminden sonra 98 adet bakteri straini elde edilmiştir. Her bir saf kültürden alınan bakteri kolonileri, içerisinde %30 glycerol ve nutrient broth bulunan steril tüplere aktarılmış ve daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere – 80 °C’ de muhafaza edilmiştir. Elde edilen bakteri strainlerine ait genel bilgiler Çizelge 4.2’ de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Çalışmada elde edilen bakteri strainlerine ilişkin bilgiler

	Yaprak	Meyve	Gövde	Toplam
Aralık	11	1	-	12
Karakoyunlu	6	-	-	6
Tuzluca	29	-	1	30
Kasımcan	11	-	-	11
Oba	19	2	-	21
Melekli	15	2	1	18
Toplam	91	5	2	98

4.2. Bakteri strainlerinin yağ asit profillerine göre tanısı

Bakteri strainlerinin saflaştırılan yağ asitlerine bağlı olarak MIS ile yapılan tanı sonuçları Çizelge 4.3’ te verilmiştir. Çizelgede belirtilen sonuçlara göre çalışmada *Stenotrophomonas maltophilia* (18), *Enterobacter hormaechei* (10), *Xav* (8), *Pseudomonas putida* (7), *Salmonella enterica* (5), *Sphingobacterium spiritivorum* (5), *Pantoea agglomerans* (4), *Kluyvera cryocrescens* (3), *Variovorax paradoxus* (3), *Ochrobactrum anthropi* (3), *Aeromonas ichthiosmia* (3), *P. viridiflava* (2), *Escherichia coli* (2), *Kocuria rosea* (2), *Bacillus cereus* (1), *P. s. tomato* (1), *P. s. syringae* (1), *Pectobacterium carotovorum* (1), *Enterobacter asburiae* (1), *Micrococcus luteus* (1), *Paenibacillus alginolyticus* (1), *Klebsiella pneumoniae* (1), *Photobacterium luminescens* (1), *Sphingobacterium faecium* (1), *Kingella kigae* (1), *Acinetobacter calcoaceticus* (1), *Klebsiella oxytoca* (1), *Myroides odoratus* (1), *Achromobacter xylosoxidans denitrificans* (1), *Kocuria rhizophila* (1), *Paucimonas lamoignei* (1),

Kocuria rosea (1), *Bacillus subtilis* (1), *Arthobacter globiformis* (1), *Kluyvera intermedia* (1), *Pasteurella pneumotropica* (1) ve *Bacillus thurigiensis israilensis* (1) olmak üzere 36 farklı tür tanılanmıştır.

Çizelge 4.3. İzole edilen mikroorganizmaların yağ asit metil ester analizi ile elde edilen tanı sonucu ve benzerlik indeksi

STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	SİM İNDEKSİ
BS-3	<i>Enterobacter hormaechei</i>	52
BS-4	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	65
BS-8	<i>Enterobacter hormaechei</i>	77
BS-09	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	52
BS-10	<i>Variovorax paradoxus</i>	46
BS-18	<i>Variovorax paradoxus</i>	64
BS-20	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	51
BS-21	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	82
BS-24	<i>Kocuria rosea</i>	58
BS-25	<i>Pantoea agglomerans</i>	90
BS-26	<i>Enterobacter asburiae</i>	72
BS-27	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	87
BS-28	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	62
BS-31	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	80
BS-32	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	47
BS-34	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	68
BS-38	<i>Xanthomonas axonopodis vesicatoria</i>	45
BS-39	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	70
BS-44	<i>Salmonella enterica</i>	81
BS-47	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	52
BS-48	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	54
BS-49	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	61
BS-52	<i>Bacillus cereus</i>	51

Çizelge 4.3. Devami

STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	SIM INDEX
BS-57	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	74
BS-59	<i>Enterobacter hormaechei</i>	75
BS-61	<i>Micrococcus luteus</i>	48
BS-65	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	64
BS-67	<i>Enterobacter hormaechei</i>	87
BS-68	<i>Enterobacter hormaechei</i>	83
BS-71	<i>Enterobacter hormaechei</i>	85
BS-73	<i>Stenotrophomanas maltophilia</i>	44
BS-75	<i>Xanthomonas axonopodis vesicatoria</i>	46
BS-79	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	81
BS-83	<i>Escherichia coli</i>	90
BS-84	<i>Pantoea agglomerans</i>	87
BS-89	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	76
BS-93	<i>Stenotrophomanas maltophilia</i>	48
BS-97	<i>Enterobacter hormaechei</i>	74
BS-98	<i>Stenotrophomanas maltophilia</i>	51
BS-100	<i>Photobacterium luminescens luminescens</i>	70
BS-101	<i>Escherichia coli</i>	81
BS-103	<i>Pseudomonas syringae syringae</i>	73
BS-104	<i>Sphingobacterium faecium</i>	76
BS-105	<i>Pseudomonas putida</i>	56
BS-109	<i>Stenotrophomanas maltophilia</i>	38
BS-116	<i>Kingella kigae</i>	65
BS-118	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	40
BS-120	<i>Xanthomonas axonopodis vesicatoria</i>	72
BS-122	<i>Pseudomonas putida</i>	82
BS-123	<i>Aeromonas ichthiosmia</i>	45

Çizelge 4.3. Devamı

STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	SİM İNDEKS
BS-125	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	58
BS-129	<i>Pseudomonas putida</i>	68
BS-130	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	67
BS-133	<i>Enterobacter hormaechei</i>	69
BS-135	<i>Bacillus cereus</i>	39
BS-136	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	86
BS-141	<i>Klebsiella oxytoca</i>	91
BS-142	<i>Myroides odoratus</i>	69
BS-156	<i>Xanthomonas axonopodis vesicatoria</i>	70
BS-143	<i>Stenotrophomanas maltophilia</i>	54
BS-156	<i>Xanthomonas axonopodis vesicatoria</i>	70
BS-156	<i>Xanthomonas axonopodis vesicatoria</i>	70
BS-160	<i>Xanthomonas axonopodis vesicatoria</i>	59
BS-164	<i>Variovorax paradoxus</i>	38
BS-161	<i>Achromobacter xylosoxidans denitrificans</i>	54
BS-167	<i>Stenotrophomanas maltophilia</i>	37
BS-169	<i>Xanthomonas axonopodis vesicatoria</i>	70
BS-172	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	78
BS-176	<i>Enterobacter hormaechei</i>	89
BS-178	<i>Xanthomonas axonopodis vesicatoria</i>	56
BS-181	<i>Kocuria rhizophila</i>	67
BS-186	<i>Paenibacillus alginolyticus</i>	57
BS-188	<i>Pseudomonas putida</i>	44
BS-199	<i>Stenotrophomanas maltophilia</i>	75
BS-200	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	71
BS-208	<i>Pseudomonas putida</i>	32
BS-212	<i>Aeromonas ichthiosmia</i>	51

Çizelge 4.3. Devamı

STRAIN NO	MIS TANI SONUCU	SIM INDEX
BS-213	<i>Paucimonas lamoignei</i>	46
BS-219	<i>Pantoea agglomerans</i>	90
BS-221	<i>Kocuria rosea</i>	53
BS-225	<i>Aeromonas ichtiosmia</i>	44
BS-228	<i>Pantoea agglomerans</i>	87
BS-231	<i>Pseudomonas syringae tomato</i>	45
BS-232	<i>Xanthomonas axonopodis vesicatoria</i>	52
BS-234	<i>Enterobacter hormaechei</i>	90
BS-236	<i>Pseudomonas putida</i>	52
BS-237	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	59
BS-238	<i>Bacillus subtilis</i>	57
BS-251	<i>Arthobacter globiformis</i>	47
BS-256	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>	47
BS-257	<i>Kluyvera intermedia</i>	57
BS-258	<i>Salmonella enterica</i>	74
BS-259	<i>Salmonella enterica</i>	70
BS-262	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	38
BS-264	<i>Salmonella enterica</i>	53
BS-267	<i>Salmonella enterica</i>	71
BS-269	<i>Bacillus thurigiensis israelensis</i>	68
BS-271	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	67

Patojenlere ait yağ asit profilleri incelendiğinde *Xav* strainlerinin hepsinde 20 farklı yağ asitinin (17:0 iso 3OH, 11:0 iso, 11:0 3OH, 13:0 iso, 17:1 w6c, 13:0 iso 3OH, 15:1 w6c, 10:0 3OH, 14:0, 11:0 anteiso, 14:0 iso, iso F, 13:0 iso 2OH, 16:0, 17:0, 15:1, 17:0 iso, 16:0 iso, 17:0 anteiso, 10:0, 17:1 w8c) ortak olduğu tespit edilmiştir. Strainler arasında bazı yağ asitlerinin mevcudiyetlerinin ve yüzde oranlarının ise farklılık gösterdiği saptanmıştır. Örneğin 20:4 w6,9,12,15c yağ asitinin varlığı *Xav* strainleri

arasında sadece BS-156 straininde saptanmıştır. Bununla birlikte 12:0 3OH, 10:0 2OH, 13:0 anteiso ve 12:0 iso 3OH, 16:1 w5c ve 12:1 3OH yağ asitleri sırasıyla BS-38, BS-75, BS-120 ve BS-156 strainleri hariç diğer *Xanthomonas* strainlerinin hepsinde tespit edilmiştir. 15:0 iso 3OH ve 15:0 2OH yağ asitlerinin ise sadece BS-38, BS-75, BS-156 ve BS-232 strainlerinde bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Yağ asit meti ester analizleri sonuçlarına göre *Pseudomonas* cinsi bakteriler değerlendirildiğinde ise hepsinde ortak olan 13 farklı yağ asiti (10:0, 12:0, 12:0 3OH, 17:0, 13:0, 14:0, 16:0, 17:0 iso, 17:1 w8c, 12:0 2OH, 10:0 3OH, 18:0, 18:1 w7c 11 mrthyl) saptanmıştır. Bazı yağ asitlerinin varlığı ise belirli strainlerde tespit edilmiştir. Örneğin 18:1 w9c yağ asitinin sadece BS-231' de bulunduğu görülmüştür. Sekiz farklı yağ asitinin ise (11:0 iso 3OH, 10:0 2OH, 13:0 anteiso, 15:1 w5c, 16:1 w5c, 16:0 Nalcohol, 19:0) sadece BS-237 straininde bulunduğu görülmüştür (Çizelge 4.4).

17:0, 10:0, 14:0, 16:0, 17:0 iso, 10:0 3OH, ve 17:1 w8c yağ asitlerinin ise hem *Xanthomonas* hemde *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerde ortak olduğu belirlenmiştir. Ancak bu yağ asitleri içerisinde 10:0 3OH ve 16:0'ın *Pseudomonas* cinsi bakterilerde daha yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Patojen bakterilerinin içerdiği yağ asitmetil esterleri ve yüzde bulunma oranları

PEAK NAME	BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-168	BS-169	BS-178	BS-231	BS-232	BS-237
10:0	0.56	0.53	1.53	0.75	0.70	0.10	0.53	0.68	0.15	0.66	0.14
11:0 iso	4.17	4.21	5.31	4.32	4.56	-	4.09	5.14	-	4.50	-
11:0 anteiso	0.22	0.23	0.20	0.15	0.21	-	0.17	0.19	-	0.31	-
11:0	-	0.05	-	0.05	-	-	-	-	-	0.12	-
10:0 2OH	0.12	-	0.17	0.18	0.16	-	0.15	0.12	-	0.17	0.05
10:0 3OH	0.17	0.16	0.45	0.44	0.37	2.97	0.33	0.31	3.15	0.21	2.87
11:0 iso 3OH	2.24	2.31	2.22	1.82	1.78	-	1.71	1.19	-	2.42	0.04
11:0 2OH	0.06	-	-	0.05	-	-	0.06	0.05	-	0.07	-
12:0	-	-	-	-	-	4.77	-	-	5.46	-	4.91
13:0	-	0.35	-	-	-	0.10	-	-	0.12	0.06	0.10
11:0 3OH	0.42	0.40	0.30	0.40	0.28	-	0.24	0.27	-	0.50	-
13:0 iso	0.33	0.35	0.18	0.24	0.14	-	0.13	0.17	-	0.32	-
13:0 anteiso	0.09	0.09	-	0.06	0.08	-	0.07	0.07	-	0.11	0.03
12:0 iso 3OH	-	0.25	0.20	2.59	0.19	-	0.19	0.19	-	0.25	-
12:1 3OH	-	0.08	0.16	0.14	0.13	-	0.10	0.11	-	0.07	-
12:0 3OH	0.24	1.44	2.98	-	2.30	3.96	2.12	2.31	4.29	1.84	3.35
14:0 anteiso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04
14:0 iso	0.81	0.76	0.39	0.67	0.28	-	0.30	0.33	-	0.78	-

