

**ADİYAMAN, DİYARBAKIR VE MARDİN İLLERİNDE SERT
ÇEKİRDEKLİ MEYVE AĞAÇLARINDAKİ BAKTERİYEL
HASTALIK ETMENLERİNİN TESPİTİ**

SERKAN BAYMAN

HAZİRAN 2023

DİYARBAKIR

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ADİYAMAN, DİYARBAKIR VE MARDİN İLLERİNDE SERT
ÇEKİRDEKLİ MEYVE AĞAÇLARINDAKİ BAKTERİYEL
HASTALIK ETMENLERİNİN TESPİTİ**



SERKAN BAYMAN

DİCLE ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM-ÖĞRETİM VE SINAV
YÖNETMELİĞİNİN BİR PARÇASI OLARAK
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALINDA
DOKTORA TEZİ
OLARAK HAZIRLANMIŞTIR

HAZİRAN 2023

DİYARBAKIR

**ADIYAMAN, DİYARBAKIR VE MARDİN İLLERİNDE SERT
ÇEKİRDEKLİ MEYVE AĞAÇLARINDAKİ BAKTERİYEL HASTALIK
ETMENLERİNİN TESPİTİ**

Serkan BAYMAN tarafından Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin bir parçası olarak hazırlanan bu çalışma, aşağıda bilgileri yazılı jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek **Bitki Koruma Ana Bilim Dalı**'nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Neslihan DALKILIÇ
Müdür, **Fen Bilimleri Enstitüsü**

Prof. Dr. Hamit KAVAK
Danışman, **Bitki Koruma Bölümü,**
Dicle Üniversitesi

Sınav Jürisi:

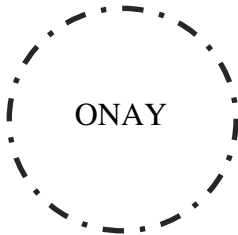
Prof. Dr. Hamit KAVAK^(*),^(**)
Bitki Koruma Bölümü, Dicle Üniversitesi

Prof. Dr. Ahmet BAYRAM
Bitki Koruma Bölümü, Dicle Üniversitesi

Prof. Dr. Sibel DERVİŞ
Organik Tarım Bölümü, Mardin Artuklu Üniversitesi

Doç. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ
Bitki Koruma Bölümü, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Doç. Dr. Mustafa KÜSEK
Bitki Koruma Bölümü, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi



Savunma Tarihi: 14/06/2023

(*) Sınav Jürisi kısmının birinci satırına Jüri Başkanının bilgilerini yazınız.

(**) Sınav Jürisi kısmının ikinci satırına Tez Danışmanının bilgilerini yazınız.



Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tez çalışmasında yer alan tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bahse konu bu kural ve ilkelerin gerektirdiği üzere, bu çalışmada özgün olmayan tüm bilimsel içerikleri kurallara uygun biçimde alıntılıyıp kaynak gösterdiğimi beyan ederim. Beyanıyla çelişen herhangi bir delil bulunduğu takdirde tüm sorumluluğu üstleneceğimi kabul ederim.

Ad, Soyad: SERKAN BAYMAN

İmza:

TEŞEKKÜR

Öncelikle çalışmamın her safhasında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, gerek arazi gerekse laboratuvar çalışmalarında bana araştırma olanağı sağlayan ve bizatihi yanımda olan, öneri, yönlendirme ve alakasını tezin daha fikir aşamasından nihai haline gelinceye dek sabırla gösteren ve her daim varlığı ile güven veren danışman hocam Prof. Dr. Hamit Kavak’a teşekkür ederim. Tez izleme komitesi ve jüri üyesi hocalarıma da çalışmamı daha nitelikli bir yapıya dönüşmesini sağlamada yaptıkları katkı, eleştiri ve öneriler için teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen çok kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Abuzer Sağır’a çok teşekkür eder, saygılarımı sunarım. Tezimin her aşamasında moral ve motivasyon desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Yakup Kenan Koca, Dr. Öğr. Üyesi Fatih Göksel Pekitkan, Dr. Öğr. Üyesi Muhittin Murat Turgut, sayın Ubeydullah Ekmen’e ve değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Suna Çakmak, Dr. Edip Alas ve sayın Adalet Karadaşlı’ya teşekkürlerimi sunarım. Bana iklim odası imkanlarını kullandıran Doç. Dr. Halil Bolu’ya şükranlarımı sunarım.

Yazar, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü’ne (DÜBAP), bu tez çalışması için sağladıkları finansal destek için (Proje No: DÜBAP-Ziraat.19.009) için teşekkürü bir borç bilir.

Hayatımın her safhasında olduğu gibi bu çalışmam esnasında da her zaman yanımda olduğunu bildiğim sevgili eşim Ceylan Bayman’a minnettarım. Ayrıca hayatımın her döneminde yanımda yer alan ve vazgeçilmezim olan sevgili aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xii
EKLER LİSTESİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xvi
ÖZET.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	11
2.1 Sert Çekirdekli Meyvelerdeki Patojen Bakteriler ile İlgili Genel Çalışmalar..	11
2.2 <i>Pseudomonas syringae</i> ve Patovaryları ile İlgili Çalışmalar	13
2.3 <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> ile İlgili Çalışmalar	26
2.4 <i>Candidatus</i> Phytoplasma prunorum ile İlgili Çalışmalar.....	27
2.5 <i>Rhizobium radiobacter</i> ile İlgili Çalışmalar.....	28
2.6 <i>Xanthomonas arboricola</i> ile İlgili Çalışmalar	32
2.7 <i>Xylella fastidiosa</i> ile İlgili Çalışmalar.....	35
2.8 <i>Stenotrophomonas</i> sp. ile İlgili Çalışmalar	37
2.8.1 Taksonomi üzerine çalışmalar.....	37
2.8.2 Bulunduğu yerler ve kullanım amaçları üzerine çalışmalar.....	38
2.8.3 Virülenslik faktörleri üzerine çalışmalar.....	43
2.8.4 Bitkide patojen olma durumu üzerine çalışmalar.....	44
3. MALZEME VE YÖNTEM	48
3.1 Malzeme.....	48
3.2 Yöntem.....	48
3.2.1 Sörvey çalışmaları.....	48

3.2.2 Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması	49
3.2.3 Bakteriyel etmenlerin izolasyonu ve izolatların elde edilmesi	50
3.2.4 Konukçu test bitkilerinin yetiştirilmesi	52
3.2.5 Tütünde hipersensitif reaksiyon testi	53
3.2.6 Patojenisite testleri	55
3.2.7 Bakteri izolatlarının cam boncuk yöntemi ile saklanması	57
3.2.8 Biyokimyasal Testler	58
3.2.9 Bakteri izolatlarının MALDI-TOF kütle spektrometre ile tespiti.....	64
3.2.10 Konukçu dizisi testi.....	65
3.2.11 İzolatların bakıra direnç düzeyinin belirlenmesi.....	68
3.2.12 Hastalık şiddeti, hastalık ve yaygınlık oranının hesaplanması	70
3.2.13 DNA izolasyonu ve PCR analiz aşamaları.....	71
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	76
4.1 Sörvey Çalışması Bulguları.....	76
4.1.1 Birinci yıl sörvey çalışması bulguları (2019).....	76
4.1.2 İkinci yıl sörvey çalışması bulguları (2020).....	77
4.1.3 Üçüncü yıl sörvey çalışması bulguları (2021)	78
4.2 Elde Edilen Bakteri İzolatları.....	80
4.3 Hipersensitif Reaksiyon Testi Bulguları	82
4.4 Patojenisite Testi Bulguları	83
4.4.1 Ana konukçu patojenisite testi bulguları.....	83
4.4.2 Limon testi bulguları	86
4.4.3 Havuç testi bulguları	87
4.5 Biyokimyasal Test Bulguları.....	88
4.5.1 Gram boyama test bulguları	89
4.5.2 Levan test bulguları.....	90
4.5.3 Kovacs oksidaz test bulguları.....	91

4.5.4 Pektolitik aktivite test bulguları	92
4.5.5 Arjinin dihidrolaz test bulguları	93
4.5.6 Floresan pigment oluşumu	94
4.5.7 Jelatin hidroliz test bulguları	95
4.5.8 Esculin hidroliz testi bulguları	95
4.5.9 Tyrosin ve tartarik asit kullanım testi bulguları	96
4.5.10 Katalaz test bulguları.....	97
4.6 Bakteri İzolatlarının MALDI-TOF MS ve PCR Analiz Bulguları.....	98
4.6.1 Bakteri İzolatlarının MALDI-TOF MS ile Teşhis Bulguları	99
4.6.2 PCR Analiz Bulguları	99
4.7 Konukçu Dizisi Testi Bulguları	102
4.8 Bakır Sülfat Denemesinin NA Besi Ortamındaki Standardının Belirlenmesi Bulguları.....	106
4.9 Hastalık ve Yaygınlık Oranı Bulguları	108
4.9.1 Badem bahçelerindeki kanser belirtisinin hastalık ve yaygınlık oranı bulguları	110
4.9.2 Zeytin bahçelerindeki <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> etmeninin hastalık ve yaygınlık oranı bulguları.....	111
4.10 Genel Tartışma	112
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	124
KAYNAKLAR	126
EKLER.....	139
ÖZGEÇMİŞ	143

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1 Türkiye’de ekonomik anlamda üretimi yapılan sert çekirdekli meyveler ve üretim miktarları (TÜİK, 2021)	3
Şekil 1.2 Türkiye sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinde coğrafi bölgelerin üretim yüzde ve miktarları.....	4
Şekil 3.1 Örnekleme illerinin Güneydoğu Anadolu Bölgesi’ndeki konumu	48
Şekil 3.2 A; Örnekleme yapılan zeytin bitkisinin sürgün kısmında, zeytin dal kanseri belirtisi, B; Örnekleme yapılan badem bitkisinin dal kısmında, bakteriyel yanıklık ve bakteriyel kanser belirtisi	50
Şekil 3.3 İzolasyon çalışması kapsamında yüzey sterilizasyonu yapılan bitki parçalarının eppendorf tüplerinde bakterilerin suya geçişi için bekletilme aşaması..	51
Şekil 3.4 Çalışma kapsamında tesis edilen bahçenin genel görünüşü	52
Şekil 3.5 HR testinde kullanılmak üzere viyollerde yetiştirilen ve deneme saksılarına aktarılan tütün bitkileri.....	54
Şekil 3.6 Limon ve havuç patojenisite testlerinin uygulanması A; Limon testi hazırlık, B; Limon testi uygulama, C; Havuç testi hazırlık, D; Havuç testinin uygulandığı izolatlara ait petriler	56
Şekil 3.7 Cam boncuk yöntemi uygulanan ve çalkalayıcıda inkübasyona tabi tutulan bakteri kültürleri.....	57
Şekil 3.8 MALDI-TOF MS analizinin uygulanması A; MALDI-TOF MS cihazı, B; MALDI-TOF plate’i üzerindeki bakterilerin matrix solüsyonu ile kaplanması	65
Şekil 3.9 Yaygın patojen A/B/6/2 izolatının bakır sülfat toleransının ve NA besi ortamındaki standardının belirlenme aşamaları A; Bakır sülfat deneme hazırlığı, B; Spektrofotometre cihazı ile okuma aşaması, C; Farklı konsantrasyonlarda bakır sülfat ihtiva eden besi ortamlarının hazırlanması	70
Şekil 3.10 DNA izolasyon çalışma görselleri A; Kullanılan 27f-1492r universal primerleri, B; DNA izolasyon aşaması, C; İzole edilen bakteri DNA’sı.....	73
Şekil 4.1 Badem ağaçlarında örneklemenin yapıldığı fenolojik dönemler A; Tomurcukların patlamaya başladığı dönem B; Tam çiçeklenme dönemi C; Meyvelerin normal büyüklüğünün %90’ını aldığı dönem.....	77
Şekil 4.2 Mardin İli Derik ilçesi zeytin bahçelerinde, zeytin bakteriyel dal kanseri belirtisi gözlenen ve örnek alınan ur yapılarına haiz sürgün ve dallar.....	78

Şekil 4.3 Hastalıklı örneklerden izolatların elde edilme aşamaları A; Steril ekim kabininde bakteri izolatlarının elde edilme hazırlığı, B; Hastalıklı bitki örneği, C; Bakterilerin eppendorf tüpünde steril suya geçişi için bekleme aşaması, D; Farklı hastalıklı örneklerden King B besi ortamında gelişen bakteri izolatları	82
Şekil 4.4 Hipersensitif reaksiyon testi sonuçları A; HR pozitif izolatlar, B; Pozitif kültür (<i>Pss</i> ve <i>Psm</i>) izolatların HR pozitif reaksiyonu, C; HR pozitif ve negatif izolatların aynı yapraktaki görüntüsü, D; Negatif kontrol	83
Şekil 4.5 Ana konukçu patojenisite test sonuçları A; Negatif kontrol (badem), B; A/B/6/2 test sonucu pozitif bakteri izolatı (badem), C; Pozitif kültürün (<i>Pss</i>) badem bitkisindeki pozitif reaksiyonu, D; M.04/4/2 bakteri izolatının mahlep bitkisindeki pozitif reaksiyonu.....	85
Şekil 4.6 Limon meyve patojenisite test sonuçları A; Limon test sonucu pozitif bakteri izolatı, B; Limon test sonucu pozitif olan pozitif kültür (<i>Pss</i>), C; Negatif kontrol	87
Şekil 4.7 Zeytin izolatlarının havuç patojenisite test görselleri A; Negatif kontrol petrisinde ur oluşmayan havuç dilimleri, B; Havuç dilimlerinde beyaz renkte ur oluşturan ve patojenisite testi pozitif olan bakteri izolatı.....	88
Şekil 4.8 Bakteri izolatlarının gram reaksiyonlarının belirlenmesi A; Hucker'ın modifiye ettiği gram boyama testi yapılan bakteri preparatlar, B; KOH ile gram reaksiyonu belirlenen gram negatif bakteri izolatı.....	90
Şekil 4.9 Levan oluşum test sonuçları A; Levan negatif izolat, B; Levan pozitif izolat, C; Pozitif kültür (<i>Pss</i>)'nin levan oluşum test sonucu.....	91
Şekil 4.10 Kovacs oksidaz testi ile ilgili görseller A; Hazırlanan % 1'lik Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride, B; Kovacs oksidaz test sonucu pozitif ve negatif izolatlar.....	91
Şekil 4.11 Pektolitik aktivite testi sonuçları A; Pektolitik aktivite testi uygulama aşaması, B; Pektolitik aktivite pozitif bakteri izolatı, C; Pektolitik aktivite negatif bakteri izolatı, D; Pozitif kültürün (<i>Pss</i>) negatif pektolitik aktivite sonucu	92
Şekil 4.12 Arjinin dihidrolaz test sonucunda tüplerdeki renk değişimleri A; Kehribar rengin geliştiği negatif bakteri izolatı, B; Turuncu rengin geliştiği negatif bakteri izolatı, C; Koyu kırmızı rengin geliştiği pozitif bakteri izolat, D; Pozitif kültür (<i>Pss</i>) bakterinin test sonucundaki turuncu renk değişimi, E; Bakteri içermeyen kehribar rengin geliştiği tüp	93

Şekil 4.13 King B besi ortamında floresan pigment test sonucu örnekleri A; Floresan pigment oluşturan bakteri izolatu B; Floresan pigment oluşturmeyan bakteri izolatu	94
Şekil 4.14 Jelatin test sonucu görseller A; Jelatin hidroliz pozitif bakteri izolatu, B; Negatif kontrol, C; Jelatin hidroliz negatif ve pozitif bakteri izolatlari	95
Şekil 4.15 Esculin test sonuç görselleri A; Bakteri içermeyen negatif kontrol test tüpü, B; Pozitif kontrol (<i>Pss</i>) test tüpü, C; Bakteri izolatlarının esculin test sonuçlari	96
Şekil 4.16 Tyrosin ve tartarik asit test sonucu görselleri A; Tyrosin negatif kontrol tüpü, B; Tyrosin negatif bakteri izolatu, C; Tyrosin pozitif kontrol (<i>Pss</i>) tüpü, D; Tyrosin pozitif bakteri izolatu, E; Tartarik asit negatif reaksiyon tüpleri	97
Şekil 4.17 Katalaz test sonucu görselleri A; Katalaz pozitif bakteri izolatının % 3'lük H_2O_2 ile muamelede oluşturdugu hava kabarcıkları, B; Pozitif kültür bakteri izolatının (<i>Pss</i>) oluşturdugu pozitif reaksiyon	97
Şekil 4.18 PCR sonucu elde edilen 1470 bp büyüklüğündeki jel görüntüsü M; Marker, N; Negatif kontrol, Sırasıyla A/B/6/2, A/B/8/1, M.04/15/1 izolatlarının ve pozitif kontrol bakteri izolatının PCR ürünleri	100
Şekil 4.19 PCR sonucu elde edilen 454 bp büyüklüğündeki jel görüntüsü M; 100 bp'lik Markerlar, N; Negatif kontrol, P; Pozitif kontrol (<i>Psv</i> HZP14-PSV), Sırasıyla M/D/Z/6, M/D/Z/8, M/D/Z/B3, M/D/Z/B5 bakteri izolatlarının PCR ürünleri	101
Şekil 4.20 Zeytin ve zakkum bitkilerinin yaprak kısımlarina uygulanan M/D/Z/6 zeytin izolatının inkübasyon süresi sonundaki kontrol sonuçlari A; Zeytin yaprağında olusan lezyon, B; Zakkum yaprağında olusan lezyon, C; Negatif kontrol steril su uygulanan zeytin yaprağı	102
Şekil 4.21 Konukçu dizisinde A/B/6/2 izolatının oluşturdugu lezyonlari dijital kumpasla ölçümü A; Sürgün çapının ölçümü, B; Lezyon uzunluğunun ölçümü, C; Lezyon çapının ölçümü	103
Şekil 4.22 Konukçu dizisi test sonuçlari A; Kiraz bitkisindeki lezyon oluşumu (pozitif sonuç), B; İğde bitkisindeki negatif sonuç, C; Pozitif kontrol (<i>Pss</i>) bakterinin badem bitkisinde oluşturdugu lezyon	106
Şekil 4.23 Bakır sülfat tolerans belirleme deneme sonuçlari A; İlk bakır sülfat denemesindeki sayılamayacak yoğunluktaki bakteri kolonileri, B; Tekrarlanan ve NA besi ortamında standardın oluşturulması amacıyla yapılan sayılabilecek durumdaki bakteri kolonilerini ihtiva eden 36 saatlik bakır sülfat denemesi	107

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1 Sert çekirdekli meyve bahçelerinde, ağaç sayısına göre yapılması gereken en az örnekleme sayıları (Lazarov ve Grigorov 1961).....	49
Tablo 3.2 Patojenisite testi ve konukçu dizisi çalışmalarında kullanılan bitkilerin konumlarını gösteren bahçe krokisi	53
Tablo 3.3 Stok solüsyondan (50 mM 30 ml) alınan ve hedef bakır konsantrasyonunu elde etmek için 100 ml Nutrient Agar (NA) besi yerine ilave edilen hacimler	69
Tablo 3.4 Sert çekirdekli bitkilerdeki hastalık şiddetinin belirlenmesinde kullanılan Zwet ve Keil (1979)'un 1-10 skalasının modifiye edilmiş hali	71
Tablo 3.5 DNA izolasyonunda kullanılan EurX GeneMATRIX hazır bakteriyel DNA izolasyon kiti tampon çözeltilerin miktarları ve muhafaza sıcaklıkları	72
Tablo 3.6 Badem ve mahlep izolatlarının PCR analizinde kullanılan 27f-1492r universal primerlerin 5'-3' dizileri (Lane, 1991)	74
Tablo 3.7 PCR mix için bileşenlerin stok ve reaksiyon konsantrasyonları	74
Tablo 3.8 Badem ve mahlep izolat DNA'larının PCR analiz koşulları	74
Tablo 3.9 Zeytin izolatlarının PCR analizinde kullanılan IAALF ve IAALR spesifik primerlerin 5'-3' dizileri (Penyalver ve ark., 1991)	75
Tablo 3.10 Tanılama da kullanılan IAALF/IAALR spesifik primer çifti için PCR mix bileşenlerin stok ve reaksiyon konsantrasyonları.....	75
Tablo 3.11 IAALF ve IAALR spesifik primerleri için PCR analiz koşulları	75
Tablo 4.1 Bitkilere göre 2019 yılında toplanan örnek sayıları.....	77
Tablo 4.2 Bitkilere göre 2020 yılında toplanan örnek sayıları.....	77
Tablo 4.3 Bitkilere göre 2021 yılında toplanan örnek sayıları.....	78
Tablo 4.4 Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde 2019-2021 yıllarında sert çekirdekli meyve bahçelerinde yürütülen sörvey çalışmalarındaki örnekleme yapılan bitki, izolasyon yapılan bitki dokusu, hastalık belirtisi ile ağaç sayıları.....	79
Tablo 4.5 2019 yılında sert çekirdekli meyve türlerinden elde edilen hastalıklı örneklerden izole edilen izolat sayısı	81
Tablo 4.6 2020 yılında sert çekirdekli meyve türlerinden elde edilen hastalıklı örneklerden izole edilen izolat sayısı	81
Tablo 4.7 2021 yılında sörvey yapılan il, ilçe meyve ağaçları ve izolat sayıları	81

Tablo 4.8 Badem, kayısı, mahlep ve zeytin bakteri izolatlarının HR test sonuçları ..	83
Tablo 4.9 Badem, kayısı ve mahlepten izole edilen ve HR pozitif olan bakteri izolatlarının ana konukçu patojenisite test sonuçları	84
Tablo 4.10 Badem ve mahlepten elde edilen HR pozitif izolatların limon meyve patojenisite test sonuçları	86
Tablo 4.11 Zeytinden elde edilen izolatların havuç dilimlerindeki patojenisite test sonucu	87
Tablo 4.12 Bakteri izolatlarını tanılama çalışmalarında kullanılan biyokimyasal ve patojenisite testlerinin sonuçları.....	88
Tablo 4.13 King B besi ortamında floresan pigment oluşturan bakteri izolatları.....	94
Tablo 4.14 HR ve ana konukçu patojenisite testleri pozitif badem, mahlep ve zeytin izolatlarının MALDI-TOF kütle spektrometre ve PCR teşhis sonuçları	98
Tablo 4.15 HR ve ana konukçu patojenisite testleri pozitif badem ve mahlep izolatlarının MALDI-TOF kütle spektrometre teşhis sonuçları.....	99
Tablo 4.16 Sekanslama ve Blast analiziyle bakterilerin filogenetik olarak ilişkili olduğu NCBI'ya kayıtlı en yakın bakteri türü ve benzerlik oranları	101
Tablo 4.17 Zeytin izolatlarının IAALF ve IAALR spesifik primerleriyle PCR analiz sonuçları	101
Tablo 4.18 Zeytin ve zakkum bitkilerinin yaprak kısmına uygulanan M/D/Z/6 izolatu ve negatif kontrol (steril su) uygulamasının reaksiyon sonuçları ile testin uygulama ve kontrol tarihleri.....	102
Tablo 4.19 A/B/6/2 ve pozitif kontrol (Pss) izolatlarının konukçu dizisi testinde farklı bitkilerdeki lezyon ölçümleri	103
Tablo 4.20 M/D/Z/6 izolatının zeytin ve zakkum bitkilerindeki lezyon ölçümleri .	104
Tablo 4.21 A/B/6/2 bakteri izolatının konukçu dizisi testi istatistik analiz sonucu enfeksiyon alan yüzdesi ortalamaları, standart hata değerleri ve Tukey çoklu karşılaştırma testine göre grupları.....	104
Tablo 4.22 A/B/6/2 bakteri izolatının 10^{-6} seyreltmede ve farklı bakır sülfat konsantrasyonlarındaki koloni sayılarının ortalama, standart hata ve Tukey çoklu karşılaştırma testine göre grupları.....	107
Tablo 4.23 Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin il ve ilçelerinde bulunan örnekleme yapılan sert çekirdekli meyve ağacı sayıları ve üretim alanları (TUIK, 2021).....	109

Tablo 4.24 Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin il ve örnekleme yapılan ilçelerinde bulunan toplam ağaç ile gözlem yapılan bahçe ve ağaç sayıları.....	109
Tablo 4.25 Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerindeki badem bahçelerinde bulunan kanser belirtisinin il ve ilçelere göre hastalık ve yaygınlık oranları	110
Tablo 4.26 Adıyaman ve Mardin illerindeki zeytin bahçelerinde bulunan <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> etmeninin il ve ilçelere göre hastalık ve yaygınlık oranları	112
Tablo 4.27 Patojen bulunan badem ve mahlep bakteri izolatlarını tanılama çalışmalarında kullanılan biyokimyasal, patojenisite, 16s DNA dizi analizi ve MALDI-TOF MS testlerinin sonuçları	114
Tablo 4.28 Zeytin izolatlarını tanılama çalışmalarında kullanılan biyokimyasal, patojenisite ve PCR testlerinin sonuçları	121

EKLER LİSTESİ

Ek: 1 PCR analizi yapılan bakteri izolatlarının DNA dizisi 140

Ek: 2 Patojen *Stenotrophomonas rhizophila* izolatlarının elde edildiği lokasyonlar142



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Simge	Açıklama
da	Dekar
g	Gram
ha	Hektar
m	Metre
µl	Mikrolitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
°C	Santigrat Derece

Kısaltma	Açıklama
EPPO	Avrupa ve Akdeniz Bitki Koruma Organizasyonu
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
GAP	Güneydoğu Anadolu Projesi
GATTa	Jelatin hidroliz, Esculin hidroliz, Tyrosin ve Tartarik asit kullanımı
LOPAT	Levan, Kovacs oksidaz, Pektolitik aktivite, Arjinin dihidrolaz, Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu
MALDI-TOF MS	Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu

ÖZET

ADİYAMAN, DİYARBAKIR VE MARDİN İLLERİNDE SERT ÇEKİRDEKLİ MEYVE AĞAÇLARINDAKİ BAKTERİYEL HASTALIK ETMENLERİNİN TESPİTİ

Bayman, Serkan

Doktora, Bitki Koruma Bölümü

Danışman: Prof. Dr. Hamit Kavak

Haziran 2023, 162 sayfa

Güneydoğu Anadolu Bölgesinin sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinde öne çıkan illeri Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin’de 2019-2021 yıllarında bakteriyel etmenlerin tespiti amacıyla sörvey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sörvey çalışmalarında kloroz, nekroz, bakteriyel akıntı, kanser, yaprak lekesi, bitki organlarının atılması (çiçek ve tomurcuk dökümü), doku anormallikleri (ur) gibi bakteriyel hastalık belirtileri gözlenen bitkilerden örnekleme yapılmıştır. Şansa bağlı olarak yürütülen sörvey çalışmalarında 174 enfekteli bitki örneğinden 218 bakteri izolatu elde edilmiştir. Badem ve mahlep hastalıklı örneklerinden elde edilen isolatlar biyokimyasal, MALDI-TOF MS ve 16s rDNA dizi analizleri ile teşhis edilmiştir. Tanı çalışmaları neticesinde badem ve mahlepten izole edilen ve patojen bulunan 10 izolatu *Stenotrophomonas* spp. olduğu saptanmıştır. Ayrıca söz konusu etmenin kanser ve zamlık hastalığına neden olabileceği belirlenmiştir. Çalışmada Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerindeki bademlerde kanser belirtisinin yaygınlık oranının % 35-100 arasında değiştiği, hastalık oranının ise % 0,127-0,67 aralığında seyrettiği saptanmıştır. Mardin ili Derik ilçesinden izole edilen 4 zeytin izolatu biyokimyasal, havuç disklerinde patojenisite testleri ve IAALF-IAALR spesifik primerleriyle yapılan dizi analiz sonuçlarına göre *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Psv) olarak teşhis edilmiştir. İlaveten Adıyaman ve Mardin illerindeki zeytinlerde Psv’nin yaygınlık oranının % 50-75 arasında değiştiği buna karşın hastalık oranının Adıyaman ilinde % 0,017 iken, Mardin ilinde % 33 olduğu saptanmıştır. Konukçu dizisi çalışması ile bademden izole edilen *Stenotrophomonas* spp.’nin, iğde ve kızılca hariç 8 farklı sert çekirdekli bitkide yapay inokulasyonlarda hastalık oluşturduğu dolayısıyla konukçuları olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak; Psv’nin konukçuları arasında yer alan zakkumda ve özellikle pembe zakkumda şiddetli reaksiyon oluşturduğu belirlenmiştir. *Stenotrophomonas rhizophila*’nın bakır sülfat toleransının ve nutrient agar besi ortamındaki standardının belirlenmesi amacıyla çalışma yapılmış ve etmenin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun (MIC) 1 mM olduğu belirlenmiştir. Patojen olmayan bakterilerin genel profillerinin çıkarılması amacıyla temsilen seçilen 70 izolat MALDI-TOF MS analizi ile teşhis edilmiştir. Patojen olmayan bakterilerin teşhis sonuçlarına göre; isolatların büyük çoğunluğunun *Bacillus* cinsine dahil olduğu belirlenmiştir. Çalışmada; *Stenotrophomonas* spp.’nin sert çekirdekli bitkilerde patojen olabileceği ve kanser belirtisine neden olabileceği ancak güven aralığı daha geniş ilave çalışmalarla desteklenmesi gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyokimyasal özellikler, MALDI-TOF MS, PCR, Sert çekirdekli bitkiler, *Stenotrophomonas rhizophila*

ABSTRACT

DETECTION OF BACTERIAL DISEASE AGENTS IN STONE FRUIT TREES IN ADIYAMAN, DİYARBAKIR AND MARDİN PROVINCES

Bayman, Serkan

Doctoral Thesis in Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Hamit Kavak

June 2023, 162 pages

A survey study was carried out in order to determine bacterial agents in Adıyaman, Diyarbakır and Mardin, which are the prominent provinces of the Southeastern Anatolia Region in stone plant cultivation, in 2019-2021. In the survey studies, samples were taken from plants with symptoms of bacterial disease such as chlorosis, necrosis, bacterial exudate, cancer, leaf spot, expulsion of plant organs (flower and bud dropping), tissue abnormalities (tumor). In the survey studies carried out by chance, 218 bacterial isolates were obtained from 174 infected plant samples. Isolates obtained from almond and mahaleb diseased samples were identified by biochemical, MALDI-TOF MS and 16s rDNA sequence analysis. As a result of diagnostic studies, 10 isolates isolated from almond and mahlep found to be pathogenic were *Stenotrophomonas* spp.. In addition, it has been determined that the aforementioned bacteria may cause cancer and gum disease. In the study, it was determined that the prevalence rate of cancer symptoms in almonds in Adıyaman, Diyarbakır and Mardin provinces varied between % 35-100, and the disease rate was in the range of % 0,127-0,67. According to the biochemical, pathogenicity tests on carrot discs and sequence analysis with IAALF-IAALR specific primers results of 4 olive isolates isolated from Derik district of Mardin province, they have been identified as *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (*Psv*). In addition, it was determined that the prevalence rate of *Psv* in olives in Adıyaman and Mardin varied between % 50 and 75, whereas the disease rate was % 0,017 in Adıyaman and % 33 in Mardin. It was determined that *Stenotrophomonas* spp. isolated from almond by the host line study, caused disease in 8 different stone fruit plants, except for the silverberry and cranberry, in artificial inoculations, and thus these are hosts. In addition; It was determined that oleander, which is among the hosts of *Psv*, and especially pink oleander caused a severe reaction by *Psv*. A study was carried out to determine the copper sulfate tolerance and standard in nutrient agar medium of *Stenotrophomonas rhizophila* and it was determined that the Minimum Inhibition Concentration (MIC) of the factor was 1 mM. For general profiling of non-pathogenic bacteria, 70 representative isolates were identified by MALDI-TOF MS analysis. According to the diagnostic results of non-pathogenic bacteria; It was determined that the majority of the isolates were included in the genus *Bacillus*. In the study; It was concluded that *Stenotrophomonas* spp. may be pathogenic in stone fruit plants and cause cancer symptoms, but it should be supported by additional studies with a wider confidence interval.

Keywords: Biochemical properties, MALDI-TOF MS, PCR, Stone fruits, *Stenotrophomonas rhizophila*

1. GİRİŞ

Dünya’da özellikle 1950’li yıllardan günümüze değin geçen süre zarfında meyve üretim ve tüketimi konusunda kayda değer gelişmeler yaşanmıştır. Bu gelişmelerin ortaya çıkmasında etken olan faktörler arasında; yaş meyvelerin mamul ve yarı mamul şekilde işlenerek raf ömrünün ve tüketim olanaklarının arttırılması ön plana çıkmıştır. Bunların yanında insanların seyahat koşullarının iyileşmesi ve buna bağlı olarak farklı tropik meyveleri tanıma ve tatma fırsatlarının çeşitlenmesi, depolama, muhafaza, üretim ve işleme teknolojilerinin iyi yönde gelişmesi, ayrıca meyvelerin yetiştirilmesi, tüketimi ve besin içerikleri hakkında geniş kapsamlı bilgi edinilmesiyle sağlık üzerine olan etkileri hususundaki farkındalığın artması gibi faktörleri sıralamakta mümkündür (Gül ve Akpınar, 2006; Samson, 1980; Storey, 1969).

Kuzey Yarım Kürenin orta kuşağında yer alan Türkiye; dar kıyı şeritlerinin eşlik ettiği dağlık araziler ile çevrelenen, nispeten düz bir merkeze sahip, tarıma elverişli topraklara haiz bir ülkedir. Türkiye dağları, ovaları, çok sayıdaki akarsu ve gölleri ile çevresel çeşitlilik açısından oldukça zengindir. Ayrıca ülkenin yaklaşık 1/4’ü orman ve ağaçlık alanlarla kaplıdır. Söz konusu çeşitlilik, iklim ve bitki örtüsünde belirgin bir farklılık olarak kendini göstermekte ve Türkiye’yi birçok meyve türünün menşei ve çeşitlilik merkezi yapmaktadır (Ercisli, 2009).

Türkiye, bitki gen kaynakları ve bitki çeşitliliği açısından da dünyanın en önemli ve özgün ülkelerinden birisidir. Yakın Doğu ve Akdeniz Havzası gibi iki önemli gen merkezine ev sahipliği yapması ülkenin bu konumunda önemli bir rol oynamaktadır. Türkiye’de yaprağını döken meyve türlerinin neredeyse tamamını içeren 85’in üzerindeki sıcak ılıman, soğuk ılıman, tropik ve subtropik meyve türü yetiştirilebilmektedir (Ercisli, 2004). Yetiştiriciliği yapılan birçok meyve türü içerisinde sert çekirdekli meyveler, özellikle son yıllarda yeni tesis edilen bahçeler ile tarımda ve tüketimde ön plana çıkmaktadır.

Yüksek besin değerleri ve arzu edilen tadı nedeniyle sert çekirdekli meyvelere küresel talep fazladır. Sert çekirdekli meyveler; karakteristik odunsu bir iç kabuk, etli bir orta doku ve ince bir dış kabuktan oluşan ve çoğunlukla *Prunus* cinsine dâhil olan

bir meyve grubudur. Söz konusu bitkilerdeki meyve, dölleme niteliğindeki yumurtalığa sahip bir çiçekten gelişir ve çiçek sapı çevresinde çiçek kalıntısı yoktur. *Prunus* cinsinde meyvenin bir tarafından aşağı doğru uzanan karakteristik bir sütur (meyvenin kotiledon birleşme çizgisi) vardır ve bu özellikle bazı şeftali ve nektarin çeşitlerinde belirgindir. Sert çekirdekli meyvelerin ana ihracatçı ülkeleri; Güney Yarımkürede Şili ve Güney Afrika, Kuzey Yarımkürede ise İspanya ve Türkiye'dir. Ticari olarak yetiştiriciliği yapılan türlerin kökenleri genellikle Asya ve Güney Avrupa'dır. Bunlardan Japon kayısı; Japonya'ya özgü yerli bir kayısı türüdür. Erik; Kafkasya kökenli bir tür olarak bilinmekle birlikte günümüzde, Yunanistan ve Güney Avrupa'nın diğer bölgelerinin de menşei olduğu düşünülmektedir. Ancak kökeninin Suriye olabileceğine dair farklı görüşler de mevcuttur. Kayısının anavatanı Ermenistan, Arabistan ve Orta Asya'nın yüksek bölgeleridir. Ayrıca Kabil ve Kuzey Çin yakınlarında yabani türlerinin olduğu kaydedilmiştir. Bademin kökeni ise Batı Asya, Hazar, Lübnan, Mezopotamya ve Türkiye etrafındaki çeşitli bölgelerdir. Şeftali; milattan önce (M.Ö.) 10. yüzyılda Çin'de, M.Ö. 4. yüzyılda İran'da ve bundan yaklaşık 4 yüzyıl sonrada Avrupa'da olmak üzere farklı bölgelerde kültüre alınmıştır. Nektarin; 16. yüzyılda Avrupa'da ve 1720 yılında ise Amerika'da şeftalinin farklı bir kültür formu olarak yetiştirilmiştir (Brady, 1993; Riva ve ark., 2020). Bunların haricinde geçmişten günümüze yabani formları tüketilip daha sonra kültüre alınan ve halihazırda üretim ve tüketimi yaygın olan farklı sert çekirdekli meyve türleri de vardır.

Asya ve Avrupa ülkeleri başta olmak üzere dünyanın pek çok ülkesinde, badem (*Prunus amygdalus* Batsch, syn. *Prunus dulcis* (Miller) D.A. Webb), erik (*Prunus domestica* L.), iğde (*Elaeagnus* sp.), kayısı (*Prunus armeniaca* L.), kızılıçık (*Cornus mas* L.), kiraz (*Prunus avium* L.), mahlep (*Prunus mahaleb* L.), nektarin (*Prunus persica* var. *nucipersica* Schneid.), şeftali (*Prunus persica* L.), vişne (*Prunus cerasus* L.) ve zeytin (*Olea europaea* L.) sert çekirdekli meyvelerin önemli türlerini oluşturmakta, bir kaçı hariç diğerleri ekonomik olarak üretilmektedir. Bahsi geçen bitkilerden farklı olarak badem, sert kabuklu meyveler grubu altında incelenmekte ancak botanik ve akrabalık ilişkileri açısından sert çekirdekli meyve olarak kabul edilmektedir (Das ve ark., 2011; Duru ve ark., 2022; Eroğul ve Hepaksoy, 2013; Karadeniz ve ark., 2019; Küden ve ark., 2014; Soylu, 2012).

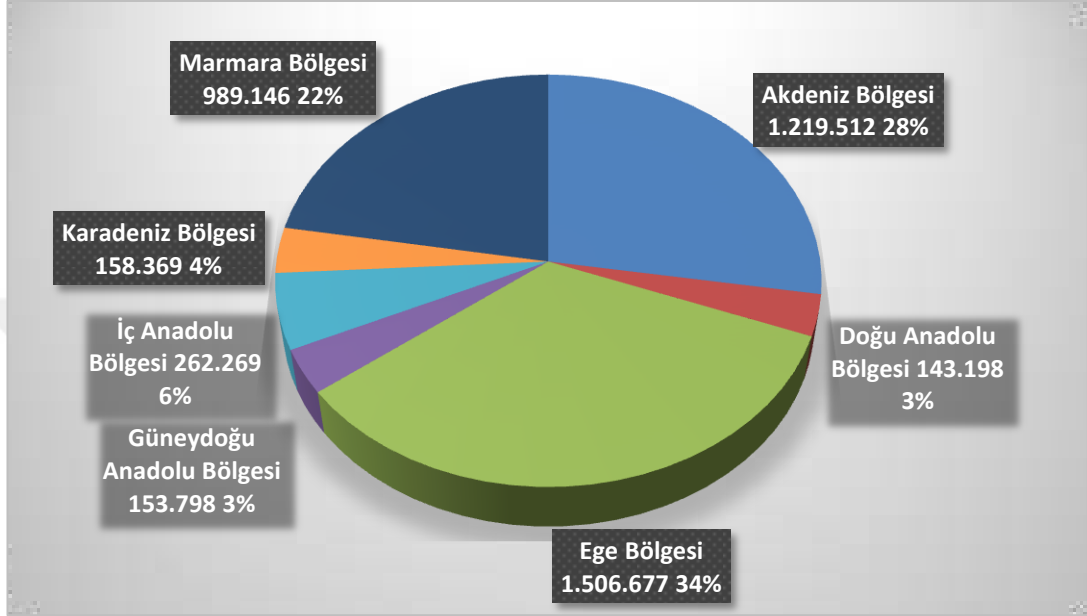
Dünya’da 79.784.774 hektar (ha) alanda toplam 914.807.726 ton meyve üretimi yapılmaktadır. Sert çekirdekli meyveler ise 20.390.521 ha alanda yapılan yetiştiricilik faaliyetleri neticesinde elde edilen 73.605.665 tonluk miktar ile Dünya meyve üretiminin % 8,4’ünü teşkil etmektedir. Meyve yetiştiriciliğinde önde gelen ülkelerden birisi olan Türkiye; 2.288.042 ha alanda yapılan 25.628.941 tonluk üretim ile Dünya meyve üretiminin % 2,8’ini karşılamaktadır. Türkiye’de meyvecilik faaliyetleri ile elde edilen ürünlerin % 17,41’ini ise 1.245.007 ha alanda yetiştirilen toplam 4.463.953 ton miktar ile sert çekirdekli meyveler oluşturmaktadır. Mevcut üretimi ile Türkiye, Dünya sert çekirdekli meyve üretiminde % 6,06’lık bir paya sahiptir (FAO, 2020).