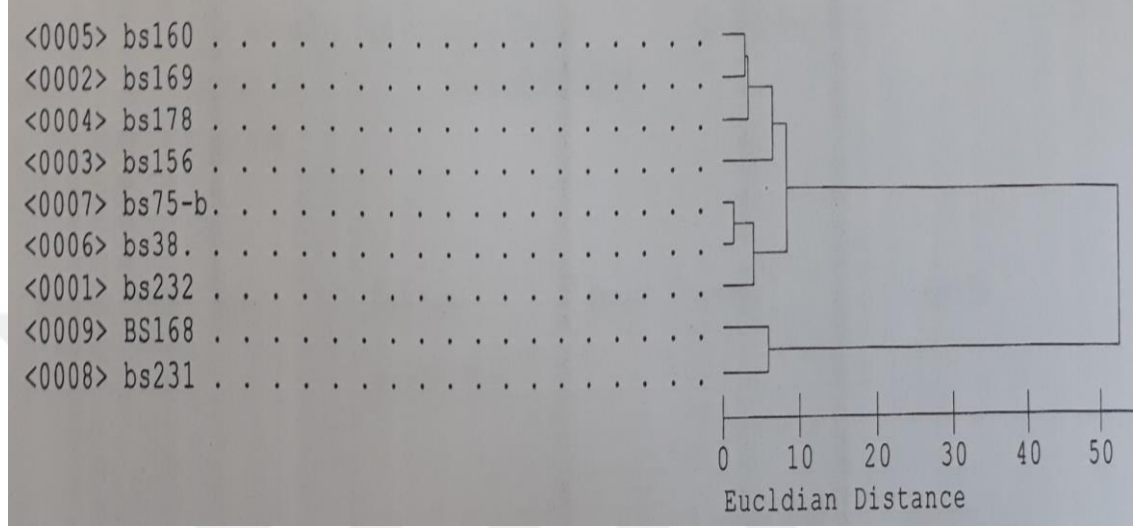
Çizelge 4.4. Devamı

PEAK NAME	BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-168	BS-169	BS-178	BS-231	BS-232	BS-237
14:1 w5c	0.25	0.24	0.19	0.06	-	-	-	-	-	0.12	-
14:0	1.05	1.06	1.31	1.02	1.01	0.20	0.86	0.98	0.31	1.20	0.84
13:0 iso 3OH	3.52	3.22	4.48	3.91	4.00	-	4.27	4.60	-	3.60	-
13:0 2OH	0.61	0.48	0.46	0.38	0.56	-	0.54	0.61	-	0.64	-
15:1 iso F	1.17	1.06	0.20	0.20	0.17	-	0.21	0.20	-	1.29	-
15:0 iso	29.24	30.33	27.67	27.89	25.36	-	27.25	27.75	0.50	27.22	0.14
15:0 anteiso	14.70	14.60	10.03	11.58	14.28	-	14.00	14.52	0.40	16.98	0.10
15:1 w8c	0.20	0.19	-	0.04	0.05	-	-	0.05	-	0.23	-
15:1 w6c	1.25	1.22	0.59	0.63	0.38	-	0.39	0.50	-	1.09	-
15:1 w5c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.18
16:0 iso	2.12	2.15	1.93	2.29	1.82	-	1.94	1.55	-	1.97	-
16:0 N alcohol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04
16:1 iso H	-	0.04	-	0.05	-	-	-	-	-	-	-
16:1 w9c	1.41	1.30	1.30	1.42	-	-	-	-	-	1.60	-
16:1 w5c	0.08	0.12	-	0.07	0.09	-	0.09	0.10	-	0.09	0.07
16:0	2.46	2.59	4.51	3.94	2.75	23.40	2.42	1.92	20.01	2.84	21.6
15:0 iso 3OH	0.06	0.10	-	0.04	-	-	-	-	-	0.05	-
15:0 2OH	0.09	0.16	-	0.03	-	-	-	-	-	0.13	-
17:1 iso w5c	0.35	0.30	-	-	0.50	-	0.55	-	-	0.17	-

Çizelge 4.4. Devamı

PEAK NAME	BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-168	BS-169	BS-178	BS-231	BS-232	BS-237
17:1 anteiso w9c	0.16	-	-	-	-	-	-	-	-	0.07	-
17:0 iso	4.06	4.11	5.48	5.47	5.23	0.09	5.49	3.63	0.10	3.22	0.10
17:0 anteiso	0.57	0.51	0.13	0.73	0.83	-	1.03	0.59	-	0.45	-
17:1 w8c	1.86-	1.70	1.07	1.44	1.14	0.14	0.91	0.93	0.19	1.75	0.17
17:1 w6c	0.53	0.37	0.34	0.46	0.37	-	0.40	0.34	-	0.36	-
17:0 cyclo	-	-	-	-	-	-	-	-	0.22	-	0.29
17:0	0.25	0.18	0.61	0.25	0.07	0.24	0.06	0.04	0.25	0.13	0.29
16:0 3OH	0.09	0.10	-	0.08	-	0.06	-	0.03	-	0.12	0.06
18:1 w5c	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	0.06
18:1 w9c	0.53	0.48	0.61	0.60	0.63	-	0.68	0.39	0.34	0.53	-
18:0	-	0.10	-	0.05	-	0.89	-	-	0.66	-	1.00
18:1 w7c 11-mrthyl	-	-	-	-	-	0.73	-	-	0.27	-	0.51
17:0 iso 3OH	0.44	0.49	0.30	0.30	0.08	-	0.18	0.16	-	0.49	-
19:0 cyclo w8c	-	0.11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04
18:1 2OH	-	-	-	0.05	-	-	0.08	0.06	-	-	-
20:4 w6, 9, 12, 15c	-	-	-	0.04	-	0.08	-	-	0.09	-	-
20:1 w7c	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	0.06

Patojen strainlerin içerdiği yağ asidi çeşitleri ve hücrelerinde bulunma oranlarına bağlı olarak elde edilen dendogram Şekil 4.7' de verilmiştir. Dendogram Sherlock MIDI (6.1) version analiz programı ile oluşturulmuştur.



Şekil 4.7. Patojen bakterilerin yağ asit metil ester analizi sonucunda elde edilen dendogram

4.3. Tütünde aşırı duyarlılık (Hypersensitive Reaction=HR)testi

Referans kültür GG-3 *E. amylovora* inokulasyonundan 48-78 sa sonra tütün yapraklarında enjekte edilen alanla sınırlı kısımda çökme ve su emmiş leke olduğu görülmüştür. Patojen olarak tanılanan bakteri strainlerinin hepsinin (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-178, BS-231, BS-232 ve BS-237) tütün yapraklarında tipik aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8) (Çizelge 4.6).



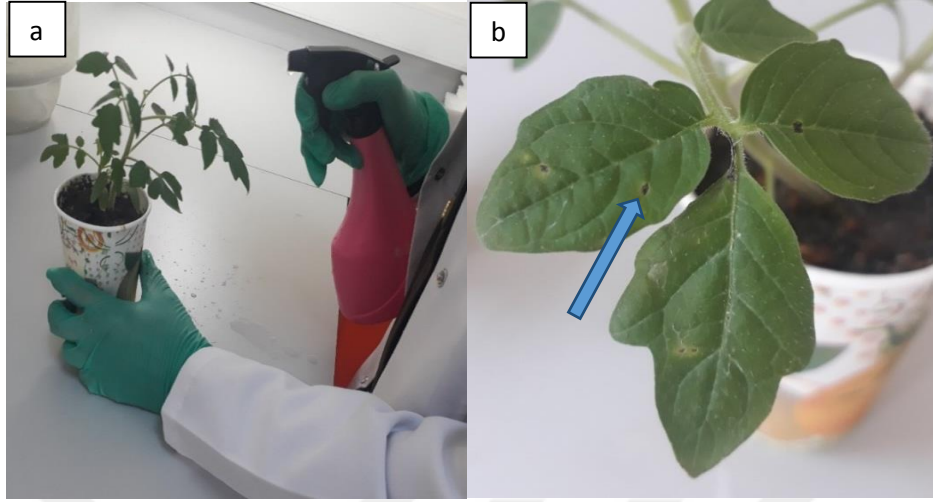
Şekil 4.8. BS-120 strainine ait tütünde HR testi sonucu

4.4. Patojenite test sonuçları

Patojenite testinde süper 5656 domates çeşidi kullanılmıştır (Şekil 4.9.). Domates fidelerine *Pst* (BS-231) ve *Xav* (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232) strainleri sprej şeklinde bulaştırılmıştır (Şekil 4.10.a). *P. viridiflava* strainleri ise (BS-168 ve BS-237) kürdanla bitkinin gövdesine açılmış yaralardan inokule edilmiştir (Şekil 4.11). İnokulasyondan 7-15 gün sonra BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178, BS-231 ve BS-232 strainlerinin domates yapraklarında dairesel etrafı sarı hale ile çevrili küçük lekeler oluşturduğu (Şekil 4.10.b) BS-168 ve BS-237 strainlerinin ise fidelerde kahverengileşme ve solgunluk şeklinde simptomlara neden olduğu görülmüştür (Şekil 4.12) (Çizelge 4.5).



Şekil 4.9. Domates (Süper 5656) fidelerinde patojenite testi



Şekil 4.10. BS-231 strainin domates bitkisine inokulasyonu (a) ve yaprakta oluşturduğu simptom (b)



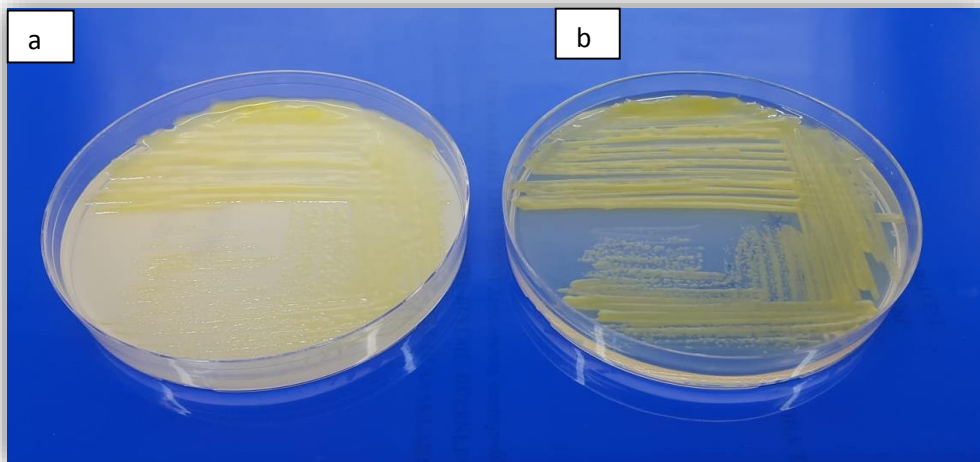
Şekil 4.11. Kürdanla bitkinin gövdesinde yara açılması ve bakterinin inokule edilmesi



Şekil 4.12. BS-237 strainin patojenite testi sonucunda bitkide oluşturduğu solgunluk belirtisi

4.5. Koloni morfolojisi

İzole edilen patojen bakterilerin NA besiyeri üzerinde oluşturdukları koloni renkleri tespit edilmiştir. NA besiyerine bakterilerin ekiminden 48 sa sonra *Pseudomonas* cinsine ait bakteri strainlerinin (BS-168, BS-231 ve BS-237) krem renkli, *Xanthomonas* cinsine ait bakteri strainlerinin ise (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232) mukoid sarı renkli koloniler oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.13) (Çizelge 4.5).



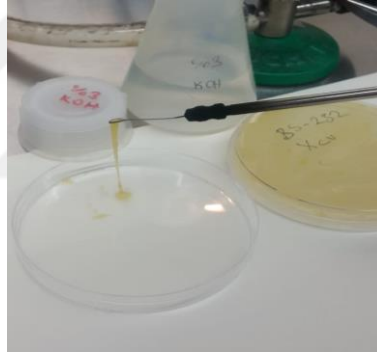
Şekil 4.13. BS-160 strainin (a) YDC besi yerinde koloni gelişimi ve (b) NA besiyerinde koloni gelişimi

4.6. Hareketlilik testi

Referans kültür GG-8 *E. amylovora* ve domates strainlerinin yarı katı besiyerinde inokule edildiği alanın çevresinde koloni geliştikleri gözlenmiş ve sonuç pozitif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.5).

4.7. Gram reaksiyon testi

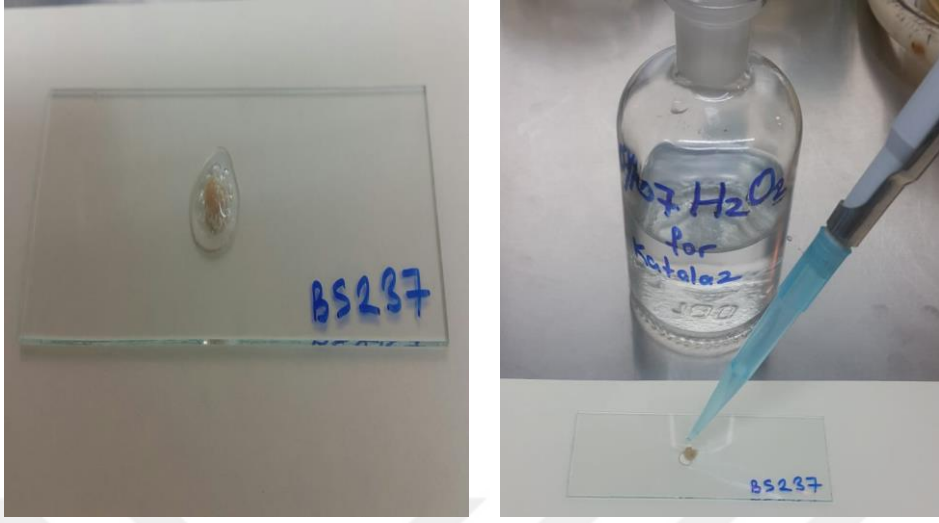
Gram reaksiyon testinde Referans kültür olarak kullanılan GG-25 *E. amylovora*'nın özeye yapışarak mukoid ipliksi bi yapı oluşturduğu (gram negatif), MFD-460 *Cff* 'in ise KOH çözeltisinde çözünmediği (gram pozitif) uzama göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.5). BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-178, BS-231, BS-232 ve BS-237 strainlerinin ise vizkoz bir uzama oluşturduğu, bu nedenle gram negatif özelliğe sahip oldukları tespit edilmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. BS-232 straininin gram reaksiyon testi sonucu (Gram negatif)

4.8. Katalaz testi

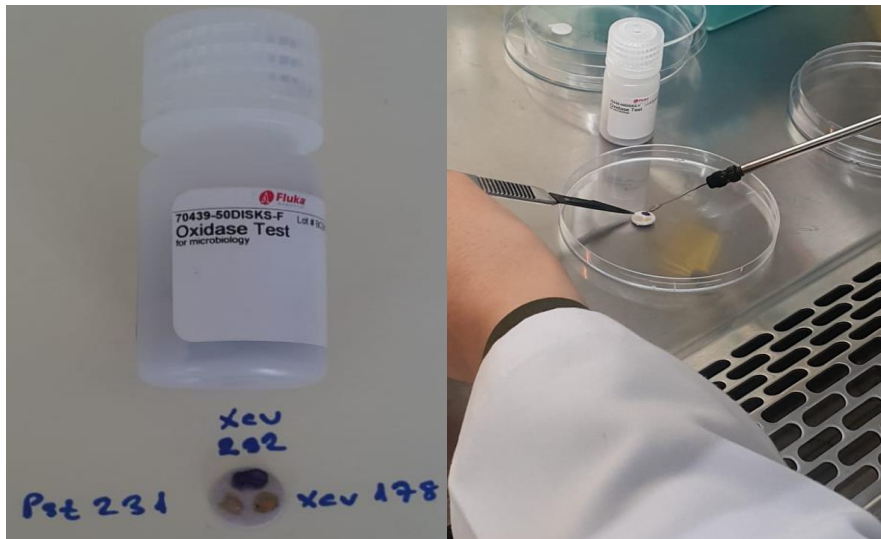
Katalaz enziminin varlığını belirlemek için yapılan test sonucunda BS-75, BS-231 ve BS-237 strainleri ve referans kültür MFD-119 *Xcp* kısa sürede kabarcık oluşturduğundan kuvvetli pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.15). BS-38, BS-120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-168, BS-178ve BS-232 strainlerinin ise pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).



Şekil 4.15. BS-237 straininin katalaz testi sonucunda oluşturduğu kabarcık görüntüsü (Katalaz pozitif)

4.9. Oksidaz testi

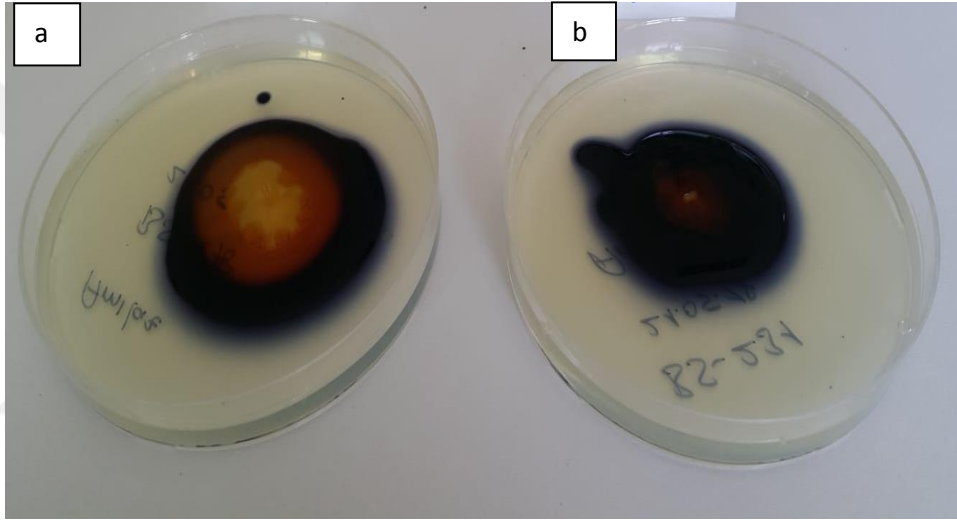
Sitokrom oksidaz enzimini üreten bakterileri ayırt etmek için yapılan bu testte BS-120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-178 ve BS-231 strainleri % 1 tetra methyl-p-phenyldiamine dihydrochloride kodlu diskte mor renk oluşturmamış ve sonuç negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.16). Diğer bakteriler ise pozitif kontrolde olduğu gibi diskte yaklaşık 1 dk içerisinde mor renk oluşturmuş ve sonuç oksidaz pozitif olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.5).



Şekil 4.16. BS-178, BS-231 ve BS-232 strainlerinin oksidaz test sonucu

4.10. Nişasta hidrolizi

Nutrient agar ve nişasta içeren besiyerinde geliştirilen bakterilere lügol solüsyonu ilave edilmiş BS-168, BS-231 ve BS-237 strainlerinin ve pozitif kontrol bakterisinin (MFD-227 *Psp*) ekim çizgileri etrafında açık renk hale oluşumu gözlenmemiş ve sonuç amilaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.17.b). BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232 strainleri ve referans kültür MFD-490 *Xcpf* ise ekim çizgilerinin etrafında oluşan açık renk hale ile amilaz pozitif olarak belirlenmiştir (Şekil 4.17.a) (Çizelge 4.5).



Şekil 4.17. (a) Amilaz testi pozitif (BS-38) ve (b) amilaz testi negatif (BS-168)

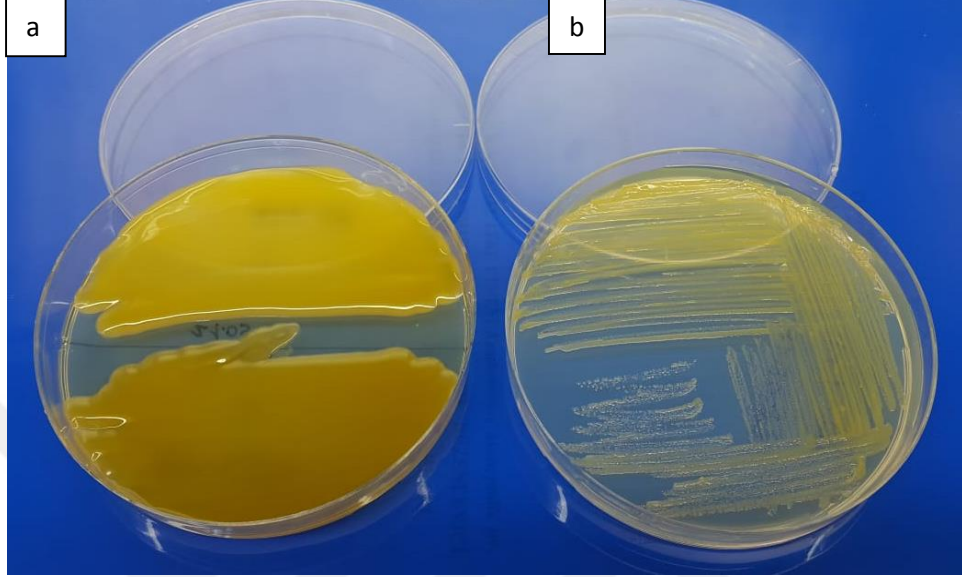
4.11. Arginine dihidrolaz testi

Bakterilerin arginine’i kullanması sonucu meydana gelen pembemsi kırmızı renk gösteren *Xanthomonas* izolatları (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178, BS-232) pozitif sonuç vermiştir. *Pseudomonas* izolatları ise (BS-168, BS-231, BS-237) açık pembe renk göstererek negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.5).

4.12. Levan (Fruktan) testi

Test edilen BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178, BS-231, BS-232 ve BS-237 strainlerinin NAS besiyerinde gelişimi pozitif olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.18.a). BS-168 strainin ise levan tipte koloni oluşturmadığı ve negatif sonuç verdiği belirlenmiştir. NAS besiyerinde referans kültürlerden GG -3 *E. amylovora*’nın konveks ve mukoid yapıda koloni oluşturarak levan pozitif özellik

gösterdiği, MFD-602 *C. m. subsp. insidiosum*' un ise levan tipte koloni oluşturmadığı, levan negatif özellikte olduğu görülmüştür (Çizelge 4.5).



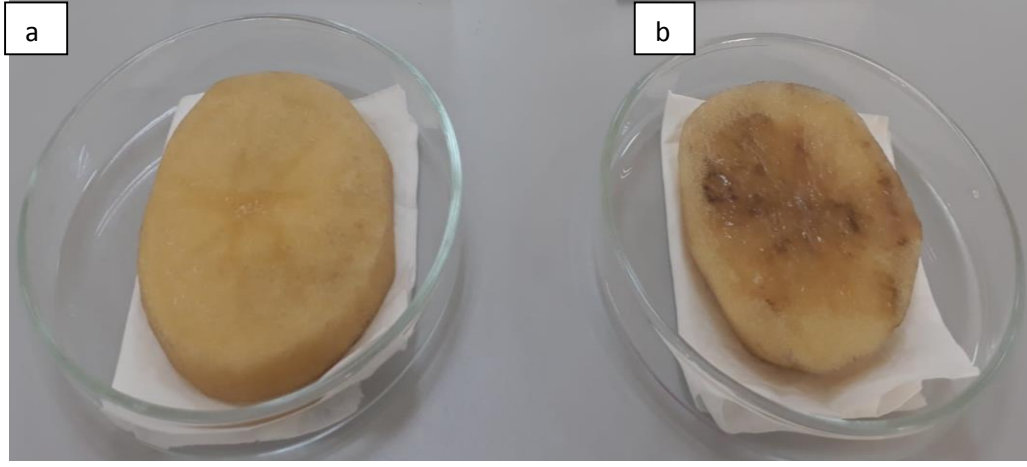
Şekil 4.18. BS-120' nin %5 SNA besiyerinde koloni gelişimi (a) levan pozitif sonuç ve (b) BS-120' nin NA besiyerinde koloni gelişimi

4.13. Fluorescent pigment üretim testi

KB besiyerinde geliştirilen bakteri strainleri UV ışık altında gözlenmiştir. BS-168, BS-231 ve BS-237 strainlerinin yeşil fluorescens pigment üreterek pozitif sonuç verdiği, BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232 strainlerinin ise fluorescens pigment üretmeyerek negatif özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

4.14. Pektinaz testi

Pektolitik aktive testi için patates dilimlerine inokule edilen BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232 strainleri (Şekil 4.19.b) patatesteki yumuşamaya neden olmamış ve sonuç negatif olarak değerlendirilmiştir. Referans kültür olarak kullanılan MFD-310 *E. caratovora* subsp. *caratovora* straini ise patates dilimlerinde yumuşamaya neden olmuş ve pis koku oluşturmuştur (Çizelge 4.5).



Şekil 4.19. Patateste pektinaz testi sonucunda meydana gelen çürüme (a) ve negatif sonuç (b)

Çizelge 4.5. Patojen bakteri strainlerinin morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları

MIS TANI SONUÇLARI	L	O	P	AR	T	KA	GR	F	A	KR	H
BS-38- <i>Xav</i>	+	Z ⁺	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-75- <i>Xav</i>	+	Z ⁺	-	+	+	K ⁺	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-120- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-156- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-160- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-168- <i>Pv</i>	-	-	+	-	+	+	-	+	-	Krem	Hareketli
BS-169- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-178- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-231- <i>Pst</i>	+	-	-	-	+	K ⁺	-	+	-	Krem	Hareketli
BS-232- <i>Xav</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-237- <i>Pv</i>	-	-	+	-	+	K ⁺	-	+	-	Krem	Hareketli

L: Levan testi, **O:** Oksidaz testi, **P:** Pektinaz testi, **Ar:** Arginine testi, **T:** Tütünde, HR testi **A:** Amilaz testi, **Ka:** Katalat testi, **GR:** Gram reaksiyon testi, **F:** Fluorescent Pigment üretim testi, **Kr:** Koloni rengi, +: Pozitif sonuç, -: Negatif sonuç, **K⁺:** kuvvetli pozitif, ***Xav:*** *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, ***Pv:*** *Pseudomonas viridiflava*, ***Pst:*** *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, **Z⁺:** Zayıf pozitif sonucu, **H:** Hareket özelliği

4.15. Bakteri strainlerinin Biolog Gen III sistemi ile tanınması

Patojen bakteri strainlerinin kullandıkları karbon kaynakları Biolog Gen III Mikroplate sisteminde değerlendirilmiş ve buna bağlı olarak metabolik enzim profilleri elde edilmiştir. Elde edilen profillere göre bakteri strainlerinin 8 tanesi *Xav*, 2 tanesi *P. viridiflava* ve 1 tanesi *Pst* olarak tanınmış ve strainlerinin kullandıkları karbon kaynakları ile benzerlik indeksleri Çizelge 4.7' te belirtilmiştir.

Xav strainlerine ait metabolik enzim profilleri incelendiğinde D-Maltose, D-Trloseeh, D-Cellobiose, Gentibiose, Sucrose, Mehyl Pyruvate, Citric Acid, Ph 6, Ph 5, D-Melibiose, N-Acetyl-D-Glucosamine, %1 Nacl, %4 Nacl, L-Glutamic Acid, A-D-Glukose, Niaproof 4, D-Mannose, D-Fruktose, D-Galaktose, A-Keto Glutaric Acid, Tween 40, L-Fucose, %1 Sodium Lactate, Dextrin, Glycerol, Lincomycin, Gelatin, Glycyl-L-Proline, L-Serine, Pectin, Bromosuccinic Acid, Tetrazolium Violet, Tetrazolium Blue, L-Alanine, Acetoacetic Acid, Aztreonam, Propionic Acid, Acetic Acid, A-Keto Butyric Acid, Rifamycin Sv, L-Malic Acid, Sodium Butyrate ve Formic Acid olmak üzere 43 karbon kaynağını kullandıkları tespit edilmiştir. Bazı karbon kaynaklarının kullanımı *Xav* strainlerinde değişkenlik göstermekle beraber geri kalan karbon kaynaklarını kullanmadıkları saptanmıştır.