Türkiye’de üretim miktarları baz alındığında ekonomik anlamda yetiştiricilikte ön plana çıkan sert çekirdekli meyveler sırasıyla; yağlık zeytin, kayısı, şeftali, kiraz, sofralık zeytin, erik, vişne, nektarin, badem, kızılcık ve içde (Şekil 1.1). Bunların haricinde mahlep; özellikle Mardin ilinde kapama meyve bahçeleri şeklinde yetiştirilen ya da kiraz için anaç olarak kullanılabilen diğer bir önemli sert çekirdekli meyvedir. Halk arasında idris ağacı, yaban kirazı, taş kirazı, meltem gibi farklı isimlerle de bilinen mahlep; yaş meyve olarak tüketiminin yanı sıra günümüzde hamur işleri veya çeşitli tatlıların yapımında kullanılan baharat olarakta tüketilebilmektedir.



Şekil 1.1 Türkiye’de ekonomik anlamda üretimi yapılan sert çekirdekli meyveler ve üretim miktarları (TÜİK, 2021)

Türkiye’deki sert çekirdekli meyve üretimi coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. TÜİK (2021) istatistik verileri değerlendirildiğinde; Ege Bölgesi % 34, Akdeniz Bölgesi % 28, Marmara Bölgesi % 22, İç Anadolu Bölgesi % 6, Karadeniz Bölgesi % 4, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu Bölgeleri ise % 3’lük üretimleri ile sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğine katkı vermektedirler (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 Türkiye sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinde coğrafi bölgelerin üretim yüzde ve miktarları

Güneydoğu Anadolu Bölgesi 1.122.934 dekar (da) alandaki 153.798 tonluk bir üretimin yanı sıra son yıllarda yeni tesis edilen çeşitli sert çekirdekli meyve bahçeleri ile yaygın anlamda yetiştiricilik faaliyetlerini arttırmıştır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi içerisinde yer alan Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illeri ise sert çekirdekli meyve türlerinin önemli üretim merkezleridir. Adıyaman ili 134.281 da alanda badem ve zeytin başta olmak üzere çeşitli sert çekirdekli bitkilerden 179.317 tonluk bir üretime sahiptir. Mardin ili ise 42.640 da alanda kiraz, sofralık zeytin ve bademin öncülük ettiği toplam 53.354 tonluk bir üretim ile bölgedeki sert çekirdekli meyve üretimine katkı vermektedir. Diyarbakır ili ise 16.380 da alandaki badem, kiraz, kayısı gibi pek çok farklı sert çekirdekli meyve türünden toplam 22.745 tonluk bir üretime sahiptir. Söz konusu illerden Diyarbakır, insanların ilk yerleşim yerlerine ev sahipliği yapan Mezopotamya Bölgesine hayat veren Dicle nehrinin yanında kurulmuştur. Diyarbakır ve Şanlıurfa illeri arasında bulunan Karacadağ’dan püsküren volkanik lavların soğuması ile oluşmuş bazalt taşı ve bu taşın binlerce yıllık çözünmesi sonucu oluşan verimli topraklar, Diyarbakır’ın tarımsal verimliliğini zenginleştirmektedir. Ayrıca Dicle nehri kıyısında bulunan ve Dünya kültür mirası

listesinde yer alan Hevsel Bahçeleri, Diyarbakır'ın meyve üretimine katkı sunmaktadır. Güneydoğu Anadolu Projesi'nin (GAP) sağladığı sulama imkanları ve meyvecilik için uygun iklim özelliklerinin yanı sıra geniş ve verimli tarım arazileri ile Diyarbakır, meyvecilik için büyük bir potansiyele sahiptir. Diyarbakır son yıllarda özellikle sert çekirdekli bitkileri ihtiva eden yeni bahçelerin tesis edilmesi ile mevcut potansiyeline ulaşmaya başlamıştır.

Sert çekirdekli bitkilerin ekolojik istekleri ve yetiştiricilik koşulları benzerlik göstermekle birlikte yüksek verim ve kaliteli ürün için optimum şartların sağlanması elzemdir. Badem; kış soğuklarına oldukça dayanıklı bir bitki olup yetiştiriciliğini sınırlayan en önemli faktörlerden birisi ilkbahar geç donlarıdır. Bademin birçok ılıman bitki türüne göre erken çiçek açması ilkbahar geç donlarından etkilenmesinde önemli bir etkidir. Özellikle don zararının etkin olabileceği yörelerde geç çiçek açan çeşitlerin seçilmesi faydalı olmaktadır. Badem kumlu-tınlı topraklarda en iyi sonucu vermekle birlikte derin olmak kaydıyla kurak, taşlı, çakıllı veya kireçli topraklarda da yetişebilmektedir (Küden ve ark., 2014). Bademin toprak seçiciliğinin az olması kıraç arazilerin değerlendirilmesinde kullanımını yaygınlaştırmaktadır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde kendi gelen acı badem üzerine aşılama yoluyla ya da daha çok orta kuvvetli bir çeşit olan Ferragnes ve tozlayıcı olarak ise Ferraduel çeşidi kullanılarak tesis edilen kapama bahçeler şeklinde badem üretimi yapılmaktadır.

Kiraz ve vişne; derin topraklarda ve taban suyu sorunu olmayan yerlerde iyi yetişmektedirler. Kiraz; yaz aylarının pek sıcak geçmediği ve yüksekliğin 1.000 metreyi (m) aşmadığı yerlerde iyi şekilde gelişmektedir. Vişne ise karasal iklimlerde; soğuk kış şartlarına ve ayrıca yaz ayındaki yüksek sıcaklık ve kuraklığa iyi dayanım göstermektedir. Aynı zamanda ilkbahar donlarından geç çiçeklenmesi nedeniyle daha az etkilenmektedir (Başkaya, 2011; Bolat ve Pırlak, 1998; Engin ve Akçal, 2013).

Kayısı bitkisinde toprak derin ve nemli ise meyveler daha iri ve sulu olmakta ve bu meyveler çoğunlukla sofralık olarak değerlendirilmektedir. Toprakların kıraç olduğu yerlerde yetiştirilen kayısıların meyvesi ise daha küçük olmakta ve kuru madde miktarı yüksek olduğu için tercihen kurutmalık olarak kullanılmaktadırlar.

Meyvelerin genellikle iyi geliştiği toprak yapısı olan tınlı, kumlu-tınlı, tınlı-kireçli topraklar kayısı yetiştiriciliği içinde uygundur. Çiçek tomurcuklarının dökülüp yaprak tomurcuklarında düzensiz uyanmaların olmaması için soğuklanma ihtiyacı yetiştirilen yere uyumlu çeşitlerin seçilmesi ve ilkbahar geç donlarına karşı gerekli önlemlerin alınması önemlidir (Koçal, 2011).

Şeftali; Dünya’da 30°-45° kuzey-güney enlem dereceleri arasındaki ılıman ve subtropik bölgelere adapte olmuştur. Nektarin ise farklı bir meyve türü olmayıp şeftalinin 3 alt kültür formundan birisidir ve tüysüz şeftali olarakta bilinir (Eroğlu ve Mısırlı, 2012). Farklı iklim şartlarına uyum sağlamada başarılı olan şeftali bitkisi; şiddetli kış soğuklarından ve düşük yaz sıcaklıklarından olumsuz etkilenebilmektedir. İlkbahar donları şeftali yetiştiriciliğinde erken çiçeklenmesi nedeniyle dikkat edilmesi gereken diğer bir husustur. Tınlı, kumlu, çabuk ısınan ve alüviyal karakterde, potansiyel hidrojen (pH)’i 6-7 olan topraklar şeftali ve nektarin yetiştiriciliği için oldukça elverişlidir (Gür, 2011).

Erik yetiştiriciliğinde farklı özellikteki alt gruplarının bulunması sebebiyle iklim istekleri açısından değişiklikler görülmektedir. Anavatanı Anadolu coğrafyası olan *Prunus cerasifera* L. Türkiye’deki iklim koşullarına iyi uyum sağlayabilmektedir. Avrupa grubundan olan erik türleri, kış ayları biraz daha soğuk geçen soğuk ılıman iklim koşullarında iyi sonuçlar verirken, Japon grubu erik türleri daha yumuşak iklim koşullarını tercih etmektedir. Toprak istekleri açısından da erik bitkisi alt gruplara ve kullanılan anaca göre farklılıklar göstermektedir. Can-Papaz erik grubuna dahil anaçlar, yüzeysel bir gelişim sergileyip saçak kök oluşturma eğilimindeyken, Avrupa grubu daha derin bir kök sistemine sahiptir ve dolayısıyla ağır, killi ve nemli topraklarda kolaylıkla yetiştirilebilmektedir (Karamürsel, 2011).

Oleaceae (Zeytingiller) familyasına dahil olan zeytin, tarih boyunca önemini yitirmemiş ve insan beslenmesindeki yerini korumuştur. Bu familyanın 25 cins ve yaklaşık 600 türlük çeşitliliği çoğunlukla subtropik ve tropik iklim kuşağında bulunan bölgelere yayılmış durumdadır. Bunlardan *Olea* cinsine dahil olan ve yenilebilir 2 meyve türüne sahip *Olea europaea* (zeytin) için Akdeniz Bölgesi ılıman iklimi en ideal iklim koşullarını sunmaktadır. Zeytin yetiştiriciliği için; kışları ılık ve

yağışlı, yazları kurak ve sıcak geçen, yıllık 400-800 milimetre (mm) yağış alan yerler uygundur. Zeytin toprak isteği açısından pek seçici olmamakla birlikte nispeten kireçli-kumlu ve derin toprakları sevmektedir (Öztürk ve ark., 2019; Pirgün, 2007; Tokuşoğlu, 2010).

Toprak özellikleri ve iklim koşullarının yanı sıra sert çekirdekli bitkilerde yetiştiriciliği olumsuz etkileyen farklı abiyotik ve biyotik stres etkenleri bulunmaktadır. Birçok ülkede, sert çekirdekli meyve türlerinde verim ve kaliteyi sınırlayan, fungus, bakteri, virüs, viroid gibi canlı kökene bağlı hastalık etmenleri kaydedilmiştir.

Sert çekirdekli meyve ağaçlarında karşılaşılan bazı önemli fungal hastalık etmenleri arasında; yaprak kıvrıcıklığı *Taphrina deformans* [(Buerk.), Tulasne], karaleke *Venturia carpophila* (E. E. Fisher), külleme *Sphaerotheca pannosa* var. *persicae* (Woronichin), yaprak delen-çil *Wilsonomyces carpophilus* [(Lév.) Adaskaveg, Ogawa ve Butler], Monilya (Mumya) veya kahverengi çürüklük, *Monilinia fructigena* [(Aderh. ve Ruhl.) Honey], kiraz ve vişnede yaprak lekesi *Blumeriella jaapii* [(Rehm), von Arx], et leke hastalığı *Polystigma ochraceum* [(Wahlenberg), Saccardo], zeytinde halkalı leke hastalığı *Venturia oleaginea* [(Cast.), Rossman ve Crous], erik pası *Tranzschelia pruni-spinosae* [(Pers.), Dietel], ve eriklerde cep hastalığı *Taphrina pruni* [(Fuckel), Tulasne] sayılabilir (Kurt, 2013). Bunların dışında dünyada sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerde özellikle *Cytospora* kanseri (*Cytospora* spp. Ehrenberg), *Ceratocystis* kanseri (*Ceratocystis* spp.), *Fusarium* ve *Verticillium* solgunluk hastalıkları yaygın olarak karşılaşılan ve yetiştiricilik faaliyetlerinde önemli sorunlara yol açan diğer fungus kökenli hastalıklardır (Ogawa ve ark., 1995; Sipahioğlu ve ark., 2004). Fungal hastalıklar özellikle mevsimsel sıcaklık ve nem gibi koşulların hastalığın optimal seyrine paralellik ettiği şartlarda, meyvelerin kalite ve kantitesinde ciddi oranda kayıplara neden olabilmektedirler.

Sert çekirdekli meyvelerde ürün kayıplarına neden olan ve aynı zamanda yetiştiricilik faaliyetlerini sınırlayan pek çok virüs hastalığı yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Sert çekirdekli meyvelerde sorun oluşturan başlıca etmenleri; Erik

Şarka (PPV), Erik Cücelik (PDV), Elma Mozaik (ApMV), Elma Klorotik Yaprak Leke (ACLSV) ve Erik Nekrotik Halkalı Leke (PNRSV) virüsleri olarak özetlemek mümkündür (Dunez, 1990; Sipahioğlu ve ark., 2004).

Bakteriler, bitkilerinde dahil olduğu birçok canlıyla ilişki içerisinde olan tek hücreli ve optik aletler yardımıyla incelenen mikroorganizmalardır (Çınar, 1990). Bakterilerin bitkilerde hastalıklara neden olabildiği 19. yüzyıla kadar bilinmeyen bir gerçek olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak Amerikalı T. J. Burrill'in 1878 yılında Illinois Üniversitesinde yapmış olduğu bir çalışma ile armut ağaçlarında ateş solgunluğu hastalığına neden olan etmen olarak ilk kez bir bakteriyi izole etmesi bu gerçeği açığa çıkarmıştır. Günümüzde ateş yanıklığı hastalığı etmeni *Erwinia amylovora* olarak isimlendirilen bu bakterinin keşfi, ardından yapılacak birçok çalışmaya da öncülük etmiştir (Karaca, 1977). Erwin F. Smith 1920 yılında su, toprak ve hava gibi farklı ortamlarda bulunabilen bitki patojeni bakterilerin neden olduğu 60 bitki familyasına dahil 150 farklı bitkide bakteriyel hastalıkların meydana geldiğini tespit etmiştir. Ardından Bergey, yapmış olduğu çalışmaların neticesinde 1930 yılında bitkilerde patojen olan 93 bakteri türü olduğunu belirlemiştir. Elliott isimli araştırmacı ise aynı yıllarda fitopatojen bakteri varlığının 177 olduğunu kaydetmiştir. Bitki patojeni bakteri sayısının 300'ün üzerinde olduğunu düşünüldüğü 1960'lı yıllardan sonra bakteriler üzerine pek çok çalışma yapılmıştır (Karaca, 1966). Günümüzde Dünya'da ve Türkiye'de kaydedilmiş, bitkilerde önemli verim ve kalite kayıplarına neden olan 450'nin üzerinde fitopatojen bakterinin varlığı bilinmektedir ve bu sayı yeni çalışmalar ile günden güne artmaktadır (Saygılı ve ark., 2014).

Sert çekirdekli bitkilerdeki biyotik stres faktörleri içerisinde bakteriyel etmenlerin sınırlı mücadele imkanları göz önünde bulundurulduğunda, oldukça fazla öneme sahip olduğu ortaya çıkmaktadır. Sert çekirdekli meyve türlerini hastalandıran bakteriyel etmenlerden bazıları; Bakteriyel yanıklık ve bakteriyel kanser (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall, *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* (Wormald) Young), şeftalide bakteriyel geriye doğru ölüm (*Pseudomonas syringae* pv. *persicae*), bakteriyel yaprak lekesi (*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*), kök boğazı uru hastalığı (*Rhizobium radiobacter*), Pierce

hastalığı (*Xylella fastidiosa*), zeytin dal kanseri (*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*), badem dal kanseri (*Pseudomonas amygdali*), Avrupa sert çekirdekli sarılık fitoplazması (*Candidatus Phytoplasma prunorum*) olarak özetlenebilir. Bunların dünya genelinde sert çekirdeklilerdeki tespiti 20. yüzyılın başına kadar gitmekte, ancak sayısal olarak bu oran giderek artış sergilemektedir (Wilson, 1953). Türkiye’de ise bazı sert çekirdekli hastalandıran bakteriyel etmenler, Örneğin; kayısıda *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ve kirazda *P. syringae* pv. *mosprunorum* bundan yaklaşık 70 yıl kadar önce tespit edilmiştir (Bremer, 1954). Ancak zaman içerisinde, farklı bölgelerdeki sert çekirdekli üzerinde gerek bu etmenlerin ve gerekse yeni bakteriyel etmelerin varlığı, yaygınlık ve zarar düzeyleri hakkında ilave kayıtlar yapılmıştır (Bülbül ve Mirik, 2014; Gormez ve Sahin, 2012; Karaca, 1977; Kavak ve Çıtır, 1995; Kavak ve Üstün, 2009; Kotan ve ark., 2006; Mirik ve ark., 2016; Ogawa ve ark., 1995; Türkoğlu ve ark., 1974).

Güney Doğu Anadolu Bölgesi içerisinde yer alan Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde sert çekirdekli meyve türlerinin yetiştiriciliği hususunda artışlar ve değişkenlikler söz konusu olup, badem ve kiraz başta olmak üzere farklı çeşitlerle geniş alanlarda kapama bahçeler kurulmuş ve kurulmaya devam etmektedir. Farklı bölgelerden ve farklı çeşitlerden fidan girişlerine bağlı olarak da yeni bakteriyel etmelerin veya pasif konumdaki bakteriyel etmenlerin yaygınlık kazanması ve belki de salgın boyutuna geçebilmesi ihtimali mevcuttur. Söz konusu bu husus sebebiyle sert çekirdekli meyve türlerinde hastalık oluşturan bakteriyel etmenler hakkında ayrıntılı bir çalışmanın yapılmasına ihtiyaç hasıl olmuştur. Bu bağlamda Güneydoğu Anadolu Bölgesinin en önemli illeri konumunda bulunan Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde bulunan sert çekirdekli meyvelerdeki bakteri türlerinin tespiti, yaygın tür veya türlerin temel biyokimyasal özellikleri ve konukçu dizisinin belirlenmesi uygulanacak mücadele yöntemleri açısından önem oluşturmaktadır.

Çalışmada; Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde yapılan sörvey çalışmalarında sert çekirdekli bitkilerden izole edilen bakteriyel etmenlerin MALDI-TOF MS, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), biyokimyasal testler gibi farklı yöntemlerle teşhisinden sonra yaygın patojene ait konukçu dizisi ve bakır sülfat toleransının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Sonuç olarak; bahsi geçen veya henüz tespit edilemeyen bakteriyel patojenlerin durumunun ortaya konulması sağlıklı üretimlerin devamı için elzem görülmektedir. Doktora tezi kapsamındaki çalışmada; bakteriyel hastalık tehdidinin ana hatlarının belirlenmesi, konukçu dizisi sayesinde ise, aynı patojen kökenlerine yönelik etkin mücadele olanaklarının sağlanması amaçlanmaktadır. Aynı zamanda çalışmada farklı yöntemlerin kullanılması, mücadele stratejileri açısından önem arz eden, zamanla ortaya çıkabilecek aynı türün farklı virülensliğe sahip varsa varyantlarının tespiti aşamasında yardımcı olabilecektir.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Sert Çekirdekli Meyvelerdeki Patojen Bakteriler ile İlgili Genel Çalışmalar

Lopez ve ark. (2010), yapmış oldukları bir çalışmada; sert çekirdekli bitkilerde hastalık oluşturan başlıca bakteri patojenlerinin *Agrobacterium rhizogenes*, *A. tumefaciens*, *Psm*, *Psp*, *Pss*, *P. amygdali* ve *Xap* olduğunu vurgulamışlardır. Bu bakterilerin çoğunun tespiti için güncellenmiş standart protokollerin genel bir eksikliği olduğundan, bu etmenlerin izolasyonu için en uygun besiyeri, serolojik reaktifler, PCR ve Real-time PCR protokolleri ve bunların bitki örneklerindeki bu patojenlerin analizindeki doğrulukları hakkında yeterli veri olmadığına dikkati çekmişlerdir. Çalışmada moleküler yöntemler değerlendirildiğinde sert çekirdekli bitkilerde sorun oluşturan *Agrobacterium* türleri için çok sayıda, *Xap* için son çıkan birkaç PCR protokolü olduğunu ancak patojen *Pseudomonas* türleri tarafından üretilen siderofor ve toksinler PCR protokollerinin bitki materyalinden teşhis veya tespit için kullanılacak kadar spesifik olmadığı sonucuna ulaşıldığını bildirmişlerdir. Ancak sert çekirdekli bitkilerde patojen *Pseudomonas* türleri için moleküler yaklaşımların tanımlama amacıyla diğer testlerle birlikte kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Scortichini (2010), yapmış olduğu bir çalışmada; ekonomik öneme sahip hastalıklara neden olan birçok patojen için hala edinilmesi gereken büyük bir bilgi birikimi olduğunu belirtmiştir. Araştırmacı, bakteri kaynaklı sert çekirdekli meyve türlerinin bazı önemli hastalıklarının başlıca epidemiyolojik yönlerini ve predispozan faktörlerini özetlediğini ifade etmiştir. Kayısı (*Prunus armeniaca* L.), şeftali (*P. Persicae* L.), kiraz (*P. avium* L.), vişne veya ekşi kiraz (*P. cerasus* L.) ve Avrupa eriğinin (*P. domestica* L.) dünya çapında *Pseudomonas syringae*'nin iki pathovarı olan *Pss* ve *Psm* tarafından şiddetli olarak saldırıya uğrayan sert çekirdekli meyve türleri olduğunu ifade etmiştir. Aynı zamanda çalışmada, *Xap*'ın şeftali, kayısı, Japon eriği (*P. salicina*) ve bademdeki (*Amygdalus communis* L.) bakteriyel leke hastalığına sebep olan etmen olduğu bildirilmiştir.

Sulikowska ve Sobiczewski (2008), yapmış oldukları bir çalışmada; Polanya'nın çeşitli bölgelerindeki sert çekirdekli meyve bahçelerinden, 62 örnek vişneden, 80 örnek kirazdan, 94 örnek erikten ve 44 örnek şeftaliden olmak üzere toplam 280

hastalıklı bitki örneği topladıklarını ve bunlardan yaklaşık 130 fluorescent *Pseudomonas* izolatu elde ettiklerini ifade etmişlerdir. LOPAT testleri sonucunda 110 izolatu *Pseudomonas syringae* olarak teşhis edildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar GATTa testleri sonucunda ise; 31 izolatu (- - + +) *Psm* race 1, 37 izolat (+ - - -) *Psm* race 2, 42 izolat (+ + - -) *Pss*, tütünde pozitif reaksiyon veren 6 izolat *Pseudomonas viridiflava*, 1 izolatu ise *Psv* olarak tanılandığını kaydetmişlerdir. Çalışmada ayrıca; *Pss* izolatlarının vişne ve erikte, *Psm* ırk 1 izolatlarının kiraz ve erikte, *Psm* ırk 2 izolatlarının ise vişne bitkilerinde daha sık görüldüğü sonucuna ulaşıldığını belirtmişlerdir.

Vanneste ve ark. (2005), yapmış oldukları bir çalışmada; Yeni Zelanda'daki sert çekirdekli meyve bahçelerinde bakteriyel kanser (*Pss*) ve bakteriyel yanıklık (*Xap*) gibi hastalıkların kontrolünde bakırlı bileşiklerin ve streptomycinin yoğun olarak kullanıldığını belirtmişlerdir. Otago merkezinde bulunan Clyde Araştırma Merkezinde bulunan bahçelerdeki nektarinlerden izole edilen 120 bakterinin, yaklaşık % 50'sinin bakıra dirençli olduğunu ancak 117 bakterinden sadece 12'sinin (% 10) streptomycine dayanıklı olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca aynı bahçedeki nektarinlerden izole edilen 45 *Pss* izolatının 26'sının (% 58) uygulamadan önce 500 mg/L bakıra dayanıklı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar sert çekirdekli meyve bahçelerinden 48 örnekten 35'inin test edildiğini ve bakteri izolatlarının yarısından fazlasının 500 mg/L bakıra dayanıklı olduğunu tespit edildiğini kaydetmişlerdir. İlave olarak, test edilen toplam 306 bakteri izolatından sadece 5 *Xanthomonas* sp. izolatının bakıra dayanıklı olduğunu ancak hiçbirinin streptomycine dayanıklı olmadığını belirtmişlerdir.

Wilson (1933), yapmış olduğu bir çalışmada; sert çekirdekli meyvelerdeki zamk akıntısı olgusunun 19. yüzyılın başlarından beri birçok çalışma ile araştırıldığını vurgulamıştır. Genel olarak çoğu araştırmacının zamk akıntısının nedeni olarak, iklim ve toprak faktörlerinin olduğuna inandığını ifade etmiştir. Ancak Brzezinski (1902)'nin Polonya'da yaptığı ve Aderhold ve Ruhland'ın (1905) ise Almanya'da yürüttükleri çalışmalar neticesinde, sert çekirdekli bitkilerde kanser hastalığına neden olan bakteriyel etmenlerin de zamk akıntısı belirtisi oluşturduğunu tespit edildiğini bildirmiştir. Kanserli dokulardan yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda; yeşil

renkli pigment üreten floresan özellikli bir bakteri ile üretmeyen farklı bir bakterinin tespit edildiğini kaydetmiştir. Her iki bakteri grubunun da inokule edildikleri erik, şeftali, kayısı ve kiraz bitkilerinde benzer belirtiler oluşturduğunu belirtmiştir.

Young (1987), yapmış olduğu bir çalışmada; Yeni Zelenda'da sert çekirdekli bitkilerdeki ana bakteriyel hastalık etmenlerinin; sert çekirdekli bitkilerde bakteriyel leke hastalığı etmeni *Xap*, kayısı ve kiraz bitkilerinde bakteriyel kanser hastalığı etmeni *Pss*, özellikle şeftali ve nektarin bitkilerinde bakteriyel gerileme hastalığı etmeni *Psp* olduğunu vurgulamıştır. Mücadele uygulamalarının bu hastalıkların sert çekirdekli bitkilerdeki görülme sıklığı üzerine önemli etkisi olduğunu belirtmiştir. Çalışmanın amacının; fidanlıklardaki çeşitlerin duyarlılıkları, kök sağlığının duyarlılık üzerine etkisi, anaç ve aşılama, budama, sulama yöntemi, don kontrolü ve ilaçlama uygulamalarının söz konusu bakteriyel etmenler üzerine etkisinin belirlenmesi olduğunu bildirmiştir. Bahsi geçen uygulamaların tek başına veya çoğunlukla birlikte uygulandığında bakteriyel hastalık etmenlerinin verdiği zararı azaltmada etkili olduğunu kaydetmiştir.

Žežlina ve ark. (2016), yapmış oldukları bir çalışmada; son 20 yılda Slovenya'da sert çekirdekli meyve üretiminin önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. Meyve bahçelerinin yeniden tesisine birçok faktörün engel olduğunu, bu faktörlerden en önemlisinin ise çeşitli hastalıkların sık görülmesi olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmada, Slovenya'daki sert çekirdekli meyve ağaçlarında bulunan en önemli hastalıkların; Avrupa sert çekirdekli sarılık fitoplazması, şarka virüsü, bakteriyel yaprak lekesi, *Pseudomonas* türlerinin neden olduğu bakteriyel hastalıklar, çok yıllık kanserler ve *Fusicoccum* kanseri olduğu belirtilmiştir.

2.2 *Pseudomonas syringae* ve Patovaryları ile İlgili Çalışmalar

Roos ve Hattingh (1986a), patojenik *Pseudomonas* türlerinin aktif, büyüyen tomurcuklarda dormant haldeki tomurcuklara nazaran daha fazla olacak şekilde, sert çekirdekli bitkilerdeki sağlıklı görünen birçok tomurcuktan izole edildiğini ifade etmişlerdir. Patojen bakterilerin izole edildiği hastalıklı tomurcukların 1982 yılında yapılmış olan örneklemedeki aylara göre değişiminin; Ocak % 0, Şubat % 2, Nisan % 2, Mayıs ayı başı % 6, Mayıs ayı ortası % 12, Haziran % 28 ve Temmuz % 15 olduğunu kaydetmişlerdir. Araştırmacılar çalışmada patojenik *Pseudomonas*

türlerinin sert çekirdekli bitkilerin tomurcuklarında yerleşik bir faza sahip olduğunu ve ayrıca bu tomurcukların Güney Afrika'daki sert çekirdekli bitkilerde görülen bakteriyel kanser hastalığı için inokulum kaynağı olabileceğini belirtmişlerdir.

Gormez ve ark. (2013), yapmış oldukları bir çalışmada; Erzurum ili civarındaki enfekte olmuş kayısı ağaçlarından bakteriyel izolatların çalışıldığını belirtmişlerdir. Hastalıklı kayısı örneklerinden toplam 104 adet bakteriyel izolat elde edip bunları *Pseudomonas* spp. olarak tanımladıklarını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar hipersensitif reaksiyon (HR) ve patojenisite testleri sonucunda; ırkların 67'sinin *Pss* olduğunu, diğerlerinin ise HR negatif ve kayısıda patojen olmadıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca dayanıklılık çalışması verilerinin, test edilen kayısı çeşitlerinin hiçbirisinin *Pss*'ye karşı dayanıklı olmadığını kaydetmişlerdir. İlave olarak; en hassas çeşidin Hacıhaliloğlu, en tolerant çeşitlerin ise Şekerpare, Roxana ve Hasanbey olduğunu belirtmişlerdir.

Konavko ve ark. (2014), yapmış oldukları bir çalışmada; *Pseudomonas syringae*'nin (*Ps*) neden olduğu bitki hastalıklarının, dünyanın pek çok bölgesinde ortaya çıktığını ve çok geniş konukçu dizisine sahip olduğunu vurgulamışlardır. Meyve üretiminin yoğun olduğu bölgelerde *Ps* patovaryalarının neden olduğu hastalıkların sert çekirdekli bitkilerde ekonomik açıdan önemli kayıplara yol açabildiğini belirtmişlerdir. Oluşan kaybın ciddiyetinin ve ekonomik öneminin coğrafi bölgeye, konukçu bitkiye ve *Ps* patovaryasına göre değişkenlik gösterdiğini ifade etmişlerdir. *Pss*'nin neden olduğu bakteriyel kanser ve zamklanma hastalığının ticari olarak yetiştirilen tüm sert çekirdekli bitkilerde görülmesine karşın *Psm*'nin ağırlıklı olarak kiraz ve eriklerde şiddetli kayıplara neden olduğunu kaydetmişlerdir. Buna karşın *Pseudomonas syringae* pv. *persicae* (*Psp*)'nin neden olduğu bakteriyel hastalığın daha çok nektarin ve şeftali bitkilerinde şiddetli olduğunu belirtmişlerdir.

Popovic ve ark. (2021), yapmış oldukları bir çalışmada; Karadağ'da sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinin yoğun ve yarı-yoğun yetiştiricilik faaliyetleri şeklinde yürütüldüğünü vurgulamışlardır. Ancak badem üretiminin çoğunlukla aile üretimi ile sınırlı ve hane içi tüketim amacıyla yapıldığını ifade etmişlerdir. Karadağ'da farklı coğrafi bölgelerde 2017-2018 yıllarındaki sörvey çalışmaları ile kayısı, şeftali,

nektarin, kiraz, Japon eriği ve badem bitkilerindeki bakteriyel hastalık etmenlerinin tespitinin amaçlandığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar yaprak, yaprak sapı, ve meyve lezyonları, dal veya dal kanserleri ile nekrotik tomurcuklardan toplam 29 adet izolat elde edildiğini ve ayrıca morfolojik, patojenik, biyokimyasal, ve moleküler özelliklerine göre tanılarının yapıldığını bildirmişlerdir. İzolatlarının patojenitesinin ilgili konukçu bitkilerin yaprak, meyve ve dallarında oluşan belirtilerin yeniden gözlenmesiyle belirlendiğini kaydetmişlerdir. Biyokimyasal testlerin izolatların *Pseudomonas syringae* olduğunu gösterdiğini ifade etmişlerdir. Ancak izolatların karakterizasyonunun fenotipik ve moleküler özelliklerde farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir. BOX primeri kullanılarak yapılan rep-PCR sonuçlarının izolatların yüksek genetik çeşitliliğini ortaya çıkardığını bildirmişlerdir. Ayrıca test edilen tüm izolatların in vitro olarak bakır sülfata önemli düzeyde direnç ve streptomisin sülfata ise yüksek düzeyde duyarlılık gösterdiğinin tespit edildiğini kaydetmişlerdir.

Roos ve Hattingh (1986b), yapmış oldukları bir çalışmada; Güney Afrika'daki Free State eyaletinde bulunan Ficksburg kasabasından kiraz ve Western Cape eyaletinde bulunan Stellenbosch kasabasından ise erik ve kayısı bitkilerinden, 81-82 yıllarında hastalık belirtisi gözlenmeyen sağlıklı yapraklardan örnekleme yapıldığını belirtmişlerdir. Yetiştirme periyodunda yapılan örnekleme neticesinde bakteri izolatları elde edildiğini ve bu izolatlara Kovacs oksidaz, levan, GATTa testleri ile HR ve patojenisite testleri uygulandığını bildirmişlerdir. Yapılan tanılama çalışmaları ile *Pss*, *Psm* ve birkaç ara form bakterinin teşhis edildiği ifade etmişlerdir. Güney Afrika'nın kışın yağışlı periyodunda erik ve kayısı ağaçlarında baskın etmenin *Pss* olduğunu buna karşın, hem yaz aylarında hem de kışın yağışlı periyodunda kiraz yetiştiriciliğinde *Psm* bakterisinin baskın olduğunu kaydetmişlerdir. Ayrıca her iki bakterinin de sert çekirdekli bitkilerin hastalık belirtisi gözlenmeyen yapraklarında bulunabildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar çalışmanın sonucunda; kiraz yapraklarındaki patojen bakteri varlığının yaz başlarında ve sonbahar sonlarında daha yoğun olduğuna dikkat çekmişlerdir. Erik ve kayısı bitkilerindeki patojen bakteri varlığının ise bahar ve sonbahar aylarında daha yoğun olduğunu buna karşın sıcak ve kurak yaz aylarında en düşük seviyede olduğunun tespit edildiğini ilave etmişlerdir.

Husseini ve Akköprü (2020), yapmış oldukları bir çalışmada; Batı Ege Bölgesi ve Van Gölü Havzasındaki sert çekirdekli bitkilerden izole edilmiş *Pss* ve *Psm* bakterilerinin bakıra dayanıklılık seviyelerini, dayanıklılık mekanizmalarını ve bu etmenlere karşı farklı bakırlı preparatların etkinliğini belirlemeyi amaçlamışlardır. Bu kapsamda öncelikle izolatların bakır sülfat ve farklı bakırlı bileşiklerdeki minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) ve ölümcül doz (LD_{50}) değerlerinin hesaplandığını ifade etmişlerdir. İzolatların bakıra dayanıklılık mekanizmasını ve siderofor üretimini belirlemek için Fe/Cu Blue-CAS agar besi ortamlarının kullanıldığını ve *copA* ve *cusA* genlerinin varlığının araştırıldığını belirtmişlerdir. Bakır sülfatta en yüksek MIC değerinin 2 milimolar (mM) olduğunu ve en etkili bakırlı bileşiğin ise $(CuSO_4+Ca(OH)_2)$ +mancozeb olduğunu kaydetmişlerdir.

Bultreys ve Kaluzna (2010), yapmış oldukları bir çalışmada; *Pss* ve *Psm*'nin neden olduğu bakteriyel kanser hastalığının ekonomik öneminin ve ayrıca etkili kontrol önlemlerinin bulunmamasının, patojenlerin ekolojisi, karakterizasyonu ve tanımlanması ile ilgili son çalışmaları teşvik ettiğini ifade etmişlerdir. Günümüzde yeni tanılama tekniklerinin; ekolojik ve patolojik açıdan önemli pyoverdin ve yersiniabaktin sideroforları ile koronatin ve toksik lipodepsipeptidleri içeren fitotoksinlere dayandığını aktarmışlardır. Ayrıca çalışmada; tekrarlanan diziler (rep-PCR), erime profilleri (PCR MP), DNA dizisi (MLST) gibi toplam DNA homolojisine dayanan genetik metotların *Psm*'ye ait her biri genetik olarak homojen olan ve *Pss*'ye ait yüksek ölçüde heterojen olan 3 farklı patojenin varlığını kanıtladığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak; sert çekirdekli meyve ağaçlarındaki bakteriyel patojenleri daha fazla karakterize etmenin ve bunların konukçuya özelleşmelerini belirlemenin gerektiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda araştırmacılar; özgül tanılama metotlarının geliştirilmesi ile patojen ekolojisi ve patojenisite içeren faktörler üzerine ileriki çalışmaların yapılmasının gelecekte geliştirilecek verimli önleyici koruma yöntemleri, hastalığa dayanıklılık için yetiştirme stratejileri ve yenilikçi hastalık kontrol önlemleri için bir zaruriyet olduğunu kaydetmişlerdir.

Donmez ve ark. (2010), yapmış oldukları bir çalışmada; kayısıda *Pss*'nin neden olduğu bakteriyel kanserin son yıllarda Türkiye'de özellikle Malatya ilinde geniş

ölçüde yayılmış olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmanın temel amacının, Türkiye’de yetiştirilen kayısı çeşitlerinin *Pss* kaynaklı bakteriyel kansere karşı direncinin belirlenmesi olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar Malatya’da 2006-2007 yetiştirme periyodu esnasında hastalıklı kayısı ağaçlarından bakteri izolatları alıp bunlardan 53 adet *Pseudomonas syringae* izolatu elde ettiklerini belirtmişlerdir. Bu izolatlardan 42’sini *Pss*, 11’ini ise *Psm* olarak kaydetmişlerdir. Sonuç olarak, patojenite testi uyguladıkları 15 kayısı çeşidinden (Alyanak, Çataloğlu, Çöloğlu, Erken Ağelik, Hacıhaliloğlu, Hasanbey, İsmailağa, Kabaası, Karacabey, Sakit 2, Soğancı, Şam, Şekerpare, Tokaloğlu (Erzincan) ve Turfanda Eski Malatya) Hasanbey, Çöloğlu, Soğancı ve Şekerpare kayısı çeşitleri dayanıklı, Şam ve Tokaloğlu (Erzincan) kayısı çeşitleri ise hassas olarak bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca bu çalışmanın, Türkiye’de yetiştirilen kayısı çeşitlerinde *Pss*’ye karşı dayanıklı kaynakların ilk kaydı olduğunu öne sürmüşlerdir.