Pseudomonas strainlerinin profilleri değerlendirildiğinde ise 46 karbon kaynağını (Ph 6, %1 Nacl, A-D-Glukose, D-Fruktose, D-Galaktose, Inosine, %1 Sodium Lactate, Fusidic Acid, D-Sorbital, D-Mannital, L-Arabitol, D-Mannose, Myo- İnositol, Glycerol, Rifamycin Sv, L-Glutamic Acid, L-Histidine, L-Pyroglutamic Acid, L-Serine, Formic Asit L-Arginine, Lincomycin, Niaproof 4, D-Gluconic Acid, D-Glucoronic Acid, D-Malic Acid Glucoron Amide, Mucid Acid, Quinic Acid, D-Saccharic Acid, Vancomycin, Tetrazolium Violet, Aztreonam, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, L-Malic Acid, Bromosuccinic Acid, Potassium Tellurite, Tween 40, 9-Amino-N-Butryc Acid, B-Hydroxy Butyric Acid, L-Aspartic Acid, A-Keto Butyric Acid, D-Mannose, Propionic Acid, D-Saccharic Acid, L-Alanine, Acetic Acid,) kullandıkları, geri kalan 39 karbon kaynağını ise (Rifamycin Sv, D-Melibiose, Tetrazolium Violet, D-Maltose, D-Cellobiose, Gentibiose, Sucrose, Ph 6, Ph 5, N-Acetyl-D-Glucosamine, %1 Nacl, A-D-Glukose, L-Glutamic Acid, %1 Sodium Lactate, D-Trloseeh, L-Fucose, Glycerol, Gelatin, Glycyl-L-Proline, Pectin, L-Serine, Dextrin, D-Fruktose Lincomycin, Niaproof 4, Mucid Acid, Tetrazolium Blue, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, D-Galaktose, Mehyl Pyruvate, A-Keto Butyric Acid, Bromosuccinic Acid, Tween 40, Propionic Acid, L-Malic Acid, Acetic Acid) kullanmadıkları tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. Patojen olan bakteri strainlerinin Biolog Gen III plate' inde yer alan karbon kaynakları kullanma özellikleri

KARBON KAYNAKLARI		<i>Xanthomonas</i> türleri							<i>Pseudomonas</i> türleri			
		BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-169	BS-178	BS-232	BS-231	BS-168	BS-237
A-1	Negatif Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A-2	Dextrin	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-
A-3	D-Maltose	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-
A-4	D-Trloseh	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-
A-5	D-Cellobiose	+	Z ⁺	+	+	-	+	-	+	+	-	-
A-6	Gentibiose	+	Z ⁺	-	+	Z ⁺	+	-	+	+	-	Z ⁺
A-7	Sucrose	+	+	+	+	-	+	Z ⁺	+	+	+	-
A-8	D-Turanose	-	-	Z ⁺	-	-	-	-	-	-	-	-
A-9	Stachyose	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
A-10	Pozitive Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A-11	Ph 6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A-12	Ph 5	+	Z ⁺	+	+	+	+	Z ⁺	+	+	-	+
B-1	D-Raffinose	-	-	Z ⁺	-	-	Z ⁺	-	-	-	-	-
B-2	A-D-Lactose	-	-	Z ⁺	-	-	-	-	-	-	Z ⁺	-
B-3	D-Melibiose	+	Z ⁺	+	+	-	+	-	+	+	-	-
B-4	3-Methyl-D Glucoside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-5	D-Salicin	-	-	-	-	-	Z ⁺	-	-	-	-	-

Çizelge 4.6. Devamı

KARBON KAYNAKLARI		<i>Xanthomonas</i> türleri							<i>Pseudomonas</i> türleri			
		BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-169	BS-178	BS-232	BS-231	BS-168	BS-237
B-6	N-Acetyl-D-Glucosamine	+	+	+	+	-	+	-	+	+	Z ⁺	-
B-7	N-Acetyl-D-Mannosamine	Z ⁺	-	+	-	-	Z ⁺	-	-	-	-	-
B-8	N-Acetyl-D-Galaktosamine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-9	N-Acetyl Neuraminic Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B-10	%1 Nacl	+	+	+	+	+	+	Z ⁺	+	+	+	+
B-11	%4 Nacl	Z ⁺	-	+	+	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	+	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺
B-12	%8 Nacl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Z ⁺	-
C-1	A-D-Glukose	+	Z ⁺	+	+	+	+	Z ⁺	+	+	+	+
C-2	D-Mannose	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
C-3	D-Fruktose	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
C-4	D-Galaktose	+	+	+	+	+	+	Z ⁺	+	+	+	+
C-5	3-Methyl Glucose	-	-	Z ⁺	-	-	-	-	-	-	-	-
C-6	D-Fukose	-	-	-	-	Z ⁺	-	-	Z ⁺	-	Z ⁺	Z ⁺
C-7	L-Fucose	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-
C-8	L-Rhamnose	-	-	Z ⁺	-	-	+	-	-	-	-	-
C-9	Inosine	-	-	Z ⁺	-	+	+	-	-	-	+	+
C-10	%1 Sodium Lactate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Çizelge 4.6. Devamı

KARBON KAYNAKLARI		<i>Xanthomonas</i> türleri						<i>Pseudomonas</i> türleri				
		BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-169	BS-178	BS-232	BS-231	BS-168	BS-237
C-11	Fusidic Acid	-	-	-	-	+	-	-	Z ⁺	-	+	+
C-12	D-Serine	-	-	-	-	-	-	Z ⁺	-	Z ⁺	-	-
D-1	D-Sorbital	-	-	-	-	+	-	Z ⁺	-	-	+	+
D-2	D-Mannital	-	-	Z ⁺	-	+	-	Z ⁺	-	-	+	+
D-3	L-Arabitol	-	-	Z ⁺	-	+	Z ⁺	Z ⁺	-	-	+	+
D-4	Myo- İnositol	Z ⁺	-	Z ⁺	-	+	Z ⁺	Z ⁺	-	-	+	+
D-5	Glycerol	+	-	+	+	+	+	Z ⁺	+	+	+	+
D-6	D-Glucose-6 Phosphate	-	-	-	-	-	Z ⁺	-	-	-	-	-
D-7	D-Fructose-6-Phosphate	Z ⁺	Z ⁺	-	Z ⁺	-	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	-	-
D-8	D-Aspartic Acid	-	-	-	-	Z ⁺	-	-	-	-	-	Z ⁺
D-9	D-Serine	Z ⁺	-	-	-	Z ⁺	-	+	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺
D-10	Troleandomycin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
D-11	Rifamycin Sv	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-12	Minocycline	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E-1	Gelatin	+	+	+	+	Z ⁺	+	-	+	+	-	Z ⁺
E-2	Glycyl-L-Proline	+	Z ⁺	+	+	Z ⁺	+	-	+	+	+	Z ⁺
E-3	L-Alanine	+	Z ⁺	+	Z ⁺	+	+	Z ⁺	+	Z ⁺	+	+

Çizelge 4.6. Devamı

KARBON KAYNAKLARI		<i>Xanthomonas</i> türleri							<i>Pseudomonas</i> türleri			
		BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-169	BS-178	BS-232	BS-231	BS-168	BS-237
E-4	L-Arginine	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
E-5	L-Aspartic Acid	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	+	Z ⁺	Z ⁺	-	-	+	+
E-6	L-Glutamic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-7	L-Histidine	-	-	+	-	Z ⁺	-	-	Z ⁺	-	+	Z ⁺
E-8	L-Pyroglutamic Acid	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
E-9	L-Serine	+	Z ⁺	+	+	+	+	Z ⁺	+	+	+	+
E-10	Lincomycin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-11	Guanidine Hcl	Z ⁺	-	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	-	Z ⁺	Z ⁺	-	Z ⁺	Z ⁺
E-12	Niaproof 4	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	+	Z ⁺	-	Z ⁺	Z ⁺	+	+	Z ⁺
F-1	Pectin	+	+	+	+	Z ⁺	+	Z ⁺	+	+	Z ⁺	Z ⁺
F-2	D-Galactronic Acid	-	-	Z ⁺	-	-	-	-	-	-	+	-
F-3	L-Galactonic Acid Lactone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F-4	D-Gluconic Acid	+	-	-	-	+	Z ⁺	+	-	-	+	+
F-5	D-Glucoronic Acid	-	-	Z ⁺	-	+	-	-	-	-	+	+
F-6	Glucoron Amide	-	-	Z ⁺	-	Z ⁺	-	Z ⁺	Z ⁺	-	+	Z ⁺
F-7	Mucid Acid	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
F-8	Quinic Acid	-	-	-	-	+	-	Z ⁺	-	-	+	+

Çizelge 4.6. Devamı

KARBON KAYNAKLARI		<i>Xanthomonas</i> türleri							<i>Pseudomonas</i> türleri			
		BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-169	BS-178	BS-232	BS-231	BS-168	BS-237
F-9	D-Saccharic Acid	-	-	Z ⁺	+	+	-	Z ⁺	+	+	+	+
F-10	Vancomycin	-	-	-	-	+	-	+	Z ⁺	Z ⁺	+	+
F-11	Tetrazolium Violet	+	+	+	+	+	Z ⁺	+	+	+	+	+
F-12	Tetrazolium Blue	+	+	+	Z ⁺	+	-	+	+	+	-	+
G-1	4-Hydroxy Phenylacetic Acid	-	-	-	-	-	Z ⁺	-	-	-	-	-
G-2	Mehyl Pyruvate	+	Z ⁺	+	+	Z ⁺	-	Z ⁺	+	+	-	Z ⁺
G-3	D-Lactic Acid Methyl Ester	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G-4	L-Lactic Acid	Z ⁺	-	Z ⁺	-	+	Z ⁺	-	Z ⁺	Z ⁺	-	+
G-5	Citric Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z ⁺	+
G-6	A-Keto Glutaric Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G-7	D-Malic Acid	Z ⁺	-	-	Z ⁺	+	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	+	+
G-8	L-Malic Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G-9	Bromosuccinic Acid	+	+	+	+	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	+	Z ⁺	Z ⁺
G-10	Nalidixic Acid	-	-	-	-	-	-	Z ⁺	+	-	+	-
G-11	Lithium Chloride	-	-	Z ⁺	-	Z ⁺	Z ⁺	-	-	-	Z ⁺	Z ⁺
G-12	Potassium Tellurite	-	-	Z ⁺	-	+	-	+	+	-	+	+
H-1	Tween 40	+	Z ⁺	+	+	Z ⁺	+	Z ⁺	+	+	Z ⁺	Z ⁺

Çizelge 4.6. Devamı

KARBON KAYNAKLARI		<i>Xanthomonas</i> türleri						<i>Pseudomonas</i> türleri				
		BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-169	BS-178	BS-232	BS-231	BS-168	BS-237
H-2	9-Amino-N-Butryc Acid	-	-	-	-	+	-	Z ⁺	-	-	+	+
H-3	A-Hydroxybutyric Acid	-	-	Z ⁺	-	-	Z ⁺	-	Z ⁺	-	-	-
H-4	B-Hydroxy Butyric Acid	-	-	Z ⁺	-	Z ⁺	-	-	-	-	+	Z ⁺
H-5	A-Keto Butyric Acid	Z ⁺	Z ⁺	+	Z ⁺	Z ⁺	+	-	+	+	+	Z ⁺
H-6	Acetoacetic Acid	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	+	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	-	Z ⁺
H-7	Propionic Acid	+	Z ⁺	+	+	+	+	-	+	+	+	+
H-8	Acetic Acid	+	+	+	+	+	+	Z ⁺	+	+	+	+
H-9	Formic Acid	Z ⁺	-	Z ⁺	-	+	Z ⁺	Z ⁺	-	-	Z ⁺	+
H-10	Aztreonam	+	+	-	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺
H-11	Sodium Butyrate	+	-	Z ⁺	+	Z ⁺	+	-	+	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺
H-12	Sodium Bromate	Z ⁺	-	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	-	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺	Z ⁺

4.16. Tartışma

Iğdır ili Aralık, Tuzluca, Karakoyunlu ilçelerinden ve merkeze bağlı Kasımcan, Oba ve Melekli köylerinden alınan hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyon sonucunda 98 bakteri straini elde edilmiştir. Bu strainler içerisinde 11 tanesinin domates bitkisinde patojen oldukları belirlenmiştir. Birçok ülkede ve Türkiye' nin farklı bölgelerinde domates hastalıklarını belirlemek için çeşitli araştırmalar yürütülmüş, *Xav*, *Pst* ve *P. viridiflava* türlerine ait strainlerin domates bitkisinde ekonomik kayıplara neden olan önemli patojenler oldukları rapor edilmiştir (Sijam *et al.*, 1992; Bouzar *et al.*, 1994; Şahin ve Kotan, 1999; Black *et al.*, 2001; Şahin 2001; Üstün ve Saygılı, 2001; Şahin ve ark., 2003; Basım, 2004; Aysan ve ark., 2005; Shenge and Mabagala, 2007; Cruz *et al.*, 2010; Lamichhane *et al.*, 2010; Popović and Ivanović, 2015; Mensi *et al.*, 2018). Dadaşoğlu (2013), tarafından yapılan bir çalışmada *P. viridiflava*'nın varlığı Iğdır iline ait tek bir strain ile biber bitkisinde tespit edilmiştir. Ancak bu üç patojenin de Iğdır ilinde domates bitkisinde hastalık oluşturduğu ilk defa bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Saf olarak elde edilen strainlerin patojeniteleri, domates (Süper 5656) fideleri üzerinde tamamlanan Koch Postülatları ve tütün üzerinde yapılan HR testleri ile belirlenmiştir. MIS tanı sonucunda *Xav*, *Pst* ve *P. viridiflava* olduğu belirlenen bütün strainlerin hem tütün bitkisindeki HR testi hem de domates fidelerindeki patojenite testi pozitif bulunmuştur. Bultreys and Kaluzna (2010) ve Al-Karablieh *et al.* (2017), tarafından HR testinin saprofitik mikroorganizmaların elenmesinde ve patojenisite testlerinin patojenin virülenslik kabiliyetinin ortaya konulmasında önem taşıdığı bildirilmektedir.

Son yıllarda patojenlerin tanısında moleküler yöntemlerin kullanılması hızlı bir şekilde yaygınlaşsa da klasik tanı yöntemlerinin uygulanması patojen gruplarının belirlenmesi ve daha sonra yapılacak moleküler çalışmalara ön tanı şeklinde kolaylık sağlaması ile birçok araştırmacı için önemini korumaktadır. Bu nedenle bu çalışmada izole edilen bakteri strainlerin morfolojik ve biyokimyasal karakterleri belirlenmiştir. *Xav* strainlerinin YDC besiyerinde sarı mukoid, *Pst* ve *P. viridiflava* strainlerinin krem renkte koloni oluşturdukları gözlenmiştir. Elde edilen bakteri strainlerin tamamının hareketli

olduğu tespit edilmiştir. Mikroorganizmalara ait biyokimyasal karakterlerden gram reaksiyon, amilaz, katalaz, oksidaz, pektinaz, levan üretimi, floresant pigment üretimi ve arginin üretimi değerlendirilmiştir. Gram reaksiyon testi sonucunda bakteri strainlerinin hepsinin gram negatif özellikte olduğu belirlenmiştir. Patojen strainlerden sadece *P. viridiflava* türlerinin pektinaz aktivitesi pozitif bulunmuştur. *Pseudomonas* strainlerinin oksidaz, amilaz ve arginin üretim testleri negatif, katalaz ve floresant pigment üretim testleri pozitif olarak tespit edilmiştir. Levan koloni oluşumu testi *Pst*'nin pozitif, *P. viridiflava* strainlerinin ise negatif bulunmuştur. *Xanthomonas* strainlerinin floresant pigment üretimi ve oksidaz testi negatif, diğer biyokimyasal test sonuçları ise pozitif olarak saptanmıştır. Amilaz testinin *Xanthomonas* ve *P. syringae* patovaryalarının ayırımında, arginin üretiminin *P. syringae* patovaryaları ile *P. fluorescens*'in ayırımında, floresant pigment üretiminin ise *Pseudomonas* ve *Xanthomonas* cinslerinin ayırımında önemli olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (Narayanasamy, 1997; Gonzales *et al.*, 2003; Gasic *et al.*, 2012). Bu çalışmada elde edilen morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları daha önce saptanan bulguları destekler bulunmuştur (Goumans and Chatzaki, 1998; Aysan ve ark., 2004; Wreikat *et al.*, 2006; Miličević *et al.*, 2009; Ibrahim and Al-Saleh, 2012; Sarris *et al.*, 2012; Al Karablieh *et al.*, 2017).

Günümüzde yağ asit metil ester analizi (FAME) ve metabolik enzim profili eldesi (Biolog Microplate Assay) bakteriyel mikroorganizmaların hem moleküler tanısında hemde karakterizasyonunda en fazla tercih edilen yöntemler arasında yer almaktadır (Walcott *et al.*, 2000; Dönmez, 2004; Bathily *et al.*, 2010; Tripathi *et al.*, 2011; Gök, 2016). Bu çalışmada da hastalıklı domates bitkilerinden izole edilen bakteri strainlerin tamamı MIS ile yağ asit analizlerine göre tanılanmış ve fenotipik farklılıkları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar MIS kullanımı ile bakteri strainlerinin tür altı kategorilerinin belirlenebileceğini göstermiştir. Doymuş, doymamış, hidroksi, cyclopropane, iso ve ante-iso yağ asitlerini içeren 200 den fazla yağ asiti çeşitinin bakteriyel strainlerin tanısında ayırt edici özellik olduğu belirlenmiştir (Roy, 1988). MIS sonuçlarına göre *Xav* strainlerinin hepsinin hücre duvarında 17:0 iso 3OH, 11:0 3OH, 11:0 iso, 11:0 anteiso, 13:0 iso, 10:0 3OH, 13:0 iso 3OH, 16:0 iso, 13:0 iso 2OH, 14:0, 14:0 iso, 15:1 iso F, 17:0 anteiso, 15:1 w6c, 17:0, 10:0, 17:0 iso, 16:0, 17:1 w6c, 17:1 w8c, *Pseudomonas* strainlerinin hepsinde 17:1 w8c, 10:0, 14:0, 10:0 3OH, 12:0 2OH,

18:0, 12:0 3OH, 13:0, 16:0, 17:0, 12:0, 17:0 iso, 18:1 w7c 11 mrthyl yağ asitleri tespit edilmiştir. 10:0, 10:0 3OH, 14:0, 16:0, 17:0, 17:0 iso ve 17:1 w8c yağ asitlerinin ise hem *Xanthomonas* hem de *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerde ortak olduğu belirlenmiştir. Ancak bu yağ asitleri içerisinde 10:0 3OH ve 16:0'ın *Pseudomonas* cinsi bakterilerde daha yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar gerek içerdikleri yağ asiti çeşitleri gerekse yüzde olarak oranları bakımından *Xanthomonas*, *Pseudomonas* pathovarlarının ayırt edilebileceğini göstermektedir.

MIS ile *X. campestris* ve *P. syringae* pathovarlarının hücresel yağ asit kompozisyonlarının belirlenmesi ve bu özelliğin tanı ve sınıflandırılmalarında kullanılabileceğine dair çok sayıda çalışma mevcuttur. Chase *et al.* (1992), süs bitkilerinden izole ettikleri 149 *X. c. pv. syngonii* ve *X. c. pv. dieffenbachiae* strainlerinde 15:0 ISO, 15:0 ANTE-ISO yağ asitlerinin dominant olarak bulunduğunu ve doymamış ve hydroxy asitler arasındaki nicel farklılıkların alt grupların oluşumunda etkili olduğunu görmüşlerdir. Young *et al.* (1993), tarafından yapılan bir çalışmada 134 pathovarı içeren *Xanthomonas* cinsine ait 975 strainin hücresel yağ asit kompozisyonu araştırılmıştır. Strainlerin %99'unda 9 yağ asiti (11:0 ISO, 12:0 3OH, 13:0 ISO 3OH, 16:1 cis 9, 11:0 ISO 3OH, 15:0 ISO, 16:0, 17:1 ISO F ve 17:0) tespit edilmiştir. *Xanthomonas* cinsine ait strainlerin karakteristik yağ asitlerinin dallanmış zincirli ve hidroksi yağ asitleri olduğu saptanmış, strainlerin hücre duvarında 80 dallanmış zincirli yağ asitinin varlığı belirlenmiştir. Hemen hemen bütün *Xanthomonas* strainlerinde metil bağlı yağ asiti 11:0 ISO ve hidroksi bağlı iki yağ asiti 11:0 ISO 3OH ve 13:0 ISO 3OH saptanmıştır. Test edilen her bir strainde en fazla 15:0 ISO yağ asiti bulunmuş, ikinci dominant yağ asiti olarak ise 16:1 cis 9 tespit edilmiştir. Molinaro *et al.* (1999), tarafından marulda bakteriyel yaprak lekesine neden *X. hortorum* pv. *vitians*' in 8:0, 10:0, 10:0 3OH, 11:0, 12:0 3OH yağ asitlerini içerdiği tespit edilmiştir. Dönmez (2004), tarafından yapılan çalışmada fasulyede patojen olan *Xcp* strainlerinde 11:0 ISO, 13:0 ISO 3OH, 15:0, 15:0 ANTEISO, 11:0 ISO 3OH, 15:0 ISO, 16:0 ve *Xcpf* strainlerinde 10:0, 16:0 ISO, ve 16:1 w9c yağ asitlerinin varlığı tespit edilmiştir. *Xcp* ve *Xcpf* strainleri aynı türe ait bakteriler olmasına rağmen hücre duvarlarındaki yağ asitlerinin farklılığı dikkat çekmektedir. Sonuçlar *Xanthomonas* ve *Pseudomonas* pathovarlarının yağ asiti profillerindeki farklılıklara göre tanısının yapılabileceğini göstermektedir. Obradovic *et al.* (2004), tarafından yapılan bir

başka çalışmada ise 28 biber ve 6 domates *X. a. pv. vesicatoria* straini MIS ile karakterize edilmiştir. Biber patojenlerinin domateste patojen olan strainlere oranla daha düşük miktarda 15:0 ANTEISO yağ asiti içerdikleri ve 15:0 ANTEISO yağ asiti miktarının farklı pathovarların ayırımında önem taşıdığı saptanmıştır. Örnek (2006), tarafından *X. axonopodis* pv. *begoniae* strainlerinin hepsinde 11:0 ISO, 13:0 ISO 3OH, 12:0 3OH, 15:0 ISO, 16:0, ISO17:1 w9c, 15:0 ANTEISO ve 17:0 ISO yağ asitlerinin ortak olduğu, belirlenen diğer yağ asitlerinin yüzde miktarlarının ise değişkenlik gösterdiği bulunmuştur. Ünlü (2007) tarafın yapılan araştırmada *X. axonopodis* pv. *pelargonii* strainlerinin hepsinde 15:0 ISO, 11:0 ISO, ISO 17:1 w9c, 11:0 ISO 3OH, 15:0 ANTEISO, 12:0 3OH, 14:00, 13:0 ISO 3OH, 16:00 ve 17:0 ISO'nun yağ asitlerinin varlığı saptanmıştır. Roy (1988), tarafından yapılan bir çalışmada *Pseudomonas* türlerinin ayırımında dallanmış ya da düz zincir asitlerinin varlığının ve miktarlarının ayırt edici özellik olduğu rapor edilmiştir. 17:0 cyclopropane' in *P. s. pv. tomato* ve *P. s. pv. populans*'da bulunmadığı, diğer pathovarlarda ise var olduğu tespit edilmiştir. Denny (1988), tarafından 12:0, 14:0, 12:0 3OH, 16:0, 12:0 2OH, 16:1 ve 18:1 yağ asitlerinin *Pst* strainlerinde primer yağ asitler olarak yer aldığı bulunmuştur. Vancanneyt *et al.* (1996), tarafından *Pseudomonas* cinsine ait strainlerin yağ asit profillerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada; 16:0, 16:1 ve 18:1 yağ asitlerinin cinse ait bütün taksonomik grupların sahip olduğu temel yağ asitleri olarak ifade edilmiştir. Dönmez (2004), tarafından *Pseudomonas* cinsine ait strainlerin hücre duvarlarında 22 farklı yağ asiti (10:0, 19:0 10 METHYL, 10:0 3OH, 12:0, 12:0 2OH, 17:0 ISO, 12:0 3OH, 12:1 3OH, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 17:0 CYCLO, 18:1 w5c, 8:0 3OH, 16:0 3OH, 11 METHYL 18:1 w9c, 18:0, 18:1 w7c, 18:1 w9c, 11:0 ISO 3OH, 19:0 CYCLO w8c) tanımlanmıştır. Bu yağ asitlerinden 10:0 3OH, 12:0, 12:0 2OH, 12:0 3OH, 16:0 ve 18:1 w7c'nin *Pseudomonas* cinsine ait bütün strainlerde bulunduğu tespit edilmiştir. Mirik *et al.* (2011), tarafından *P. cichorii* türüne ait strainlerin 16:0 yağ asitini % 24-26 arasında, 18:1 w7c yağ asitini % 18-23, 12:0 yağ asitini ise % 4-6 arasında hücrelerinde bulundurduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada da Çizelde 4.4' te belirtildiği gibi *Xanthomonas* ve *Pseudomonas* cinsine ait strainlerin hücre duvarlarında benzer yağ asitleri tespit edilmiştir. Ancak bazı yağ asitlerinde farklılıklarda belirlenmiştir. Örneğin, fasulye patojeni *Xanthomonas* strainlerinde 17 karbonlu yağ asitlerine (17:1 ISO F ve 17:0) rastlanılmamıştır. Marulda hastalık oluşturan *Xanthomonas* türünde tespit edilen 8

karbonlu yağ asit bu çalışmada yer alan *Xanthomonas* strainlerinde saptanmamıştır. Bu farklılık konukçu bitki veya patosistem değişikliği ile açıklanabilir ve yağ asit profillerinin farklı konukçudan izole edilen strainlerin kolaylıkla ayrılabilceğini göstergesi olarak kabul edilebilir.