Bülbül ve Mirik (2014), Tekirdağ ilinde gerçekleştirmiş oldukları bir çalışmada; kiraz bitkilerinde kalite ve kantitede ciddi azalmalara neden olan önemli hastalıklardan birisinin bakteriyel kanser ve zamklanma hastalığı olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmada Tekirdağ ilinde 2012-2013 yıllarında gerçekleştirilen sörvey çalışmaları neticesinde 129 enfekteli bitki örneği toplandığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar; hastalığın yaygınlık oranının % 20-57 arasında değişen oranlarda olduğunu ve enfeksiyon belirtisi gözlenen ağaçlardaki hastalık şiddetinin ise % 20-85 oranında değiştiğini tespit etmişlerdir. İzolasyon çalışmalarının akabinde yapılan test ve analizler neticesinde; 41 izolatu *Pseudomonas syringae* olduğunu ve bunlardan 23 izolatu *Psm*, 18 izolatu ise *Pss* bakterisi olduğunu kaydetmişlerdir.

Akköprü (2016), yapmış olduğu bir çalışmada; sert çekirdekli bitkilerin özellikle Türkiye’nin doğu kesimlerindeki yetiştiricilik faaliyetlerinde ekonomik anlamda önemli bir payı olduğunu ifade etmiştir. Çalışmada söz konusu bölgede yer alan Van Gölü Havzasının, aynı zamanda İran’a sınırı olması sebebiyle *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (*Xap*) gibi karantinaya tabi bitki patojenlerinin geçişinde de etkili olabileceği için kayısı, erik, şeftali, kiraz ve vişne bitkilerindeki bakteriyel etmenlerinin durumunun ortaya konulmasının amaçlandığı belirtilmiştir. Araştırmacı bu kapsamda 92 sert çekirdekli meyve bahçesinden 69 hastalıklı bitki örneğinin

toplandığını bildirmiştir. Elde edilen izolatlar LOPAT, GATTa ve ham vişne meyvelerinde patojenisite testleri ile 27f/1492r primerleri ile 16S rRNA sekans analizi ve spesifik primerlerle moleküler analizlerin yapıldığını belirtmiştir. Çalışmanın sonucunda; *Xap* varlığına rastlanılmadığı tüm patojenlerin *Pseudomonas syringae* patovaryları olduğu ve bu patojenlerin % 44'ünün *Pss*, % 56'sının ise *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* (*Psm*) olduğu kaydedilmiştir.

Kaluzna ve Sobiczewski (2009), yapmış oldukları bir çalışmada; kiraz, vişne, kayısı ve erik bitkilerinin farklı organlarında hastalık belirtisi gözlenen dokulardan yapılan izolasyon neticesinde 23 *Pseudomonas syringae* patovary (*Pss*, *Psm* ırk 1 ve *Psm* ırk 2) elde ettiklerini belirtmişlerdir. İzolatların syringomycin üretiminin pepton-glikoz-NaCl agar ile test edildiğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar izolatların virülensliğini belirlemek için ham kiraz meyvelerine bakteri izolatlarının inokule edildiğini ve 4 günlük inkübasyon süresi sonunda sonuçların değerlendirildiğini kaydetmişlerdir. Tüm *Pss* izolatlarının koyu siyah-kahverengi nekrozlar oluştururken *Psm* izolatlarının kahverengimsi, su emmiş gibi görünen yüzeysel lezyonlar oluşturduğunu bildirmişlerdir. *Pss* izolatlarının virülensliğini temsil eden nekroz boyutlarının syringomycin üretimleri ile paralellik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca *Psm* ırk 2'nin *Psm* ırk 1'den daha virülens olduğunu belirtmişlerdir.

Kaluzna ve ark. (2010a), yapmış oldukları bir çalışmada; İtalya ve Polonya'daki kiraz, vişne, erik ve ceviz bitkilerinden toplam 33 adet bakteriyel izolat elde ettiklerini ve ilk olarak geleneksel tekniklerle tanımladıklarını bildirmişlerdir. Klasik yöntemlerle yapılan teşhis sonucunda; 16 izolatın *Pss*, 12 izolatın *Psm* ırk 1 ve 5 izolatın ise *Psm* ırk 2 olarak tanımlandığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar toksin üretiminin tespiti ile 16 *Pss* izolatından 11'inin *syrB* genine sahip olmasına karşın *Psm* ırk 1'den 3 izolatın *cfl* genine ve *Psm* ırk 2'den 3 izolatın *yersiniabactin* (*irp1*) kodlayan gene sahip olduğunu gösterdiğini kaydetmişlerdir. Ayrıca BOX ve ERIC primerler setleri kullanılarak yapılan Rep-PCR'ın fenotipik olarak tanımlanan patovar ve ırklarla tutarlı 3 ayrı küme ortaya çıkardığını belirtmişlerdir. Bunlar arasında tek istisnanın ise *irp1* genine sahip olmayan 2 adet *Psm* ırk 2 izolatlarının olduğunu kaydetmişlerdir. Bu kapsamda, hem BOX hem de ERIC primerleri kullanılarak yapılan analiz sonucunun *Pss* izolatlarının fenotipik sonuçları ile daha

benzer olduğunu gösterdiğini vurgulamışlardır. Çalışmada ayrıca multilocus sekans tiplemesi (MLST) için 20 temsili izolat kullanıldığını ve sonuç olarak; *gyrB*, *gapA*, *gltA* ve *rpoD* genlerinin MLST analizinin, izolatları *Pss*, *Psm* ırk 1 ve 2'ye karşılık gelen 3 ayrı kümeye net bir şekilde tahsis edilmesini sağladığını bildirmişlerdir.

Kaluzna ve ark. (2010b), yapmış oldukları bir çalışmada; kiraz, vişne, erik, şeftali ve kayısı sert çekirdekli bitkilerindeki hastalık belirtisi gözlenen dokulardan 30 adet floresan *Pseudomonas* izolatından LOPAT testleri ile 23 tanesinin *Pseudomonas syringae* olarak tanımlandığını ifade etmişlerdir. İzolatların GATTa ve L-laktat kullanım testleri ile ileri karakterizasyonu neticesinde; 10 izolatın *Psm* ırk 1, 6 izolatın *Psm* ırk 2, 6 izolatın ise *Pss* olarak tanımlandığını bildirmişlerdir. İzolatların toksin üretiminin fenotipik tespiti ve genetik analizleri sonucunda; *Pss* izolatlarının syringomycin, *Psm* ırk 1 izolatlarının koronatin ve *Psm* ırk 2 izolatlarının ise yersiniabactin ürettiğini belirlendiğini kaydetmişlerdir. İzolatların genetik çeşitliliğinin PCR erime profili (PCR MP) ile değerlendirildiğini belirtmişlerdir. PCR MP modeli ile oluşturulan dendogramın fenotipik olarak ayırt edilen patovarlarla pozitif korelasyon gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca *Psm* ırk 1 ve ırk 2 izolatlarının farklı ve daha sıkı küme oluştururken *Pss* izolatlarının daha heterojen bir kümelenme oluşturduğunu ifade etmişlerdir.

Kaluzna ve ark. (2016), yapmış oldukları bir çalışmada; geleneksel ve gerçek-zamanlı PCR yöntemleri kullanılarak sert çekirdekli bitkilerdeki bakteriyel kansere sebep olan etmenlerin tespiti amacıyla spesifik primerlerin geliştirildiğini vurgulamışlardır. *Pseudomonas syringae* izolatlarının çeşitliliğinin analizi için kullanılan PCR erime profilinin (PCR MP), *Psm* ırk 1 ve *Psm* ırk 2'ye özgü amplifiye fragmanların tam olarak belirlenmesine izin verdiğini belirtmişlerdir. Elde edilen veriler kullanılarak spesifik dizi ile karakterize edilen amplifiye bölge (SCAR) primerlerinin tasarlandığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca *Pseudomonas* cinsine ait farklı bakteri ırklarından izole edilen genomik DNA'yı kullanan geleneksel ve gerçek-zamanlı PCR (Real-time PCR)'ın seçilen primerlerin özgünlüğünü doğruladığını bildirmişlerdir.

Gormez ve Sahin (2012), yapmış oldukları bir çalışmada; Türkiye'nin Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde 2002-2004 yılları arasında yetiştirilen sert çekirdekli meyvelerden (şeftali, kayısı, erik, kuru erik, kiraz, vişne, badem) elde edilen hastalıklı bitki örneklerinden bakteriyel flora izole ettiklerini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, tüm bakteriyel ırkların morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal testler ile yağ asidi metil ester (FAME) analizi ve karbon kullanım profillerini içeren geleneksel ve moleküler teknikler kullanılarak tanımlandığını ifade etmişlerdir. Ayrıca FAME analizine göre 39 cinse ait toplam 365 bakteri ırkı belirlediklerini aktarmışlardır. Bunlar arasında 2 farklı *Pseudomonas* türüne dahil 69 ırkın şeftali, kayısı ve kirazı içeren orijinal konukçularındaki patojenite testleri ve tütünde aşırı duyarlılık testleri esas alınarak patojen olduklarını kanıtladıklarını bildirmişlerdir. Çalışmada Sherlock Mikrobiyal Tanımlama Sistemi (MIS) sonuçlarına göre; en yaygın patojenik bakteriyel ırkların *Pseudomonas syringae* (% 94,2) ve *Pseudomonas fluorescens* (% 5,8) olduğunu kaydetmişlerdir. Ayrıca biyokimyasal test (LOPAT ve GATTa) sonuçlarına göre; izole edilen bakteriyel ırkların çoğunun *Pss* olduğunu rapor etmişlerdir.

Roos ve Hattingh (1986c), yapmış oldukları bir çalışmada; Güney Afrika'daki Franschhoek isimli kasaba yakınlarındaki Meyve ve Meyve Teknolojileri Araştırma Enstitüsü bünyesinde yetiştirilen kayısı ve erik bahçelerinde bulunan *Amaranthus deflexis* (Sarkıkibik), *Sonchus oleraceus* (Eşek marulu) ve *Oxalis pescaprae* (Güzel ekşi tırfil) yabancı otlarından 1981-1982 yıllarında ekim ve haziran ayları arasında örnekleme yapıldığını bildirmişlerdir. Örnekleme neticesinde 12 izolat elde edildiğini ve izolatlara levan, buz çekirdeği aktivitesi, HR testi, GATTa testleri, syringomycin üretim testi ile erik yapraklarında patojenisite testinin uygulandığını kaydetmişlerdir. Araştırmacılar test sonucunda 10 izolatın bakteriyel kanser ve zamklanma hastalığı etmeni olan *Pss* olarak teşhis edildiğini ve ayrıca sert çekirdekli bitkilerin mevsim dışı zamanında söz konusu bakteriyel etmenin yabancı otlarda epifitik halde bulunabildiği sonucuna ulaşıldığını ifade etmişlerdir.

Çetinkaya Yıldız ve ark. (2015), yapmış oldukları bir çalışmada; Türkiye'nin Doğu Akdeniz Bölgesinde özellikle son zamanlarda sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinin arttığını ve 2012 yılında *Pss*'nin neden olduğu bakteriyel kanser hastalığının bölgede

ilk kez tespit edildiğini belirtmişlerdir. Çalışmada, 2014 yılı Şubat ve Mayıs ayları arasında söz konusu hastalığı tespit etmek amacıyla Adana, Mersin ve Hatay illerinde sörvey çalışması gerçekleştirildiğini ifade etmişlerdir. Sörvey çalışmaları neticesinde toplam 68 sert çekirdekli meyve bahçesinin incelendiğini ve Adana ile Mersin illerinde hastalık belirtisi gözlenmediğini bildirmişlerdir. Ancak Hatay ilinde 3 kayısı ve 1 erik bahçesinde hastalığın bulunduğunu kaydetmişlerdir. Hastalığın tespit edildiği bahçelerde erik ve kayısı meyvelerinde siyah, çökük lezyonların ve yaprak dokusunda ise klorotik, nekrotik lezyonların gözlendiğini belirtmişlerdir. İzolasyon çalışmaları neticesinde kayısıdan 15, erikten ise 5 adet izolatın elde edildiğini ifade etmişlerdir. Patojenisite, LOPAT ve GATTa testleri sonucunda elde edilen tüm izolatların *Pss* olarak teşhis edildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar söz konusu çalışma ile bakteriyel kanser hastalığının erik ve kayısı ağaçlarındaki hastalık oranının ve erik bitkisindeki varlığının ilk kez tespit edildiğini belirtmişlerdir.

Mirik ve ark. (2016), tarafından yapılmış olan bir çalışmada; kirazda verim ve kaliteyi düşüren, ağaçları kurutan bakteriyel kanser hastalığı etmenlerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, Tekirdağ ili kiraz bahçelerinde 2012-2013 yılları arasında gerçekleştirilmiş olan sörvey çalışmaları neticesinde hastalık belirtisi gösteren 150 adet bitki örneği toplamışlardır. Tekirdağ ilinde sörveye dahil edilen tüm bahçelerde hastalığın görüldüğünü, ayrıca hastalık oranının % 20-57, hastalık şiddetinin ise % 20-85 oranında olduğunu tespit etmişlerdir. Laboratuvarında yapmış oldukları izolasyon çalışmaları sonucunda 60 adet *Pseudomonas syringae* izolatı elde etmişlerdir. Yaptıkları LOPAT testleri sonucu; izolatların oksidaz, pektolitik aktivite, arjinin dihidrolaz negatif, tütünde hipersensitif reaksiyon ve levan özelliklerinin pozitif olduğunu belirlemişlerdir. Test etmiş oldukları izolatların GATTa özelliklerini; *Pss* olarak tanımlanan 32 izolat için (++--), *Psm* olarak tanımlanan 28 izolat için ise (--++) olarak kaydetmişlerdir. Tesadüfen seçmiş oldukları izolatların yağ asidi analizlerine göre % 62-90 oranında benzerlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Moleküler testlerdeki spesifik primerler ile 28 adet izolatın 650 bp tekrarlanabilir bant oluşturarak *Psm* olduğunu ve 32 adet izolatın ise 752 bp tekrarlanabilir bant oluşturması sebebiyle *Pss* olarak tanımlandığını ifade etmişlerdir.

Kaluzna (2019), yapmış olduğu bir çalışmada; 2013-2018 yıllarında kızcık bitkisi yapraklarında düzenli şekilli küçük kahverengimsi lekelerin yanı sıra yaprak sapından genişleyen nekrotik alanlar veya geniş nekrotik lezyonların gözlendiğini bildirmiştir. Ayrıca 2016 yılında ise kırmızı hasır kızcık bitkisi yapraklarında 4 mm çapında nekrotik merkezli koyu kırmızı-kahverengi lekelerin gözlendiğini belirtmiştir. Hastalıklı dokulardan *Pseudomonas* cinsinin morfolojisine benzer floresan bakterilerin izole edildiğini ifade etmiştir. LOPAT ve geniş konukçu yapraklarında yapılan patojenisite testleri neticesinde; izolatların *Pseudomonas syringae* olduğunun tespit edildiğini kaydetmiştir. Fitotoksin gen kodlarının tespiti ile ilgili analizler sonucunda 6 kızcık izolatından 5'inin yersiniabactin (*irpI*), kırmızı hasır kızcık izolatının ise syringomisin (*syrB*, *syrD*) genlerine sahip olduğunun belirlendiğini ifade etmiştir. 16s rRNA dizi analizi ile kızcık izolatlarının daha çok ceviz patojeni *Pseudomonas avellane*'ye benzer olduğunu ve kırmızı hasır kızcık izolatının ise *Pss* olarak tanımlandığını belirtmiştir.

Ertimurtaş ve zaktan (2020), yapmış oldukları bir çalışmada; şeftali, badem ve kiraz bitkilerinden izole edilmiş 15 izolatın klasik ve moleküler yöntemlerle tanısının yapıldığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bakteri izolatlarının tanısında; LOPAT ve GATTa biyokimyasal testlerinin yanı sıra buz çekirdeği aktivitesi (INA) ve ham kiraz meyvelerinde patojenisite testlerinden yararlandıklarını ifade etmişlerdir. GATTa testlerinde farklılıklar görülmesi zerine *Pseudomonas syringae* patovarlarının kesin teşhisi amacıyla syringomycin ve coronatine sentezinden sorumlu genleri hedefleyen spesifik primerlerle moleküler analizler yapıldığını belirtmişlerdir. Çalışmanın sonucunda; 15 *Pseudomonas syringae* izolatından 9 tanesinin *Pss* olarak kesin teşhisinin yapıldığını kaydetmişlerdir.

Akbaba ve zaktan (2021a), yapmış oldukları bir çalışmada; Türkiye'de kiraz yetiştiriciliğinde bakteriyel kanser ve zamklanma hastalığına farklı birçok patojenin neden olabildiğini ve bu hastalık sebebiyle verim ve kalitede önemli kayıpların ortaya çıkabildiğini belirtmişlerdir. Çalışmada kiraz bitkisinde bakteriyel kanser ve zamklanma hastalığına neden olabilen *Pseudomonas syringae* patovarlarının klasik ve moleküler tekniklerle tanısını ve bakteriyofajların *Pseudomonas syringae*'ye karşı biyokontrol etkinliğinin değerlendirilmesini amaçlamışlardır. Araştırmacılar İzmir ve

Manisa illerindeki kiraz bahçelerinde bakteriyel kanser belirtisi gözlenen ağaçlardan 44 adet hastalıklı bitki örneği topladıklarını bildirmişlerdir. Alınan bitki örneklerinden yapılan izolasyon çalışmaları ile elde edilen izolatlarla yapılan patojenisite, levan, Kovacs oksidaz, pektolitik aktivite, arjinin dihidrolaz, tütünde hipersensitif reaksiyon reaksiyonu (LOPAT), jelatin hidroliz, esculin hidroliz, tyrosin ve tartarik asit kullanımı (GATTa) ve spesifik primerlerle moleküler testler sonucunda; 10 adet izolatin *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (*Pss*) olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada, kesin tanısı yapılan *Pss* izolatlarına karşı bakteriyofajların etkinliğinin denendiğini ve 9 farklı bakteriyofajın etkili bulunduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda elde edilen bulguların; bakteriyofajların *Pseudomonas syringae* patovarlarına karşı etkin olarak kullanımının mümkün olduğu görüşünü desteklediğini kaydetmişlerdir.

Akbaba ve Özaktan (2021b), Bakteriyel Kanser ve Zamklanma Hastalığı etmeni *Pss*'ye karşı in vivo ve in vitro koşullarda yararlı bakterilerin biyokontrol etkinliklerini belirlemek amacıyla bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu bağlamda İzmir ve Manisa illerindeki bakteriyel kanser belirtisi gözlenen kiraz bahçelerindeki sağlıklı bitkilerden 44 adet örnek almışlardır. Alınan bitki örneklerinden yapmış oldukları izolasyon çalışmaları neticesinde 86 adet yararlı bakteri izolatu elde etmişlerdir. Elde edilen izolatların antibiyosis aktivitesini belirlemek amacıyla in vitro koşullarda uyguladıkları testler sonucunda, 12 adet bakteri izolatını in vivo koşullarındaki denemeler için seçmişlerdir. Araştırmacılar; iklim odası koşullarında yetiştirilen kiraz bitkileri üzerinde patojene karşı etkinlikleri denenilen bu 12 izolatın, 4 adet izolatin patojeni % 50'nin üzerindeki bir oranda engelleyerek önemli ölçüde biyokontrol etkisi gösterdiklerini belirtmişlerdir. Ayrıca 16s rRNA gen sekansı kullanılarak yapılan moleküler tanılama çalışmaları sonucunda *Pantoea* sp. (3 izolat) ve *Erwinia* sp. (1 izolat) olduğu belirlenen bu 4 izolata ilave olarak; 1 *Bacillus* sp. ve 1 *Erwinia* sp. izolatinın daha biyokontrol potansiyelinin yüksek olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Dillon ve ark. (2021), yapmış oldukları bir çalışmada; Almanya'dan 4, Hollanda'dan 1, İsviçre'den 1 ve 10 adet erik ve kayısı izolatını da içeren Türkiye'nin farklı bölgelerinden 169 *Pseudomonas* izolatını multilokus dizi analizi ve tam genom

dizilimi yoluyla tanımlamışlar ve ardından varsayılan virülenslik mekanizmalarını karakterize etmeyi amaçlamışlardır. Araştırmacılar; izolatların çoğunun *Pseudomonas syringae*'nin birincil filogrupları arasına dağılmış olan diğer bitki patojenleri ile yakın ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca bunların arasında rizosfer bölgesinde yaşayan ve bitki büyümesini teşvik ettiği bilinen önemli sayıda *Pseudomonas fluorescens* izolatının olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmada 19 farklı konukçudan 13 farklı hastalığa neden olan bakterilerden, uzak olarak ilişkili *Pseudomonas* izolatlarının aynı konukçada bulunabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca bulguların birden fazla konukçada hastalığa neden olmak için çeşitlenen bakterilerin monofiletik patovoruslar oluşturmadığı görüşünü desteklediğini kaydetmişlerdir.

Eğerci ve ark. (2021), yapmış oldukları bir çalışmada; farklı bitkilerden izole edilmiş 33 adet saprofit ve patojen bakterinin bakırlı bileşiklere karşı toleransını belirlemeyi amaçlamışlardır. Bu bağlamda in vitro koşullarda gerçekleştirilen test sonuçlarında; bademden izole edilmiş 2 *Pss* izolatı ile 2 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, 1 *Acidovorax citrulli* ve 1 *Pseudomonas fluorescens* izolatının bakır sülfata karşı duyarlılıklarının azaldığını tespit etmişlerdir. Ancak söz konusu bakterilerin sıvı bakır sülfat ve nano bakır uygulamalarında duyarlılıklarının oldukça fazla olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar ayrıca antagonist özellikteki bakterilerin bakırlı preparatlara karşı duyarlılıklarında azalış gözlemiş ve bu durumun entegre mücadele açısından olumlu olduğu değerlendirmesini yapmışlardır.

Javadi-Dodaran ve ark. (2022), yapmış oldukları bir çalışmada; sert çekirdekli meyve bahçelerinde yaygın olarak bulunan yabancı otlardan izole edilen endofit bakterilerin, bakteriyel kanser ve zamklanma hastalığı etmeni *Pss* karşı etkinliğinin belirlenmesinin amaçlandığını vurgulamışlardır. Bu kapsamda İran'ın Kuzey Batısında 2017-2019 yıllarında yapılan çalışma neticesinde sert çekirdekli bahçelerden yabancı ot örnekleri toplandığını ve endofit bakteri izolatlarının elde edildiğini bildirmişlerdir. Endofit izolatların antagonist özelliklerinin belirlenmesi için kloroform testi uygulandığını kaydetmişlerdir. Endofit 112 izolattan, 34 tanesinin *Pss*'yi engelleme etkisi gösterdiğini, bunlar arasında ise 3 tane izolatın yüksek etkinlik göstererek sonraki analizler için seçildiğini ifade etmişlerdir. Söz konusu 3 izolatın, 16s rDNA sekans analizi neticesinde; *Bacillus simplex*, *Bacillus*

mycodies ve *Arthrobacter* sp. olarak tanılandığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar etki mekanizmasının belirlenmesi analizleri sonucunda; *Bacillus simplex*'in bu 3 izolat içerisinde 181,76 miligram/litre (mg/L) ile en yüksek oksin üreten izolat olduğunu ve aynı zamanda hidrojen siyanür üreten tek izolat olduğunu bildirmişlerdir.

Öksel ve ark. (2022), yapmış oldukları bir çalışmada; bakteriyel kansere neden olan *Pss*'nin geniş konukçu dizisi nedeniyle *Pseudomonas syringae* kompleksindeki en polifag bakteri olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca söz konusu bakterinin kiraz bahçelerindeki ana bakteriyel hastalık etmeni olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada 2016-2018 yıllarında Türkiye'nin Marmara Bölgesinde bulunan farklı alanlardaki kiraz bahçelerinden hastalık belirtisi gözlenen örnekler toplandığını ve isolatlar elde edildiğini ifade etmişlerdir. Elde edilen isolatlara uygulanan patojenisite, LOPAT, GATTa ve MALDI-TOF analizleri neticesinde; 63 *Pss* izolatu elde ettiklerini kaydetmişlerdir. Toplam genomik Dna'nın izolasyonunu takiben *syrB* ve *cfl* genlerinin PCR amplifikasyonunun yapıldığını belirtmişlerdir. İzolatlar arasındaki ilişkiyi anlamak için; Rep-PCR ve çok odaklı sekans analizi için 63 izolattan 12 tanesinin rastgele olarak seçildiğini ifade etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda isolatların genetik olarak farklı 2 ana kümeye ayrıldığını, *Pseudomonas*'ların genetik değişkenlik gösterdiğini ve aynı zamanda popülasyonlar içinde bile farklı isolatlar arasında yüksek çeşitliliğin ortaya çıkabildiğini kaydetmişlerdir.

Vigouroux (1997), yapmış olduğu bir çalışmada; kışın dondan sonra iklime alışmış ağaçların gövdelerinin çözülmesinde su ile ıslatmanın kullanıldığını vurgulamıştır. Araştırmacı şeftali, kayısı, kiraz ve erik bitkilerinin bu işlemten sonra metil mavisi, eritrosin, Hint mürekkebi ve bakteriyel kanser ve zamklanma hastalığı etmeni *Psp* izolatu ile muamelede boyaların ve bakteriyel etmenin hızlı bir şekilde doku içinde yayılmasına izin verdiğini bildirmiştir. Bu sayede enfeksiyonun kolayca başladığını ve bakteriyel kanserin geliştiğini ifade etmiştir. Çalışmada ayrıca don döneminde ağaçların su içeriğinin, söz konusu bakterinin yayılma potansiyeli ve ortaya çıkan kanser belirtilerinin boyutu üzerinde belirgin bir etkisi olduğunu kaydetmiştir.

2.3 *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* ile İlgili Çalışmalar

Doksöz ve Bozkurt (2020b), Hatay ilinde gerçekleştirmiş oldukları bir çalışmada; zeytin dal kanseri etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* (*Psv*)'nin özellikle genç fidanlarda kurumlara neden olabilen önemli bir patojen olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar 2018 yılında Nisan-Mayıs aylarında gerçekleştirmiş oldukları sörvey çalışmalarında, 447 zeytin bahçesinin incelendiğini ve bunlardan 150 bahçede hastalığın tespit edildiğini belirtmişlerdir. Hastalığın yaygınlık oranı hesaplandığında Arsuz, İskenderun ve Samandağ ilçelerinin % 90 oranla en yüksek yaygınlık oranına sahip ilçeler olduklarını ancak Hassa, Kırıkhan, Kumlu ve Reyhanlı ilçelerinde hastalığın görülmediğini ifade etmişlerdir. Çalışmada ayrıca hastalığın Hatay ilinde oldukça yaygın olduğunu ve yaklaşık olarak gözlem yapılan her 3 bahçeden birisinde hastalığın görüldüğünü kaydetmişlerdir. Araştırmacılar hastalık etmeni *Psv*'nin tanısında gram boyama ve LOPAT testleri ile MALDI-TOF analizi ve moleküler tekniklerin kullanıldığını belirtmişlerdir. Moleküler çalışmalarda *PsvF*, *PsvR*, *IAALF*, *IAALR* spesifik primerlerinin kullanıldığını ve yapılan analizler sonucunda 14 adet izolatin *Psv* olarak kesin teşhisinin yapıldığını bildirmişlerdir.

Sisto ve ark. (2007), yapmış oldukları bir çalışmada; farklı konukçu türlerden ve çeşitli coğrafi bölgelerden izole edilen 71 *Psv* ırkının genetik çeşitliliğini floresan ile güçlendirilmiş fragman uzunluğu polimorfizmi (F-AFLP) analizi ile belirlediklerini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar çalışmanın 3 farklı seçici primer kombinasyonu kullanılarak yürütüldüğünü belirtmişlerdir. F-AFLP verilerinin küme analizine göre; tüm *Psv* ırklarının bir kümede gruplanarak yüksek derecede benzerlik gösterdiğini, grup dışı ırkların ise açıkça ayrı bir takson oluşturduğunu aktarmışlardır. *Pss*, *P. syringae* pv. *phaseolicola*, *P. syringae* pv. *glycinea*, *P. syringae* pv. *tagetis* ve *P. amygdali* ırklarını grup dışı olarak kaydetmişlerdir. AFLP analizinin *Psv*, *P. syringae* pv. *phaseolicola* ve *P. syringae* pv. *glycinea* ırklarının yerleştirilmesini desteklemede başarısız olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca çalışmada, zeytinden elde edilen *Psv* ırklarının 2 alt kümeye bölündüğünü rapor etmişlerdir.

Türkmenoğlu'nun (1965), 1964 yılında yapmış olduğu sörvey çalışmalarında Ege Bölgesi'nde (Aydın, Balıkesir, Çanakkale, Manisa, İzmir, Muğla ve Denizli) bulunan

45 milyondan fazla zeytin ağacının tahmini % 8'inde zeytin dal kanseri hastalığı etmeni *Psv* ile bulaşık olduğu belirtilmiştir. Çalışmada hastalık sebebiyle meydana gelen yıllık zeytin kaybının yaklaşık 1.500 ton olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı, antibiyotik ihtiva eden preparatların zeytin dal kanserine karşı etkili olduğunun 1960 ve 1961 yıllarında gerçekleştirilmiş olan laboratuvar denemelerinde tespit edilmesi üzerine 1961-1964 yılları arasında bu materyallerin arazi şartlarındaki etkinliğinin araştırılması hususunda denemeler kurduğunu aktarmıştır. Çalışmanın sonucunda, streptomycin ihtiva eden antibiyotiklerin 2.000 parts per million (ppm) dozunda ve ilave maddelerle birlikte, yaz aylarında tümörler üzerine sürülmek suretiyle iyi sonuçlar verdiği ifade edilmiştir.

2.4 *Candidatus Phytoplasma prunorum* ile İlgili Çalışmalar

Çağlayan ve ark. (2011), sert çekirdekli bitkilerdeki fitoplazma etmenleri üzerine yapmış oldukları bir çalışmada; kayısı, erik, şeftali ve bademde bildirilen ana belirtilerin damarlar arasında kloroz, erken tomurcuklanma nedeniyle sezon dışı çiçeklenme ve meyve tutumu, uzunlamasına yaprak kıvrılması ve çabuk geriye doğru ölüm şeklinde olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar 2002-2009 yıllarında Marmara, Akdeniz ve Ege Bölgelerindeki fidanlık, ticari bahçe ve yabani çeşitlerin bulunduğu alanlardan 500'den fazla örnek almışlardır. Alınan örneklerle P1/P7 ve fU5/rU3 primerleri ile PCR analizi uygulamışlardır. Test edilen bitkilerdeki "*Candidatus Phytoplasma prunorum*" enfeksiyonunun % 10,19 olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda; etmenin en sık görüldüğü bitkilerin sırasıyla; kayısı, erik, badem ve şeftali olduğunu, buna karşın kiraz ve yabani sert çekirdekli meyve türlerinde ise söz konusu etmenin tespit edilmediğini kaydetmişlerdir.

Eichmeier ve ark. (2019), yapmış oldukları bir çalışmada; "*Candidatus Phytoplasma prunorum*" (*CPp*)'un Avrupa ve civarındaki ülkelerde bulunan çoğu sert çekirdekli meyve yetiştirilen bölgede, en yıkıcı bitki patojeni etmenlerden birisi olduğunu vurgulamışlardır. Çalışmada 60 adet sert çekirdekli meyve ağacının floem dokularındaki bakteri varlığının tamamını belgelemenin amaçlandığını ifade etmişlerdir. Bakteri izolatlarının yuvalanmış PCR ve 2 gerçek-zamanlı PCR analizi kullanılarak *CPp* pozitif (Grup A) ve *CPp* negatif (Grup B) şeklinde belirlendiğini bildirmişlerdir. Floem dokularındaki bakteri popülasyonu bileşimlerini değerlendirmek için yüksek verimli amplikon diziliminin yapıldığını belirtmişlerdir.

Araştırmacılar floem dokusundaki bakteri bileşimini; esas olarak *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Methylobacterium*, *Sphingomonas* ve *Rhizobium* tarafından temsil edilen 118 farklı cinsten oluştuğunu kaydetmişlerdir. Ayrıca söz konusu çalışmanın sert çekirdekli bitkilerin floem dokusunda bir arada bulunan bakteri popülasyonu üzerine *CPp*'nin etkisinin analizine odaklanan ilk çalışma olduğunu ifade etmişlerdir.

Valasevich ve Schneider (2016), yapmış oldukları bir çalışmada; Avrupa sert çekirdekli sarılık fitoplazması hastalığının etiyolojik etmeni olan *Candidatus* Phytoplasma prunorum'un varlığına dair ilk sürvey çalışmasını, Samochvalovichi'deki Meyve Yetiştirme Enstitüsü'nün deneme arazisinde bulunan kayısı ağaçlarında yaprak sararması ve erken yaprak dökülmesi görüldüğü zaman, Belarus'ta 2014 sonbaharında gerçekleştirdiklerini belirtmişlerdir. Belirtilerin görüldüğü incelenen 6 kayısı ağacından birisinde evrensel 16S rDNA temelli PCR testi kullanarak fitoplazma tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, Belarus'ta kayısının yaygın olmadığını ve enfeksiyonun kökeninin bilinmediğini ifade etmişlerdir. Ayrıca yerel *CPp* ırklarının olası kaynağının patojenin belirti göstermeyen doğal konukçularından birisi olan kara diken (*Prunus spinosa*) olduğunu öne sürmüşlerdir. Araştırmacılar sonuç olarak; fitoplazma türlerinin 16S rDNA amplikon dizi analizi ile tanımlanmasının, kayısı ve kara diken ağaçlarının *CPp* tarafından enfekte edildiğini doğruladığını rapor etmişlerdir.

2.5 *Rhizobium radiobacter* ile İlgili Çalışmalar

Horuz ve ark. (2018), daha önce *Agrobacterium tumefaciens* olarak isimlendirilen *Rhizobium radiobacter* bakterisi üzerine yapmış oldukları bir çalışmada, etmenin süs bitkisi, sebze ve meyve gibi farklı bitki türlerini içeren 750'den fazla bitkide kök boğazı uru hastalığı oluşturan önemli bir patojen olduğunu ifade etmişlerdir. Söz konusu patojen ile biyolojik mücadele anlamında başarı sağlandığını ancak etmenle bulaşık toprak ve fideliklerde mücadelede çoğunlukla başarısız olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca günümüzde çalışmaların daha çok hastalığa dirençli kültür bitkileri ve anaçlar üzerine yoğunlaştığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar çalışmada; sert çekirdekli bitkilerde geniş kapsamda kullanılan Garnem, Myrobolan ve GF-677 anaçlarının kök boğazı hastalığına karşı reaksiyonlarını belirlemeyi amaçlamışlardır. Bu kapsamda 10^9 cfu/ml yoğunluğundaki bakteri süspansiyonunu anaç başına 90 sürgün olacak şekilde her bir sürgünde açılan 3 yaraya uygulamışlardır. Beş aylık

inkübasyon süresi sonunda oluşan urların çap ve ağırlıklarını ölçmüşlerdir. Ur oluşturma verileri üzerine yapılan istatistik analizler sonucunda; anaçların farklı gruplarda yer aldığını ve çalışmada bahsi geçen anaçların kök boğazı uru hastalığına karşı duyarlı oldukları sonucuna ulaşmışlardır. Test edilen anaçlardan kök boğazı uru hastalığına karşı; Garnem anacının oldukça hassas, Myrobolan anacının orta derecede hassas ve GF-677 anacının ise daha az hassas olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca çalışmanın sonucunda şayet bir bahçe tesis edilecekse anaç olarak GF-677 anacının kullanılmasının kök boğazı hastalığı ile mücadele açısından daha uygun olacağı önerisinde bulunmuşlardır.

Keane ve ark. (1970), yapmış oldukları bir çalışmada; 27 yerel ve 23 diğer laboratuvarlardan temin edilen *Agrobacterium tumefaciens* izolatına biyokimyasal testler, serolojik testler, jel elektroforez sonrası protein modelinin belirlenmesi ve patojenisite özelliklerinin tespiti işlemlerinin yapıldığını ve karşılaştırıldığını kaydetmişlerdir. Tüm izolatların 2 farklı biyotipe ayrıldığını ve bunun serolojik reaksiyonları ve protein modelleri tarafından desteklendiğini ifade etmişlerdir. Biyotip 1'in ur oluşturan, kök oluşumunu arttıran ve patojen olmayan bakterileri içerdiğini, buna karşın Biyotip 2'nin ise patojen olmayanları içermediğini ancak hem ur oluşturan hem de kök oluşumunu arttıran patojen bakterilerin ikisini de içerdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bakteri cinsinin patojenisiteye dayalı olarak türlere ayrılamayacağını ileri sürmüşlerdir.

Kerr (1969), yapmış olduğu bir çalışmada; kök boğazı uru hastalığı (*Agrobacterium tumefaciens*) gözlenen sert çekirdekli bitkilerdeki urların etrafındaki topraktan 18 örnek, urlardan 33 örnek ve belirti görülmeyen diğer topraklardan 36 örnek toplandığını ifade etmiştir. Örneklerden iki farklı besi ortamı (Schroth ve Patel) kullanarak izolasyon çalışması yapıldığını bildirmiştir. Urlardan 385, ur çevresindeki topraklardan 195, diğer topraklardan ise 88 bakteri izolatu elde edildiğini belirtmiştir. İzolatlara 3-Ketolactose ve patojenisite testleri uygulandığını ve sonuç olarak urlardan 5, ur çevresindeki topraktan ise 1 patojen izole edilebildiğini kaydetmiştir. Araştırmacı, ur oluşturan bakterilerin Petal besi ortamı ile izole edilebildiğini Schroth besi ortamının patojeni izole etmeye uygun olmadığı sonucuna ulaşıldığını ifade etmiştir.

Kuzmanović ve ark. (2013), yapmış oldukları bir çalışmada; *Agrobacterium* türlerinin ura neden olan ırklarının neden olduğu kök ve kök boğazı uru hastalığının, dünya çapında sert çekirdekli meyve fidanlıklarının en önemli hastalıklarından birisi olarak kabul edildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar çalışmanın amacının; bir yıllık kayısı fidanlarında kök boğazı uru belirtisine neden olan bakterinin izolasyonu, tanımlanması ve karakterizasyonunun belirlenmesi olduğunu ifade etmişlerdir. Örneklerin, Sırbistan'ın merkezinde bulunan bir fidanlıktan toplanıp laboratuvar analizine tabi tutulduğunu bildirmişlerdir. Bakterileri tümör dokusundan Yeast Mannitol Agar (YMA) besi yerine izole ettiklerini ve 6 gram negatif izolatu ileriki çalışmalar için seçtiklerini rapor etmişlerdir. Çalışmada, PCR testinde patojenite ile ilişkili plazmid genlere özgü *virD2*, *virC*, *ipt* ve *tms2* primerleri kullanarak Ti-plazmid barındıran izolatları açığa çıkarttıklarını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar sonuç olarak; fizyolojik ve biyokimyasal testler ile 23S-rRNA gen dizilimini hedefleyen Multiplex PCR testi kullanarak 5 ırkı *A. rhizogenes*/biovar 2 ve kalan bir ırk ise *A. tumefaciens*/biovar 1 olarak tanımlandığını bildirmişlerdir.

Lopez ve ark. (1989), yapmış oldukları bir çalışmada; 3 farklı denemede kök boğazı uru hastalığı etmeni *Agrobacterium tumefaciens*'e karşı *Agrobacterium radiobacter*'in K84, 0341 ve K84 Agr⁻ (K 84'ün agrosin üretmeyen mutanı) izolatlarının sert çekirdekli bitki anaçlarındaki biyokontrol etkinliğinin belirlenmesini amaçladıklarını bildirmişlerdir. İlk denemede; agrosin 84'e dirençli 2 adet *A. tumefaciens* ile bulaşık topraktaki erik bitkilerinde K84 ve 0341 izolatlarının kök boğazı uru hastalığını kontrol altına aldığını ifade etmişlerdir. İkinci denemede; *A. tumefaciens*'e hassas, dayanıklı ve her ikisinin aynı anda bulunduğu izolatlarla bulaşık topraktaki şeftali bitkilerinde K84'ün kök boğazı uru hastalığını kontrol altına aldığını bildirmişlerdir. Ayrıca K84 izolatının dayanıklı izolatlara nazaran hassas bakterilere karşı daha etkili olduğunu kaydetmişlerdir. İlave olarak K84'ün hassas izolatlarla bulaşık topraklarda yıldan yıla kalıntı etkisinin pekiştiğini belirtmişlerdir. Üçüncü denemede ise; K84 ve K84 Agr⁻ izolatlarının, *A. tumefaciens*'e hassas ve agrosin 84'e dirençli izolatlarla bulaşık topraklardaki erik ve şeftali bitkilerinde kök boğazı uru hastalığını kontrol ettiğini ifade etmişlerdir.

Pulawska (2010), yapmış olduğu bir çalışmada; sert çekirdekli bitkilerin ve cevizin Avrupa'daki yetiştiriciliğinin, bakteriyel hastalıkların neden olduğu giderek artan şiddetli kayıplar nedeniyle sınırlı olduğunu ifade etmiştir. Söz konusu bitkilerin ve diğer pek çok bitki türünün fide üretiminin ve yetiştiriciliğinin, ur oluşturan *Agrobacterium* türlerinin neden olduğu kök boğazı uru hastalığı tarafından tehdit edildiğini vurgulamıştır. Araştırmacı *Agrobacterium* türlerinin enfeksiyon sürecinin ve genetik karakterinin diğer bitki patojeni bakterilerden farklı olduğuna dikkat çekmiştir. Ayrıca ur oluşturan *Agrobacterium* bakterilerinin farklı türlere ve biyoeşitlere göre sınıflandırılan çok heterojen bir tür grubu oluşturduğunu kaydetmiştir. Bahsi geçen çeşitliliğin genetik düzeyde olduğu kadar fenotipik düzeyde de gözlendiğini ve ilave olarak hem kromozomal hem de plazmid DNA'nın yüksek çeşitliliğe sahip olduğunu belirtmiştir. Çalışmanın sonucunda; *Agrobacterium* türleri ile ilgili pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen, halen cevaplanması gereken birçok ekolojik ve epidemiyolojik sorunun bulunduğunu ifade etmiştir.

Yüzbaşıoğlu ve Aysan (2021), yapmış oldukları bir çalışma kapsamında Adana, Burdur, Mersin ve İzmir illerinden armut, elma, erik, gl, hurma, kalonşe, kayısı, kiraz, meşe ve şeftali gibi 10 farklı bitkiden tipik ur belirtisi gözlenen hastalıklı bitki örneklerini toplamışlardır. Örneklerden yapılan izolasyon çalışmaları neticesinde toplam 174 adet bakteri izolatu elde etmişlerdir. Elde etmiş oldukları bakteri izolatlarına havuç dilimi ile kalonşe, domates ve ayçiçeği fidelerinde patojenisite testleri uygulamışlar ve re izolasyon sonucu 414 izolat elde etmişlerdir. Söz konusu re-izolatlardan 138 tanesini detaylı çalışmalar için seçmişlerdir. Yapmış oldukları klasik ve moleküler testler neticesinde seçilen re-izolatların tamamını *Agrobacterium tumefaciens* olarak teşhis etmişlerdir. Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçlarına göre bahsi geçen 138 adet izolatdan 48 tanesinin genetik profillerini REP PCR, ERIC PCR, BOX PCR ve RFLP gibi tekniklerle belirlemek üzere seçmişler ve analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda; armut, erik, kalonşe, kiraz, meşe, şeftali ve Trabzon hurması bitkilerindeki *Agrobacterium tumefaciens* varlığını ilk kez belgelediklerini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar çalışmada ayrıca 26 özgün profile sahip 34 yeni genotip belirlemiş olduklarını ve izolatlar ile konuk bitki ve coğrafi konum arasında herhangi bir ilişki tespit edemediklerini kaydetmişlerdir.

2.6 *Xanthomonas arboricola* ile İlgili Çalışmalar

Boudon ve ark. (2005), yapmış oldukları bir çalışmada; sert çekirdekli bitkilerde bakteriyel leke hastalığına sebep olan *Xap*'ın Fransa'nın Güneydoğusundaki birkaç bahçede 1995 yılında tespit edildiğini vurgulamışlardır. Araştırmacılar çalışmada patojenin popülasyon genetiğinin hastalığın ilk tanımlandığı Amerika Birleşik Devletleri ile 1920'den beri ortaya çıktığı İtalya'daki popülasyonlarla karşılaştırmalı olarak incelendiğini ifade etmişlerdir. Bakteri izolatlarına *atpD*, *dnaK*, *efp* ve *glnA* gen analizinin yanı sıra genler arası kopyalanmış ara bölge ile floresanla güçlendirilmiş parça uzunluk polimorfizmi (FAFLP) analizlerinin yapıldığını bildirmişlerdir. Fransa'dan 23 izolatı içeren toplam 64 *Xap* izolatının analiz edildiğini belirtmişlerdir. *Xap* popülasyonunun hiçbir dizi polimorfizmi gözlenmediği için düşük bir çeşitliliğe sahip olduğunu kaydetmişlerdir. FAFLP analizindeki popülasyon çeşitliliğinin Batı Avrupa popülasyonu için Amerika popülasyonuna göre daha düşük olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmada 3 kıtadan farklı 5 ülkede aynı bakteri genotipinin tespit edilmesinin, söz konusu bakterinin insanların aracılığıyla yayıldığı anlamına geldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca sonuçların patojenin Amerika Birleşik Devletlerinde ortaya çıktığı ve daha sonra dünyanın diğer sert çekirdekli meyve yetiştiriciliği yapılan bölgelerine yayıldığı hipotezini desteklediğini belirtmişlerdir.

Derakhshan ve ark. (2016), yapmış oldukları bir çalışmada; *Xap* bakterisinin sert çekirdekli bitkilerde bakteriyel leke hastalığı etmeni olduğunu vurgulamışlardır. Araştırmacılar etmenin ilk kez Kuzey Amerika'daki Japon eriklerinde tespit edildiğini ve günümüzde neredeyse tüm kıtada bulunduğunu bildirmişlerdir. Etmenin İran'daki ilk tespitinin ise 2004 yılında Gilan vilayetinde yapıldığını ifade etmişlerdir. Çalışmada Mashhad, Chenaran, Quchan, Neyshabur, ve Fariman illerindeki sert çekirdekli meyve bahçelerinden bakteriyel kanser ve benek lekesi belirtisi gözlenen ağaçlardan örnekleme yapıldığını belirtmişlerdir. İzolasyon ve saflaştırma çalışmalarının akabinde izolatların genç ve taze yapraklara 10^7 colony forming unit/mililitre (CFU/mL) konsantrasyonunda verilmek suretiyle patojenisite testlerinin yürütüldüğünü ifade etmişlerdir. Patojenisite testinde, inokulasyondan 1 hafta sonra su emmiş lezyonların ve nekrotik lekelerin oluştuğunu belirtmişlerdir. Moleküler testlerde *XapY17* primeri kullanılarak ABC taşıyıcı proteinini kodlayan

spesifik korunmuş bölge ile ilişkili 943 baz çifti (bp) bant elde edildiğini ve bu banti veren izolatların *Xap* etmeni olarak tanılandığını kaydetmişlerdir. Rep-PCR primerleri (BOXA1R, ERIC1R, ERIC2R, REP1R-I, REP2-I) ile amplifikasyon için çeşitli bakteri genomlarında tekrarlanan dizilerin hedef alındığını ve bu sayede oluşturulan parmak izi modeline dayalı olarak izolatların gruplanmasının amaçlandığını bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda; moleküler verilere göre Rep-PCR yöntemi ile test edilen izolatlar arasında düşük genetik çeşitlilik gözlemlendiğini ve ayrıca Khorasan Razavi vilayetindeki sert çekirdekli bitkilerde *Xap*'ın, *Pss* ile birlikte bakteriyel kanser ve yaprak lekesi hastalığına neden olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar ilave olarak bu etmenlere karşı mücadele uygulamalarının geliştirilmesini tavsiye etmişlerdir.

Jami ve ark. (2005), yapmış oldukları bir çalışmada; İran'ın Guilan vilayetinde farklı bölgelerde bulunan kiraz, erik ve şeftali bahçelerindeki bakteriyel leke belirtisi gözlenen tomurcuk, yaprak ve sürgün gibi bitki dokularından örnekler toplandığını ifade etmişlerdir. Bakteriyel yaprak lekesine neden olan *Xap* sert çekirdekli bitkilerdeki önemli bakteriyel hastalıklardan birisi olduğunu vurgulamışlardır. Toplanan kanserli örneklerde YCD agar ve % 5 sakkaroz içeren nutrient agar besi ortamı, yapraktan alınan örneklerde ise nutrient agar sakkaroz (NAS) besi ortamı kullanılarak izolasyon çalışmalarının yapıldığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, izolatların fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin belirlendiğini ve tanıların yapıldığını belirtmişlerdir. Patojenisite testinde; ham kiraz meyvelerinde 2-3 günlük inkübasyon sonucunda oluşan koyu kahverengi çökük noktalara ilaveten kiraz yapraklarında su emmiş görünümde lekeler ve nekrozların pozitif olarak değerlendirildiğini kaydetmişlerdir. Ayrıca kiraz ağaçlarının genç sürgünlerine inokule edilen *Xap* izolatlarının yapraklarda daha sonraları nekroza dönüşen klorotik lekeler ve sonunda kuruma şeklinde belirti verdiğini ifade etmişlerdir. Çalışmanın İran'da sert çekirdekli bitkilerde *Xap*'ın ilk kaydı olduğunu bildirmişlerdir.

Lamichhane (2014), yapmış olduğu bir çalışmada; sert çekirdekli meyvelerin ekonomik açıdan önemli bitkiler arasında olduğunu ve dünya çapında, tüm kıtalarda farklı ölçülerde yetiştirildiğini belirtmiştir. Yetiştirme dönemi süresince sert çekirdekli bitkilerin patojenlerin saldırısına maruz kaldığını ve bunlar arasında

Xanthomonas arboricola'nın (*Xa*) son yıllarda belirgin bir şekilde önemli hale geldiğini vurgulamıştır. Çalışmanın amacının; sert çekirdekli bitkilerdeki *Xa* hastalığı üzerine genel bir değerlendirme yapmak ve aynı zamanda mevcut ve gelecekteki mücadele stratejilerini tartışmak olduğunu ifade etmiştir. Araştırmacı kültürel uygulamaları iyileştirmek için *Xa* epidemiyolojisinin daha iyi anlaşılması gerektiğini kaydetmiştir. Özellikle patojenin toprakta ve sulama suyunda hayatta kalması üzerine olan bilgi eksikliğinin daha fazla dikkate alınması gerektiğini ileri sürmüştür. Hastalıkla mücadelede geleneksel kimyasal bileşiklere alternatifler bulmak için araştırmaların yoğunlaştırılması gerektiği ve ilaveten biyolojik kontrol ve bitki dayanıklılığı üzerine daha fazla odaklanılmasının fayda sağlayabileceği önerisinde bulunmuştur.

Lopez-Soriano ve ark. (2016), yapmış oldukları bir çalışmada; *Xap*'ın sert çekirdekli meyveler, badem ve bazı süs *Prunus* türlerinde bakteriyel leke hastalığına sebep olan bakteriyel etmen olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar 2002-2013 yılları arasında İspanya'nın 11 ilinden toplanan 239 adet ve uluslararası koleksiyonlardan 25 adet referans *Xap* ırkının genetik çeşitliliğini değerlendirdiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca 18 mikrosatelliti ve 5 minisatelliti hedefleyen optimize edilmiş bir ardışık tekrar analizinin çok odaklı değişken sayısı (MLVA) tasarımı geliştirdiklerini belirtmişlerdir. İspanya ırklarının yaklaşık % 50'sini ayırt edebildiği için yüksek bir ayırım gücü sağlayan bu genotipleme tekniğinin yararlılığını kanıtladığını rapor etmişlerdir. Çalışmada sonuç olarak; İspanya ırklarının 18 genetik kümede gruplandığını kaydetmişler.

Moffett (1973), yapmış olduğu bir çalışmada; Bakteriyel Leke Hastalığı'nın (*Xanthomonas pruni*) Avustralya'nın Queensland vilayetindeki Granit Belt bölgesinde sert çekirdekli bitkilerde önemli bir hastalık olduğunu vurgulamıştır. Çalışmada erik ve şeftali bitkilerinin yıl içindeki büyüme dönemlerinin ve hastalığın gelişiminin takip edildiğini bildirmiştir. Araştırmacı yaprak lekeleri, sürgünlerdeki kanser belirtileri, meyve lekeleri gibi farklı dokulardan Sakkaroz Pepton Agar (SPA) kullanılarak bakteri izolatlarının elde edildiğini ifade etmiştir. Etmenlerin nişastanın hidrolizi, sistinden hidrojen sülfür üretimi gibi testlerle tanılandığını ve aynı zamanda arazi koşullarında erik ve şeftali yapraklarında patojenisite testinin yapıldığını

belirtmiştir. Yaz ayındaki kanser yaralarından yapılan izolasyon çalışmaları neticesinde; etmenin az sayıdaki kanserli dokuda kışı atlattığını ve bu kanserli yapıların bahar aylarında inokulum kaynağı olduğunu kaydetmiştir. Etmenin tüm kanserli dokularda hayatta kalamamasının, periderm tarafından kapatılmasıyla ilişkili olabileceğini ifade etmiştir. Ayrıca erik ve şeftali bitkilerinde sürgünlerin *Xanthomonas pruni*'ye olan duyarlılığının yaprak dökümünün başlamasıyla arttığını bildirmiştir. Yaprak dökümünün başlamasının akabinde oluşan yaprak izleri ve doğal açıklıkların yine inokulum kaynağı olarak bahar aylarında hastalığın yayılmasında etken olabileceğini belirtmiştir.

Palacio-Bielsa ve ark. (2012), yapmış oldukları bir çalışmada; *Xap*'ın badem ve sert çekirdekli bitkilerde bakteriyel leke hastalığı etmeni olduğunu ve Avrupa Birliği ile Avrupa ve Akdeniz Bitki Koruma Organizasyonu (EPPO) tarafından karantina patojeni olarak kabul edildiğini vurgulamışlardır. Ayrıca *Xap*'ın epifitik bir faza sahip olabileceği gibi latent dönemde de olabileceğini ve farklı bitki materyalleri ile taşınabileceğini ifade etmişlerdir. Bu nedenle etkili karantina önlemleri için çoğaltma materyali veya bitkinin farklı dokularında *Xap*'ın tespitinde özel, hassas ve hızlı yöntemlerin gerekliliğine dikkat çekmişlerdir. Mevcut EPPO standart prosedüründe *Xap*'ın teşhisi için zahmetli ve zaman alıcı yöntemlerin önerildiğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte *Xap*'ın belirti olan veya olmayan bitki örneklerinden tespitine doğrudan olanak sağlayan patojene özgü PCR ve kantitatif real-time PCR analizlerinin geliştirildiğini bildirmişlerdir. Çalışmada; ATP bağlanma sistemindeki ABC taşıyıcı ile ilişkili proteinin gen sekans ifadesi temelli PCR protokollerinin halen geçerliliğini koruduğu ve ilave olarak Pothier ve ark. (2011), tarafından geliştirilen pXap41 plazmitinin tam sekansı temelli multiplex PCR'ın *Xap*'ın tanımlanmasında yeni bir potansiyel analiz olabileceğini kaydetmişlerdir.

2.7 *Xylella fastidiosa* ile İlgili Çalışmalar

Amanifar ve ark. (2014), yapmış oldukları bir çalışmada; İran'ın birçok ilinde bulunan bağlarda ve badem bahçelerinde asmalardaki Pierce's hastalığına ve bademlerdeki yaprak yanıklığına benzer semptomların gözlemlendiğini ifade etmişlerdir. Çalışmada, belirti gösteren badem ağaçlarından filizlerin yerel bir badem fidesine (cv. Mamaee) sera koşullarında aşılmasının, yaprak yanıklık etmeninin aktarılması ile sonuçlandığı belirtilmiştir. Araştırmacılar meyve bahçesi ve seralardan belirti

gösteren bir dizi bitki örneğini *Xylella fastidiosa*'ya özgü antikor ve primerler ile DAS-ELISA ve PCR yöntemleri yardımıyla test ettikleri zaman *Xylella fastidiosa*'nın varlığını tespit ettiklerini aktarmışlardır. Araştırmacılar çalışmada; hastalık belirtileri, aşı transmisyonu, *Xylella fastidiosa*'ya özgü besi ortamı izolasyonu, patojenite testi ve DAS-ELISA ve PCR'ın pozitif reaksiyonlarını temel aldıklarında, İran'daki bağ ve badem bahçelerinde belirtiyeye neden olan etmenin *Xylella fastidiosa* olduğu sonucuna vardıklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmanın Ortadoğu ve Batı Asya'da *Xylella fastidiosa* varlığının ilk kaydı olduğunu öne sürmüşlerdir.

Janse ve Obradovic (2010), yapmış oldukları bir çalışmada; *Xylella fastidiosa*'nın Avrupa'da sadece asma ve turuncgiller için değil aynı zamanda sert çekirdekli (badem, şeftali, erik) ve zakkum için de gerçek bir tehdit olduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda etmenin bir kez ortaya çıktığı zaman, yayılmasını önlemenin ve kontrolünün çok zor olduğunu ve bu sebeple daha fazla dikkate alınması gerektiğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar Avrupa asmalarında direncin az, hatta yok olduğunu ve vektör kontrolünün Amerika Birleşik Devletleri'nde (USA) çok etkili olmadığının kanıtlandığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak; bitkileri optimum koşullarda tutmak için yapılan kültürel uygulamaların önemli olduğunu ancak yeterli olmadığını, çapraz koruma için avirulent ırkların kullanımının ise henüz başlangıç aşamasında olduğunu kaydetmişlerdir.

Martinati ve ark. (2007), yapmış oldukları bir çalışmada; farklı konukçulardan (kahve, turuncgiller, üzüm, badem, zakkum, şeftali, erik vb.) *Xylella fastidiosa* izolatlarının 16S-23S rDNA ara bölge (ITS) nükleotit dizilim içeriğinin analiz edilmesiyle karakterize edildiğini bildirmişlerdir. ITS bölgesi dizilimini hedefleyen mevcut metodların önemli bilgiler sağlamayan diziler nedeniyle kısmi verim sağladıklarını belirtmişlerdir. Buna göre, tam bir dizilim elde etmek ve dizilimi kolaylaştırmak için yeni primerlerin tasarlandığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar çalışmada, tasarladıkları primerleri kullanarak PCR yoluyla 8 ırktan tam 16S-23S dizilerini çoğalttıklarını aktarmışlardır. Elde ettikleri 16S-23S dizilerini GenBank veritabanındaki diğer 52 dizilim girişiyle karşılaştırdıklarını belirtmişlerdir. Sonuçların, benzerlik değerleri 0,79-1,00 arasında değişen 16S gen diziliminde

bulunandan daha yüksek seviye varyasyon olduğunu açığa çıkarttığını ifade etmişlerdir. Ayrıca benzerlik verilerine dayanan dendogramın 5 ana grup ortaya çıkardığını aktarmışlardır. Çalışmada, taşıyıcı RNA (tRNA^{ala} ve tRNA^{ile}) içeriğinin dizi analizinin, nükleotit kompozisyonunda birkaç farklılığı olan korunmuş bir bölgeyi gösterdiğini kaydetmişlerdir.

2.8 *Stenotrophomonas* sp. ile ilgili Çalışmalar

2.8.1 Taksonomi üzerine çalışmalar

Hugh ve Ryschenkow (1961), yapmış oldukları bir araştırmada; 29 adet *Pseudomonas maltophilia* izolatını morfolojik, fizyolojik ve antijen yapılarına göre test etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda; araştırmacılar söz konusu izolatların morfolojik ve biyokimyasal olarak birbirine çok benzediğini ancak serolojik açıdan oldukça çeşitlilik gözlemlendiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca diğer *Pseudomonas* türlerinin *Pseudomonas maltophilia* ile yakından ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Ancak diğer türlerle olan akrabalık ilişkilerini ve tam olarak nasıl farklılaşabildiklerini söylemenin zor olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar ilaveten, Amerikan Tür Kültür Koleksiyonun'da bulunan *Pseudomonas*'ın farklı isimlere sahip 94 türünün tamamının incelendiğini ve hiçbir izolatın *Pseudomonas maltophilia*'nın özelliklerine sahip olmadığını kaydetmişlerdir.

Palleroni ve Bradbury (1993), yapmış oldukları bir araştırmada; *Pseudomonas maltophilia*'nın *Xanthomonas* spp. olarak tanımlandığını ve bu kararın iki taksonun temel özellik açısından pek çok farklılık içermesi sebebiyle kabul görmediğini ifade etmişlerdir. Yapılan analizler neticesinde araştırmacılar; etmenin gram negatif, spor oluşturmeyen, yaklaşık 0,5 x 1,5 µm hareketli birkaç polar flagellaya sahip, fimbria üretebilen bir bakteri olduğunu bildirmişlerdir. Poli-β-hidroksibutirat granüllerinin birikmediğini ve eksojen polimer hidrolizin olmadığını belirtmişlerdir. Bakteri kolonilerinin ise pürüzsüz, parlak, beyaz, grimsi veya soluk sarı renkte olduğunu kaydetmişlerdir. Etmenin *Xanthomonas* spp.'den farklı özellikleri sebebiyle *Stenotrophomonas* isminde yeni bir cins olarak tanımlandığını bildirmişlerdir.

Swings ve ark. (1983), yapmış oldukları bir çalışmada; Araştırmacılar, genotipik ve fenotipik veriler sonucunda (DNA, RNA, DNA-DNA hibridizasyon sonuçları, guanin-sitozin içeriği, karşılaştırmalı enzimoloji, izoprenoid ve solunum kinonlarının

yapısal türleri, hücresel yağ asidi bileşimi, büyüme, nişler, morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal karakteristikler) *Pseudomonas maltophilia*'nın yanlış isimlendirildiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca çalışmanın sonucunda; söz konusu etmenin *Xanthomonas* cinsine *Xanthomonas maltophilia* olarak aktarılması gerektiği sonucuna ulaştıklarını bildirmişlerdir.

Wolf ve ark. (2002), yapmış oldukları bir çalışmada; 16 farklı *Stenotrophomonas* spp. izolatının farklı sıcaklıklarda ve farklı karbon kaynakları üzerinde büyüme, osmotolerans ve osmoprotektif maddelerin üretimi ile enzimatik ve antifungal aktivite gibi farklı fizyolojik özelliklerinin test edildiğini belirtmişlerdir. Ayrıca yağ asit ile 16s rDNA sekans ve filogenetik analizlerinin uygulandığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmanın sonucunda; bitki ile ilişkili 3 izolat grubunun fenotipik olarak diğer izolatlardan farklı olduğunu kaydetmişlerdir. Bu grubun diğer izolatlara göre % 42 heterojenite ile ayrı bir küme oluşturduğunu belirtmişlerdir. Yeni türün tanımlayıcı özelliklerinin; 4 °C'de gelişme, 40 °C'de gelişme olmaması, karbon kaynağı olarak ksilozun kullanılabilmesi, izolatların osmoprotektif maddeler olan trehaloz ve glukosilgliserol üretmesine rağmen lipaz ve b-glukosidaz üretiminin olmaması ve bitki patojeni funguslara karşı antifungal aktivite şeklinde olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca bu grubun yağ asit profilin farklı olduğunu kaydetmişlerdir. Araştırmacılar izolatların 16s rDNA analizi ile üç ayrı küme oluşturduğunu ve DNA-DNA hibridizasyon verilerinin farklılaşmayı desteklediğini belirtmişlerdir. Ayrıca çalışma sonucunda yapılan analizlerin neticesinde elde edilen tüm sonuçların; yeni bir tür olarak *Stenotrophomonas rhizophila* sp.'nin önerilmesini desteklediğini vurgulamışlardır.

2.8.2 Bulunduğu yerler ve kullanım amaçları üzerine çalışmalar

Berg ve ark. (1996), yapmış oldukları bir çalışmada; yağlı tohum kolzasının rizosferinden elde edilen *Stenotrophomonas maltophilia* izolatlarının kullanıldığını belirtmişlerdir. Bu habitatteki *Stenotrophomonas maltophilia* yüzdesinin seçici besi yeri kullanılarak belirlendiğini, gram kök (yaş ağırlık) başına 10^7 olarak tespit edildiğini ve bunun toplam bakteri varlığının % 3,7'si olduğunu ifade etmişlerdir. Seçilen izolatların önemli toprak kökenli fungal patojenler olan *Rhizoctonia solani* ve *Verticillium dahliae* var. *longisporum*'a karşı in vitro testlerde engelleme etkinliğinin belirlendiği bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda; antifungal aktivitenin

bilinen birkaç antifungal mekanizmanın bir kombinasyonu neticesinde elde edildiğini vurgulamışlardır. Ayrıca antifungal etkinin antibiyoz ve litik enzimlerin üretimine dayalı olabileceğini kaydetmişlerdir.

Binks ve ark. (1995), yapmış oldukları bir çalışmada; patlayıcı özelliği bulunan RDX’i (heksahidro-1,3,5,-trinitro-1,3,5-triazin) metabolize edebilen karışık bir mikrobiyal kültürün aerobik ve nitrojen sınırlayıcı koşullar altında toprak zenginleştirmelerinden elde edildiğini ifade etmişlerdir. Söz konusu kültürden elde edilen *Stenotrophomonas maltophilia* PB1 bakterisinin gelişme için nitrojen kaynağı olarak RDX’i kullandığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmada kullanılan karışık mikrobiyal kültürün, RDX ile kirlenmiş bölgelerin temizlenmesinde potansiyel uygulamalara sahip olabileceğini vurgulamışlardır. Çalışmanın sonucunda; *Stenotrophomonas maltophilia* PB1 izolatının, RDX’ten üç nitrojen kullandığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar *Stm* PB1’in kütle spektroskopisi ile ¹H NMR analizleri neticesinde, metilen-N-(hidroksimetil)-hidroksilamin-N9-(hidroksimetil) nitroamin şeklinde geçici olarak tanımlanan bir metabolit verdiğini kaydetmişlerdir. Bu bileşiğin karışık mikrobiyal kültürde biriktiğinin gözlenmediğini ve diğer organizmalar tarafından metabolize edilmesinin muhtemel olduğunu ifade etmişlerdir.

Juhnke ve des Jardin (1989), yapmış oldukları bir araştırmada; toprak ve bitki rizosfer ortamlarından *Xanthomonas maltophilia*’yı izole etmek için seçici bir ortam (XMSM) geliştirildiğini belirtmişlerdir. XMSM ortamının maltoz, tripton, bromtimol mavisi ve agar içerdiğini ifade etmişlerdir. *Xanthomonas maltophilia*’yı seçmek için ortama ilave edilen antibiyotiklerin sikloheksimit, nistatin, sefalekssin, basitrasin, penisilin G, novobiyosin, neomisin sülfat ve tobramisin olduğunu bildirmişlerdir. *Xanthomonas maltophilia* ile bulaşık olduğu bilinen steril ve steril olmayan topraktan etmenin izolasyonunda XMSM ve 1/10 triptik soya suyu agar ortamı arasında karşılaştırma yapıldığını belirtmişlerdir. XMSM ortamı ile izolasyonda % 97 ve üzeri bir başarı sağlandığını kaydetmişlerdir. Araştırmacılar çalışmanın sonucunda, XMSM’nin *Xanthomonas maltophilia*’nın çeşitli toprak ve rizosfer ortamlarından izolasyonunda seçici besi yeri olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Messiha ve ark. (2007), yapmış oldukları bir araştırmada; Mısır Nil Deltası'ndaki patlıcan rizosferinden izole edilen *Stenotrophomonas maltophilia*'nın, patatest kahverengi çürüklüğe neden olan *Ralstonia solanacearum* ırk 3 varyete 2'ye karşı antagonistik potansiyelinin in vitro olarak KB ortamında ve in vivo olarak patates bitkilerinde değerlendirildiğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar, in vitro koşullarda dört *Stenotrophomonas maltophilia* izolatının (PD3531, PD3532, PD3533, PD3534) antagonist özellikte olduğunu belirtmişlerdir. Sera koşullarında ise, antagonistin doğrudan toprağa veya patates gözlerine uygulandığını bildirmişlerdir. Uygulanan *Stenotrophomonas maltophilia* izolatlarının, Mısır killi toprağında patates kahverengi çürüklüğünü Hollanda killi toprağına kıyasla önemli ölçüde bastırdığını kaydetmişlerdir. Çalışmanın sonucunda; *Stenotrophomonas maltophilia*'nın hayatta kalmasının Hollanda killi toprağında Mısır toprağından önemli ölçüde daha az olduğunu, *Ralstonia solanacearum* için ise tersi bir durumun geçerli olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca in vivo biyokontrol testlerinde elde edilen sonuçların söz konusu durumu desteklediğini belirtmişlerdir. Sonuçlar değerlendirildiğinde; *Stenotrophomonas maltophilia*'nın köken olarak izole edildiği Mısır Nil Deltası'nda kahverengi çürüklüğün kontrolü için yararlı olabileceğini kaydetmişlerdir.

Nakayama ve ark. (1999), yapmış oldukları bir çalışmada; Xanthobasin A, B, C olarak isimlendirilen üç antifungal bileşiği, şeker pancarında çökerten hastalığını baskılayan bir rizobakteri olan *Stenotrophomonas* sp. SB-K88 izolatının kültür sıvısından izole edildiğini bildirmişlerdir. Xanthobasin A'yı kültür ortamında üreten SB-K88 ve alt kültürleme yoluyla elde edilen daha az baskılayıcı izolatların hastalık baskılama aktivitelerinin karşılaştırıldığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, SB-K88 izolatının şeker pancarı tohumlarına uygulandığını ve fidelerin rizosferinde hidroponik kültür koşulları altında Xanthobasin A üretiminin gerçekleştiğini ve rizosferde bitki bazında 3 mg Xanthobasin A tespit edildiğini kaydetmişlerdir. Ayrıca saflaştırılmış Xanthobasin A'nın tohumlara doğrudan uygulanmasının *Phythium* spp. ile doğal olarak enfekte topraktaki çökerten hastalığını engellediğini ifade etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda ilaveten; SB-K88 tarafından üretilen Xanthobaksin A'nın şeker pancarındaki çökerten hastalığını baskılamada önemli bir rol oynadığını vurgulamışlardır.

Oves ve ark. (2013), yapmış oldukları bir araştırmada; biyofabrikasyon metal nanopartiküllerin genellikle biyoyumlu, ucuz ve çevre dostu olmaları nedeniyle tercihen endüstrilerde, tıpta ve malzeme bilimi araştırmalarında kullanıldığını vurgulamışlardır. Araştırmacılar biyofabrikasyon malzemelerin önemini göz önünde bulundurarak *Stenotrophomonas maltophilia*'nın yeni bir bakteri izolatu olarak OS4'ü karakterize edip tanımladıklarını kaydetmişlerdir (GenBank: JN247637.1). Çalışmanın sonucunda, söz konusu izolatin kromla kirlenmiş ortamın temizlenmesine yardımcı olabilecek krom azaltma yeteneğinin belirlendiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca *Stenotrophomonas maltophilia* OS4'ün kültür üst fazının, oda koşullarında AgNO₃ kullanarak AgNP'lerin sentezinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. İlâveten söz konusu bakteri izolatinin bulaşıcı hastalıklarının elemine edilmesinde fayda sağlayabileceğini kaydetmişlerdir.

Ribitsch ve ark. (2012), yapmış oldukları bir araştırmada; antagonist bakterileri içeren geniş bir koleksiyonun yeni deterjan proteazlarını belirlemek amacıyla denendiğini belirtmişlerdir. Birkaç bakteri izolatinin yağsız süt içeren agar plakalarında proteaz aktivitesi sergilediğini ancak sıvı ortamda aktif olmadıklarını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar *Stenotrophomonas maltophilia* (*Stm*)'nin yıkama koşullarında en iyi performansı verdiğini bildirmişlerdir. StmPr1, StmPr2, StmPr3 ve StmPr4 olarak adlandırılan dört hücre dışı serin proteazın, yıkama aktif proteazların tanımlanması için klonlandığını kaydetmişlerdir. Ayrıca çamaşırhane yıkama testlerinde StmPr2'nin 45 °C'de yüksek ölçüde yıkama-aktif proteaz olduğunun belirlendiğini ifade etmişlerdir. İlâveten proteaz StmPr2'nin kinetik parametrelerinin ve bölünme tercihlerinin belirlendiğini belirtmişlerdir.

Ryan ve ark. (2009), yapmış oldukları bir derleme çalışmasında; *Stenotrophomonas* cinsinin en az 8 tür içerdiğini ve çevre boyunca özellikle bitkilerle yakın ilişki içinde bulunduklarını vurgulamışlardır. En baskın tür olan *Stenotrophomonas maltophilia*'nın; bitki büyümesi ve sağlığı için faydalı etkiler, biyoremediasyon ve fitoremediasyon stratejileri açısından kirletici unsurların parçalanması ve ekonomik biyomoleküllerin üretimi dahil olmak üzere geniş bir faaliyet yelpazesine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada; *Stenotrophomonas* cinsindeki bakterilerin çok yönlülüğünün ele alındığını ve *Stenotrophomonas maltophilia*'nın klinik ve endofit

izolatlarının karşılaştırmalı genomik analizi ile bu cinsin çeşitli nişlere adaptasyonunun anlaşılmasının hedeflendiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, *Stenotrophomonas* türlerinin nitrojen döngüsündeki rollerinin, Baltık Denizi'nden izole edilen ve nitrojen bağlama özelliği olan *Stenotrophomonas* sp. SKA14 izolatının genom analizi ile ortaya konulmasını tavsiye etmişlerdir. Ayrıca *Stenotrophomonas rhizophila* gibi bitki büyümesini ve biyolojik kontrol veya ıslahı teşvik etmede potansiyel kullanımları olan ancak bitki patojeni olamayan *Stenotrophomonas* türlerinin sekans özelliklerinin belirlenmesinin de faydalı olacağını ifade etmişlerdir.

Schmidt ve ark. (2012), yapmış oldukları bir çalışmada; *Stenotrophomonas rhizophila* DSM14405^T'nin özellikle tuzlu koşullarda bitki büyümesini teşvik eden mekanizmasıyla yüksek biyoteknolojik ilgiye sahip olduğunu vurgulamışlardır. Araştırmacılar çalışmanın amacının; bu faydalı bakterinin pamuk, domates ve tatlı biber bitkilerinde gnotobiyotik sistemlerde, steril olmayan topraktaki kolonizasyonunun ve bitki büyümesini teşvik üzerine etkisinin araştırılması olduğunu bildirmişlerdir. Steril olmayan koşullar ve nemli ortamda domates sürgünlerinin, tatlı biber ve pamuk sürgünlerinden daha yoğun kolonize olduğunu kaydetmişlerdir. *Stenotrophomonas rhizophila*'nın endofitik olarak geliştiğini ve domatesin kök tüylerinin çevresinde kolonize olduğunu belirtmişlerdir. Bitki büyüme teşvikinin domatesten belirgin şekilde ortaya çıktığını ifade etmişlerdir. Ayrıca söz konusu etmenin tatlı biber ve pamukta hastalıkları kontrol ettiğini vurgulamışlardır. Araştırmacılar çalışmanın sonucunda; genel olarak bahsi geçen bakterinin bitki türlerindeki kolonizasyonunun ve bitki büyümesini teşvik üzerine etkisinin, toprakta gnotobiyotik koşullarda olduğundan daha belirgin olduğunu ve bu durumun muhtemelen hastalık ve zararlı mikroorganizmaların kontrolünden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Ayrıca moleküler profileme çalışmalarının, *Stenotrophomonas rhizophila* DSM14405^T'nin domates ve tatlı biberin rizosferindeki bakteriyel toplulukları değil de fungusları güçlü bir şekilde etkilediğini gösterdiğini belirtmişlerdir.

Taghavi ve ark. (2009), yapmış oldukları bir çalışmada; endofit bakterilerin bitki konukçusu ile ilişkisinde birçok farklı bitki türü için yararlı etkiye sahip olduğunu vurgulamışlardır. Çalışmalarının amacının; kavak ağaçlarının gelişiminde biyokütle

üretimini ve karbon tutma potansiyelini iyileştiren endofit bakterilerin belirlenmesi ve bitki büyümesini teşvik mekanizmalarının daha iyi anlaşılması olarak ifade etmişlerdir. Araştırmacılar, kök gelişimi de dahil olmak üzere bitki büyümesini destekleyici etkilerinin genom dizilimi ve analizi için gammaproteobakterilerin baskın cinsinin temsilcileri olarak; *Enterobacter* sp. 638, *Stenotrophomonas maltophilia* R551-3, *Pseudomonas putida* W619 ve *Serratia proteamaculans* 568 izolatlarının seçildiğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar çalışmanın sonucunda; metabolik özelliklerin analizi ile birleştirilen sekans verilerinin, söz konusu endofit bakterilerin bir bitki ortamında gelişmesine ve bitki konukçularının büyümesini ve gelişimini potansiyel olarak etkilemesine yardımcı olan, karbon kaynağı kullanımı da dahil olmak üzere birçok varsayılan mekanizmanın tanımlanmasına sebep olduğunu bildirmişlerdir.

2.8.3 Virülenslik faktörleri üzerine çalışmalar

An ve Berg (2018), yapmış oldukları bir araştırmada; *Stenotrophomonas maltophilia*'nın doğada esas olarak bitkilerle ilişkili olmasına rağmen extrem koşullarda dahil olmak üzere bir dizi habitatta bulunan kozmopolit ve her yerde bulunabilen bir bakteri olduğunu ifade etmişlerdir. Aynı zamanda söz konusu bakterinin, kükürt ve nitrojen döngülerinde, karmaşık bileşiklerin ve kirleticilerin bozunmasında ve bitki büyüme ve gelişimini desteklemede önemli ekosistem işlevlerini yerine getirdiğini vurgulamışlardır. Araştırmacılar, polimikrobiyal enfeksiyonlardan, özellikle kistik fibroz hastalarının solunum yollarından da etmenin izole edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca *Stenotrophomonas maltophilia*'ya yakın bakteri türlerinden özellikle *Stenotrophomonas rhizophila*'nın, biyoteknolojik uygulamalar için insan sağlığı riski taşımayan, zararsız bir alternatif sunduğunu ifade etmişlerdir.

An ve Tang (2018), yapmış oldukları bir araştırmada; *Stenotrophomonas maltophilia*'nın nozokomiyal enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilen gram negatif bir bakteri olduğunu belirtmişlerdir. Klinik *Stenotrophomonas maltophilia* K279a izolatının, daha önce fitopatojen *Xanthomonas* ve *Xylella* cinsinde açıklanan sisteme oldukça benzer şekilde; yayılabilir bir sinyal faktörü (DSF)-bağımlı hücre-hücre sinyal mekanizmasını kodladığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar yabani tip izolatlar ile DSF'nin sentezi için gerekli olan *rpfF* (patojenisite faktörlerinin

düzenlenmesi) geninin eksik olduğu farklı bir izolatı karşılaştırdıklarını bildirmişlerdir. DSF sinyalinin bozulma etkisinin virülanslık, biyofilm oluşumu ve patogeneze üzerine etkilerinin pleiotropik (bir etmenin özellikle geliştirildiği etki dışındaki gösterdiği etki) olduğunu kaydetmişlerdir. Ayrıca *Stenotrophomonas maltophilia*'daki *rpff* mutasyonunun fenotipik etkilerinin eksojen DSF eklenmesiyle tersine çevrilebileceğini belirtmişlerdir. Çalışmanın sonucunda; DSF sinyalinin bu önemli fırsatçı patojenin virülanslık, biyofilm oluşumu ve hareketliliğine katkıda bulunan faktörleri düzenlediğini ifade etmişlerdir.