Farklı kaynaklardan izole edilen bakteri strainlerinin tanısında en önemli kriterlerden birisi de strainlerin kullandıkları karbon kaynaklarının tespiti ve bu özellikleri bağlı olarak metabolik enzim profillerinin elde edilmesidir. Bu araştırmada domates patojeni olan bakterilerin metabolik profillerinin belirlenmesinde Biolog Gen III MicroPlate kullanılmıştır. D-Maltose, D-Trloseeh, D-Cellobiose, Gentibiose, Sucrose, Ph 6, Ph 5, D-Melibiose, N-Acetyl-D-Glucosamine, %1 Nacl, %4 Nacl, L-Alanine, A-D-Glukose, D-Mannose, D-Galaktose, L-Fucose, Dextrin, %1 Sodium Lactate, Glycerol, Tetrazolium Blue, Rifamycin Sv, Gelatin, D-Fruktose, Glycyl-L-Proline, Aztreonam, L-Serine, Tween 40, Lincomycin, Niaproof 4, Pectin, Tetrazolium Violet, L-Glutamic Acid, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, Bromosuccinic Acid, A-Keto Butyric Acid, Mehyl Pyruvate, L-Malic Acid, Acetoacetic Acid, Propionic Acid, Sodium Butyrate, Acetic Acid, Formic Acid olmak üzere 43 karbon kaynağını *Xav* strainlerinin hepsinin kullandığı tespit edilmiştir. *Pseudomonas* strainlerinin ise 46 karbon kaynağını (A-D-Glukose, Glycerol, D-Mannose, D-Fruktose, D-Galaktose, Fusidic Acid, D-Sorbital, Ph 6, %1 Nacl, L-Histidine, D-Mannital, Inosine, %1 Sodium Lactate, L-Arabitol, Rifamycin Sv, L-Alanine, Myo- İnositol, L-Pyroglutamic Acid, L-Arginine, L-Aspartic Acid, L-Glutamic Acid, L-Serine, Lincomycin, Niaproof 4, D-Gluconic Acid, D-Glucoronic Acid, Mucid Acid, Quinic Acid, D-Saccharic Acid, Vancomycin, Tetrazolium Violet, Glucoron Amide, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, D-Malic Acid, L-Malic Acid, Potassium Tellurite, Tween 40, 9-Amino-N-Butryc Acid, B-Hydroxy Butyric Acid, Bromosuccinic Acid, A-Keto Butyric Acid, Acetic Acid, , Aztreonam, Propionic Acid, Formic Asit) kullandığı belirlenmiştir. Biolog sistemin bakteriyel organizmaların tanı ve karakterizasyonunda başarıyla kullanılabilceğine dair çeşitli çalışmalar mevcuttur (Godfrey and Marshall, 2002; Martin and Horlock, 2002; Krejzar *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 2010; Tripathi *et al.*, 2011; Karagöz, 2013). Verniere *et al.* (1993), turunçgillerde patojen olan 148 *X. c. pv. citri* strainlerinin metabolik enzim profillerini biolog sistem kullanarak analiz etmişlerdir. *X. c. pv. citri* strainlerinin hepsinin cellobiose,

fructose, α -D-glucose, maltose, D-mannose, sucrose, monomethylsuccinate, α -ketoglutaric asiti succinic acid, bromosuccinic asit ve glycyL-L-glutamic asiti karbon kaynağı olarak kullandığını tespit etmişlerdir. α -cyclodextrin, tween 40, tween 80, N-acetyl-D-galactosamine, adonitol, L-arabinose, i-erythritol, m-inositol, β -methylglucoside, L-rhamnose, D-sorbitol, xylitol, formic asit, D-galactonic asit lactone, D-arabitol, D-glucosaminic asit, D-galacturonic asit, D-gluconic asit, D-glucuronic asit, p-hydroxyphenylacetic asit, thymidine, itaconic asit, α -ketovaleric asit, quinic asit, sebacic asit, glucuronamide asit, L-histidine, L-ornithine, L-phenylalanine, L-proglutamic asit, D-serine, γ -hydroxybutyric asit, D L-carnitine, γ -aminobutyric asit, urocanic asit, phenylethylamina, putrescine ve 2-aminoethanol'ü ise hiçbir *X. c. pv. citri* straininin kullanmadığını belirlemişlerdir. Yapılan bir başka araştırmada Biolog GN mikroplate sistem ile 39 *X. c. pv. vitians* straininin karbon kaynaklarını kullanımı test edilmiş, strainlerin hepsi *X. campestris* seviyesinde, % 41'i ise pathovar seviyesinde tanılanmıştır. Strainlerin hiçbirinin karbon kaynağı olarak cyclodextrin, i-Erythritol, N- adonitol, m-İnositol, L-Rhannose, D-Sorbitol, L-Ornithine, Xylitol, D-Galactonic Acid, Lactone, D-Galacturonic Acid, D-Glucosaminic Acid, İtaconic Acid, Acetyl-D-Galactosamine, D-Arabitol, D-Gluconic Acid, β -Hydroxy-Butyric Acid, γ - Hydroxy-Butyric Acid, p-Hydroxyphenylacetic Acid, D ve L-Lactic Acid, Gulucuronamide, Thymidine, Phenylethylamine ve 2,3-Butanediol'ü kullanmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte bütün strainlerin Glycogen, N-Acetyl-D-Glucosamine, Gentiobiose, Tween 80, Cellobiose, D-Fructose, D-Mannose, L-Fucose, D-Galactose, α -D-Glucose, Lactulose, Maltose, D-Psicose, Sucrose, D-Trehalose, Glucose-1-Phosphate Turanose, Methylpyruvate, mono-Methylsuccinate, Acetic Acid, cis-Aconitic Acid, Tween 40, α -Ketovaleric Acid, Dextrin, D-Saccharic Acid, Succinic Acid, Alaniamide, L-Alanine, L-Alanylglycine, L-Aspartic Acid, D-Alanine, L-Glutamic Acid, α -Ketoglutaric Acid Glycyl-L-Glutamic Acid ve Glucose-6-Phosphate'ı karbon kaynağı olarak kullandığı belirlenmiştir (Şahin *et al.*, 2003). Dönmez (2004), tarafından yapılan çalışmada Biolog sonuçlarına göre *Pseudomonas* cinsi strainlerin hepsinin Glycogen, L-Arabinose, D-Fructose, α -D-Glucose, D-Mannose, D-Psicose, Sucrose, Methyl Pyruvate, Mono-Methyl-Succinate, Acetic Acid, cis-Aconitic Acid, L-Proline, Citric Acid, Formic Acid, D-Galactonic Acid Lactone, L-Asparagine, D-Gluconic Acid, Malonic Acid, Propionic Acid, Quinic Acid, D-Saccharic Acid, Succinic Acid, L-Serine, Bromo Succinic Acid, Tween 40,

Succinamic Acid, L-Alaninamide, D-Alanine, L-Alanyl-Glycine, L-Alanine, Glycyl-L-Glutamic Acid, L-Aspartic Acid, L-Glutamic Acid, γ -Amino Butyric Acid, Uridine ve Glycerol'den oluşan 36 karbon kaynağını kullandığı tespit edilmiştir. *Xanthomonas* cinsine ait bakterilerin kullandığı karbon kaynakları ise; Dextrin, Glycogen, Tween 40, D-Cellobiose, D-Fructose, L-Fucose, D-Galactose, Succinamic Acid, cis-Aconitic Acid, α -D-Glucose, D-Mannose, D-Melibiose, D-Psicose, Gentibiose, Sucrose, Turanose, Methyl Pyruvate, Mono-Methyl-Succinate, D-Trehalose, Formic Acid, L-Alanyl-Glycine, Glycyl-L-Glutamic Acid, Succinic Acid, Itaconic Acid, α -Keto Glutaric Acid, Bromo Succinic Acid, L-Alaninamide, D-Alanine, L-Alanine, L-Aspartic Acid, L-Serine ve D,L- α -Glycerol Phosphate olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada da Çizelde 4.7 'de belirtildiği gibi aynı cins içerisinde yer alan bakteri strainlerinin kullandıkları karbon kaynaklarının benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak tespit edilen metabolik enzim profillerinin pathovar seviyesinde farklılıklar taşıdığı da görülmüştür.

MIS ve BIOLOG sistemle elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde fenotipik farklılıkların göstergesi olan metabolik enzim profillerinin ve yağ asit kompozisyonuna ve miktarına bağlı olarak elde edilen yağ asit profillerinin tanı sonuçlarının benzer olduğu görülmüştür. Her iki sistemin de bakteri strainlerinin tanısında alt tür seviyesinde başarı ile kullanılabileceği saptanmıştır. Birden fazla yöntemin bir arada kullanılmasının sonuçların güvenilirliğini arttırdığı açıktır. Ayrıca kullanılan her bir yöntem mikroorganizmalara ait farklı özelliklerin ortaya konulmasını sağlayacaktır. Bununla birlikte sonuçlar her iki sisteminde tek başına *Xav*, *Pst* ve *P. viridiflava* türlerinin tanısında yeterli olduğunu göstermektedir.

Domateste patojen olan bakterilerin tanılanması, epidemilerin kısa sürede saptanması yanında patojenin kontrolünde entegre mücadele olanaklarının geliştirilmesinde önem taşımaktadır. Iğdır ilinde domateste hastalığa neden olan patojenler ilk kez bu çalışma ile tespit edilmekle birlikte *Pst* ve *P. viridiflava* strainlerinin az sayıda olması ayrıntılı bir şekilde sürvey çalışmalarının yapılmasının gerekli olduğunu göstermektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Iğdır ilinde domates yetiştiriciliği yapılan alanlar bakteriyel hastalıklar açısından incelenmiş, Aralık, Tuzluca, Karakoyunlu ilçelerinden ve Iğdır merkeze bağlı Kasımcan, Oba, Melekli köylerinden hastalıklı örnekler alınmıştır. Yapılan izolasyonlar sonrasında yağ asit metil ester analiz sonuçlarına göre 36 farklı türe ait toplam 98 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlere ait yağ asit profilleri incelendiğinde 98 strain içerisinde 11 tanesinin patojen türler (8 tanesi *Xav*, 2 tanesi *P. viridiflava* ve 1 tanesi *Pst*) olduğu görülmüştür. Bu türlerle domates fidelerinde yapılan patojenite testi ve tütünde yapılan HR testi sonucu da strainlerin patojenik karakterde olduğunu göstermiştir. Strainlerin morfolojik ve biyokimyasal test sonuçlarının patojenite testi sonuçları ile uyum içinde olduğu belirlenmiştir. Patojen bakteri strainlerinin kullandıkları karbon kaynakları Biolog Gen III Mikroplate sisteminde değerlendirilmiştir. Elde edilen metabolik enzim profillerine bağlı olarak strainlerin 8 tanesi *Xav*, 2 tanesi *P. viridiflava* ve 1 tanesi *Pst* olarak tanılanmış ve *Xav* strainlerinin 43, *Pseudomonas* strainlerinin 46 farklı karbon kaynaklarını kullandıkları tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışma ile Iğdır ilinde *Xav* ve *Pst* patojenlerinin domateste hastalığa neden olduğu ilk kez ortaya konulmuştur. Bu çalışmanın devamında;

- Nükleik asit temelli tekniklerle patojenlerin genotipik profillerinin belirlenerek tanı ve karakterizasyonlarının tespiti,
- PCR'a dayanan metotlarla strainlerin özel bölgelerinde yer alan ve patojeniteden sorumlu olan genlerin analizi,
- Patojenlerin neden olduğu hastalıkların şiddetine farklı gübre ve dozlarının etkisinin belirlenmesi,
- Tespit edilen tohum kaynaklı patojenlerin üretim materyalinde varlıklarının saptanması, farklı fiziksel ve kimyasal tohum uygulamalarının etkisinin değerlendirilmesi,
- Domates çeşitlerinin hastalıklara karşı reaksiyonlarının belirlenmesi,
- Hastalık kontrolünde hem antagonist hem de bitki gelişmesini arttıran mikroorganizmaların biyolojik kontrol etkinliğinin ortaya konulması gibi konular araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- Al-Karablieh, N., Muylak I. Al-Dokh A., 2017. Isolation and Identification of *Pseudomonas viridiflava*, the Causal Agent of Fruit Rotting of *Cucumis sativus*. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 13 (1), 79-91.
- Almeida, I.M.G., Maciel, K.W., Neto, J.R. Beriam, L.O.S., 2012. *Pseudomonas viridiflava* in Imported Carrot Seeds. *Australasian Plant Disease*. Notes.
- Angeles-Ramos, R., Vidaver, A.K., Flynn, P., 1991. Characterization of Epiphytic *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and Pectolytic *Xanthomonads* recovered from Symptomless Weeds in the Dominican Republic, *Phytopathology*, 81(6), 677-681.
- Anonymous, 2008. BIOLOG Gen III Microplate Instruction For Use. 8s
- Assouline, I., Milshtein, H., Mızrahi, M., Levy, E. Benzeev, I.S., 1997. *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* Transmitted by Solanaceous Seeds. *Phytoparasitica*, 25, 117-118.
- Aysan. Y., 1999. *Domates Bakteriyel Kara Leke Hastalığının (Pseudomonas syringae pv. tomato) Tanımlanması. Irklarının Belirlenmesi ve Kimyasal Savaşma Alternatif Yöntemlerin Saptanması Üzerinde Araştırmalar*. Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Bitki Koruma Anabilim Dalı Doktora Tezi. 105 Sayfa.
- Aysan, Y., Yıldız, N., Yucel, F., 2004. Identification of *Pseudomonas viridiflava* on Tomato by Traditional Methods and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Phytopathology/Mycology*, 32 (2), 146-153.
- Aysan, Y., Mırık. M., Çetinkaya, Yıldız, R., Küsek, M., 2005. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun Yayılmasında Tohum Kökenli İnokulumun Rolü. *Türkiye II. Tohumculuk Kongresi*. 353 (9-11) ,Adana.
- Aysan, Y., Saygılı. H., 2008. *Domates Bakteriyel Kara Leke Hastalığı. Domates bakteriyel benek hastalığı*. Bitki bakteri hastalıkları (Editörler: Hikmet Saygılı. Fikrettin Şahin. Yeşim Aysan) İzmir. 123-126.