Ryan ve ark. (2015), yapmış oldukları bir araştırmada; Birçok patojenik bakterinin hücre yoğunluğuna veya nişlere hapsedilmeye tepki olarak, virülansı kontrol etmek için yayılabilir sinyal moleküllerinin sentezini ve algılanmasını içeren hücre-hücre sinyalizasyon sistemlerini kullandığını ifade etmişlerdir. Difüze olabilen sinyal faktörü (DSF) ailesinin sinyal moleküllerinin cis-2 doymamış yağ asitleri olduğunu vurgulamışlardır. Araştırmacılar *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (*Xcc*)'den elde edilen cis-11metil-2-dodesenoik asitin, bu bitki patojeninde virülansı kontrol ettiğini belirtmişlerdir. Karşılaştırmalı genomik çalışmaların, *Xanthomonas*'lar da baştanbaşa kümelenmiş *rpff*, *rpfg* ve *rpfc* genlerinin ve buna bağlı olarak DSF aracı sinyalleşmenin korunduğunu gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmada DSF sentez ve sinyalinin, birkaç bitki patojeni *Xanthomonas* spp., *Xylella fastidiosa* ve ayrıca *Stenotrophomonas maltophilia* bazı fırsatçı insan patojeni izolatlarında virülansı etkilediğinin bilindiğini vurgulamışlardır. Ayrıca hem *Xanthomonas* hem de *Stenotrophomonas* türlerinde *Rpff* yapısının belirlenmesinin, DSF sentezinin mekanik ayrıntılarının tanımlanmasına yardımcı olabileceğini kaydetmişlerdir.

2.8.4 Bitkide patojen olma durumu üzerine çalışmalar

Hu ve ark. (2021), yapmış oldukları bir araştırmada; *Stenotrophomonas maltophilia*'nın çeşitli çevresel habitatlarda geniş ölçüde bulunabildiğini vurgulamışlardır. Araştırmacılar etmenin zambak ailesinden bir Asya bitkisi olan *Lilium davidii*'de hasat sonrası meyve çürüklüğü ve Hindistan'da pirinçlerde beyaz leke hastalığı hariç nadiren bitki patojeni olarak kaydedildiğini ifade etmişlerdir. Çalışmada, söz konusu bakterinin *Dickeya zeae* ile birlikte, yumuşak çürüklük gözlenen klivya yapraklarından Çin'de Guangzhou'da izole edildiğini ve konukçuda patojen olduğunun belirlendiğini bildirmişlerdir. Ayrıca klivyadan izole edilen hem

Dickeya zeae, hemde *Stenotrophomonas maltophilia* izolatlarının tek çenekli bitkilerde çürüklük belirtisi oluşturduğunu ancak çift çenekli bitkilerde oluşturmadığını kaydetmişlerdir. *Stenotrophomonas maltophilia* JZL8 izolatının tüm genom analizi sonucunda, plazmit içermeyen 4,635,432 bp'lik bir kromozom içerdiğinin tespit edildiğini belirtmişlerdir. JZL8 ve 180 diğer *Stenotrophomonas maltophilia* izolatının Pan-genom analiz sonucunda ise, 50 genin JZL8'e özgü olduğunu ve bunlardan 7 tanesinin söz konusu bakterinin bitkilerde potansiyel patojen olmasına katkıda bulunduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca bitki patojeni JZL8'in tip 1 salgı sistemi mekanizmasının 3 kopyasına sahip olduğunu ve bunun muhtemelen bakterinin proteaz üretimini arttırmadan sorumlu olduğunu kaydetmişlerdir.

Ling ve ark. (2019), yapmış oldukları bir çalışmada; meyve çürüklüğünün, Lanzhou zambak meyvelerinin hasat sonrası kalitesini ve raf ömrünü etkileyen en önemli faktörlerden birisi olduğunu vurgulamışlardır. Araştırmacılar Lanzhou zambağındaki meyve çürüklüğü örneklerinden izole edilen farklı izolatların, morfolojik ve moleküler yaklaşımlar yoluyla karakterizasyonunun ve söz konusu bitkideki patojenisitelerini test etmenin çalışmanın amacı olduğunu ifade etmişlerdir. Bu bağlamda 2016 ve 2017 yıllarında Çin'in Gansu eyaletindeki Lanzhou'daki çürümüş Lanzhou zambak meyvelerinden, farklı izolatların elde edildiğini bildirmişlerdir. Toplam dört adet izolatın elde edildiğini ve bu izolatların kültür ve sporulasyon morfolojik karakterizasyonunun yanı sıra 16S rDNA ve 26S rDNA genlerinin dna dizilerine dayalı olarak tanımlandığını belirtmişlerdir. Bahsi geçen dört izolattan birisinin *Bacillus safensis*, birinin *Stenotrophomonas maltophilia* ve diğer ikisinin ise *Metschnikowia pulcherrima* olarak tanımlandığını kaydetmişlerdir. Patojenisite testleri neticesinde söz konusu dört izolatında Lanzhou zambağında patojen olduğunun belirlendiğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca çalışmanın, Çin'deki Lanzhou zambağında *Bacillus safensis*, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Metschnikowia pulcherrima*'nın patojen olduğunu gösteren ilk kayıt olduğunu ifade etmişlerdir.

Singh ve ark. (2001), yapmış oldukları bir çalışmada; Hindistan'ın Manipur kentinde, 1995'ten beri pirinç çeşitlerinde % 10-15 fide ölümlerine neden olan beyaz leke hastalığının gözlendiğini kaydetmişlerdir. Hastalığın fidanlıklardaki bitkilerin yaprak

ve yaprak kılıflarını enfekte ederek fidelerin tamamen veya kısmen ölmesine neden olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar hastalıklı örneklerden izole edilen bakterinin küçük, yuvarlak ve sarı koloni oluşturduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca patojenisite testleri sonucunda etmenin *Stenotrophomonas maltophilia* olarak tanımlandığını bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda; *Stenotrophomonas maltophilia*'nın patojenisitesinin ve Hindistan'da pirinçte beyaz çizgi hastalığının ilk kez raporlandığını vurgulamışlardır.

Zheng ve ark. (2022), yapmış oldukları bir çalışmada; Çin ginsenginin (*Panax notoginseng* [Burg] F. H: Chen) geleneksel bir şifalı bitkisi olduğunu ve uzun bir ekim döngüsüne sahip olması nedeniyle *Fusarium solani*, *Alternaria panax*, *Phytophthora cactorum* ve *Pseudomonas* sp. gibi kök hastalıklarına neden olan patojenlere hassas olduğunu vurgulamışlardır. Araştırmacılar Güneybatı Çin'de Songming'deki ekim alanlarından Çin ginsengindeki yumuşak çürüklük örneklerinin toplandığını ifade etmişlerdir. On hastalıklı kök örneğinin toplandıktan sonra, % 0,1'lik HgCl₂'de 1 dakika ve akabinde % 75'lik etanolde 2 dakika süresince steril edildikten sonra 3 seri steril sudan geçirildiğini belirtmişlerdir. Kök kültürlerinden 13 bakteri izolatu elde edildiğini kaydetmişlerdir. 3 izolatın sonraki çalışmalar için seçildiğini ve elektron mikroskobu altında yapılan gözlemlerde bu izolatların; gram negatif, kısa çubuk şeklinde, spor oluşturmayan, polar püsküllü kamçıya sahip olduğunu bildirmişlerdir. Patojenik izolatları daha iyi tanımlamak için 27F/1492R evrensel primerleri ile 16S rDNA analizinin yapıldığını vurgulamışlardır. Ayrıca *Stenotrophomonas maltophilia*'ya spesifik SM1/SM4 primerleri ile 23S rDNA analizinin yapıldığını ifade etmişlerdir. Seçilen söz konusu 3 bakteri izolatının (SM 2-5, SM 2-13, SM 2-14) morfolojik, metabolik profil ve dizi analizleri neticesinde *Stenotrophomonas maltophilia* olarak tanımlandığını belirtmişlerdir. Patojenisite testi için nutrient broth ortamında 48 saat süresince 28 °C'de geliştirilen bakteri izolatlarından süspansiyon hazırlandığını ($2,0 \times 10^9$ CFU/mL) kaydetmişlerdir. Patojenisite testinde, her bir izolat için 10 dakika süresince, steril iğne ile delinmiş sağlıklı 1 yıllık Çin ginseng bitkisi köklerinin, hazırlanan bakteri süspansiyonuna batırıldığını ifade etmişlerdir. Steril suyun negatif kontrol olarak kullanıldığını belirtmişlerdir. Bakteri ile inoküle edilmiş bitkilerin 28 °C'de, % 70 gölgelenme oranına sahip sera koşullarında steril toprağa ekilmek suretiyle kültüre alındığını

bildirmişlerdir. On günlük inkübasyon sonunda; bitkilerde doğal koşullarda gelişen belirtilere benzer yüksek virölanslık içeren hastalık belirtileri gözlemlendiğine buna karşın negatif kontrolde ise gözlenmediğini kaydetmişlerdir. Çalışmanın sonucunda; yapılan araştırmanın, Çin’de *Stenotrophomonas maltophilia*’nın neden olduğu Çin ginsengindeki yumuşak çürüklüğün ilk kaydı olduğunu vurgulamışlardır.



3. MALZEME VE YÖNTEM

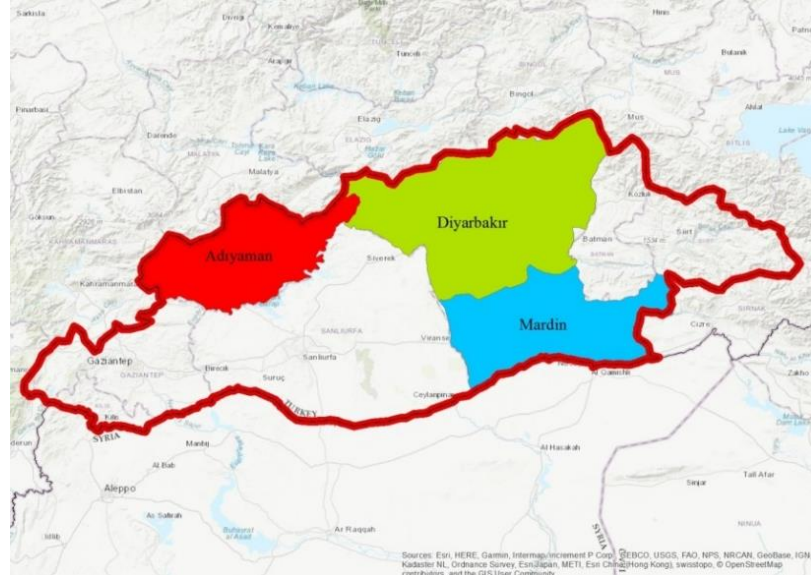
3.1 Malzeme

Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde yetiştirilen badem, erik, iğde, kayısı, kızılcık, kiraz, mahlep, nektarin, şeftali, vişne ve zeytin ağaçlarından elde edilmiş olan kloroz, nekroz, bakteriyel akıntı, kanser, yaprak lekesi, bitki organlarının atılması, doku anormallikleri gibi bakteriyel hastalık belirtilerini yansıtan bitki organlarıyla kültür, izolasyon, patojenisite, teşhis ve tanıda kullanılan her türlü alet ve gereçler çalışmanın malzemesini oluşturmaktadır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Sörvey çalışmaları

Sörvey çalışmalarının planlanması aşamasında; tez konusunu teşkil eden sert çekirdekli meyve türlerinin Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde yetiştirildiği lokasyonlar hakkında Tarım İl ve İlçe Müdürlükleri ve Diyarbakır Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü gibi kamu kuruluşlarından, tüzel kişilerden ve çiftçilerden bilgi alınmıştır (Şekil 3.1). Bu bilgiler kapsamında sörvey çalışmalarının lokasyonları belirlenmiştir. Sörvey öncesinde laboratuvar koşulları düzenlenmiş, kullanılacak sarf malzemeler temin edilmiş ve izolasyon sonrasında yapılacak olan çalışmalar için zemin hazırlanmıştır.



Şekil 3.1 Örnekleme illerinin Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki konumu

Sörvey çalışmaları 2019, 2020 ve 2021 yıllarında, bakteriyel etmenlerin en fazla aktif oldukları mart ve haziran ortalarına kadar olan dönemde, meyve türlerine göre değişmekle beraber çiçeklenme ile erken meyve dönemleri arasında yapılmıştır. İlaveten sonbaharda Mardin ili Derik ilçesindeki zeytin ağaçlarında ek bir sörvey

çalışması gerçekleştirilmiştir. Ayrıca sürveyler, şansa bağlılık prensibi gözetilerek hem sağlıklı hemde hastalıklı bitkiler gözlenmek kaydıyla tamamlanmıştır. Örnekler toplanırken sert çekirdekli meyve ağaçlarının bulunduğu gelişme dönemi kaydedilmiştir.

Sörvey çalışmaları Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinin sert çekirdekli meyve üretiminin en fazla yapıldığı ilçe ve köylerinde gerçekleştirilmiştir. Bahçeler illeri temsil edecek şekilde farklı yönlerden tesadüfen seçilmiştir. Bu kapsamda bahçeyi temsil edecek ağaç sayısı Lazarov ve Grigorov (1961) yöntemine göre belirlendikten sonra örnekleme işlemi gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.1). Örnekleme ağaçların dört farklı yönü de kontrol edilerek yapılmıştır. Sörveylerde kloroz, nekroz, bakteriyel akıntı (eksudat), kanser, yaprak lekesi, bitki organlarının atılması (çiçek, tomurcuk ve yaprak dökümü), doku anormallikleri (ur) gibi belirti gözlenen ağaçlar hastalıklı olarak kaydedilmiştir.

Tablo 3.1 Sert çekirdekli meyve bahçelerinde, ağaç sayısına göre yapılması gereken en az örnekleme sayıları (Lazarov ve Grigorov 1961)

Sörvey bahçelerindeki toplam ağaç sayısı (Adet)	İncelenecek ağaç sayısı (Adet)
1-20	Tüm ağaçlar
21-70	10-30
71-150	31-40
151-500	41-80
501-1000	Toplam ağaçların %15'i
>1000	Toplam ağaçların %5'i

3.2.2 Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması

Sörvey çalışmalarında; sert çekirdekli bitkilerin yaprak, sürgün, dal, çiçek, tomurcuk, meyve ve ana gövde gibi farklı organlarından örnekler alınmıştır (Şekil 3.2). Bahsi geçen bitki dokularından, sörvey çalışmaları başlığında (3.2.1) ifade edilen belirtilerin gözlemlendiği örnekler toplanmıştır. Toplanan örnekler; üzerinde saprofit mikroorganizmaların üremesini önlemek ve fazla nemini almak amacıyla kurutma kağıdına sarılmış ve etiketlenerek ağzı contalı polietilen torbalara konulmuştur. Etiketlin üzerine; tarih, koordinat, bitki, hastalıklı bitki kısmının ismi, arazi büyüklüğü, hastalıklı ve sağlıklı ağaç sayısı, hastalık belirtisi ve bitkinin çeşidi gibi bilgiler yazılmıştır. Etiketlenip polietilen torbalara yerleştirilen örnekler, içerisinde buz kalıpları bulunan soğutma ünitelerine konarak direkt güneş ışığına maruz kalmadan mümkün olan en kısa sürede laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen örnekler, izolasyon ve saflaştırma işlemleri gibi analizlerin

gerçekleştirileceği süreye kadar buzdolabında +4 santigrat derece (°C)'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2 A; Örnekleme yapılan zeytin bitkisinin sürgün kısmında, zeytin dal kanseri belirtisi, B; Örnekleme yapılan badem bitkisinin dal kısmında, bakteriyel yanıklık ve bakteriyel kanser belirtisi

3.2.3 Bakteriyel etmenlerin izolasyonu ve izolatların elde edilmesi

Hastalıklı örneklerden Fahy ve Pesley (1983) ve Saygılı ve ark. (2006)'ya göre bakterilerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Buna göre; toplanan örneklerden hastalık belirtisi sert olan dal, sürgün, gövde gibi odunsu dokuda olanlarda; çeşme suyu ile yıkanıp hem sağlıklı hem de hastalıklı dokuyu içerecek şekilde steril bir bistüri yardımıyla 0,5-1 cm uzunluğunda kesitler alınmıştır. Alınan bitki parçaları % 2'lik NaClO çözeltisinde 35-40 sn bekletildikten sonra dört seri steril sudan geçirilmiştir. Hastalık belirtisi yaprakta olanlarda ise örnekler, daha hassas bir bitki dokusu olması sebebiyle yüzey sterilizasyonu aşamasında 20-25 sn bekletilmiştir. Daha sonra yıkanan bu örnekler steril bir lam üzerinde her örnekte alevde sterilize edilen bistüri ile parçalanmıştır. Parçalanmış kesitler, içerisinde bir mililitre (ml) steril su ihtiva eden eppendorf tüplerine aktararak bir saat (sa) süresince bakterilerin su içerisine geçmesi beklenmiştir (Şekil 3.3). Bu süre sonunda eppendorf tüpü içerisindeki sudan bir öze dolusu alınarak petrideki ticari formülasyondan hazırlanmış Nutrient Agar (NA) besiyeri yerine çizgi ekim yapılmıştır. Eppendorf tüpler gerekli görülmesi halinde kullanılmak üzere + 4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3 İzolasyon çalışması kapsamında yüzey sterilizasyonu yapılan bitki parçalarının eppendorf tüplerinde bakterilerin suya geçişi için bekletilme aşaması

Örneklerin durumuna göre yukarıda belirtilen izolasyon yöntemleriyle petrilere çizgi ekimi yapıldıktan sonra elde edilen kültürler, 24 °C’de her gün gözlenmek kaydıyla 3-5 gün süresince inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresince koloni gelişimi göstermeyen ya da zayıf gelişim gösteren kültürler için inkübasyon işlemi sürdürülmüş; bu sayede yavaş gelişen izolatlar içinde zaman sağlanmıştır. İzolasyon yapılan petrilere gelişen bakteri kolonilerinden saflaştırma işlemi için; steril öze ile petrilere çizgi ekim yapılmıştır. İlk ekimden sonra homojen ve saf kültür elde edilemeyen izolatlar da, çizgi ekim işlemine saf kültür elde edilene kadar birkaç kez devam edilmiştir. Devamlı karışık çıkan kültürlerden süspansiyon hazırlanarak birkaç kez seyreltilip petrilere 4 fazlı çizgi ekim yapılmıştır. Bu sayede seyreltildiği için petride birbirinden ayrı tek kolonilerin gelişmesi ve dolayısıyla birbirine karışmış olan bakterilerin ayrılma işleminin tamamlanması sağlanmıştır. Tek koloni halinde gelişen bakteriler öze yerine steril kürdan kullanılarak farklı bir petriye alınmak suretiyle saflaştırılmıştır. Saflaştırılan kültürler +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Yapılan izolasyonlarda karışık bakteri izolatu miktarının fazla olması ve bunun saflaştırma çalışmalarını zorlaştırması sebebiyle örnekleme son yılı olan 2021 yılında izolasyon yöntemi değiştirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987; Popović ve ark., 2021). Bu yöntemde; soğutma ünitesi içerisinde buz kalıpları ile muhafaza edilerek laboratuvara getirilen hastalık belirtisi gözlenen örnekler mümkün olan en kısa sürede izolasyon çalışması uygulanmıştır. Öncelikle örnek, çeşme suyunda yıkanarak üzerinde ki toz vb. etmenler uzaklaştırılmıştır. Yüzeyi kuruyan örnekler % 70’lik ethanol uygulanarak yüzey dezenfeksiyonu yapılmış ve kuruması için steril laminar ekim kabinine konulmuştur. Kuruma işleminden sonra sağlıklı ve hastalıklı dokuyu

da içerecek şekilde 0,5-1 cm uzunluğundaki parçalar alınarak steril bir lam üzerinde steril bir bistüri ile iyice ezilmiştir. Ezilen parçalar, içerisinde 1ml fosfat tampon çözeltisi bulunan eppendorf tüplerine aktararak 1 saat süresince beklenmiştir. Daha sonra hem eppendorf tüpündeki bitki parçaları hem de bitki öz suyu içeren tampon çözeltiden King B besi ortamına ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 25 ± 2 °C’de her gün gözlenmek kaydıyla inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sırasında gelişen kolonilerden aynı besi ortamına öze yardımıyla ekim yapılarak bakteri kültürlerinin saflaştırılması işlemleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.4 Konukçu test bitkilerinin yetiştirilmesi

Patojenisite testi ve konukçu dizisi çalışmalarında kullanılmak üzere 2020 yılı ilkbahar döneminde tez konusunu teşkil eden badem, erik, ığde, kayısı, kıvılcık, kiraz, mahlep, nektarin, şeftali, vişne ve zeytin bitkilerinden yeterli sayıda dikim yapılarak bir bahçe tesis edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Çalışma kapsamında tesis edilen bahçenin genel görünüşü

Bahsi geçen bahçe, Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi bünyesinde bulunan arazide (enlem-boylam koordinatları: 37,8898277; 40,2724859) kurulmuştur. Bahçe tesisinde bitkilerden elde edilen bakteri izolatı sayısı esas alınmıştır. Bu kapsamda bahçe en fazla izolatın elde edildiği badem bitkisi sayısı diğerlerinden fazla olacak şekilde tasarlanmıştır (Tablo 3.2).

Bahçe bakımında herhangi bir pestisit kullanılmamış ve yabancı ot kontrolü elle yapmak suretiyle kültürel mücadele yöntemlerine göre yapılmıştır. Bahçedeki fidanların sulanması ise boğaz açma işleminin akabinde damlama sulama ile sağlanmıştır. Herhangi bir gübreleme işlemi ise yapılmamıştır. Yetiştiricilik esnasında fidelerde entomolojik veya fitopatolojik herhangi bir zarar oluşmamıştır. Ayrıca sera koşullarında söz konusu sert çekirdekli bitkilerin fidelerini ihtiva eden

bir deneme alanı oluşturulmuş ve fide saksılarında yetiştirilen bitkiler patojenisite ve konukçu dizisi testlerinde kullanılmıştır. Seradaki bitkiler % 60-80 nisbi nem ve 24 ± 5 °C sıcaklık koşullarında yetiştirilmiş, bakımında ise herhangi bir pestisit veya gübre kullanılmamıştır.

Tablo 3.2 Patojenisite testi ve konukçu dizisi çalışmalarında kullanılan bitkilerin konumlarını gösteren bahçe krokisi

GÜL BAHÇESİ	Boş	KR	FR	FD	HAYVAN İŞLETMESİ
	Boş	KY	FR	FD	
	Boş	KY	FR	FD	
	Boş	KY	FR	FD	
	NR	KY	FR	FD	
	NR	ER	FR	FD	
	KZ	ER	FR	FD	
	İĞ	ER	FR	FD	
	MH	ER	FR	FD	
	MH	ŞF	FR	FD	
	MH	ŞF	FR	FD	
	MH	ŞF	FR	FD	
	ZY	ŞF	FR	FD	
	ZY	VŞ	FR	FD	
	ZY	VŞ	FR	FD	
	ZY	VŞ	FR	FD	
	KR	VŞ	FR	FD	
	KR	FR	FR	FD	
	KR	FR	FD	FD	
	YOL				

FD: Ferraduel (Tozlayıcı Badem); FR: Ferragnes (Dişi Badem); VŞ: Vişne, ŞF: Şeftali; ER: Erik; KY: Kayısı; KR: Kiraz; ZY: Zeytin; MH: Mahlep; İĞ: İğde; KZ: Kızılcık; NR: Nektarin

3.2.5 Tütünde hipersensitif reaksiyon testi

Hipersensitif reaksiyon (HR) testinde kullanılmak üzere tütün bitkisi yetiştirme işlemine iklim odası koşullarında başlanmıştır. Bu amaç için; Mardin ilinin Kızıltepe ilçesindeki Ali Paşa köyünden temin edilen, Türk veya Şark tipi tütün (*Nicotiana tabacum* L.) olarak bilinen tütün tohumları kullanılmıştır (Şahin ve Taşlıgil, 2013). Tohumların ekimi gerçekleştirilmiş ve istenilen bitki sayısını karşılayacak düzeyde tohumun çimlenmesi sağlanmıştır (Şekil 3.5). İklim odası koşulları; tütünün optimum yetiştirme ihtiyacını karşılamak için, 26 ± 2 °C ve % 60-80 nisbi neme ayarlanmış ve termometre ile higrometre yardımıyla sürekli ölçülerek sabit kalması sağlanmıştır (Karabacak, 2017). İlk gerçek yapraklar çıktıktan sonra tütün bitkileri viyollerden deneme saksılarına aktarılmış ve HR testinin uygulanacağı 8-12 haftalık olacakları süreye kadar sulama ve bakım işlemleri (koltuk alma) yapılmıştır.



Şekil 3.5 HR testinde kullanılmak üzere viyollerde yetiştirilen ve deneme saksılarına aktarılan tütün bitkileri

Tütün bitkileri 8-12 haftalık olduklarında aşırı duyarlılık testi için hazırlıklara başlanmıştır. Test edilecek bakteri kültürleri, NA besi yerinde 24 saat geliştirildikten sonra, 10^8 - 10^9 colony forming unit/mililitre (CFU)/mL yoğunluğunda veya spektrofotometre (Ultraviyole (UV) visible, 600 nanometre (nm) dalga boyunda % Transmittance: % 60) de 0,3-0,4 absorbans değerine sahip konsantrasyonda, süspansiyon olarak hazırlanmıştır. Her bir izolat için iki tekerrür olmak üzere, tütünün yan damarlarının kenarı boyunca uzanan yaprak laminasının mezofiline, hypodermik şırınga iğnesiyle süspansiyon enjekte edilmiştir. Bu işlem için, dış çapı takriben 0,6 mm olan 2 ml hacime sahip ince iğneler kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak steril su, pozitif kontrol olarak ise tipik aşırı duyarlılık reaksiyona sebep olan ve elimizde bulunan, moleküler olarak teşhisi yapılmış Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarından temin edilen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (*Pss*) ve *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* (*Psm*) izolatları kullanılmıştır. Yapışkan etiketlere izolat kodları yazılarak enjeksiyon yapılan yaprak laminaları etiketlenmiştir.

Bitkiler iklim odası koşullarında 25-28 °C sıcaklıkta ve % 60-80 nisbi nemde inkübe edilmiştir. Tütün bitkilerinde 24 saat (bir gün) içerisinde inokulumun verildiği yerle sınırlı kalmış olan, bir çökme ve dokunun su emmiş gibi görünmesi, aynı zamanda bunu takiben dokunun 72 saat (3 gün) içerisinde kuru ve açık kahverengi nekrozlar vermesi pozitif bir reaksiyon olarak değerlendirilmiştir. Çökme olmaksızın sararma veya kahverengileşme pozitif reaksiyon olarak kabul edilmemiştir (Klement ve ark., 1964).

3.2.6 Patojenisite testleri

3.2.6.1 Ana konukçu patojenisite testi

HR testi pozitif ve bitki patojeni olma ihtimali yüksek olan bakteri izolatlarına ana konukçu patojenisite testi uygulanmıştır. Badem izolatlarının patojenisite testi, ilkbaharda arazi koşullarında yetiştirilen 3 yıllık ferragnes ve ferraduel badem fidanları ve mevsim dışında ise sera koşullarında yetiştirilen 2 yıllık badem fidanları üzerinde gerçekleştirilmiştir. Mahlep ve kayısı izolatlarının patojenisite testleri ise sera ortamında yetiştirilen ve daha sonra ilkbaharda araziye çıkarılan 2 yıllık fideler üzerinde yapılmıştır. Zeytin izolatlarının hem zeytin hem de konukçu dizisinde bulunan zakkum bitkisindeki reaksiyonlarını görmek amacıyla patojenisite testinde 2 yıllık zeytin, pembe zakkum ve beyaz zakkum fideleri kullanılmıştır (Saygılı ve ark., 2019).

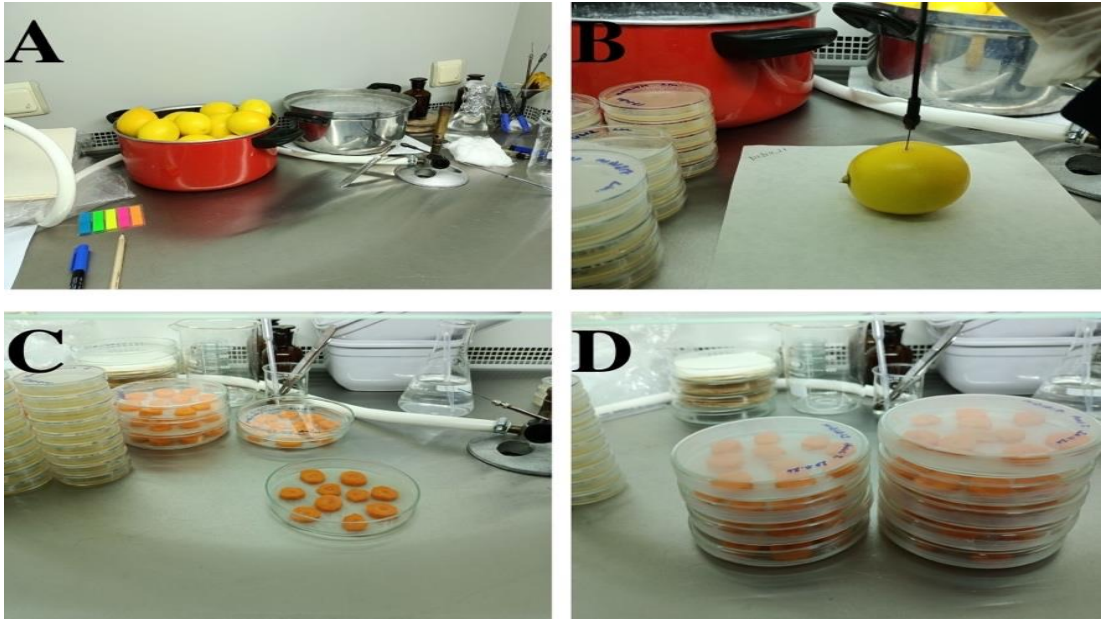
Patojenisite testi için King B besi ortamına ekilen 1 günlük taze bakteri kültürleri kullanılmıştır. Kesme işleminden önce bir yıllık sürgün yüzeyi % 70'lik etil alkol ile silinerek yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır. Daha sonra steril bir bistüri yardımıyla sürgünde 1 santimetre (cm) uzunluğunda ve 0,5 cm derinliğinde kısım kesilerek yara açılmıştır. Petride geliştirilen bakteri kültürü, açılan yaranın tamamını kaplayacak şekilde, her bir izolat için aynı miktarda olmak kaydıyla steril kürdan yardımıyla sürülmüştür (Klement ve ark., 1990). İnokulasyon yapılan sürgün kısmının üzerine, kesilen kabuk kısmı yerleştirilerek steril su ile nemlendirilmiş steril bir pamuk parçasıyla sarılmıştır. İnokulasyon yapılan bölge parafilm ile hava almayacak şekilde iyice sarılarak etiketlenmiştir. Negatif kontrol olarak steril su kullanılmıştır. İzolatların 5-6 haftalık inkübasyon süresinin sonunda lezyon oluşup oluşmadığı değerlendirilmiştir. Yapılan kontrollerde; lezyon oluşmaması negatif, açılan yarayla sınırlı lezyon oluşmuş ise zayıf pozitif, doku içlerine kadar ilerleyen ve açılan 1 cm'lik yara bölgesinden daha fazla alana yayılmış lezyon oluşumu ise pozitif reaksiyon olarak kaydedilmiştir.

3.2.6.2 Limon ve havuç meyve testleri

Bazı bakteriyel etmenlerin bitkide oluşturduğu belirtilerin geç ortaya çıkması gibi durumlar söz konusu olabildiği için ilave olarak meyve patojenisite testleri yapılmıştır. Bu amaçla; özellikle *Pss* (Sert çekirdekli meyvelerde bakteriyel yanıklık ve kanser hastalığı) etmenini tespit etmek için, sağlıklı ve lekesiz limon meyveleri

kullanılmıştır. Limon çeşme suyu ile yıkandıktan sonra yüzeyi % 70'lik etil alkol ile dezenfekte edilmiş ve steril su ile ekim kabini içerisinde tekrar yıkanmıştır. Yıkanan limonun yüzeyine test edilen bakteriden bir öze dolusu sürülerek steril bir iğne yardımıyla meyvenin içerisine doğru delinmiştir (Şekil 3.6). Delinen limon steril whatman filtre kağıdına sarılarak 25 °C'de 10 gün süresince inkübasyona bırakılmıştır. Pozitif kontrol olarak teşhisi yapılmış *Pss* izolatı, negatif kontrol olarak ise steril su kullanılmıştır (Gašić ve ark., 2012). İnkübasyon süresi sonundaki gözlemlerde; siyah, derin, nekrotik çukurlar pozitif (+), bu belirtiyi göstermeyen izolatlar ise negatif (-) olarak değerlendirilmiştir.

Bitkide ur belirtisi oluşturan *Pseudomonas savastoni* pv. *savastoni* (*Psv*, Zeytin dal kanseri) bakteriyel etmeninin tespiti için; patojenisite testinde hızlı sonuç veren havuç testi uygulanmıştır (Doksöz ve Bozkurt, 2020a). Bu amaçla; havucun kabukları soyulduktan sonra % 70'lik etil alkol ile yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır. Daha sonra havuç steril bir bıçak ile dilimlenerek içerisinde nemli steril filtre kağıdı bulunan petri (120 mm) kutusuna aktarılmıştır (Şekil 3.6). Her bir bakteri kültürü için 10 adet havuç dilimi kullanılmıştır. Her bir havuç dilimi üzerine bir öze dolusu bakteri kültürü sürülmüştür. Negatif kontrol için steril su kullanılmıştır. Havuç dilimleri üzerinde tipik ur oluşumu gözlenenler pozitif, bu belirtiyi göstermeyenler negatif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.6 Limon ve havuç patojenisite testlerinin uygulanması A; Limon testi hazırlık, B; Limon testi uygulama, C; Havuç testi hazırlık, D; Havuç testinin uygulandığı izolatlar ait petriler

3.2.7 Bakteri izolatlarının cam boncuk yöntemi ile saklanması

Bakteri izolatlarının sonraki çalışmalarda kullanılabilmesi ve özelliklerini kaybetmelerinin önüne geçilmesi amacıyla cam boncuk yöntemi ile dondurularak saklanmaları işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Cam boncuk yöntemi uygulanan ve çalkalayıcıda inkübasyona tabi tutulan bakteri kültürleri

Yöntemin esası; kriyoprotektan bir madde ile konsantre edilmiş bakteri kültürünün 1-2 milimetre (mm) boyutundaki steril cam boncuklar (ortası delik, şeffaf, tülbent boncukları) ile karıştırılması ve daha sonra dondurulmasıdır (Halkman ve Doğan, 2000). Metodun uygulanmasından sonra muhafaza için dondurma sıcaklığı olarak -70 °C kullanılması tavsiye edilmektedir.

Cam boncuklar deterjan ile yıkanıp saf sodyum-hipoklorit çözeltisinde 48 sa süresince bekletilmiştir. Yüzey sterilizasyonu yapılan cam boncuklar 4 seri steril sudan geçirilerek iyice yıkanmıştır. Yıkanan boncuklar steril kurutma kağıtları üzerinde kurutulmuştur. Daha sonra cam boncuklar otoklav poşetine sarılmış petri kutuları içerisinde, 121 °C’de 15 dakika (dk) süresince otoklavda sterilize edilmiştir.

Bakteri kültürünün tek bir kolonisinden bir öze dolusu alınarak 3 ml nutrient broth yeast (NBY) sıvı yerine aktarılmıştır. Bu aşamada 24 °C’de 2 gün süresince, orbital çalkalayıcı ile 100 döngü/dk (rpm)’de inkübe edilmiştir. İçerisinde bakteri gelişimi sağlanan bu kültürden, steril koşullarda 700 mikrolitre (µl) alınarak 300 µl steril gliserol (% 30) ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışım 1,8 ml hacmi olan kyro tüpe

aktarılmıştır. Karışımın bulunduğu kyro tüp içerisine daha önce sterilizasyonu yapılan cam boncuklardan 5 adet konulmuştur. Cam boncukların birbirine yapışmaması için karışım ve cam boncuklar arasında hava boşluğu kalmayana kadar el ile hafifçe çalkalanmıştır. Kyro tüpün steril kapağı kapatıldıktan sonra, bakteri kültürü dondurularak muhafaza edilmiştir.

3.2.8 Biyokimyasal Testler

3.2.8.1 Gram boyama reaksiyonunun belirlenmesi

Çalışmada Hucker (1921)'in modifiye ettiği gram boyama metodu uygulanmıştır. Bu yöntemde 3 grup solüsyon kullanılmıştır. Bunlar;

I. Kristal Viyole

Solüsyon A:	Kristal mavisi	2 gram (g)
	Etil alkol (%95)	20 ml
Solüsyon B:	Amonyum okzalat	0,8 g
	Damıtık su	80 ml

II. Lugol Solüsyonu

İyot	1,0 g
Potasyum iyodür (KI)	2,0 g
Damıtık su	300 ml

III. Safranin Solüsyonu

Etil alkol (%96)	100 ml
Safranin (% 2.5 alkole göre)	0,25 g
Damıtık su	100 ml

Çalışma için yukarıda formülü verilen solüsyonların ticari formülasyonları temin edilmiştir. Kullanılacak rodajlı lamalar analizden önce 175 °C'de 1 saat süresince kuru havalı sterilizatörde (pastör fırını) sterilize edilmiştir. Ayrıca analizde kullanılmak üzere 120 °C'de, 1 atmosfer (atm) basınç altında 15 dk süresince otoklavda sterilize edilmiş olan steril su hazırlanmıştır.

Bakterilerin lamlara fikse edilmesinde, öncelikle rodajlı lamın kenarına boyaması yapılacak bakterinin izolat kodu yazılmıştır. Daha sonra lamın orta noktasına bir damla steril su damlatılmış ve bir gün önce NA besi yerine aşılana bakteriden bir öze ile alınarak bu su damlası içerisinde iyice karıştırılıp lam üzerine yayılmıştır.

Daha sonra lamalar hafif alevden geçirilmiş ve oda sıcaklığında, cam çubuklar üzerinde bırakılarak daha iyi kuruması sağlanmıştır.

Boyamanın yapılması işleminde, önce kuruyan lamaların üzerine kristal viyole (I. solüsyon) dökülmüş ve 1 dk süresince beklenmiştir. Lamalar çeşme suyu ile indirekt olarak yıkanmış sonra üzerine lugol solüsyonu (II. solüsyon) damlatılarak 1 dk beklenmiştir. Süre sonunda tekrar indirekt olarak çeşme suyu ile yıkanmış ve kurutma kağıdı ile hafifçe kurulanmıştır. Daha sonra lamalar içerisinde % 95'lik etil alkol bulunan bir kaba batırılmış ve 30 sn kadar beklenmiştir. Eğer lamalar üzerinde mavi renk varsa alkolde biraz daha yıkanmıştır. Lamalar tekrar kurulanmış ve safranin solüsyonu üzerine dökülmüştür. 20 sn bekledikten sonra tekrar lamalar yıkanmış ve bir süre daha kurumaları için oda sıcaklığında beklenmiştir.

Bakterilerin fikse edildiği ve boyandığı lamalar, faz kontrast mikroskopta immersiyon yağı ile incelenmiştir. Eğer bakteriler mavi renkte ise; Gram-pozitif, bakteriler pembe-kırmızı renkte ise; Gram-negatif olarak değerlendirilmiştir (Saygılı ve ark., 2006).