- Bashan, Y., Okan, Y., 1986. Internal and External Infections of Fruits and Seeds of Peppers by *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*. *Canadian Journal of Botany*, 64, 2865-2871.
- Bashan, Y., Azaizch, M., Diab, S., Yunis, H., Okan, Y., 1990. Crop loss of pepper plants artificially infected with *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in relation to symptom expression. *Crop Protection*, 4(1), 77-84.
- Basim, H., 2004. Bacterial Spot of Tomato and Pepper Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* in the Western Mediterranean Region of Turkey. *Plant Disease*, (1), 85.
- Bathily, H., Babana, A.H., Samake, F., 2010. *Bacillus Pumilus*, A New Pathogen on Potato Tubers in Storage in Mali. *African Journal of Microbiology Research*, 4(20), 2067-2071.
- Bergey, D.H., Harrison, F.C., Breed, R.S., Hammer, B.W., Huntoon, F. M., 1923. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 116 P.
- Black, R., Seal, S., Abubakar, Z., Nono-Womdim, R., Swai, I., 2001. Bacterial Spot (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) of Tomato and Sweet Pepper in Tanzania. *Plant Pathology*, 50, 810.
- Bochner, B.R., 1989. Sleuthing Out Bacterial Identitis. *Nature*, 399, 157-158
- Bogatsevska, N.S., Sotirova, V., Stamova, L. D., 1989. Race *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* of *Pseudomonas syringae*pv. *tomato* (Okabe) . *Nauk* 42 (2), 129-130.
- Bouzar, H., Jones, J.B., Stall, R.E., Hodge, N.C., Minsavage, G.V., Benedict, A.A. Alvarez, A.M., 1994. Physiological, Chemical, Serological Nad Pathogenic Analyses of A Worldwide Collection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology*, 84,663-671.
- Bouzar, H., Chilton, W.S., Nemse, X., Dessaux, Y., Vaudequin, V., Petit A., Jones, J.B., Hodge, N.C., 1995. A New *Agrobacterium* Strain Isolated From Aerial Tumors on Ficus Benjamina L. *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (1), 65-73.

- Bradbury, J.F., 1984, Genus II. *Xanthomonas* Dowson 1939, ***Bergey's Manual of Systematic Bacteriology***, (1) P673.
- Bultreys, A., Kaluzna, M., 2010, Bacterial Canker Caused by *Pseudomonas syringae* on Stone Fruit Species With Special Emphasis on The Pathovars *Syringae* and *Morsprunorum* Race 1 and Race 2, ***Journal of Plant Pathology***, 92,21-33.
- Burdman, S., Kots, N., Kritzman, G., Kopelowitz, J. 2005. Molecular, Physiological and Host-Range Characterization of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* Isolates From Watermelon And Melon in Israel. ***Plant Disease***, 89,1339-1347.
- Bülbül, M., 2014. ***Tekirdağ'da Kiraz Dal Kanseri Hastalığına Neden Olan Bakteriyel Etmenlerin İzolasyonu, Tanısı ve Yaygınlığı***. Namık Kemal Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi Bitki Koruma Anabilim Dalı Tekirdağ 64s.
- Chao, Y. C., Feng, C. T., Ho, W. C., 2006. First Report of *Aglaonema* Bacterial Blight Caused by *Erwinia chrysanthemi* in Taiwan. ***Plant Disease***, 90 (10),1358.
- Chase, A.R., Stall, R.E., Hodge N.C., Jones J.B., 1992. Characterization of *Xanthomonas campestris* Strains From Aroids Using Physiological, Pathological and Fatty Acid Analyses. ***Phytopathology***, 82 (7), 754-759.
- Cruz, L., Cruz, J., Eloy, M., Oliveira, H., Vaz, H., Tenreiro, R., 2010. First Report of Bacterial Speck of Tomato Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Race 1 in Portugal. ***Journal Article. Plant Disease***, ISSN 0191-2917, DOI 10.1094/PDIS-06-10-041.
- Çetinkaya Yıldız, R., 2007. ***Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni [Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis (Smith) Davis et. al.]'nin Tanılanması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler ile Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması***. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, s191.
- Çınar, Ö., 1977. Doğu Akdeniz Bölgesi Domateslerinde Görülen Bakteriyel Kara Leke Hastalığı Etmeni (*Pseudomonas tomato* Okabe)'nin Biyokimyasal yöntemlerle Tanımı. ***Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yıllığı***, 8(4), 288-296.

- Dadaşoğlu, F., 2013. *Artvin Erzincan Erzurum İğdir İllerinde Bazı Meyve ve Sebzelerde Yumuşak Çürüklüğe Sebepl Olan Bakterilerin İzolasyonu Klasik ve Moleküler Yöntemler ile Karakterizasyonu*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, s143.
- Davis, M.J., Gillaspie, A. G., Jr. Vidaver, A. K., Harris, R. W., 1984. *Clavibacter*: A New Genus Containing Some Phytopathogenic Coryneform Bacteria, Including *Clavibacterxyli* subsp. *xyli* sp. Nov., subsp. Nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. Nov., Pathogens That Cause Ratoon Stunting Disease of Sugarcane and Bermudagrass Stunting Disease, *International Journal of Systemic Bacteriology*, 34, 107–17.
- Denny, P.T., 1988. Phenotypic Diversity in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. *Journal of General Microbiology*, 134, 1939-1948.
- Devash, Y., Okon. Y., Henis. Y., 1980. Survival of *Pseudomonas tomato* in Soil and Seeds. *Phytopath Zeitsch.* 99, 175-185.
- Dowson, W., 1939. On The Systematic Position and Generic Names of The Gram Negative Bacterial Plant Pathogens. *Zentralbl Bakteriöl*, II Abt 100, 177–193.
- Dönmez, M. F., 2004. *Erzurum ve Erzincan İllerinde Fasulye (Phaseolus Vulgaris L.) Bitkisinde Görülen Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tanılanması ve Pseudomonas syringae pv. phaseolicola ve Xanthomonas campestris pv. phaseolf 'ye Karşı Çeşitli Fasulye Genotip ve Çeşitlerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesi*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, s305.
- Ercan, N., Ayar, F., Şensoy, A.S., Temirkaynak, M., 2002. Bazı Domates Çeşitlerinin Antalya Koşullarında Açıkta Yetiştirme Olanakları Üzerinde Bir Araştırma. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15(2), 101-105.
- Ertan, D., 2012. *Aydın ve İzmir İlleri Bezelye Üretim Alanlarında Görülen Bakteriyel Hastalıkların Saptanması*. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, s113.

- Ertimurtaş, D., Özaktan, H., 2014. Sert Çekirdekli Meyvelerde Bakteriyel Kansere Neden Olan *Pseudomonas syringae* Pathovarlarının Tanısı. **Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi**, Antalya.
- Fahy, P.C., Persley, G.J., 1983. **Plant Bacteria Diseases, A Diagnostic Guide**. Academic Pres, New York, P393.
- FAO, 2016. **Food and Agriculture Organization of The United Nations. Tomatoes Growing in The World**. (Erişim Tarihi: 20.11.2018).
- Gardan, L., Shafik, H.L. Grimont, P.A., 1995. DNA Relatedness Among Pathovars Of *Pseudomonas syringae* and Related Bacteria. Abstract of The 5 Th. International Conference on *Pseudomonas syringae* Pathovars And Related Pathogens. **Biologische Bundesanstalt Fur Land Und Forstwirtschaft**, Braunschweig, Germany, p142.
- Gardner, M.W., Kendrick, J.B., 1923. Bacterial Spot of Tomato and Pepper, **Phytopathology** 13,307-315.
- Gasic, K., Prokic, A., Ivanovic, M., Kuzmanovic, N., Obradovic, A., 2012. Differentiation of *Pseudomonas syringae* Pathovars Originating From Stone Fruits. **Pesticides. Phytomedicine**, 27(3),201-229.
- Gleason, M. L., Gitaitis, R.D., Ricker, M.D., 1993. Recent Progress in Understanding and Controlling Bacterial Canker of Tomato in Eastern North America. **Plant Disease**, 77,1069-1076.
- Godfrey, S.A.C., Marshall, J.W., 2002. Identification of Cold-Tolerant *Pseudomonas viridiflava* and *P. marginalis* Causing Severe Carrot Postharvest Bacterial Soft Rot During Refrigerated Export From New Zealand. **Plant Pathol**, 51, 155-162.
- Gonzalez, C.F., Ackerley, D.F., Park, C.H., Matn, A., 2003. A Soluble Flavoprotein Contributes To Chromate Reduction and Tolerance by *Pseudomonas putida*. **Acta Biotechnol.**, 2(3), 233-239.
- Goumans, D.E., Chatzaki, A.K., 1998. Characterization and Host Range Evaluation of *Pseudomonas viridiflava* From Melon, Blite, Tomato, Chrysanthemum and Eggplant. **European Journal of Plant Pathology**, 104,181-188.

- Gök, G., 2016. *Iğdır İli Elma Ağaçlarında Ateş Yanıklığı Hastalığına Neden Olan Erwinia amylovora (Burr.) Winslow et al. Etmeninin Biyokimyasal ve Moleküler (MIS) Yöntemle Tanısı*. Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, s72.
- Guillorit-Rondeau, C., Samson, R., 1993. Serological Specificity of The Lipopolysaccharides, The Major Antigens of *Pseudomonas syringae*. *Journal of Plant Pathology*, 137, 157-171.
- Ibrahim, Y., Al-Saleh, M., 2012. First Report of Bacterial Spot Caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on Sweet Pepper (*Capsicum annuum* L.) in Saudi Arabia. *Plant Disease*, Vol. 96, No. 11(1)690,2.
- Isakeit, T., Black, M.C., Barnes, L.W., Jones, J.B., 1997. First Report of Infection of Honeydew With *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Plant Disease*, 81,694.
- Jarvis, B.D.W., Sivakumaran, S., Tighe, S.W., Gillis, M., 1996. Identification of *Agrobacterium* and *Rhizobium* species Based on Cellular Fatty Acid Composition. *Plant And Soil*, 184, 143-158.
- Karaca, İ., Saygılı, H., 1982. Batı Anadolu'nun Bazı İllerinde Domates ve Biberde Görülen Bakteriyel Hastalıkların Oranı, Etmenleri ve Konukçu Çeşitlerinin Duyarlılığı Üzerine Araştırmalar. *III Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, 12-15 Ekim, Adana, 182-192.
- Karagöz, K., 2013. *Erzurum İli Patates Tarlalarından İzole Edilen Bitki Patojeni Streptomyces Türlerinin Tanısı ve Karakterizasyonu*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, s129.
- Kendi, D., 2009. *İç Anadolu Bölgesinde Fasulye Tohumlarında Pseudomonas syringae pv. phaseolicola Bulaşıklılığının Biyokimyasal ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi*. Dilek Kendi, Selçuk Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Konya, s94.
- King, E.O., Ward, M.K., Raney, D.E., 1954, Two Simple Media for the Demonstration of Phycocyanin and Fluorescin. *Journal of Lab Clinical Medicine*, 44, 301–307.

- Klement, Z., Farkas, G. L., Lourekovich, L., 1966. Hypersensitive Reaction Induced by Phytopathogenic Bacteria in Tobacco Leaf, *Phytopathology*, 54, 474-477.
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D.C., 1990. *Methods in Phyto bacteriology*, Akademia Kiado, Budapest, XIV+568s.
- Klopmeier, M.J., Kelman, A., 1988. Use of Monoclonal Antibody Specific For Pectate Lyase as Serological Probes in The Identification of Soft Rot *Erwinia* spp. *Phytopathology*, 78, 1430-1434.
- Konopka, A., Oliver, L., Turco, R.F., 1998. The use of Carbon Substrate Utilization Patterns In Environmental And Ecological Microbiology. *Microbial Ecology*, 35, 103-115.
- Kovacs, N., 1956, Identification of *Pseudomonas Pyocyanea* by the Oxidase Reaction, *Nature*, London, 170, 173.
- Krejzar, V., Mertelik, J., Pankova, I., Kloudova, K., Kudela, V., 2008. *Pseudomonas marginalis* Associated With Soft Rot of Zantedeschia spp. *Plant Protect Scientific*, 44(3), 85-90.
- Lamichhane J.R., Balestra G.M., Varvaro L., 2010. First report of bacterial spot caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* race 2 on tomato in Nepal. *New Diseases Reports*, 22, p25.
- Lelliott, R.A., 1967. The Diagnosis of Fire Blight (*E. amylovora*) and Some Diseases Caused by *Pseudomonas syringae*. Report of The International Conference on Fire Blight, *Eppo Publication*, Series A, 45-E.
- Lelliott, R.A., Stead, D.E., 1987. Methods For The Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. *Blacwell Scientific Publications*. p216.
- Li, B., Xie, G.L., Swings, J., 2006. First Report of Leaf Spot Caused By *Xanthomonas campestris* on Poinsettia in China. *Plant Pathology*, 55, 293.
- Lin, B.R., Shen, H.F., Pu, X.M., Tian, X.S., 2010. First Report of A Soft Rot of Banana in Mainland China Caused by A *Dickeya* sp. (*Pectobacterium chrysanthemi*). *Plant Disease*, 94,5, 640.