Ayrıca potasyum hidroksit (KOH) ile gram boyama test sonuçları yeniden doğrulanmıştır. Bakteri izolatlarının hücre duvarlarındaki farklılığı belirleyebilmek için % 3'lük KOH solüsyonu hazırlanmıştır. Bir gün önce pastör fırınında 175 °C'de 1 saat süresince sterilize edilmiş olan lam üzerine, hazırlanan % 3'lük KOH solüsyonundan bir damla damlatılmıştır. Damlanın içerisine bir gün önce NA besi yerine aşılınmış izolatdan bir öze dolusu alınarak 5-10 saniye süresince iyice karışması sağlanmış ve öze yukarı doğru kaldırılmıştır. Gram negatif bakterilerin hücre duvarındaki peptidoglukan tabakası tek katlı olduğu ve teikoik asit içermediğinden KOH muamelesi ile parçalanır. Bu nedenle sitoplazma sıvısı serbest hale geçen bakterinin uygulandığı KOH damlasında vizkoz bir uzama görülmüştür. Öze yukarı kaldırıldığında 0,5-2 cm bir uzama gözlenen izolatlar gram negatif olarak değerlendirilmiştir. Akışkan ve vizkoz bir yapıda olmayan ve uzama gözlenmeyen izolatlar ise gram pozitif olarak değerlendirilmiştir (Saygılı, 1995).

3.2.8.2 *Levan oluşumu testi*

Bu test için kullanılan besi yeri (1 litre);

Beef extract	% 0,1
Yeast extract	% 0,2
Bakteriyolojik pepton	% 0,5
NaCl	% 0,5
Agar	% 1,5
Sucrose	% 5,0

pH: 7,2-7,4

Yukarıda formülü verilen, % 5 sakkaroz içeren NA besi yeri hazırlandıktan sonra 121 °C’de, 1 atm basınç altında, 20 dk süresince sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra besi yeri petri kutularına aktarılmıştır. Bir gün önce NA besi yerine aşılانmış izolatların her birinden 1 ml steril su içerisine 1 öze dolusu aktararak bakteriyel süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan bu süspansiyondan sterilizasyonu yapılan petri kutularının yarısına çizgi ekim, diğer yarısına ise nokta ekim şeklinde aşılama yapılmıştır. Aşılama yapılan petri kutuları 27 °C’de 5 gün süresince inkübasyona tabi tutulmuştur. Yaşlanan koloniler bazı özelliklerini yitirebildikleri için gözlemler günlük olarak alınmıştır. Gözlemlerin sonucunda; sümüksü, kubbe şeklinde koloniler pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak; elimizde bulunan teşhisi yapılmış *Pss* izolatı kullanılmıştır. (Klement ve ark., 1990).

3.2.8.3 *Kovacs oksidaz testi*

Bu biyokimyasal testte nitrat ve nitrit içeren besi yerlerinde yanlış pozitif reaksiyon görülmesi açısından bakteriler test gerçekleştirilmeden 24 saat önce % 1 glikoz içeren NA besi yerine aşılانmıştır. Test solüsyonu olarak % 1’lik Tetra methyl-p-phenylenediamine dihydrochloride’in ticari formülasyonu kullanılmış ve test solüsyonu hazırlanmıştır.

Bir petri kutusu içerisine steril whatman filtre kağıdı yerleştirilmiş ve % 1’lik solüsyondan filtre kağıdının merkezine 3-4 damla damlatılmıştır. Test edilecek bakteri kültüründen bir platin öze dolusu alınarak solüsyonun damlatıldığı yerin merkezine, yaklaşık 1 cm uzunluğunda bir şerit halinde iyice sürülmüştür. Bu işlem sonuçların doğruluğunu etkilememesi açısından mümkün olduğu kadar hızlı gerçekleştirilmiştir (Kovacs, 1956). Kontrol işleminde;

10 saniye sonra maviye dönüşürse:	pozitif
60 saniye sonra maviye dönüşürse:	geç pozitif
60 saniye sonra maviye dönüşmezse:	negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.8.4 Pektolitik aktivite testi

Bu testte taze ve hastalıklı olmayan patatesler kullanılmıştır. Patatesler soyulduktan sonra % 70'lik etil alkole batırılmış ve ardından bunzen alevinden geçirilmiştir. Yüzeysel sterilize edilen patatesler steril bir bıçakla 7-8 mm kalınlığında dilimlere ayrılmıştır. Altına steril Whatman filtre kağıdı konulmuş petrilere hazırlanan dilimlerden birer tane yerleştirilmiştir. Bu dilimlerin ortası steril bir bistüri vasıtasıyla oyulmuştur. Bir gün önce KB besi ortamına ekimi yapılmış taze bakteri izolatlarından bir öze dolusu alınarak açılan çukura ekimi yapılmıştır. Petriler yarı yüksekliğe kadar steril su ile doldurulmuştur. Ekimden sonra petri kutusu parafilm ile sarılıp 3 gün süresince 25±1 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası petriler kontrol edilerek şu şekilde değerlendirilmiştir;

Bakteri aşılaman patates dilimi sert ise, steril kürdan batırıldığında kolayca batmıyorsa negatif olarak değerlendirilmiştir. Steril kürdan kolaylıkla batıyor ise, dilimde bir yumuşama, hafif pis koku ve suda sararma var ise bu durum pozitif olarak değerlendirilmiştir (Saygılı ve ark., 2006).

3.2.8.5 Arjinin dihidrolaz testi

Bu test için kullanılan Thornley 2A besi yeri (1 litre);

Peptone	1 g
NaCl	5 g
K ₂ HPO ₄	0,3 g
Agar	3 g
Phenol red	0,01 g
L + HCL Arjinin	10 g
pH: 7,2	

Agar dışında yukarıdaki maddeler tartılarak bir erlenmayer de eritilmiş ve verilen pH değerine ayarlanmıştır. Daha sonra agar üzerine ilave edilerek eritilmiştir. Hazırlanan besi yeri otoklavda 121 °C'de, 1 atm basınç altında, 15 dk süresince sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra eppendorf tüplerine 1'er ml aktarılan besi yerine bakteri kültürü aşılanmış ve tüplerin üzerine 0,5 ml erimiş su agarı (% 3'lük)

ilave edilerek tüpler mühürlenmiştir. Ağzı parafilm ile sarılan ve kapatılan eppendorf tüpleri 27 °C’de 15 gün süresince inkübasyona tabi tutulmuştur. Yapılan kontrollerde; koyu kırmızı renk olursa pozitif olarak, turuncu-pembe renk olursa negatif olarak değerlendirilmiştir. Elimizde bulunan teşhisi yapılmış *Pss* izolatu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Fahy ve Persley, 1983; Klement ve ark., 1990; Saygılı ve ark., 2006).

3.2.8.6 Floresan pigment testi

Bu test için kullanılacak King B besi yeri (1 litre);

Proteoz peptonu	20 g
K ₂ HPO ₄ . 3H ₂ O	1,5 g
Gliserol	10 g
Agar	15 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	1,5 g
pH: 7,2	

Hazırlanan besi yeri 121 °C’de, 1 atm basınç altında, 15 dk süresince otoklavda sterilize edilmiştir. Besi yeri sterilizasyon işleminden sonra petrilere dökülerek soğuması beklenmiştir. Soğuyan ve ekime hazır hale gelen petriye, bakteri kültürünün çizgi ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan petri 25 °C’de 2 gün süresince inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda petri; karanlık bir odada, 365 nm dalga boyuna ayarlı bir UV lamba ile incelenmiştir. İncelemede; yeşil floresan pigment bulunanlar pozitif (+), diğerleri ise negatif (-) olarak değerlendirilmiştir (King ve ark., 1954).

3.2.8.7 Jelatinin hidrolizi testi

Bu test için kullanılacak besi yeri (1 litre);

Pepton	5 g
Beef extract	3 g
Jelatin	120 g

Yukarıda formülü verilen besi yeri, jelatinin erimesi için 50 °C’ ye ayarlı su banyosuna konulmuş ve deney tüplerine 5’er ml aktarılaraq 121 °C’ de 1 atmosfer basınç altında 15 dakika süresince otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra bakteriler tüplere aşılanarak 20 °C’de 7-14 gün süresince inkübasyona tabi tutulmuştur. Tüpler, kontrolden önce sıvılaşma olup olmadığını belirleyebilmek için; 30 dakika kadar buzdolabında +4 °C’de bekletilmiştir. Kontrol

neticesinde; tüplerdeki jelatin katı halde ise negatif olarak, tüplerdeki jelatin akıcı halde ise pozitif olarak değerlendirilmiştir (Fahy ve Persley, 1983).

3.2.8.8 Esculin hidroliz testi

Bu test için kullanılan besi yeri (1 litre)

Pepton	10 g
Esculin (Aesculin)	1 g
Sodium citrate	1 g
Ferric ammonium citrate	0,05 g

pH: 7,0

Yukarıda tarifi verilen besi yeri hazırlandıktan sonra pH'ı 7'ye ayarlanmış ve otoklavda 121 °C'de, 1 atm basınç altında, 15 dk süresince sterilize edilmiştir. Sterilize edilen besi yeri eppendorf tüplerine 1,5 ml olacak şekilde aktarılmıştır. Besi yeri aktarılan tüplere bakteri izolatları aşılanmış ve 5 gün süresince inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresi sonunda yapılan kontrollerde besi yeri kahverengimsiyah renk alanlar pozitif, sarı renk olanlar ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak bakteri aşılanmamış sadece besi yeri içeren tüp kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak ise elde bulunan teşhisi yapılmış *Pss* izolatı kullanılmıştır (Obradovic, 2010; Sneath, 1956).

3.2.8.9 Tyrosin ve tartarik asit kullanım testleri

Bakterilerin karbon kaynaklarından yararlanmalarını belirlemede kullanılan bazal besi yerinin 1 litrelik hacim için formülü;

NH ₄ H ₂ PO ₄	1 g
KCl	0,2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2 g
Bromthymol blue	0,08 g
Agar	14 g

Agar dışındaki kimyasallar 900 ml saf suda eritilmiş, pH 7,0'ye ayarlandıktan sonra üzerine agar ilave edilerek 100 °C'de eritilmiş ve kapaklı deney tüplerine 4,5 ml olarak aktarılmıştır. Daha sonra tüpler otoklavda 121 °C'de, 1 atm basınç altında, 15 dk süresince sterilize edilmiştir.

Tyrosin ve tartarik asit karbonhidratlarının her birinden 4 g tartılarak ve üzerine 40 ml saf steril su ilave edilerek eritilmiş ve tekrar 7 pH değerine ayarlanmıştır. Sonra

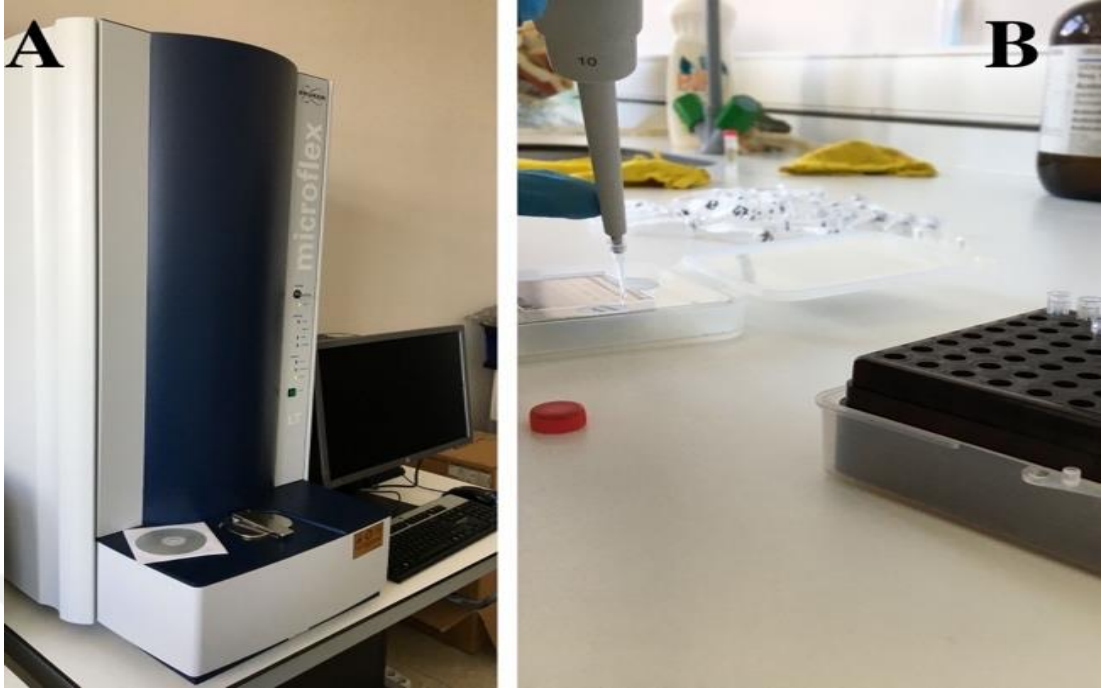
hazırlanan süspansiyonlar önce bakteri filtresinden geçirilmiş ardından UV ışık altında sterilize edilmiştir. Sterilize edilen karbonhidratlar otoklavda sterilize edilen ve 4,5 ml besi yeri içeren tüplere; 0,5 ml ilave edilmiş ve eğik agar olarak hazırlanmıştır. Bu sayede besi yeri ihtiva eden tüplerdeki karbonhidrat oranının % 1 olması sağlanmıştır. Hazırlanan tüplere bakteri aşılınmış ve 24–27 °C’de 1 hafta süresince inkübasyona tabi tutulmuştur. Negatif kontrol olarak bakteri aşılınmamış tüp kullanılmıştır. Asit oluşan tüplerde negatif kontrol tüpüne kıyasla renk değişimi olmuşsa pozitif olarak değerlendirilmiştir. Aksi durum negatif olarak kaydedilmiştir (Obradovic, 2010; Schaad ve ark., 2001).

3.2.8.10 Katalaz reaksiyon testi

Bu test için; % 3’lük hidrojen peroksit (H_2O_2) solüsyonu hazırlanmıştır. Bakteri kültürü olarak da, izolatların 1 gün önceden eğik agara aşılınmış taze kültürleri kullanılmıştır. Her bir izolat için, kuru havalı sterilizatör de 175 °C’de 1 saat süresince sterilize edilen rodajlı lam alınmış ve üzerine cam boyama kalemi ile test ve kontrol olarak 2 farklı alan işaretlenmiştir. Bu alanların her ikisine de steril su damlatılmıştır. İzolatların bir günlük bakteri kültürlerinden bir öze dolusu alınarak, lamlar üzerine test ve kontrol için işaretlenen yerlere önceden damlatılan 2 steril su damlasına iyice karıştırılmıştır. Daha sonra test işaretli alanda yer alan damlaya, hazırlanan % 3’lük H_2O_2 solüsyonundan bir damla damlatılmıştır. Yapılan kontrollerde hava kabarcıklarının görülmesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol için elimizde bulunan teşhisi yapılmış *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatı kullanılmıştır (Klement ve ark., 1990).

3.2.9 Bakteri izolatlarının MALDI-TOF kütle spektrometre ile teshisi

Saf bakteri kültürlerinin KB besi ortamına ekilmiş 24-48 saatlik taze kolonileri ethanol-formik asit yöntemiyle ekstrakte edilmiştir. Her bir bakteri izolatı steril bir tahta kürdan yardımıyla alınarak doğrudan oyuklu paslanmaz çelik bir tabaka üzerine yerleştirilmiş ve üzeri 1 µl HCCA Matris (α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid) solüsyonu ile kaplanmıştır (Şekil 3.8). Hava kurumasını takiben örnekler bir MALDI-TOF-MS (Bruker Daltonics) kullanılarak analiz edilmiştir. Örneklerin kütle spektrumları Flex Control Software (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) yazılımı ile analiz edilmiş ve kütüphanedeki referans spektrum verileri (BIOTYPER™ 1.1 software (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany)) ile eşleştirilerek tanıları yapılmıştır (Kara ve ark., 2017; Pavlovic ve ark., 2012).



Şekil 3.8 MALDI-TOF MS analizinin uygulanması A; MALDI-TOF MS cihazı, B; MALDI-TOF plate'i üzerindeki bakterilerin matrix solüsyonu ile kaplanması

3.2.10 Konukçu dizisi testi

3.2.10.1 Konukçu dizisi testinin uygulama aşamaları

Konukçu dizisi testiyle, en etkin izolatın hastalandırabileceği belirli türdeki konukçuların tespit edilmesi amaçlanmıştır. Konukçu dizisinin belirlenmesi testi için iki izolat ve iki konukçu dizisi belirlenmiştir. Her iki test izolatı da (A/B/6/2, M/D/Z/6) diğer testlerin çoğunda pozitif reaksiyon gösteren ve ana konukçusunda yüksek düzeyde patojen özelliğine sahip izolatlardan seçilmiştir. Testte kullanılan A/B/6/2 izolatı; Adıyaman ili Besni ilçesinden ve badem bitkisindeki kanser belirtisinden izole edilmiştir. Söz konusu izolat ana konukçu testinde yüksek virülenslik göstermiştir. M/D/Z/6 izolatı ise Mardin ili Derik ilçesinden ve zeytin bitkisindeki ur belirtisinden izole edilmiştir. Aynı şekilde M/D/Z/6 izolatı, zeytin izolatlarına uygulanan havuç patojenisite testinde yüksek virülenslik göstermiştir. Konukçu dizisi testi için; sera ortamında yetiştirilmiş olan 2 yıllık sert çekirdekli bitki fidanlarının (Badem, erik, ığde, kayısı, kıızılcık, kiraz, mahlep, şeftali, zakkum, zeytin) bahar yağmurları ile sulanması, iklim ve arazi koşullarına uyum sağlaması amacıyla taşınarak bakımları yapılmaya başlanmıştır. Fidelerin dış ortama uyum sağlayıp yaprak çıkışı ve yeni sürgünlerin gelişmesi beklenmiştir. İklimin bakteri gelişimi için uygun olması ve fidelerin dış ortama uyum sağlamasının ardından konukçu dizisi testi için hazırlıklara başlanmıştır. Kuvvetli patojen olan A/B/6/2

izolatının her bir bitki için bir petriye olmak üzere King B besi ortamına ekimi yapılmıştır.

Konukçu dizisi testinde; kesme işleminden önce bir yıllık sürgün yüzeyi % 70’lik etil alkol ile silinerek dezenfekte edilmiştir. Daha sonra % 70’lik etil alkolle her uygulamadan önce dezenfekte edilen steril bir bıçak yardımıyla kabuk reaksiyonlarını görmek amacıyla normal patojenisite testinde uygulandığından farklı olarak, sürgünde yatay çizgisi 0,5 cm olan ve dikey çizgisi 1 cm olan “T” şeklinde bir kısım kesilerek kabuk zarar vermeden kaldırılmıştır. Kaldırılan kabuğun altındaki doku hafifçe bıçakla zedelenerek bir günlük bakteri kültüründen steril bir kürdan yardımıyla alınıp kabuk altındaki zedelenen dokunun tamamını kaplayacak şekilde sürülmüştür. İnokulasyon yapılan sürgün dokusunun üzerine kesilen kabuk kısmı zarar vermeksizin kapatılarak üzerine steril su ile nemlendirilmiş steril pamuk sarılmıştır. İnokulasyon yapılan bölge parafilm ile hava almayacak şekilde iyice sarılarak etiketlenmiştir. Daha sonra 5-6 hafta süresince bitkilerdeki gelişim gözlenmiştir. Süre sonunda yapılan kontrollerde; oluşan lezyonların uzunluğu, çapı ve sürgün çapı dijital bir kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Lezyon alanının sürgün alanına oranı yüzde olarak belirlenerek enfeksiyon alan yüzdesi hesaplanmıştır. Her bir bitki için belirlenen enfeksiyon alan yüzdeleri istatistiki olarak değerlendirilmiş ve patojen bakterinin konukçu dizisi belirlenmiştir. A/B/6/2 izolatı badem, kayısı, kiraz, mahlep, ığde, erik, vişne, kızcılık, şeftali ve zeytin fidanlarına uygulanmıştır. Pozitif kontrol olarak elimizde bulunan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi’nden temin edilen moleküler teşhisi yapılmış *Pseudomonas syrinage* pv. *syrinage* (van Hall) izolatı badem bitkisine verilmiştir.

Konukçu dizisi testi için seçilen ikinci izolat, M/D/Z/6 zeytin izolatıdır. Her yönüyle en virülens görülen bu izolat için zeytin, pembe ve beyaz zakkum türlerinin gövdelerine inokulasyon yapılmıştır. İlave olarak M/D/Z/6 izolatı, yapraklardaki reaksiyonu görmek amacıyla zeytin ve zakkum bitkilerinin yapraklarına uygulanmıştır. Bu kapsamda % 70’lik etil alkolle yüzey dezenfeksiyonu yapılan steril bir bistüri yardımıyla yaprağın ana damarının üzerindeki kısım hafif çapraz şekilde iki taraftan ana damara zarar vermeden 0,5 cm uzunluğunda kesilerek kaldırılmıştır. Kaldırılan kısmın altındaki dokuya tamamını kaplayacak şekilde steril

kürdan yardımıyla bakteri sürüldükten sonra üzerine kapatılmıştır. Steril su emdirilmiş steril bir pamuk inokülasyon yapılan bölgenin üzerine yerleştirilmiş ve yaprağa zarar vermeden parafilm ile sarılmıştır. Negatif kontrol olarak steril su kullanılmıştır. Dokuz günlük inkübasyon süresi sonunda parafilm ve pamuk yaprağa zarar vermeden açılmış, lezyonun durumu değerlendirilerek kaydedilmiştir.

3.2.10.2 Lezyon alanlarının ve enfeksiyon alan yüzdelerinin hesaplanması

Teste tabi tutulan sürgünlerde patojenisite sonucunda oluşan lezyonların alt ve üst bitim noktaları kesilerek silindir biçiminde örnekler elde edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda belirli boyutlarda nekroz-ölü dokular oluşturarak pozitif reaksiyon gösteren bitkilerde dijital kumpas yardımıyla lezyon uzunluk ve genişliği ile sürgün çapı verileri ölçülmüş, silindir biçimindeki toplam alana oranlanarak A/B/6/2 bakteri izolatının sert çekirdekli bitkilerdeki enfekteli alan değeri bulunmuştur. Hesaplamalarda lezyonun oluşturduğu geometrik biçim esas alınarak Spiegel ve ark. (1968)'e göre aşağıdaki formüller kullanılmıştır.

Lezyon eliptik şekilde ise;

$$\text{Elipsin alanı} = \pi * a * b \quad (3.1)$$

Burada;

“ π ” Pi sayısı (3,14159265359); “ a ” Elipsin yani lezyonun kısa yarıçapını; “ b ” Elipsin yani lezyonun uzun yarıçapını temsil etmektedir.

Lezyonun şekli zeytin ve zakkum bitkisinin kabuk reaksiyonlarındaki gibi dikdörtgen şeklinde ise; aşağıdaki formül kullanılarak ölçüm yapılmıştır.

$$\text{Dikdörtgenin Alanı} = x * y \quad (3.2)$$

Burada;

“ x ” Dikdörtgen biçimindeki lezyonun kısa kenar uzunluğunu; “ y ” ise uzun kenar uzunluğunu temsil etmektedir.

Bitkide 2 farklı noktada kabuk reaksiyonu var ise dikdörtgen şeklindeki lezyon alanları toplanarak toplam lezyon alanı hesaplanmıştır. Sert çekirdekli bitkilerde sürgünlerin büyüklüğü bitkiden bitkiye, yıldan yıla değişiklik gösterdiği için patojen nedeniyle oluşan lezyonun sürgün çapına oranıyla enfeksiyon alan yüzdesi

hesaplanmıştır. Sürgün silindir şeklinde olduğu için sürgün alanının hesaplanmasında silindirin yanal alan hesaplama formülü kullanılmıştır.

$$\text{Sürgün Alanı} = \text{Silindir Yanal Alanı} = 2 * \pi * r * h \quad (3.3)$$

Burada;

“2” Sabit sayı; “ π ” Pi sayısı (3.14159265359); “ r ” Silindir şeklindeki sürgünün yarıçapı; “ h ” ise bu silindirdeki lezyonun uzunluğunu temsil etmektedir.

Enfeksiyon alanı ise silindirin toplam yanal alanındaki lezyonlu alanı ifade etmektedir. Enfekteli (hastalıklı) alanın yüzdesi aşağıdaki formül ile lezyonlu alanın toplam sürgün alanına kıyaslanmasıyla ölçülmüştür.

$$\text{Enfeksiyon Alan Yüzdesi} = \frac{\text{Lezyon Alanı} * 100}{\text{Sürgün Alanı}} \quad (3.4)$$

Burada;

“*Lezyon Alanı*” Patojen bakterinin sürgünde oluşturduğu hastalıklı doku alanının miktarıdır; “*Sürgün Alanı*” Sürgünde lezyon + sağlıklı dokunun toplam alanıdır.

3.2.11 İzolatların bakıra direnç düzeyinin belirlenmesi

Bu çalışmada daha önce *Stenotrophomonas rhizophila*’nın patojen varyantında kullanılmamış olan; nutrient agar besi ortamında bakır sülfata ($\text{CuSO}_4.5\text{H}_2\text{O}$) karşı direnç düzeyinin tespit edilmesi amacıyla koloni sayım standartları belirlenmiştir. Bakır sülfat denemesi için, A/B/6/2 bakteri izolatu King B besi ortamına ekilerek 48 saat süresince 24 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Bakır sülfatın farklı (0,1-2,0 milimolar (mM)) konsantrasyonlarını içeren besi ortamlarının hazırlanması için öncelikle 50 mM’lık 30 ml stok solüsyon hazırlanmıştır. Bunun için kimyasal formülü $\text{CuSO}_4.5\text{H}_2\text{O}$ olan ve molar kütlesi 249,68 g/mol olan ticari bakır sülfattan 0,375 g alınarak üzeri 30 ml’ye kadar steril distile su ile tamamlanmıştır. Hedef bakır konsantrasyonlarının besi ortamına ilave edilmesinde Tablo 3.3’te belirtilen hacimlerde stok solüsyondan alınarak her biri 100 ml olan NA besi ortamlarına sıcaklığın 50 °C’ye inmesinin akabinde eklenmiştir. Böylece Tablo 3.3’te belirtilen farklı bakır konsantrasyonlarını içeren besi ortamları hazırlanmış ve bunlar 9 cm çapındaki petrilere dökülerek inokulasyon için +4 °C’de muhafazaya alınmıştır. Pozitif kontrol için içerisinde hiç bakır sülfat bulunmayan (0 mM) sadece NA besi ortamı ile hazırlanmış petrilere kullanılmıştır.

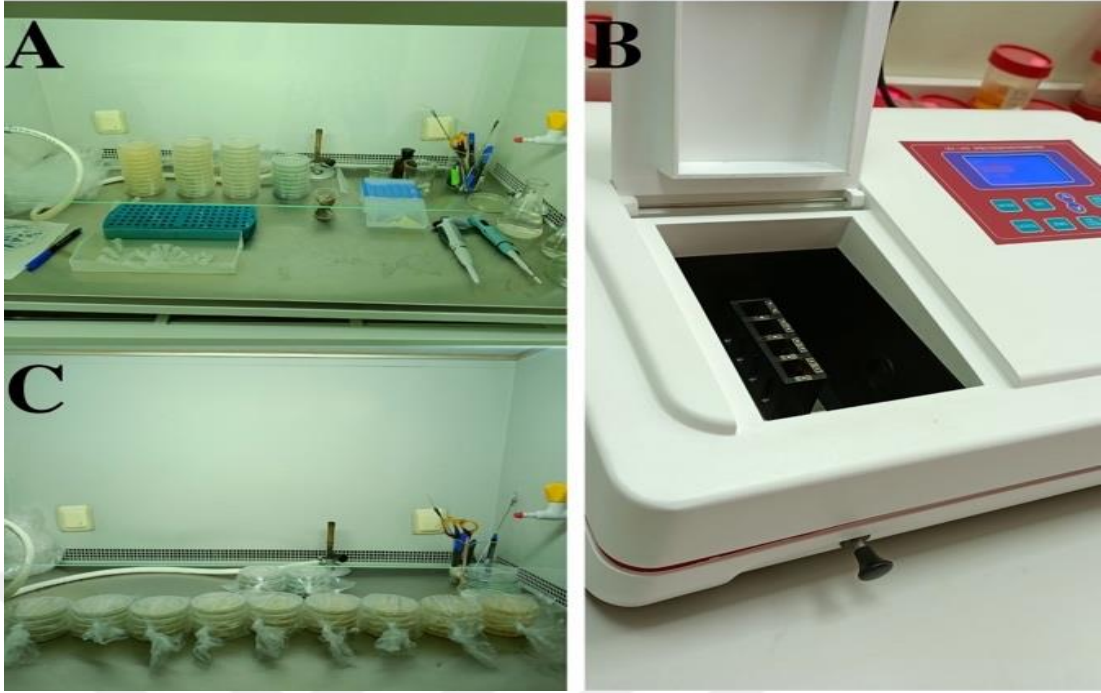
Tablo 3.3 Stok solüsyondan (50 mM 30 ml) alınan ve hedef bakır konsantrasyonunu elde etmek için 100 ml Nutrient Agar (NA) besi yerine ilave edilen hacimler

İstenen bakır konsantrasyonu (mM)	0	0,1	0,3	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1	1,5	2
Bakır stokundan alındığını hacmi (ml)	0	0,2	0,6	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2	3	4

Bakır sülfat içeren besi ortamlarının hazırlanmasının akabinde 48 saatlik bakteri izolatu (A/B/6/2) spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0,047-0,050 değer okunacak şekilde seyreltilerek 10^7 CFU/mL bakteri yoğunluğu içeren stok bakteri süspansiyonu elde edilmiştir. Bu süspansiyondan eppendorf tüplerinde 5 seyreltme serisi hazırlanmıştır. Son 3 seyreltmeden yani 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} 3 tekrerrür olacak şekilde, hazırlanmış olan farklı bakır konsantrasyonu içeren petrilere mikropipet vasıtasıyla 20 µl'lik ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan petrilere 48-72 saat sonra inokulasyon yapılan yerlerde gelişen bakteri kolonileri sayılınca kadar 24 ± 1 °C'de inkübe edilmiştir (Husseini, 2019).

İnkübasyon süresi sonunda (48 saat) yapılan kontrollerde bakteri kolonilerinin inokulasyon bölgelerinde iç içe geçtiği ve kolonilerin sayılmasının mümkün olmadığı gözlenmiştir. Yapılan kontrolde sadece 2,0 mM'lık konsantrasyonda bakteri gelişiminin olmadığı diğer tüm konsantrasyonlarda bakterilerin geliştiği tespit edilmiştir.

NA besi ortamında bakterilerin bakır sülfat toleransının belirlenmesinde; 50 mM'lık 30 ml stok bakır sülfat solüsyonu ve 0,1-2,0 mM'lık farklı konsantrasyonlarda bakır sülfat içeren NA besi ortamlarının hazırlanması işlemi yukarıda tarif edildiği üzere tekrarlanmıştır. Bakteri süspansiyonunun hazırlanmasında 600 nm dalga boyunda 0,047-0,050 sepktofotometre okuması olacak şekilde yeniden seyreltme yapılmış ancak önceki denemede bakteri yoğunluğundan dolayı sayım yapılamadığı için bu stok solüsyondan 5 yerine 9 seri seyreltme gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.9). Seyreltme serilerinden son 4 seri yani; 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} hazırlanan farklı bakır sülfat konsantrasyonları içeren NA besi ortamlarına 3 tekrerrür ve her bir uygulama 20 µl olacak şekilde ekilmiştir. Gözlemler 48-72 saat yerine 12 saatlik periyotlar halinde yapılmış ve kaydedilmiştir.



Şekil 3.9 Yaygın patojen A/B/6/2 izolatının bakır sülfat toleransının ve NA besi ortamındaki standardının belirlenme aşamaları A; Bakır sülfat deneme hazırlığı, B; Spektrofotometre cihazı ile okuma aşaması, C; Farklı konsantrasyonlarda bakır sülfat ihtiva eden besi ortamlarının hazırlanması

3.2.12 Hastalık şiddeti, hastalık ve yaygınlık oranının hesaplanması

Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinin yaygın şekilde sert çekirdekli meyve üretimi yapılan ilçe ve köylerinde gerçekleştirilen sörvey çalışmalarında; bahçeyi temsil edecek ağaç sayısı Lazarov ve Grigorov (1961) yöntemine göre belirlendikten sonra örnekleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Kloroz, nekroz, bakteriyel akıntı (eksudat), kanser, yaprak lekesi, bitki organlarının atılması (çiçek, tomurcuk ve yaprak dökümü), doku anormallikleri (ur) gibi hastalık belirtisi gözlenen ağaçlar hastalıklı olarak kaydedilmiştir. Ancak hesaplamalarda sadece kanser belirtisi görülen badem bahçeleri ile kanser ve ur belirtisi görülen zeytin bahçeleri hastalıklı olarak değerlendirilmiştir. Kanser ve ur belirtisinin görülmediği badem ve zeytin bahçeleri ise sağlıklı olarak hesaplamaaya dahil edilmiştir.

Bahçeyi temsil edecek sayıda ağaç, bahçenin köşegenleri doğrultusunda ve zigzag çizerek şekilde tesadüfi olarak seçilmiştir. Hastalık belirtisi gözlenen bitkilerdeki hastalık şiddeti Tablo 3.4’te verilen 1-10 skalasına göre değerlendirilmiş ve kaydedilmiştir (Kıpçak, 2016). Sörvey yapılan bahçelerdeki hastalık şiddeti değeri aşağıda verilen Hastalık Şiddeti (Severity-S) formülüne göre hesaplanmıştır. İl ve ilçelerdeki hastalık oranının hesaplanmasında ise yine aşağıda verilen Hastalık Oranı (Incidance-I) formülü kullanılmıştır. Yaygınlık oranının hesaplanmasında ise

Yaygınlık Oranı (Prevalence-P) formülünden yararlanılmıştır (Bora ve Karaca, 1970).

Tablo 3.4 Sert çekirdekli bitkilerdeki hastalık şiddetinin belirlenmesinde kullanılan Zwet ve Keil (1979)'un 1-10 skalasının modifiye edilmiş hali

Skala Değeri	Açıklama
1	Hastalık arazının olmaması
2	% 1-3 Hastalık şiddeti
3	% 4-6 Hastalık şiddeti
4	% 7-12 Hastalık şiddeti
5	% 13-25 Hastalık şiddeti
6	% 26-50 Hastalık şiddeti
7	% 51-75 Hastalık şiddeti
8	% 76-88 Hastalık şiddeti
9	% 89-99 Hastalık şiddeti
10	% 100 ağacın kuruması veya ağacın tümünde hastalık arazının bulunması

$$Hastalık\ Şiddeti\ (S) = \frac{\sum (HAS * HS)}{EYSD * GAS} * 100 \quad (3.5)$$

Burada;

“HAS” Hastalıklı ağaç sayısı; “HS” hastalık skalası; “EYSD” En yüksek skala değeri; “GAS” Gözlemlenen ağaç sayısını temsil etmektedir.

$$Hastalık\ Oranı\ (I) = \frac{\sum (HAS * S)}{TGAS * 100} * 100 \quad (3.6)$$

Burada;

“HAS” Hastalıklı ağaç sayısı; “TGAS” Toplam gözlemlenen ağaç sayısını; “S” Hastalık şiddetini temsil etmektedir.

$$Hastalık\ Yaygınlığı\ (P) = \frac{\sum HBS}{BTBS} * 100 \quad (3.7)$$

Burada;

“HBS” Hastalıklı bahçe sayısı; “BTBS” Bölgedeki toplam bahçe sayısını temsil etmektedir.

3.2.13 DNA izolasyonu ve PCR analiz aşamaları

3.2.13.1 Badem ve mahlep izolatlarının PCR analiz yöntemi

Badem ve mahlep izolatlarının (A/B/6/2, A/B/8/1 ve M.04/15/1) DNA izolasyonunda EurX GeneMATRIX Bakteriyel DNA İzolasyon kiti (Polonya) kullanılmıştır. Hazır olarak kullanılan söz konusu DNA izolasyon kitinin içeriği hakkında bilgi Tablo 3.5’te verilmiştir. Hazırlık aşamasının ardından hazır durumdaki tampon çözeltiler ile DNA izolasyonu aşağıda tarif edilen basamaklar takip edilerek tamamlanmıştır.

Tablo 3.5 DNA izolasyonunda kullanılan EurX GeneMATRIX hazır bakteriyel DNA izolasyon kiti tampon çözeltilerin miktarları ve muhafaza sıcaklıkları

Tampon Çözeltiler	50 Örnek için	150 Örnek için	Muhafaza Sıcaklığı
Buffer BG	1,8 ml	5,4 ml	15-25 °C
Lyse BG	33 ml	100 ml	15-25 °C
BL*	3 ml	9 ml	-20 °C
RNase A (10 mg/ml)	0,12 ml	0,36 ml	2-8 °C
Proteinase K (20 mg/ml)	0,9 ml	2,7 ml	- 20 °C
Sol BG	21 ml	63 ml	15-25 °C
Wash BGX	55 ml	165 ml	15-25 °C
Elution	6 ml	18 ml	15-25 °C

*Lizozim içerir (20 mg/ml)

Hazırlık Aşaması;

- 1) 1,5 ml eppendorf tüpü içerisinde, petri kutusundan steril kürdanla direkt olarak alınan bakteri kolonisi 300 µl Lyse BG tamponu içerisine iyice karıştırılmıştır.
- 2) Hücre süspansiyonuna 50 µl BL tampon çözeltisi ile 2 µl RNase eklendikten sonra 3 saniye süresince vortekslenmiştir.
- 3) Hazırlanan örnek numunesi 37 °C’de 15 dakika süresince inkübe edilmiştir.
- 4) İnkübasyon süresi sonunda DNA izolasyon aşamasına geçilmiştir.

DNA İzolasyon Aşaması;

- 1) Hücre süspansiyonuna 15 µl Proteinase K ilave edip 3 saniye vorteksleyerek karıştırılmıştır.
- 2) Örnek 55 °C’de 30 dakika süresince inkübe edilmiştir.
- 3) 350 µl Sol BG tampon çözeltisi ekleyip 3 saniye vorteks yapılmıştır.
- 4) Örnek 55 °C’de 5 dakika süresince inkübe edilmiştir.
- 5) İnkübasyon ardından 15 saniye vortekslenmiştir.
- 6) Lizat (çözünmüş hücreleri içerir süspansiyon) 2 dakika süresince 11.000 rpm’de santrifüj edilmiş ve 600 µl’ye kadar supernatant kısmı DNA bağlama tüpüne aktarılmıştır.
- 7) 1 dakika süresince 11.000 rpm’de santrifüj yapılmıştır. Ardından döndürme kolonunu çıkarılıp sıvı kısım atıldıktan sonra tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- 8) Kalan karışım aynı DNA bağlama tüpüne aktarılıp 1 dakika süresince 11.000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Ardından döndürme kolonu çıkarılıp supernatant boşaltıldıktan sonra tekrar alıcı tüpe yerleştirilmiştir.
- 9) 450 µl Wash BGX tampon çözeltisi eklendikten sonra 1 dakika süresince 11.000 rpm’de santrifüj edilmiştir.

- 10) Döndürme kolonu çıkarılıp sıvı kısım atıldıktan sonra tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- 11) 450 µl Wash BGX tampon çözeltisi eklendikten sonra 1 dakika süresince 11.000 rpm’de santrifüj edilmiştir.
- 12) Döndürme kolonu çıkarılıp sıvı kısım atıldıktan sonra tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- 13) Wash BGX tampon çözeltisinin izlerini azaltmak için 1 dakika süresince 11.000 rpm’de santrifüj yapılmıştır.
- 14) Döndürme kolonunu yeni alıcı tüpe (1,5-2,0 ml) ekledikten sonra bağlı DNA’ya elüsyon yapmak için 50-100 µl Elution tampon çözeltisi eklenmiştir.
- 15) DNA bağlama tüpü/toplama tüpü düzeneği oda sıcaklığında 2 dakika süresince inkübe edilmiştir.
- 16) 1 dakika süresince 11.000 rpm’de santrifüj edilmiştir.
- 17) Döndürme kolonu çıkarılıp alıcı tüpün kapağı kapatılmış ve DNA izolasyonu tamamlanarak - 20 °C’de muhafazaya alınmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10 DNA izolasyon çalışma görselleri A; Kullanılan 27f-1492r universal primerleri, B; DNA izolasyon aşaması, C; İzole edilen bakteri DNA’sı

DNA izolasyonunun akabinde elde edilen DNA miktar ve saflığını kontrol etmek amacıyla Thermo Scientific Nanodrop 2000 (USA) cihazında spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiştir. İstenilen DNA miktar ve kalitesine sahip örneklerin 27f-1492r universal primerler (Tablo 3.6) kullanılarak aşağıda bileşenleri verilen

PCR mix hazırlandıktan sonra yine belirtilen koşullarda PCR analizi gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.7; Tablo 3.8).

Tablo 3.6 Badem ve mahlep izolatlarının PCR analizinde kullanılan 27f-1492r universal primerlerin 5'-3' dizileri (Lane, 1991)

27F	5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3'
1492R	5' TACGGYTACCTTGTACGACTT 3'

PCR reaksiyonu Solis Biodyne (Estonya) FIREPol DNA Taq polimeraz enzimiyle gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.7 PCR mix için bileşenlerin stok ve reaksiyon konsantrasyonları

Bileşen	Stok Konsantrasyonu	Reaksiyon Konsantrasyonu
PCR tampon çözeltisi	10x	1 x
MgCl ²	25 mM	1,5 mM
dNTP mix	20 mM	0,2 mM
F. Primer	10 µM	0,3 µM
R. Primer	10 µM	0,3 µM
Taq DNA Polimeraz	5U/µl	2 U
DNA template		3 µl
PCR grade su ile 35 µl'ye tamamlanır.		

PCR (Kyratec thermocycler) ile elde edilen amplifikasyon sonuçları 1x TAE tampon ile hazırlanan % 1,5 agaroz jelde 100 volt akımda 90 dakika süresince elektroforezde yürütülmüş ve ethidium bromide boyası kullanılarak UV ışığında görüntüsü alınmıştır.

PCR ürünlerinin dizi analizi hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Örneklere ait diziler NCBI veri tabanındaki diziler ile karşılaştırılarak tanılaması yapılmıştır.

Tablo 3.8 Badem ve mahlep izolat DNA'larının PCR analiz koşulları

Döngü Sayısı	Sıcaklık ve Süre	PCR Aşaması
1 döngü	95 °C'de 5 dakika	Başlangıç denatürasyonu
30 döngü	95 °C'de 45 saniye	Denatürasyon
	57 °C'de 45 saniye	Bağlanma
	72 °C'de 60 saniye	Uzama
1 Döngü	72 °C'de 5 dakika	Final uzama
PCR sıcaklığı +4 °C'ye düşürülerek tamamlanmıştır.		

3.2.13.2 Zeytin izolatlarının PCR analiz yöntemi

Zeytindeki ur belirtisinden izole edilen M/D/Z/6, M/D/Z/8, M/D/Z/B3 ve M/D/Z/B5 bakteri izolatlarına PCR analizi ile moleküler teşhis yapılmıştır. Analizde pozitif kontrol olarak; Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarından temin edilen *Psv* izolatı (HZIP14-PSV) kullanılmıştır. Zeytin izolatlarının 16s rDNA bölgesi dizi analizi yapılmak kaydıyla, indol asetik asit bölgesine özgü primerler kullanılarak moleküler tanılaması yapılmıştır. İzolatların DNA'sı 10⁷ cfu/ml yoğunluğundaki süspansiyonun 5 dakika

kaynatılması suretiyle elde edilmiştir. Akabinde hızlıca soğutulup santrifüj edildikten sonra supernatant kısmında kalan DNA, -20°C’de saklanıp analiz için kullanılmıştır.

Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi*’nin indol-3-asetik asit (IAA) gen amplifikasyonunda Tablo 3.9’da dizileri verilen IAALF ve IAALR spesifik primerleri kullanılmıştır.

Tablo 3.9 Zeytin izolatlarının PCR analizinde kullanılan IAALF ve IAALR spesifik primerlerin 5’-3’ dizileri (Penyalver ve ark., 1991)

IAALF	5' GGCACCAGCGGCAACATCAA 3' (İleri primer)	454 bp
IAALR	5' CGCCCTCGGAACTGCCATAC 3' (Ters primer)	

IAALF/IAALR spesifik primer çifti için aşağıda bileşenleri verilen PCR mix hazırlandıktan sonra yine belirtilen koşullarda PCR analizi gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.10; Tablo 3.11).

Tablo 3.10 Tanılama da kullanılan IAALF/IAALR spesifik primer çifti için PCR mix bileşenlerin stok ve reaksiyon konsantrasyonları

Bileşen	Stok Konsantrasyonu	Reaksiyon Konsantrasyonu	1 Örnek için Gerekli Miktar	1 Örnek için Gerekli Miktar (50 µl)
Taq KCL Buffer	10 x	1 x	2,5 µl	5 µl
MgCl ²	25 mM	1,5 mM	1,2 µl	3 µl
dNTP mix	2,5 mM	0,15 mM	1,5 µl	4 µ
F. Primer	10 mM	1 mM	1,8 µl	5 µl
R. Primer	10 mM	1 mM	2 µ	5 µl
H ₂ O	-	-	8 µl	20 µl
Taq Polimeraz	5 U	1 U	0,3 µl	4 µl
Örnek Nükleik Asit	107 cfu/ml	2 µl	5 µl	5 µl
Toplam	-	-	20 µl	50 µl

Analiz neticesinde elde edilen PCR ürünleri, 100 bp’lik moleküler markerlar ile birlikte % 1’lik agaroz jelde 100 V akımda 30-45 dakika süresince elektroforezde yürütülmüştür. Akabinde ethidium bromide ile boyanan DNA bantları jel görüntüleme sisteminde analiz edilmiştir. Analiz sonucunda; 454 bp büyüklüğünde bant oluşturan izolatlar pozitif kabul edilmiş ve *Psv* olarak tanımlanmıştır.

Tablo 3.11 IAALF ve IAALR spesifik primerleri için PCR analiz koşulları

Döngü Sayısı	Sıcaklık ve Süre	PCR Aşaması
1 döngü	95 °C’de 5 dakika	Başlangıç denatürasyonu
35 döngü	94 °C’de 30 saniye	Denatürasyon
	62 °C’de 30 saniye	Bağlanma
	72 °C’de 45 saniye	Uzama
1 Döngü	72 °C’de 5 dakika	Final uzama
1 Döngü	15 °C’de ∞	

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Sörvey Çalışması Bulguları

Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde meyvecilik yapılan alanlardaki sert çekirdekli meyve (badem, erik, iğde, kayısı, kızılıçık, kiraz, mahlep, şeftali, zakkum, zeytin) bahçelerinden elde edilen, sörvey çalışmaları başlığında (3.2.1) ifade edilen belirtilerin gözlemlendiği bitki kısımlarının temini amacıyla sörvey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sörvey çalışmasında badem, kayısı, kiraz, mahlep ve zeytin düzenli bahçe konumundayken erik, iğde, kızılıçık, nektarin, şeftali ve vişne ise çoğunlukla rastgele ve karışık olarak düzenli bahçelerin arasına dikilmiş konumdaydı. Sörvey yapılan 80 adet bahçenin dağılımı; 54 adeti badem, 8 adeti zeytin, 4 adeti kiraz, 3 adeti kayısı, 2 adeti mahlep ve 9 adeti karışık bahçe şeklindeydi.

4.1.1 Birinci yıl sörvey çalışması bulguları (2019)

Sörvey çalışmalarının birinci yılı kapsamında; Diyarbakır ve Mardin illerinde 2019 yılı Mart-Haziran aylarında, toplam 34 sert çekirdekli meyve bahçesinden 99 adet bakteriyel hastalık belirtisi gözlenen bitki örneği toplanmıştır (Tablo 4.1). Sert çekirdekli bitkilerdeki patojen bakterilerin teşhis ve tespiti amacıyla yapılan bir çalışmada; özellikle *Pseudomonas* türlerinin yılın sadece bazı aylarında ve en uygun dönem olarak genellikle ilkbahar başlarında enfekte dokularda aktif olarak veya büyük popülasyonlarda epifitik olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir (Lopez ve ark., 2010). Bu çalışmadaki sörvey zamanına benzer şekilde yapılan diğer bir çalışmada ise; bademden bitki örneklerinin erken bahardan (Mart) yaz başına kadar olan dönemde (Haziran sonu) toplandığı bildirilmiştir (Popovic ve ark., 2021). Adıyaman ilinde yapılan sörvey çalışmalarının; bakterilerin latent döneme geçtiği sıcak aylarda gerçekleşmesi sebebiyle örnek elde edilememiştir. Toplanan örnekler bitkilerin dal, sürgün, ana gövde, tomurcuk altı ve yaprak organlarından elde edilmiştir. Sert çekirdekli bitkilerdeki patojen olan ve olmayan bakterilerin tespitini amaçlayan bir çalışmada; bu çalışmayla paralel şekilde bitkilerin yaprak, meyve, çiçek, dal ve sürgünlerinden örnek toplanmıştır (Gormez ve Şahin, 2012). Diğer bir çalışmada da benzer şekilde sert çekirdekli bitkilerin yaprak lekeleri, sürgündeki kanserler, meyve lekeleri ve çiçek kısımlarından örnekleme yapılmıştır (Moffett, 1973). Sert çekirdekli meyveler ile ilgili başka bir çalışmada ise sürgün kanserleri, dal kanserleri, yapraklar, nekrotik tomurcuklar bu çalışmayla ortak olmak kaydıyla yaprak sapları ve meyve

lezyonları gibi farklı bitki kısımlarından da örneklerin toplandığı belirtilmiştir (Popovic ve ark., 2021). Sert çekirdekli meyvelerden örnekler, tomurcukların patlamaya başladığı dönem ile meyvelerin normal büyüklüğünün % 90'ını aldığı dönem arasında toplanmıştır (Şekil 4.1).

Tablo 4.1 Bitkilere göre 2019 yılında toplanan örnek sayıları

Bitki	Badem	Kiraz	Kayısı	Mahlep	Zeytin	Erik	Vişne
Örnek Sayısı	53	15	14	7	5	3	2



Şekil 4.1 Badem ağaçlarında örneklemenin yapıldığı fenolojik dönemler A; Tomurcukların patlamaya başladığı dönem B; Tam çiçeklenme dönemi C; Meyvelerin normal büyüklüğünün %90'ını aldığı dönem

4.1.2 İkinci yıl sörvey çalışması bulguları (2020)

Sörvey çalışmasının ikinci yılı kapsamında Adıyaman ve Mardin illerinde arazi çıkışları gerçekleştirilmiş, Diyarbakırda ise yapılmamıştır. Adıyaman ilinde sert çekirdekli meyve yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı bölgeler hedeflenerek badem bitkisinde meyvelerin normal büyüklüğünün % 50 ve % 90'ını aldığı dönemler arasında örnekleme yapılmıştır. Örnekleme neticesinde toplam 16 badem bahçesinden 29 adet bakteriyel hastalık belirtisi gözlenen örnek toplanmıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 Bitkilere göre 2020 yılında toplanan örnek sayıları

Bitki	Zeytin	Badem
Örnek Sayısı	18	11

Hava sıcaklığının 20 °C civarına düştüğü ve bakterilerin yeniden aktif olabildikleri sonbahar mevsiminde, Mardin ili Derik ilçesindeki zeytin bahçelerinde sörvey

çalışması gerçekleştirilmiştir. Sörvey çalışmasında zeytin bakteriyel dal kanseri belirtisi gözlenen 2 bahçeden örnekleme yapılmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Mardin İli Derik ilçesi zeytin bahçelerinde, zeytin bakteriyel dal kanseri belirtisi gözlenen ve örnek alınan ur yapılarına haiz sürgün ve dallar

4.1.3 Üçüncü yıl sörvey çalışması bulguları (2021)

Üçüncü yılda yapılan sörvey çalışmasında; Diyarbakır ilinin Çermik, Çüngüş, Dicle, Eğil ve Ergani ilçelerinde arazi çıkışları gerçekleştirilmiştir. Ayrıca Adıyaman ilinin Besni, Kahta ve Merkez ilçeleri ile Mardin ilinin Merkez ilçesinde sörvey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bakteriyel hastalık belirtisi gözlenen sert çekirdekli meyve türlerinden erken çiçeklenme ve erken çağla dönemleri arasında örnekleme yapılmıştır. Örnekleme neticesinde; 30 farklı bahçe ve ağaç topluluğundan 46 adet hastalıklı bitki örneği toplanmıştır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 Bitkilere göre 2021 yılında toplanan örnek sayıları

Bitki	Badem	Zeytin	Kayısı	Mahlep
Örnek Sayısı	39	3	2	2

Sörvey çalışmasında il ve ilçeleri temsilen farklı sert çekirdekli bahçelerde tipik bakteriyel hastalık belirtisi gözlenen bitki dokularından örnekleme yapılmıştır. Sörvey yapılan bahçe bilgileri; örnekleme yapılan bitki, izolasyon yapılan bitki dokusu, hastalık belirtisi ile ağaç sayıları gibi verileri içeren Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4 Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde 2019-2021 yıllarında sert çekirdekli meyve bahçelerinde yürütülen sörvey çalışmalarındaki örnekleme yapılan bitki, izolasyon yapılan bitki dokusu, hastalık belirtisi ile ağaç sayıları

No	İl	İlçe	İzole Edildiği Kısım	Bitki	Bitkinin Yaşı ve Ağaç Sayısı	Hastalık Belirtisi	Yıl
1	Adıyaman	Besni	Sürgün	Badem	6/3600	Kanser ve zamk	2020
2			Sürgün	Badem	3/600	Kanser ve zamk	2020
3			Sürgün	Badem	9/3500	Tomurcuk altı	2020
4			Sürgün	Badem	3/8000	Kanser ve zamk	2020
5			Yaprak	Badem	7/2000	Yaprak leke	2021
6				Zeytin	4/800	Belirti yok	2021
7			Sürgün	Badem	10/3500	Sürgün kuruması	2021
8			Sürgün	Badem	4/800	Sürgün kuruması	2021
9			Sürgün	Zeytin	6/1280	Sürgünde ur	2021
10		Kahta		Badem	7/5400	Belirti yok	2020
11			Ana gövde	Badem	7/3640	Eski kanser	2020
12			Sürgün	Badem	12/50	Kanser ve zamk	2020
13			Sürgün	Badem	10/20	Kanser	2020
14				Badem	8/8000	Belirti yok	2020
15				Badem	8/6400	Belirti yok	2020
16				Badem	7/800	Belirti yok	2020
17			Sürgün	Badem	9/600	Kanser	2020
18				Badem	6/10000	Belirti yok	2020
19				Badem	7/3200	Belirti yok	2021
20			Yaprak	Badem	7-8/4440	Yaprak leke	2021
21				Badem	8-9/8500	Belirti yok	2021
22				Badem	8/32000	Belirti yok	2021
23			Sürgün	Zeytin	11/1800	Süründe ur	2021
24				Zeytin	11/7000	Belirti yok	2021
25				Badem	8/5300	Belirti yok	2021
26		Merkez	Sürgün	Badem	6/600	Kanser ve zamk	2020
27			Yaprak	Badem	7/600	Yaprak leke	2021
28	Diyarbakır	Bismil	Sürgün, çiçek	Badem, Kayısı	8-10/150	Kanser, çiçek demeti altı, zamk	2019
29			Sürgün	Badem, Kayısı, Erik	7/40	Kanser ve zamk	2019
30			Ana gövde, Sürgün	Kayısı, Mahlep, Vişne	8-10/1200	Kanser ve zamk	2019
31		Çermik	Sürgün	Badem	8/400	Kanser ve zamk	2019
32			Sürgün	Kayısı, Badem	6-8/200	Kanser ve zamk	2019
33			Sürgün	Badem	12/150	Kanser ve zamk	2019
34			Sürgün	Badem	5-6/9000	Çiçek ve tomurcuk kuruması	2021
35			Sürgün	Kayısı	5-8/10	Tomurcuk zamk akıntısı	2021
36			Sürgün	Badem	5-6/70	Kanser, yaprak leke	2021
37		Çınar	Sürgün	Badem	8-10/4500	Kanser ve zamk	2019
38		Çüngüş	Sürgün	Badem	10/150	Kanser ve zamk	2019
39			Sürgün ve Çiçek	Badem	11/100	Çiçek ve kabuk kurumaları	2021
40		Eğil	Sürgün	Badem	10-12/10000	Kanser ve zamk	2019
41			Sürgün	Kayısı	5-7/1000	Kanser ve zamk	2019
42				Badem	10-12/2000		2021
43			Yaprak	Badem	4/4000	Yaprak leke	2021
44			Sürgün, Tomurcuk	Kayısı	8/100	Sürgün ve tomurcuk zamk	2021
45			Ana gövde, Sürgün	Badem	8-10/2000	Sürgün ve gövdede kabuk kuruması	2021
46		Ergani	Sürgün	Badem	7/200	Kanser ve zamk	2019
47			Sürgün	Badem	5/150	Kanser ve zamk	2019
48			Sürgün	Badem	8/150	Kanser	2019
49			Sürgün	Badem	6-8/200	Kanser	2019
50			Sürgün	Badem	6/100	Kanser ve zamk	2019
51			Sürgün	Badem	7-8/20	Kabuk kuruması	2021
52			Sürgün	Badem	12/50	Yaprak ve çiçek kuruması	2021
53		Dicle		Badem	25-30/150		2019

Tablo 4.4 Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde 2019-2021 yıllarında sert çekirdekli meyve bahçelerinde yürütülen sörvey çalışmalarındaki örnekleme yapılan bitki, izolasyon yapılan bitki dokusu, hastalık belirtisi ile ağaç sayıları (Devamı)

No	İl	İlçe	İzole Edildiği Kısım	Bitki	Bitkinin Yaşı ve Ağaç Sayısı	Hastalık Belirtisi	Yıl
54	Mardin		Sürgün	Badem	8/400	Kanser ve zamk	2019
55			Sürgün	Badem	9/700	Zamk	2019
56			Sürgün	Badem	5/800	Kanser ve zamk	2019
57			Yaprak	Badem	8-10/160	Yaprak leke	2021
58			Çiçek, Sürgün	Badem	8/400	Çiçek ve sürgün kuruması, zamk	2021
59		Yenişehir	Ana gövde, Sürgün	Kiraz	8-10/100	Kanser ve zamk, Tomurcuk altı	2019
60		Merkez	Sürgün	Zeytin	15/1600	Sürgünde Ur	2020
61			Sürgün	Zeytin	15/1500	Sürgünde ur	2020
62				Badem	12-15/60		2019
63			Ana gövde	Badem	8-10/300	Kanser ve zamk	2019
64			Sürgün	Badem, Kiraz		Kanser ve zamk	2019
65			Sürgün	Badem	6-8/150	Kanser ve zamk	2019
66			Yaprak	Zeytin	7/150	Yaprak leke	2019
67			Sürgün	Kiraz	6/150	Kanser ve zamk	2019
68			Sürgün	Kiraz	8/150	Zamk	2019
69			Sürgün	Badem	10/200	Kanser ve zamk	2019
70			Sürgün, Yaprak	Mahlep	7/100	Kanser, Yaprak leke	2019
71			Çiçek, Sürgün	Kiraz	6-8/200	Kanser, Çiçek kuruması	2019
72			Sürgün	Badem, Erik	5-8/300	Kanser ve zamk	2019
73			Sürgün	Erik, Kiraz	8-10/100	Kanser ve zamk	2019
74			Sürgün	Badem, Mahlep	5-10/150	Kanser	2019
75			Sürgün	Zeytin	15/150	Sürgünde ur	2019
76			Yaprak	Badem, Erik	8-10/800	Yaprak leke	2021
77			Yaprak	Badem	30/300	Yaprak leke	2021
78			Meyve, Sürgün	Mahlep	10/1200	Meyve yanıklığı, Sürgün kuruması	2021
79			Yaprak	Badem	20/800	Yaprak leke	2021
80			Yaprak	Badem	10-15/2000	Yaprak leke	2021

4.2 Elde Edilen Bakteri İzolatları

Sörvey çalışması neticesinde toplanan 174 hastalıklı bitki örneğinden 2019 yılında 120, 2020 yılında 32 ve 2021 yılında 66 izolat olmak üzere toplam 218 patojen adayı ve patojen olmayan bakteri izolatu elde edilmiştir (Tablo 4.5; Tablo 4.6; Tablo 4.7). Sert çekirdekli bitkilerden toplanan 44 örnekten 38 bakteri izolatının elde edildiği bir çalışmada; izolasyon yönteminde bu çalışmayla benzer şekilde etil alkol, fosfat tampon ve King B besi ortamının kullanıldığı bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada; yaprak tomurcuk, çiçek ve sürgünlerden alınan örneklerin % 70’lik etil alkol ile sterilizasyonun ardından 1 dakika steril suda bekletildiği ifade edilmiştir. Daha sonra 3 mm boyutundaki parçalara ayrılan örneklerin, 10 ml fosfat tamponda ezilip 30 dakika çalkalayıcıda inkübe edildikten sonra, 100 µl King B besi ortamına ekildiği belirtilmiştir (Akbaba ve Özaktan, 2021b; Schaad ve ark., 2001). Diğer bir çalışmada ise bakteriyel etmenlerin izolasyonunun bu çalışmayla paralel şekilde; hastalıklı ve sağlıklı doku sınırından alınan parçaların % 70’lik etil alkolde kısa süre sterilize edildikten sonra daha küçük parçalara ayrıldığı ve steril fosfat tampon çözeltisi ile

muamele edilip yumuşatıldıktan sonra King B besi ortamına ekilmek suretiyle yapıldığı ifade edilmiştir (Kaluzna, 2019). Bu araştırmalardan farklı olarak; çalışmamızın yüzey dezenfeksiyon aşamasında % 2'lik NaOCl'nin kullanıldığı sörvey çalışmalarının ilk 2 yılı olan 2019 ve 2020 yıllarında toplam 152 adet bakteri izolatu elde edilmiştir. King B besi ortamı yerine NA ortamının kullanıldığı bu yıllarda başarılı şekilde izolasyon yapıldığı görülmektedir. Sörvey çalışmasının son yılı olan 2021 yılında ise bahsi geçen çalışmalara benzer şekilde yüzey dezenfeksiyonunda % 70'lik ethanol ve besi ortamı olarak King B kullanılmıştır. Bu yıldan elde edilen 66 bakteri izolatu ile benzer sonuçlar alınmıştır. Dolayısıyla izolasyon aşamasında; yüzey dezenfeksiyonunda % 2'lik NaOCl ve % 70'lik etil alkolün ve ayrıca izolasyon ve saflaştırmada King B ve NA besi ortamlarının kullanılmasıyla başarılı sonuçlar alınabilmektedir.

Tablo 4.5 2019 yılında sert çekirdekli meyve türlerinden elde edilen hastalıklı örneklerden izole edilen izolat sayısı

İl	İlçe	İzolatların Elde Edildiği Bitkiler	İzolat Sayısı
Diyarbakır	Bismil	Badem, erik, kayısı, mahlep, vişne	22
	Çınar	Badem	8
	Dicle-Eğil	Badem, kayısı	21
	Ergani-Çermik-Çüngüş	Badem, kayısı	18
Mardin	Merkez	Badem, erik, kiraz, mahlep, zeytin	35
Karışık kültürlerin saflaştırılması ile elde edilen izolat sayısı			16
Toplam		Badem, erik, kayısı, kiraz, mahlep, zeytin, vişne	120

Tablo 4.6 2020 yılında sert çekirdekli meyve türlerinden elde edilen hastalıklı örneklerden izole edilen izolat sayısı

İl	İlçe	İzolatların Elde Edildiği Bitkiler	İzolat Sayısı
Adıyaman	Besni	Badem	16
	Kahta	Badem	8
Mardin	Derik	Zeytin	8
Toplam		Badem ve Zeytin	32

Bakteri kültürlerinden karışık olanlar saflaştırma çalışmaları ile ayrıştırılmaya çalışılmıştır. Sörvey çalışmasında örnekleme yapılan badem, erik, kayısı, kiraz, mahlep, vişne ve zeytin ağaçlarının tamamından farklı sayılarda bakteri izolatu elde edilmiştir. Bakteri izolatları, en fazla badem ağaçlarından elde edilmiştir. İzolasyon çalışmalarının farklı aşamaları ile saf kültürleri elde edilen bakteriler +4 °C'de muhafazaya alınmıştır (Şekil 4.3).

Tablo 4.7 2021 yılında sörvey yapılan il, ilçe meyve ağaçları ve izolat sayıları

İl	İlçeler	İzolatların Elde Edildiği Bitkiler	İzolat Sayısı
Adıyaman	Besni	Badem, zeytin	17
	Kahta	Badem, zeytin	5
Diyarbakır	Eğil-Dicle	Badem	19
	Ergani-Çermik-Çüngüş	Badem, kayısı	20
Mardin	Merkez	Badem, mahlep	5
Toplam		Badem, kayısı, mahlep, zeytin	66



Şekil 4.3 Hastalıklı örneklerden izolatların elde edilme aşamaları A; Steril ekim kabininde bakteri izolatlarının elde edilme hazırlığı, B; Hastalıklı bitki örneği, C; Bakterilerin eppendorf tüpünde steril suya geçişi için bekleme aşaması, D; Farklı hastalıklı örneklerden King B besi ortamında gelişen bakteri izolatları

4.3 Hipersensitif Reaksiyon Testi Bulguları

İzolasyon çalışmaları neticesinde elde edilen 218 bakteri izolatına hipersensitif reaksiyon (HR) testi uygulanmıştır (Şekil 4.4). HR pozitif reaksiyon veren; bademden 20, kayısıdan 3, mahlepten 4 ve zeytinden 5 olmak üzere toplam 32 adet bakteri izolatı bitki patojeni olma ihtimali yüksek olduğu için kaydedilmiştir (Tablo 4.8).

Sert çekirdekli bitkilerdeki bakteriyel etmenlerin patojenik potansiyelinin belirlenmesi amacıyla yapılan diğer çalışmalarda da; HR testi uygulandığı ve pozitif reaksiyon veren izolatların patojenisite ve LOPAT gibi biyokimyasal testlerde kullanılmak üzere seçildiği belirtilmiştir (Kaluzna ve ark., 2010b; Roos ve Hattingh, 1986a). Dolayısıyla HR testi patojen özellikteki bakterilerin belirlenmesinde ön test amacıyla kullanılabilir.

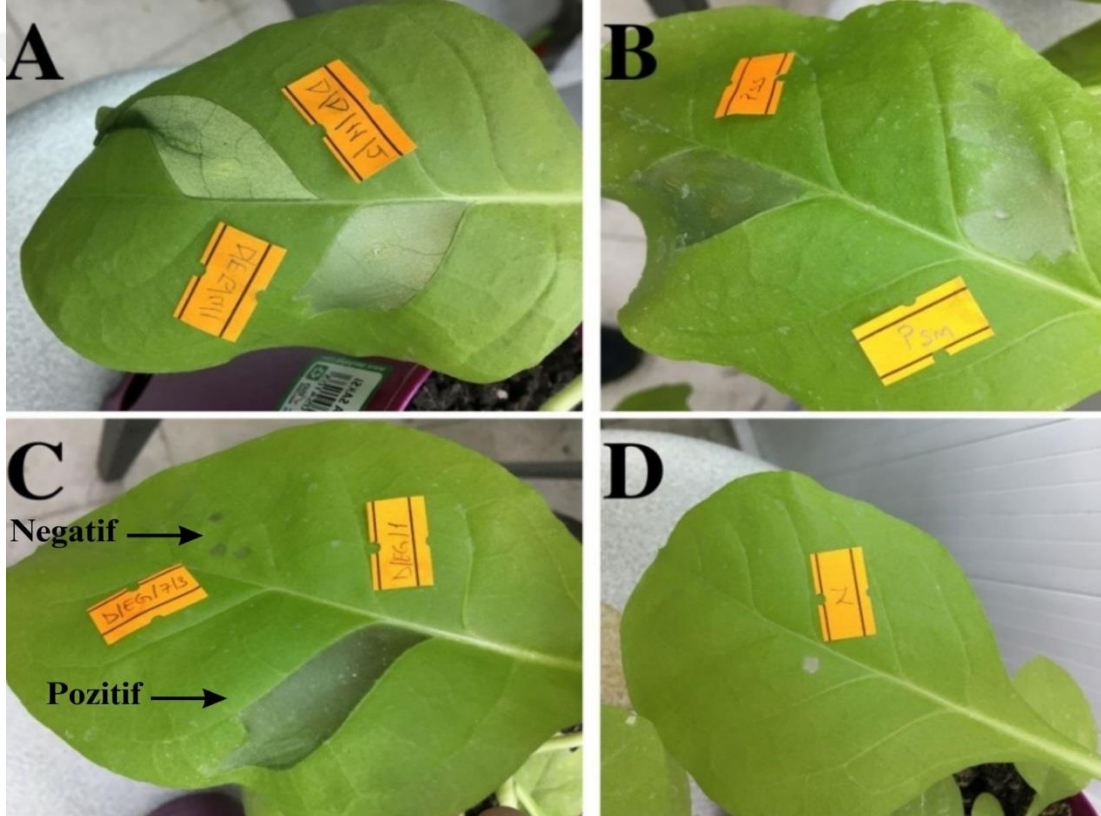
Geri kalan 186 bakteri izolatı HR negatif reaksiyon vermiş ve patojen olmayan bakteri varlığının ortaya konulması amacıyla diğer çalışmalar için muhafaza edilmiştir.

Tablo 4.8 Badem, kayısı, mahlep ve zeytin bakteri izolatlarının HR test sonuçları

İzolot Kodu	Ana Konukçu	Test Sonucu	İzolot Kodu	Ana Konukçu	Test Sonucu	İzolot Kodu	Ana Konukçu	Test Sonucu
D/EG/2/1	Badem	P	D/D/9/1(S)	Badem	P	D/EG/7/1	Kayısı	P
D/EG/4	Badem	P	ÇE.2.Ö.	Badem	P	D/EG/7/2	Kayısı	P
D/EG/1	Badem	P	ÇE.7.Ö.	Badem	P	D/EG/7/4	Kayısı	P
D/ER/5/1	Badem	P	D/EG/21/1	Badem	P	M/D/Z/6	Zeytin	P
D/ÇE/8/2	Badem	P	D/EG/2/2	Badem	P	M/D/Z/8	Zeytin	P
D/ER/6	Badem	P	D/D/21/1/1	Badem	P	M/D/Z/B3	Zeytin	P
D/ÇE/8/4	Badem	P	D/EG/4/1	Badem	P	M/D/Z/B5	Zeytin	P
M.04/10/1	Badem	P	D/ÇE/9/2	Badem	P	M/D/Z/5S	Zeytin	P
A/B/6/2	Badem	P	M.04/15/1	Mahlep	P	Negatif kontrol		N
A/B/8/1	Badem	P	M.04/15/3	Mahlep	P	<i>Pss</i>		P
D/D/11/2	Badem	P	M.04/15/4	Mahlep	P			
D/D/9/1(B)	Badem	P	M.04/4/2	Mahlep	P			

P; Pozitif sonuç, N; Negatif sonuç, ZP; Zayıf pozitif sonuç, *Pss*; Pozitif kontrol

İzolot kodlarındaki ifadelerden: D/EG; Diyarbakır Eğil, D/ER; Diyarbakır Ergani, D/ÇE; Diyarbakır Çermik, D/D; Diyarbakır Dicle, M; Mardin, D;Derik, Z; Zeytin, A/B; Adıyaman Besni, (B); Beyaza yakın koloni rengini (S); Sarıya yakın koloni rengini temsil etmektedir



Şekil 4.4 Hipersensitif reaksiyon testi sonuçları A; HR pozitif izolatlar, B; Pozitif kültür (*Pss* ve *Psm*) izolatların HR pozitif reaksiyonu, C; HR pozitif ve negatif izolatların aynı yapraktaki görüntüsü, D; Negatif kontrol

4.4 Patogenisite Testi Bulguları

4.4.1 Ana konukçu patogenisite testi bulguları

HR pozitif 20 badem izolatı, arazi koşullarında yetiştirilen 3 yıllık badem fidanlarının 1 yıllık sürgünlerine verilmiştir. HR pozitif 4 mahlep izolatı ve 3 kayısı izolatı ise sera da kontrollü koşullarda (24 ± 5 °C, % 70-80 nispi nem) yetiştirilmiş 2 yıllık ana konukçu fidanlarının 1 yıllık sürgünlerine veya fidan çok gelişmemişse ana gövdesine uygulanmıştır. Pozitif kontrol olarak teşhisi yapılmış *Pss* izolatı, negatif

kontrol olarak ise steril su kullanılmıştır. Patojenisite testi sonucunda; Badem izolatlarının 8 tanesinde zayıf ve 12 tanesinde ise pozitif kontrolün oluşturduğuna benzer koyu kahverengi nekroz belirtisi oluşmuştur. Mahlep izolatlarının uygulandığı patojenisite testinde sürgün dokularının hepsinde nekrotik alan gelişmiştir (Şekil 4.5). Ancak kayısı izolatlarının patojenisite testi sonucunda herhangi bir hastalık belirtisi gözlenmemiş ve negatif olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.9). Patojenisite testinin yapıldığı bir çalışmada; Japon eriği, şeftali, kayısı, erik ve bademden izole edilmiş olan *Xap* izolatlarının patojenisite testinde şeftali yapraklarının kullanıldığı belirtilmiştir (Boudon ve ark., 2005). Diğer bir çalışmada ise patojenisite testinde erik yaprakları kullanılmıştır (Roos ve Hattingh 1986a). Ayrıca başka bir çalışmada erik, kiraz ve kayısıdan izole edilen *Pss* izolatlarının patojenisite testinde ham kiraz meyvelerinin kullanıldığı bildirilmiştir (Kaluzna ve ark., 2010b). Dolayısıyla bakteriyel patojenin konukçusu olan bitkilerin yaprak, meyve ve sürgün gibi farklı organları patojenisite testinde kullanılabilir.

Tablo 4.9 Badem, kayısı ve mahlepten izole edilen ve HR pozitif olan bakteri izolatlarının ana konukçu patojenisite test sonuçları

İzolat Kodu	Ana Konukçu	Test Sonucu	İzolat Kodu	Ana Konukçu	Test Sonucu	İzolat Kodu	Ana Konukçu	Test Sonucu
D/EG/2/1	Badem	ZP	A/B/8/1	Badem	P	D/EG/4/1	Badem	P
D/EG/4	Badem	ZP	D/D/11/2	Badem	ZP	D/ÇE/9/2	Badem	P
D/EG/1	Badem	ZP	D/D/9/1(B)	Badem	ZP	M.04/15/1	Mahlep	P
D/ER/5/1	Badem	ZP	D/D/9/1(S)	Badem	ZP	M.04/15/3	Mahlep	P
D/ÇE/8/2	Badem	P	ÇE.2.Ö.	Badem	ZP	M.04/15/4	Mahlep	P
D/ER/6	Badem	P	ÇE.7.Ö.	Badem	P	M.04/4/2	Mahlep	P
D/ÇE/8/4	Badem	P	D/EG/21/1	Badem	P	D/EG/7/1	Kayısı	N
M.04/10/1	Badem	P	D/EG/2/2	Badem	P	D/EG/7/2	Kayısı	N
A/B/6/2	Badem	P	D/D/21/1/1	Badem	P	D/EG/7/4	Kayısı	N
Negatif kontrol	Badem	N	Negatif kontrol	Mahlep	N	Negatif kontrol	Kayısı	N
<i>Pss</i>	Badem	P						

P; Pozitif sonuç, N; Negatif sonuç, ZP; Zayıf pozitif sonuç, *Pss*; Pozitif kontrol

İzolat kodlarındaki ifadelerden: D/EG; Diyarbakır Eğil, D/ER; Diyarbakır Ergani, D/ÇE; Diyarbakır Çermik, D/D; Diyarbakır Dicle, , M; Mardin, A/B; Adıyaman Besni, (B); Beyaza yakın koloni rengini (S); Sarıya yakın koloni rengini temsil etmektedir

Zayıf pozitif reaksiyon veren izolatlarda pozitif kültüre kıyasla nekroz alanının daha küçük olduğu ve bitkinin yara dokusunu kapatmaya başladığı saptanmıştır. Ancak A/B/6/2, A/B/8/1 ve M.04/10/1 izolatlarının badem bitkisinde oluşturduğu nekroz alanının sürgün dokusunun iç kısımlarına doğru ilerlediği, zambak akıntısı ve kabuk lezyonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Pozitif kültür *Pss* izolatının oluşturduğu belirtide; nekrozun bakterinin verildiği alan ile sınırlı kaldığı gözlenmiştir. Badem izolatları arasında semptomatolojik gözlemlere göre A/B/6/2 izolatının, virülensliği en yüksek bakteri izolatı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.5 Ana konukçu patojenisite test sonuçları A; Negatif kontrol (badem), B; A/B/6/2 test sonucu pozitif bakteri izolatu (badem), C; Pozitif kültürün (*Ps*) badem bitkisindeki pozitif reaksiyonu, D; M.04/4/2 bakteri izolatının mahlep bitkisindeki pozitif reaksiyonu

Mahlep izolatlarının hepsi konukçu bitkide koyu kahverengi-siyah nekroz oluşturmuştur. M.04/15/4 ve M.04.4/2 izolatları diğer mahlep izolatlarına kıyasla doku içlerine ilerleyen daha geniş nekroz ve ayrıca kabuk dokusunda lezyon meydana getirmişlerdir.

Ana konukçu testi bulgularına göre; test edilen toplam 27 HR pozitif izolattan 24 tanesi ana konukçusunda zayıf pozitif veya pozitif reaksiyon vermiştir. Bu bağlamda HR testinin büyük ölçüde patojenisiteyi belirlediği anlaşılmaktadır. Ancak HR pozitif 3 kayısı izolatu ise negatif reaksiyon vermiştir. Kayısı ağaçlarında *Ps*'nin araştırıldığı diğer bir çalışmada da HR pozitif izolatların patojenisite de negatif sonuç verdiği görülmüştür (Gormez ve ark., 2013). Aksi olarak HR negatif izolatların ham kiraz meyvelerinde yapılan patojenisite testinde pozitif reaksiyon verdiği çalışmada mevcuttur (Ertimurtaş ve Özaktan, 2020). Dolayısıyla HR test sonuçları patojenisitenin belirlenmesinde büyük ölçüde fikir vermekte ancak bazı durumlarda farklı sonuçların görüldüğü izolatlarda ortaya çıkabilmektedir. Bunun nedeni düşük virülenslik sebebiyle ana konukçuda belirti oluşturacak patojenisitenin sağlanamaması olabilir.

4.4.2 Limon testi bulguları

HR pozitif bakteriyel etmenlerin ana konukçu testinden önce lezyon oluşturup oluşturmadığını belirlemek için, limon meyvesinde patojenisite testi yapılmıştır. Bu bağlamda sağlıklı ve lekesiz limon meyvelerinin dokusu içerisine steril bir iğneyle verilen bakterilerin 10 günlük inkübasyon süresi sonundaki reaksiyonları kaydedilmiştir (Tablo 4.10). Limon testi yalnızca badem ve mahlep izolatlarına uygulanmış, kayısı izolatları ana konukçu patojenisite testinde negatif reaksiyon verdiği için dahil edilmemiştir.