- Lukežić, F.L., Levine, R.G., Macnab, A.A., 1983. *Pseudomonas viridiflava* Associated With Stem Necrosis of Mature Tomato Plants. ***Phytopathology***, 73, 370.
- Martin, H.L., Horlock, C.M., 2002. First Report of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* as A Pathogen of Gramma in Australia. ***Plant Disease***, 88(12),1406.
- Martin-Sanz, A., Palomo, J.L., Pérez De La Vega, M., Caminero, C., 2010. First Report of Bacterial Blight Caused By *Pseudomonas viridiflava* on Pea in Spain. ***Plant Disease***, 94, 128.
- Masyahit, M., Sijam, K., Awang, Y., Mohd Satar, M. G., 2009. First Report on Bacterial Soft Rot Disease on Dragon Fruit (*Hylocereus* spp.) Caused by *Enterobacter cloacae* in Peninsular Malaysia. ***International Journal of Agriculture And Biology***, 11, 659-666.
- Mccarter, S.M., Jones, J.B., Gitaitis, R.D., Smithley, D.R., 1983. Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Assosiation With Tomato Seed. ***Soil. Host Tissue***.
- Mccarter, S.M. and Mariano, R.L.R., 1993. Epiphytic Survival of *Pseudomonas viriditlava* on Tomato and Selected Weed Species. ***Microb Ecol***, 26,47-58
- Mensi, I., Jabnoun-Khiareddine, H., Zarrougui, N.E., Zahra, H., Cesbron, S., Jacques, M. A., Daami-Remadi, M., 2018. First Report of Tomato Bacterial Speck Caused By *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Tunisia. ***New Disease Reports***, 38, 21.
- Miljasevic, S., Todorovic, B., Rekanovic, E., Potocnik I., Gavrilovic, V., 2009. Races and Hosts of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Serbia. ***Archives of Biological Sciences***, 61 (1), 93-102.
- Miller, I., Berger, T., 1985. Bacteria Identification By Gas Chromatography of Whole Cell Fatty Acids. ***Hewlett-Packard Gas Chromatography Aplication Note***, Hewlett-Packard Co., Alto, CA., 228-238.
- Miller, S. A., Jones, J.B., 2014. Bacterial Speck. ***Compendium of Tomato Diseases and Pests***. 54-55.

- Mirik, M., Aysan, Y., Büyükyılmaz, M., 2008. Tekirdağ ve Çevresinde Zeytin Üretim Alanlarından *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* İzolatlarının Elde Edilmesi, İzolatlarının Karakterizasyonları ve Farklı Bitkilerden İzole Edilen İzolatlarla Fenotipik Ve Genotipik Olarak Karşılaştırılması. **Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Tarım, Ormanlık ve Veterinerlik Araştırma Grubu Proje** No:106 O 196 68 S.
- Mirik, M., Aysan, Y., Sahin, F., 2011. Characterization of *Pseudomonas cichorii* Isolated From Different Hosts in Turkey. **International Journal of Agriculture And Biology**, 13 (2), 203-209.
- Molinaro, A., Lanzetta, R., Evidente, A., Parrilli, M., Holst, O., 1999. Isolation and Characterization of The Lipopolysaccharide From *Xanthomonas hortorum* pv. *vitiens*. **Federation of European Microbiological Societies**, 181 (1), 49-53.
- Narayanasamy, P., 1997. **Plant Pathogen Detection and Disease Diagnosis**, P331.
- Ndowora, T.C.R., Kinkel, L.L., Jones, R.K., Anderson, N. A., 1995. Fatty Acid Analysis of Pathogenic and Suppressive Strains of *Streptomyces* Species Isolated in Minesota. **Phytopathology**, 86, 138-143.
- Obradovic, A., Mavridis, A., Rudolph, K., Jense, J. D., Arsenijevic, M., Jones, J.B., Minsavage, G.V., Wang, J.F., 2004. Characterization and PCR-Based Typing of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* From Pepper and Tomatoes in Serbia. **European Journal of Plant Pathology**, 110 (3), 285-292.
- Örnek, H., 2006. **Begonyada (Begoniae sp.) Bakteriyel Leke ve Yanıklığa Neden Olan Xanthomonas axonopodis (Syn: Campestris) pv. begoniae'nın Karakterizasyonu ve Farklı Begonya Çeşitlerinin Hastalığa Dayanıklığı**. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, s80.
- Paisley, R., 1995. **MIS Whole Cell Fatty Acid Analysis By Gas Chromatography**. MIDI, Inc., Newark, DE, 5.
- Paradis, E., Goyer. C., Hodge, N.C., Hogue, R., Stall, R.E., Beaulieu, C., 1994. Fatty Acid and Protein Profiles of *Streptomyces scabiei* Strains Isolated in Eastern Canada. **International Journal of Systematic Bactriology**, 44(3), 561-564.

- Park, D.H., Kim, J.S., Kwon, S.W., Wilson, C., Yu, Y.M., Hur, J.H., Lim, C.K., 2003. *Streptomyces luridi*, *Scabiei* sp. Nov., *Streptomyces puniscabiei* sp. Nov. and *Streptomyces niveiscabiei* sp. Nov., Which Cause Potato Common Scab Disease in Korea. ***International Journal Of Systematic and Evoluntary Microbiology***, 53,2049-2054.
- Pohronezny, K., Moss, M.A., Dankers, W.W., Schenk, J., 1990. Dispersal and Management of *Xanthomona campestris* pv. *vesicatoria* During Thinning of Direct-Seeded Tomato. ***Plant Disease*** 74, 800-805.
- Popović, T., Ivanović, Z., 2015. First Report of *Pseudomonas viridiflava* Causing Pith Necrosis of Tomato (*Solanum Lycopersicum*) in Serbia. ***Diseases Notes***, 99 (7), 1033.
- Roy, A., 1988. Use of Fatty Acid For The Identification of Phytopathogenic Bacteria. ***Plant Disease***, 72, 460.
- Sarris, F.P., Trantas, E. A., Mpalantinaki, E., Ververidis, F., Goumas, D.E., 2012. *Pseudomonas viridiflava*, A Multi Host Plant Pathogen With Significant Genetic Variation At The Molecular Level. ***Plasone***, 7, Issue 4,
- Sawada, H., Takikawa, H., Ieki H., 1992. Fatty Acid Methyl Ester Profiles of The Genus *Agrobacterium*. ***Annals of The Phthopathological Society of Japan***, 58, 46-51.
- Saygılı. H., 1975. Investigation On New Bacterial Disease of Tomatoes İn Ege. ***The Journal of Turkish Phytopathology***, 4,83-88.
- Saygılı, H., 1995. ***Fitobakteriyoloji***. Doğruluk Matbaası, İzmir, 203 S.
- Saygılı, H., Şahin, F., Aysan Y., 2006. ***Fitobakteriyoloji***. Meta Basım Ve Matbaacılık Hizmetleri, İzmir, 530 S.
- Scarlett, C.A., Fletcher, J.T., Roberts P., Lelliott, R.A., 1978, Tomato Pith Necrosis Caused by *Pseudomonas corrugata*, ***Annals of Applied Biology***, 88,105-114.
- Schaad, N. W., 1994. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. ***APS Press***, p164.

- Schaad, N.W., Jones, J.B., Chun, W., 2001. Laboratory Guide For Identification of Plant Pathogenic Bacteria. *The American Phytopathological Society, St. Paul, MN., USA.*
- Shenge, K.C., Mabagala, R.B., 2007. First Report of Bacterial Speck of Tomato Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Tanzania. *Plant Disease*, (4),462, <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-4-0462C>.
- Sijam, K., Chang, C.J., Gitaitis, R.D., 1992. A Medium for Differentiating Tomato and Pepper Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Can. *Journal Plant Pathol.*14,162-164.
- Sivri, N., 2012. *Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis İllerindeki Zeytin Üretim Alanlarında Görülen Zeytin Dal Kanseri Hastalığı Etmeni Pseudomonas Savastanoi pv. savastanoi Tanınması*. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, S89.
- Stall, R.E., 1993. *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, Cause of Bacterial Spot of Tomato and Pepper. In: J. G. Swings, and E. L. Civerola (Editors), *Xanthomonas.*, Chapmanandhall, London, United Kingdom p57-60
- Suzuki, A., Togawa, M., Otha, K., Takikawa, Y., 2003. Occurrence of White Top of Pea Caused By A New Strain of *Pseudomonas syringae* pv. *lisi*. *Plant Disease*, 87,1404-1410.
- Swings, J.G., Civerole, E.L., 1993. *Xanthomonas chapman Hall*, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, P391.
- Şahin, A., 2015. *Kahramanmaraş Biber Üretim Alanlarında Biber Bakteriyel Leke Hastalık Etmelerinin Belirlenmesi*, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, s60.
- Şahin, F., Miller, S.A., 1996. Characterization of Ohio Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, Causal Agent of Bacterial Spot Pepper. *Plant Disease*, 80:773778.
- 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. Phd Thesis. The Ohio State University.P:181.

Şahin, F., Kotan, R., 1999. First Observation of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Race T2P7 Isolated From Pepper in The Philippines. ***Plant Disease***, 83(6),590.

Şahin, F., 2001. Severe Outbreak of Bacterial Speck, Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, on Field-Grown Tomatoes in Eastern Anatolia Region of Turkey, ***Plant Pathology***, 50 (6), 799.

Şahin, F., Uslu, H., Kotan, R., Donmez, F. 2002. Bacterial Canker, Caused By *Clavibacter michiganensis* sups. *michiganensis*, on Tomatoes in Eastern Anatolia Region of Turkey. ***Plant Pathology***, 51,399.

Şahin, F., 2003. ***Moleküler Tanı Yöntemleri*** (Eds: Telefoncu A., Küfrevioğlu Ö. İ. Pazarlıoğlu, N., Biyoinformatik I). 22-28 Haziran, Lisansüstü Yaz Okulu, s237.

Şahin, F., Abbasi P.A., Lewis I.M.L., Zhang, J., Miller, S.A., 2003. Diversity Among Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* From Lettuce. ***Phytopathology***, 93,64-70.

Tripathi, B.M., Kaushik, R., Kumari, P., Saxena, A. K., Arora, D. K., 2011. Genetic and Metabolic Diversity of *Streptomyces* in Pupl and Paper Mill Effluent Treated Crop Fields. ***World Journal Microbiology and Biotechnology***, 27, 1603-1613.

Tüik, 2016. ***Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı***, (Erişim Tarihi: 20.11.2018).

Ünlü, A., Basım, H., 2002. ***Türkiye' Deki Erwinia amylovora İzolatlarının Elde Edilmesi ve Bu İzolatların, Patolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Karakterizasyonu.*** Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. s79

Ünlü, A., 2007. ***Bakteriyel Yanıklık Etmeni Xanthomonas axonopodis pv. pelargonii'nin Sardunya'da (Pelargonium spp.) Tanısı ve Biyolojik Mücadelesi Üzerine Araştırmalar.*** Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, s101.

- Üstün, N., Saygılı, H., 2001. Pith Necrosis on Greenhouse Tomatoes in Aegean Region of Turkey. *11th Congress of The Mediterranean Phytopathological Union and 3rd Congress of the Sociedade Portuguesa De Fitopatologia Evora-Portugal*, 70-73.
- Vancanneyt, M., Torck, U., Dewettinck, D., Vaerewijck, M., Kersters, K., 1996. Grouping of *Pseudomonas* by SDS-PAGE of Whole-Cell Proteins. *Systematic and Applied Microbiology*, 19, 556 – 568.
- Verniere, C., Pruvost, O., Civerolo, E.L., Gambin, O., Jacquemound-Collet, J.P., Luisetti, J., 1993. Evaluation of The Biolog Substrate Utilization System to Identify and Assess Metabolic Variation Among Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *citri*, *Applied and Environmental Microbiology*, 243-249.
- Walcott, R.R., Langston, D.B., Sanders F.H., Gitaitis, R.D., 2000. Investigating Intraspecific Variation of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* Using DNA Fingerprinting and Whole Cell Fatty Acid Analysis. *Phytopathology*, 90(2),191-196.
- Wang, C.X., Wang, D.B., Zhou, Q.I., 1997. Classification and Identification of *Rhizobacteria* promoting Growth of Cotton Plants. *Journal of Huazhong Agricultural University*. 16(1), 29-32. Chine.
- Wang, M., Cao, J., Lin, L., Sun, J., Jiang, W., 2010. Effect Of 1- Methylcyclopropene on Nutritional Quality and Antioxidant Activity of Tomato Kaynaklar Hussien Belal 125 Fruit (*Solanum Lycopersicon* L.) [Sic] During Storage. *Journal of Food Quality*, 33, 150-164.
- Wielke, J.P., Dye, D.W., Watson, D.R.W., 1973. Further Host of *Pseudomonas viridiflava*. *New Zealand Journal Agricultural Research*, 16,315-323.
- Wielke, J.P., Dye, D.W., 1974. *Pseudomonas cichorii* Causing Tomato and Celery Diseases in New Zealand. *New Zealand Journal Agricultural Research*, 17, 123-130.
- Wrekiat, B.I., Al-Banna, L.S., Khlaif, M.H., 2006. Detection and Identification of Bacterial Speck of Tomato (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) by Polimerase

- . and *Ralstonia* Chain Reaction. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), 45-55.
- Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., Nishiuchi, Y., 1995, Transfer of Two Burkholderia and an Alcaligenes Species To Ralstonia Gen. Nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Douderoff 1973) Comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Comb. *Noveutropha* (Davis 1969) Comb. Nov., *Microbiology and Immunology*, 39, 897-904.
- Yang, P., Vauterin, L., Vancanneyt, M., Swings, J., Kersters, K., 1993, Application of Fatty Acid Methyl Esters for the Taxonomic Analysis of the Genus *Xanthomonas*, *Systematic and Applied Microbiology*, 16(1),47-71.
- Young, J.M., Dye, D.W., Bradbury, J.F., Panagopoulos, C.G., Robb, C.F., 1978. A Proposed Nomenclature and Classification for Plant Pathogenic Bacteria.. *Journal Of Agricultural, Research*, 21 (1978), 153-77.

1992 yılında Diyarbakır / Çınar’da doğdu. İlk ve ortaokulu çınarda tamamladıktan sonra 2007 yılında lise eğitimini Diyarbakır Nafiye Ömer Şevki Cizrelioğlu Lisesi’nde yaptı. 2010 yılında Bingöl Üniversitesi Genç Meslek Yüksek Okulu Organik Tarım Bölümü’nü kazandı. 2013 yılında dikey geçiş sınavıyla Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü’ne geçiş yaptı ve 2016 yılında bölümünü başarıyla tamamlayarak Ziraat Mühendisi ünvanı almaya hak kazandı. 2016 yılında Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek lisans eğitimine başladı.