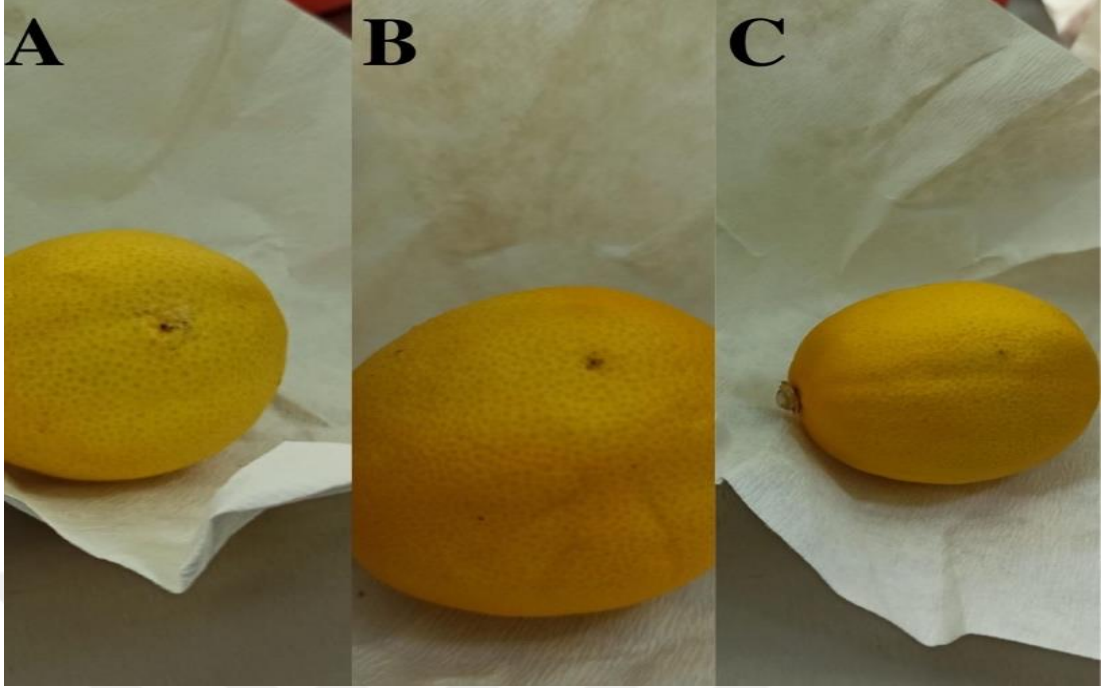
Tablo 4.10 Badem ve mahlepten elde edilen HR pozitif izolatların limon meyve patojenisite test sonuçları

İzolat Kodu	Limon Test Sonucu	İzolat Kodu	Limon Test Sonucu	İzolat Kodu	Limon Test Sonucu
D/EG/2/1	P	D/ÇE/8/4	N	D/D/9/1(S)	P
D/EG/4	P	M.04/10/1	P	D/ÇE/9/2	N
D/EG/1	P	A/B/6/2	P	M.04/15/1	P
D/ER/5/1	P	A/B/8/1	P	M.04/15/3	P
D/ÇE/8/2	P	D/D/11/2	P	M.04/15/4	P
D/ER/6	P	D/D/9/1(B)	P	M.04/4/2	P
<i>Pss</i>	P	Neaktif kontrol	N		

P; Pozitif reaksiyon, N; Negatif reaksiyon, *Pss*; Pozitif kontrol

İzolat kodlarındaki ifadelerden: D/EG; Diyarbakır Eğil, D/ER; Diyarbakır Ergani, D/ÇE; Diyarbakır Çermik, D/D; Diyarbakır Dicle, M; Mardin, A/B; Adıyaman Besni, (B); Beyaza yakın koloni rengini (S); Sarıya yakın koloni rengini temsil etmektedir

Yapılan kontrollerde; siyah, nekrotik, çökük lezyonlar pozitif reaksiyon, çökme oluşturmayan izolatlar ise negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.6). Toplam 14 badem izolatına limon meyvesinde patojenisite testi uygulanmıştır. Söz konusu toplam 14 HR pozitif izolattan 12 tanesi limon testinde pozitif sonuç vermiştir. Negatif reaksiyon veren D/ÇE/8/4 ve D/ÇE/9/2 izolatlarının ana konukçu test sonucu pozitifdir. Test edilen 4 mahlep izolatının tamamı ise limon meyve patojenisite testinde pozitif sonuç vermiştir. Sert çekirdekli bitkilerden izole edilen *Pseudomonas syringae* patovarylarının ayırımı amaçlayan bir çalışmada; bakteri izolatlarının patojenisite testinde bu çalışmayla benzer şekilde limon testi uygulanmış ve siyah, derin, nekrotik çukur oluşturan izolatların patojen karakterde olduğu bildirilmiştir (Gašić ve ark., 2012). Ayrıca başka bir çalışmada; limon meyvesi, küçük armut, kiraz meyvesi, leylak yaprak ve sürgünlerinin bakterilerin patojenisite testinde kullanıldığı vurgulanmıştır (Lopez ve ark., 2010). Özellikle *Ps* ve patovarylarında kullanılan limon testinde *Str* olarak tanımlanan A/B/6/2, A/B/8/1 gibi bazı izolatların pozitif sonuç verdiği görülmüştür. Ancak patojenisite değerlendirmesinde sadece ana konukçu testindeki reaksiyonlar dikkate alınmıştır.



Şekil 4.6 Limon meyve patojenisite test sonuçları A; Limon test sonucu pozitif bakteri izolatu, B; Limon test sonucu pozitif olan pozitif kültür (*Pss*), C; Negatif kontrol

4.4.3 Havuç testi bulguları

Bu test sadece zeytin izolatlarıyla yapılmıştır. HR pozitif olan zeytin izolatlarının patojenisite testi için sağlıklı havuç dilimleri kullanılmıştır. On günlük inkübasyon süresi sonunda; 4 izolatın (M/D/Z/6, M/D/Z/8, M/D/Z/B3 ve M/D/Z/B5) havuç dilimleri üzerinde beyaz renkte tipik ur belirtisi oluşturduğu negatif kontrol olarak steril suyun uygulandığı havuç dilimlerinde ise herhangi bir ur belirtisinin oluşmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.7; Tablo 4.11).

Tablo 4.11 Zeytinden elde edilen izolatların havuç dilimlerindeki patojenisite test sonucu

İzolat Kodu	Test Sonucu	İzolat Kodu	Test Sonucu
M/D/Z/8	P	M/D/Z/6	P
M/D/Z/B3	P	Negatif Kontrol (Steril su)	N
M/D/Z/B5	P		

P; Pozitif reaksiyon, N; Negatif reaksiyon

İzolat kodlarındaki ifadelerden M; Mardin, D; Derik, Z; Zeytin, B; Beyaza yakın koloni rengini temsil etmektedir

Uygulama ve bekleme sonucunda M/D/Z//6 izolatının oluşturduğu urların diğer pozitif izolatlara kıyasla daha büyük olduğu belirlenmiştir. Aynı yöntemin uygulandığı bir diğer çalışmada; *Psv* izolatlarının havuç dilimlerinde bu çalışmayla benzer şekilde ur oluşturduğu ifade edilmiştir (Doksöz ve Bozkurt, 2020a). Ayrıca narenciyelerde kök boğazı uru hastalığı oluşturan *Agrobacterium tumefaciens* etmeninin patojenisite testinde havuç dilimlerinin kullanıldığı başka bir çalışmada; ur belirtisi oluşturan bakteri izolatlarının patojen olduğu bildirilmiştir (Bozkurt ve ark.,

2022). Havuç testi özellikle *Psv* gibi bitkide ur belirtisi oluşturan bakterilerin patojenisite özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Nitekim araştırmamızdaki havuç testinde pozitif reaksiyon veren zeytin izolatları, yapılan biyokimyasal ve moleküler testlerle *Psv* olarak tanılanmıştır. Diğer çalışmalarla benzer şekilde elde edilen bu sonuç; havuç testinin *Psv* izolatlarının patojenisite özelliklerinin belirlenmesinde etkin olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.7 Zeytin izolatlarının havuç patojenisite test görselleri A; Negatif kontrol petrisinde ur oluşmayan havuç dilimleri, B; Havuç dilimlerinde beyaz renkte ur oluşturan ve patojenisite testi pozitif olan bakteri izolatı

4.5 Biyokimyasal Test Bulguları

HR ve ana konukçu patojenisite testleri sonucunda patojen adayı olduğu düşünülen bakteri izolatlarına, Tablo 4.12’de sonuçları verilen biyokimyasal testler uygulanmıştır.

Tablo 4.12 Bakteri izolatlarını tanılama çalışmalarında kullanılan biyokimyasal ve patojenisite testlerinin sonuçları

İzolat Kodu	Bitki	AKonP	L	H	GR	Flo	K	Lev	Oks	Pek	Ar	HR	G	A	T	Ta
D/EG/2/1	B	+	+	TY	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
D/EG/4	B	+	+	TY	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
D/EG/1	B	+	+	TY	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
D/ER/5/1	B	+	+	TY	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-
D/D/11/2	B	+	+	TY	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-
D/D/9/1(B)	B	+	+	TY	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
D/D/9/1(S)	B	+	+	TY	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
ÇE.2.Ö.	B	+	TY	TY	+	-	+	+	G+	-	-	+	+	+	-	-
ÇE.7.Ö.	B	+	TY	TY	-	Z+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
D/ÇE/8/2	B	+	+	TY	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
D/ER/6	B	+	+	TY	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
D/ÇE/8/4	B	+	-	TY	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
M.04/10/1	B	+	+	TY	-	Z+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
A/B/6/2	B	+	+	TY	-	Z+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
A/B/8/1	B	+	+	TY	-	Z+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
D/EG/21/1	B	+	TY	TY	-	Z+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
M/D/Z/8	Z	TY	TY	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-
M/D/Z/B5	Z	TY	TY	+	-	Z+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
M/D/Z/B3	Z	TY	TY	+	-	Z+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
M/D/Z/6	Z	+	TY	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-

Tablo 4.12 Bakteri izolatlarını tanılama çalışmalarında kullanılan biyokimyasal ve patojenisite testlerinin sonuçları (Devamı)

İzolat Kodu	Bitki	AKonP	L	H	GR	Flo	K	Lev	Oks	Pek	Ar	HR	G	A	T	Ta
M.04/15/1	M	+	+	TY	-	Z+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
M.04/15/3	M	+	+	TY	-	Z+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
M.04/15/4	M	+	+	TY	-	Z+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
M.04/4/2	M	+	+	TY	-	Z+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
Pss	/	+	+	TY	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
NK	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

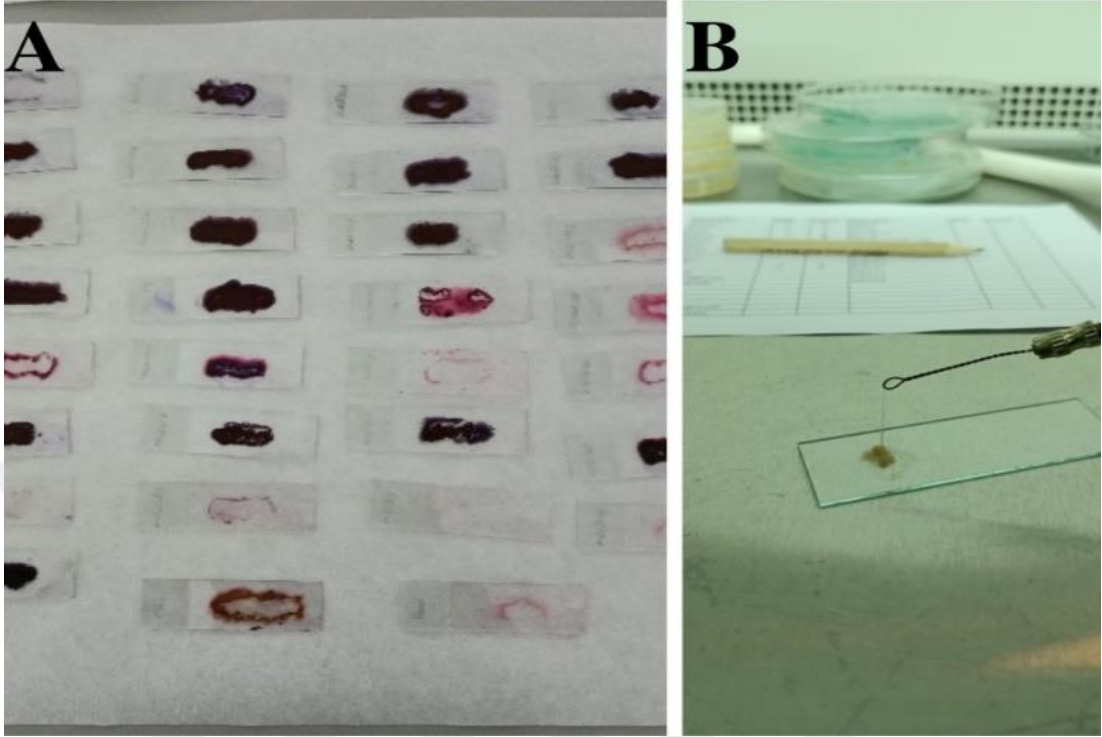
Pss; Pozitif kültür (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*), NK; Testlerde negatif reaksiyon veren steril su veya negatif izolat, /; Yok, B; Badem bitkisi, Z; Zeytin bitkisi, M; Mahlep Bitkisi, AKonP; Ana konukçu patojenisite testi, L; Limon testi, H; Havuç testi, GR; Gram reaksiyonunun belirlenmesi testi, Flo; Floresan pigment oluşum testi, K; Katalaz reaksiyon testi, Lev; Levan oluşum testi, Oks; Kovacs oksidaz testi, Pek; Pektolitik aktivite testi, Ar; Arjinin dihidrolaz testi, HR; Tütünde aşırı duyarlılık testi, G; Jelatin hidroliz testi, A; Esculin hidroliz testi, T; Tyrosin kullanım testi, Ta; Tartarik asit kullanım testi, +; Pozitif reaksiyon, -; Negatif reaksiyon, TY; Test yapılmadı, G+; Geç pozitif reaksiyon, Z+; Zayıf pozitif

İzolat kodlarındaki ifadelerden: D/EG; Diyarbakır Eğil, D/ER; Diyarbakır Ergani, D/D; Diyarbakır Dicle, D/ÇE; Diyarbakır Çermik, M; Mardin, D; Derik, Z; Zeytin, A/B; Adıyaman Besni, (B); Beyaza yakın koloni rengini (S); Sarıya yakın koloni rengini temsil etmektedir

4.5.1 Gram boyama test bulguları

HR ve ana konukçu patojenisite testleri pozitif olan izolatların gram reaksiyonları Hucker (1921)'ın modifiye ettiği gram boyama ve % 3'lük potasyum hidroksit (KOH) gram testiyle belirlenmiştir (Şekil 4.8). Her iki test sonuçlarının birbirini doğrular nitelikte olduğu tespit edilmiştir. Ancak kristal viyole, lügol ve safranin solüsyonlarıyla yapılan klasik gram boyama testiyle karışık bakteri kültürleri daha kolay bir şekilde gözlemlenmiştir. KOH testinde bakterinin gram reaksiyonu şayet negatif ise öze solüsyondan kaldırıldığında iplik şeklinde 0,5-2,0 cm gibi bir uzama görülürken, karışık kültürlerde ayırt edici bir sonuç belirlenememiştir. Diğer taraftan klasik gram boyama testiyle, gram reaksiyonunun belirlenmesinden başka farklı renkte boyanmaları nedeniyle besi yerlerinde kolay anlaşılmayan karışık kültürler kolaylıkla ayırt edilebilmiştir. KOH ile gram boyama testinin ise daha az zaman alıcı ve pratik olduğu gözlemlenmiştir. Bakterilerin tanımlanmasında diğer çalışmalarda da gram reaksiyonunun belirlenmesi testinin yapıldığı belirtilmiştir (Kaluzna ve ark., 2016; Moffett, 1973). Araştırmamızdaki MALDI-TOF sonuçlarına göre *Bacillus pumilus* olarak tanımlanan ve ana konukçu testinde zayıf pozitif reaksiyon gösteren izolatların; mangoda patojen olduğu bildirilen diğer bir çalışmadakine benzer şekilde gram boyama sonucunun pozitif olduğu tespit edilmiştir (Galal ve ark., 2006). Aynı şekilde araştırmamızda *Stenotrophomonas rhizophila* (Str) olarak tanımlanan izolatların da konu ile ilgili diğer bir çalışmadakine benzer şekilde gram negatif olduğu belirlenmiştir (Ribbeck-Busch ve ark., 2005). Bu bağlamda gram boyama

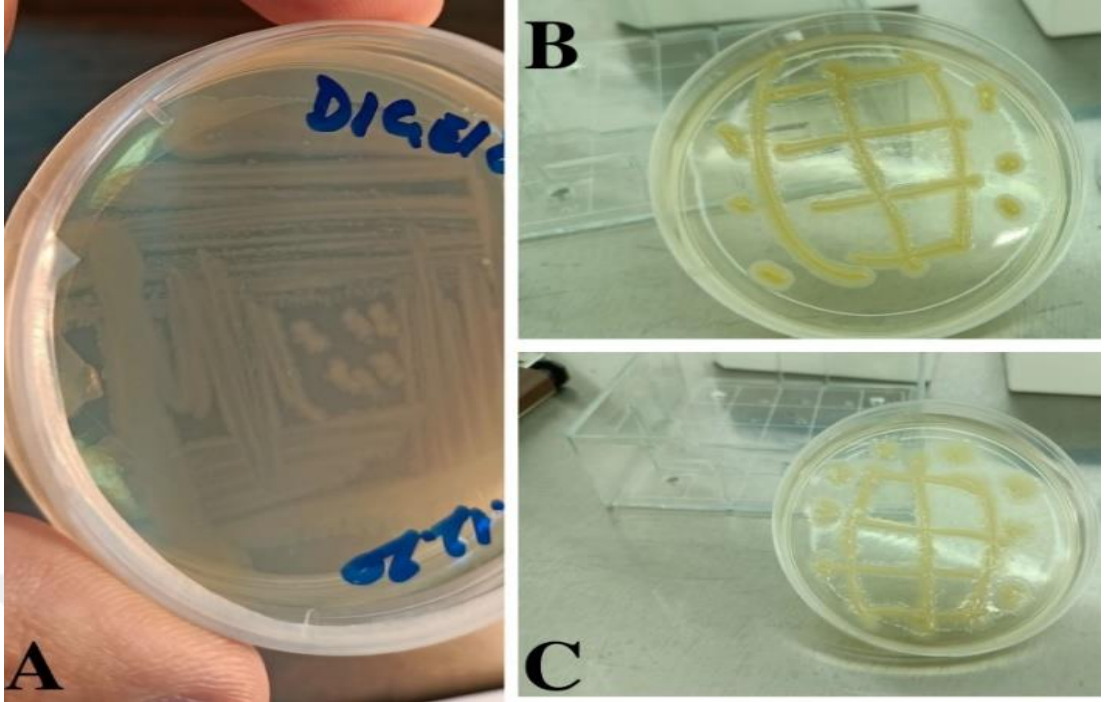
testi bakterilerin taksonomik olarak ayrımında ilk kullanılan ve tanıda yardımcı olabilen testlerdendir.



Şekil 4.8 Bakteri izolatlarının gram reaksiyonlarının belirlenmesi A; Hucker'ın modifiye ettiği gram boyama testi yapılan bakteri preparatlar, B; KOH ile gram reaksiyonu belirlenen gram negatif bakteri izolatı

4.5.2 Levan test bulguları

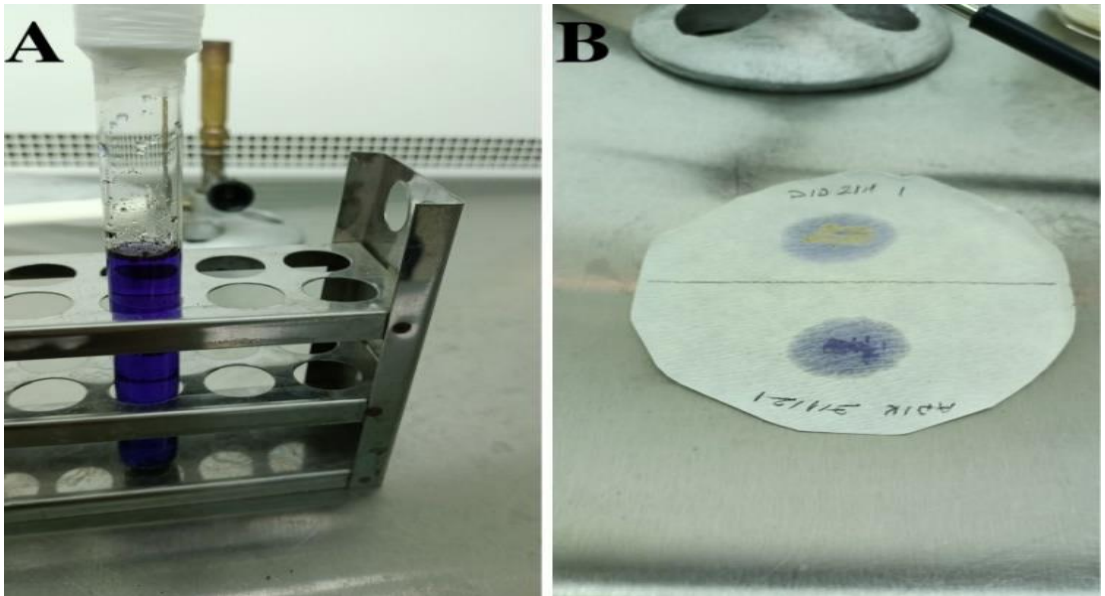
HR ve ana konukçu testi pozitif olan bakteri izolatlarına levan oluşum testi yapılmıştır. Bu amaçla hazırlanan % 5 sakkaroz içeren NA besi ortamına bakteri izolatlarının ekimi yapılmış ve sümüksü, kubbe şeklinde koloni oluşturanlar pozitif olarak, aksi koloni oluşturanlar ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.9). Bademden 18, zeytinden 5 ve mahlepten ise 4 izolat levan oluşum testinde pozitif sonuç vermişlerdir. Kiraz ağaçlarındaki bakteriyel kanser patojenlerinin ayrımını amaçlayan bir çalışmada; bu çalışmayla benzer şekilde levan testinin kullanıldığı ve patojen *Pseudomonas* patovaryalarının pozitif reaksiyon verdiği ifade edilmiştir (Bülbül ve Mirik, 2014).



Şekil 4.9 Levan oluşum test sonuçları A; Levan negatif izolat, B; Levan pozitif izolat, C; Pozitif kültür (Pss)'nin levan oluşum test sonucu

4.5.3 Kovacs oksidaz test bulguları

HR ve ana konukçu patojenisite testleri sonucu pozitif olan bakteri izolatları Kovacs oksidaz testinde mavi renk oluşturup oluşturmadığı değerlendirilmiştir (Şekil 4.10). Bu çalışmadakine benzer şekilde Kovacs oksidaz testinin kullanıldığı ve *Agrobacterium* izolatlarının tanımlanması amacıyla yapılan bir çalışmada; toplam 28 biyokimyasal testle 50 bakteri izolatının tanımlandığı ifade edilmiştir (Keane ve ark., 1970).

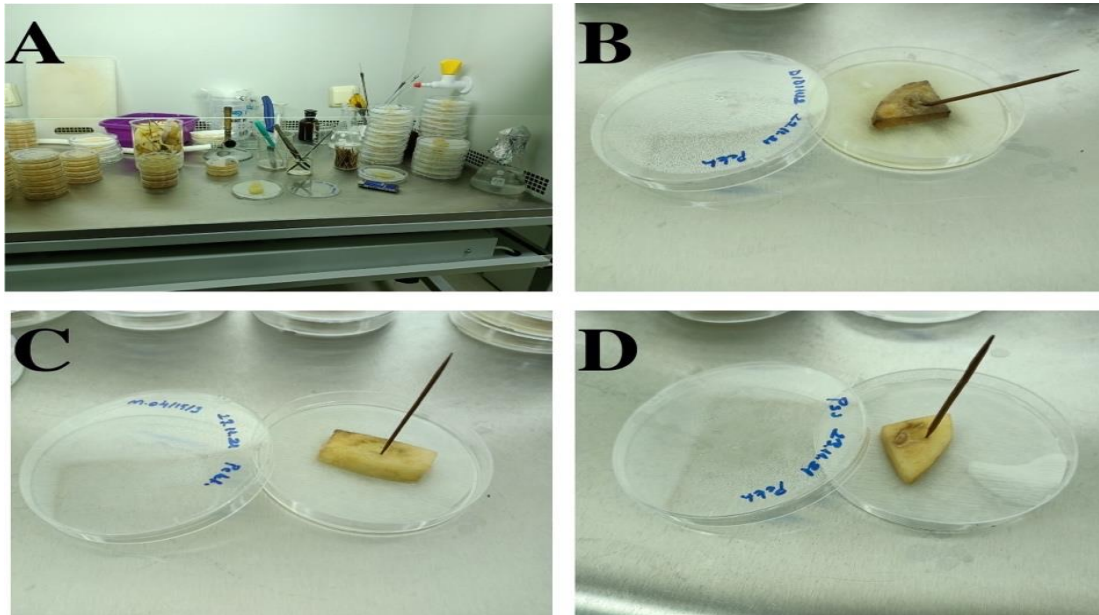


Şekil 4.10 Kovacs oksidaz testi ile ilgili görseller A; Hazırlanan % 1'lik Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride, B; Kovacs oksidaz test sonucu pozitif ve negatif izolatlar

Test sonucunda; badem izolatlarından 18 negatif, 1 pozitif (D/D/21/1/1), 1 geç pozitif (Çe.2.Ö.), zeytin izolatlarından 4 negatif, 1 geç pozitif (M/D/Z/7) ve mahlep izolatlarından ise 4 negatif reaksiyon tespit edilmiştir.

4.5.4 Pektolitik aktivite test bulguları

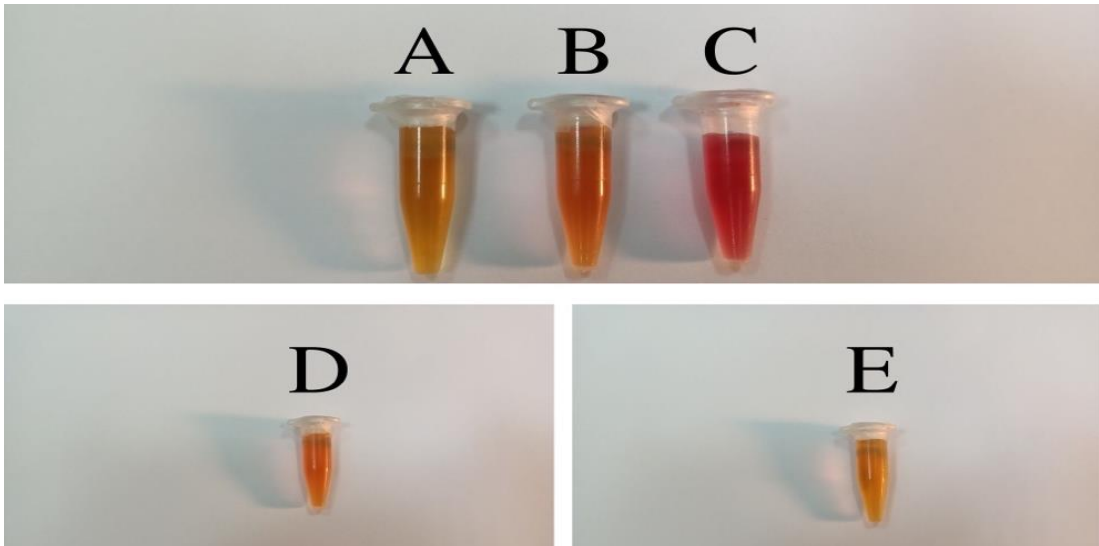
Yüzey sterilizasyonu yapılan ve dilimlenen patatesler üzerine HR ve ana konukçu patojenisite test sonucu pozitif olan izolatlar uygulanarak pektolitik aktivite testi gerçekleştirilmiştir. Üç günlük inkübasyon süresi sonunda hazırlanan petriler kontrol edilmiştir (Şekil 4.11). Steril kürdan ile yapılan yumuşaklık kontrolünde çoğunlukla patates diliminde yumuşamaya eşlik eden suda sararma ve bakterilerin sürüldüğü bölgede oluşmuş kahverengi yumuşak çürüklük belirtisi gözlenmiştir. Steril kürdanın zor battığı yani yumuşak çürüklük gelişmeyen petrilerde, çoğunlukla patates dilimlerinin uygulandığı şekle benzer kalıp suda veya dilimde renk değişiminin olmadığı belirlenmiştir. Test sonucunda; badem izolatlarından 4 tanesi pozitif, 12 tanesi negatif, zeytin izolatlarından 2 tanesi pozitif, 3 tanesi negatif, mahlep izolatlarından ise 4 tanesi de negatif sonuç vermişlerdir. Badem ağaçlarındaki epifit ve endofit bakterilerin bitki gelişimi teşvik açısından değerlendirildiği bir çalışmada; izolatların patatesta yumuşak çürüklük oluşturup oluşturmadığının belirlenmesinde pektolitik aktivite testinin uygulandığı ve bu çalışmayla benzer şekilde, inokulasyon noktasındaki çürüklük varlığı yönünden değerlendirildiği bildirilmiştir (Aktan ve Soylu, 2020).



Şekil 4.11 Pektolitik aktivite testi sonuçları A; Pektolitik aktivite testi uygulama aşaması, B; Pektolitik aktivite pozitif bakteri izolatı, C; Pektolitik aktivite negatif bakteri izolatı, D; Pozitif kültürün (*Pss*) negatif pektolitik aktivite sonucu

4.5.5 Arjinin dihidrolaz test bulguları

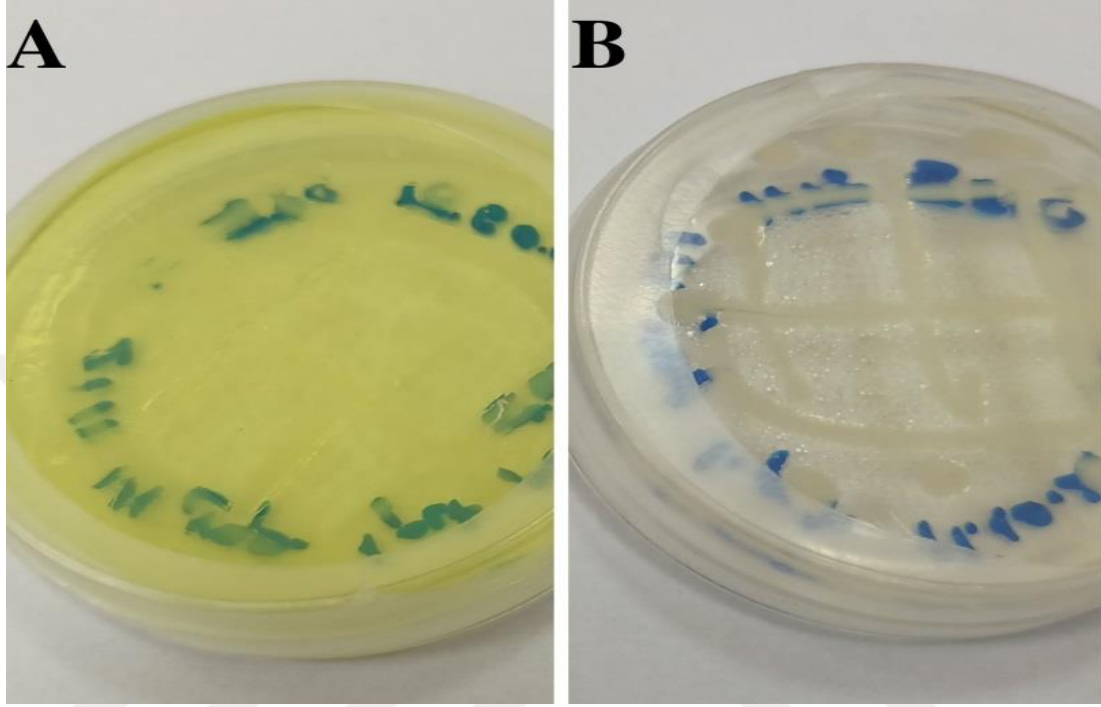
Hazırlanan Thornley 2A besi ortamı ile HR ve ana konukçu patojenisite test sonucu pozitif olan izolatların arjinin dihidrolaz testi gerçekleştirilmiştir. Testin 15 günlük inkübasyon süresi sonunda tüplerde renk değişimleri saptanmıştır. Yapılan kontrollerde; koyu kırmızı renk oluşan tüpler pozitif, turuncu-pembe renk gelişen tüpler ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.12). Test sonucunda pozitif kontrol (*Pss*) ile benzer şekilde 16 badem izolatı, 5 zeytin izolatı ve 4 mahlep izolatı negatif sonuç vermişlerdir. Badem izolat tüplerinden 12'sinde turuncu, 2'sinde turuncu-pembe ve 2 tanesinde kehribar rengine benzer açık renk olmak üzere farklı renk tonları gelişmiştir. Beş zeytin izolatının hepsinde kehribar benzeri açık renk gözlenmiştir. Mahlep izolatlarında ise 1'i turuncu, 3'ü kehribar rengi olmak üzere pozitif kültüre benzer renk değişimleri tespit edilmiştir. Ana konukçu test sonucu pozitif olmasa da pozitif reaksiyonu görmek amacıyla testin uygulandığı izolatlarla ait tüplerde (M/D/Z/3) koyu kırmızı renk gelişmiştir. İçerisinde bakteri bulunmayan sadece besi ortamı ihtiva eden kontrol tüpünde ise inkübasyon süresi sonunda kehribar rengine yakın açık renk gözlenmiştir. Kayısıdan izole edilen 53 *Pseudomonas* spp. izolatının biyokimyasal karakterini belirlemek için bu çalışmadakine benzer şekilde arjinin dihidrolaz testinde kullanıldığı bir çalışmada; 2 izolatın zayıf pozitif, 51 izolatın ise negatif reaksiyon verdiği belirtilmiştir (Donmez ve ark., 2010).



Şekil 4.12 Arjinin dihidrolaz test sonucunda tüplerdeki renk değişimleri A; Kehribar rengin geliştiği negatif bakteri izolatı, B; Turuncu rengin geliştiği negatif bakteri izolatı, C; Koyu kırmızı rengin geliştiği pozitif bakteri izolat, D; Pozitif bakteri izolat, E; Pozitif kültür (*Pss*) bakterinin test sonucundaki turuncu renk değişimi, E; Bakteri içermeyen kehribar rengin geliştiği tüp

4.5.6 Floresan pigment oluşumu

HR ve ana konukçu patojenisite testi sonuçları pozitif olan bakteri izolatlarının King B besi ortamında floresan pigment oluşturup oluşturmadığını belirlemek amacıyla besi ortamı hazırlanıp ekimleri yapılmıştır (Şekil 4.13).



Şekil 4.13 King B besi ortamında floresan pigment test sonucu örnekleri A; Floresan pigment oluşturan bakteri izolatı B; Floresan pigment oluşturmeyan bakteri izolatı

Bakteri izolatlarından 5 badem, 3 zeytin ve 4 mahlep izolatının King B besi ortamında zayıf floresan pigment oluşturduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.13). Badem ve mahlep izolatlarının sarı pigment oluşturduğu buna karşın zeytin izolatlarının yeşil pigment oluşturduğu belirlenmiştir. Floresan pigment testinin King B ortamında kayısı ve erik ağaçlarından izole edilen bakteri etmenlerine uygulandığı diğer bir çalışmada; *Pss* olarak tanımlanan tüm izolatların floresan pigment oluşturduğu ifade edilmiştir (Çetinkaya Yıldız ve ark., 2015).

Tablo 4.13 King B besi ortamında floresan pigment oluşturan bakteri izolatları

İzolat Kodu	Bitki	Pigment Rengi	Fluoresan Pigment Oluşumu	İzolat Kodu	Bitki	Pigment Rengi	Fluoresan Pigment Oluşumu
M.04/10/1	Badem	Sarı	ZP	ÇE.7.Ö.	Badem	Sarı	ZP
A/B/6/2	Badem	Sarı	ZP	D/EG/21/1	Badem	Sarı	ZP
A/B/8/1	Badem	Sarı	ZP	M.04./15/1	Mahlep	Sarı	ZP
M/D/Z/B1	Zeytin	Yeşil	ZP	M.04./15/3	Mahlep	Sarı	ZP
M/D/Z/B3	Zeytin	Yeşil	ZP	M.04./15/4	Mahlep	Sarı	ZP
M/D/Z/B5	Zeytin	Yeşil	ZP	M.04./4/2	Mahlep	Sarı	ZP

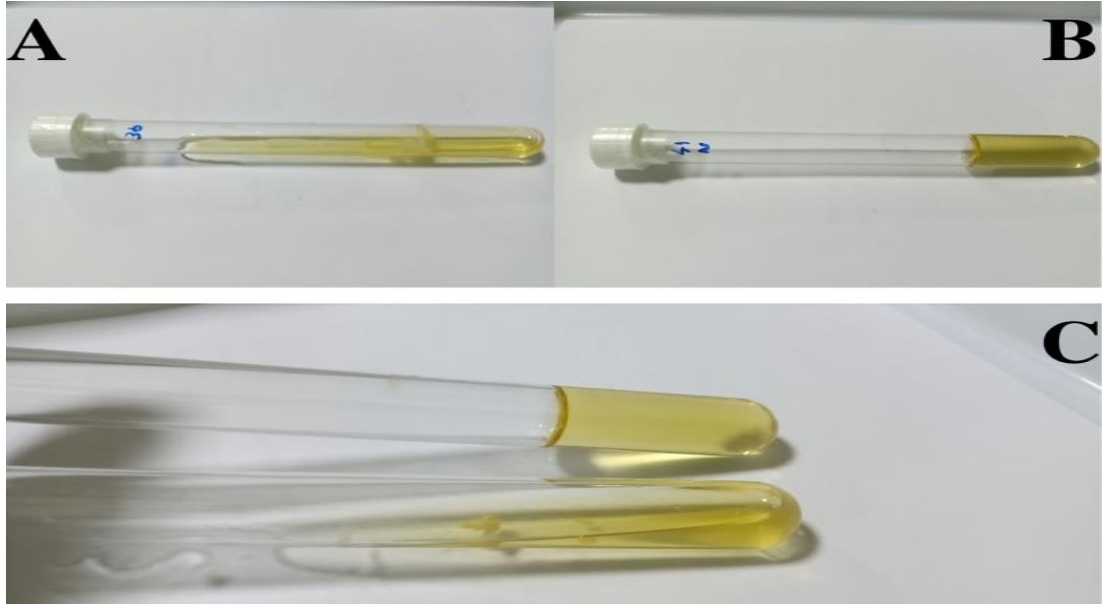
ZP; Zayıf pozitif reaksiyon

İzolat kodlarındaki ifadelerden: D/EG; Diyarbakır Eğil, M; Mardin, M/D; Mardin Derik, A/B; Adıyaman Besni, ÇE; Çermik, (B); Beyaza yakın koloni rengini (S); Sarıya yakın koloni rengini temsil etmektedir

Ayrıca uzun süreli (3-6 ay) muhafazadan sonra yapılan aynı besi ortamına ekimlerde floresan pigment oluşturma özelliğinin yitirilebildiği gözlenmiştir. Söz konusu durum, bakterilerin yaşlanması ile floresan oluşturma gibi bazı biyokimyasal özelliklerinin değişebileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

4.5.7 Jelatin hidroliz test bulguları

Pepton, beef ekstrakt ve jelatin ihtiva eden besi ortamı hazırlandıktan sonra HR ve ana konukçu patojenisite testi pozitif olan bakteri izolatlarının, jelatini hidrolize etme özelliklerini belirlemek amacıyla test gerçekleştirilmiştir. 14 günlük inkübasyon süresi sonunda; tüpler akışkan halde ise pozitif, katı halde ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.14). Test sonucunda; badem izolatlarına ait tüplerin 8'inin katı, 8'inin ise akışkan olduğu, zeytin izolat tüplerinin 5'inde akışkan bir yapıda olduğu, mahlep izolat tüplerinin 3'ünün katı, 1 tanesinin (M.04/15/3) ise akışkan yani negatif olduğu saptanmıştır. Jelatin hidroliz testinin *Pseudomonas* patovarlarını ayırt etmek amacıyla kullanıldığı bir çalışmada; bu çalışmadakine benzer şekilde jelatin ihtiva eden tüplerde sıvılaşma olup olmadığının değerlendirildiği ve bakterilerin tanımlanmasında kullanıldığı bildirilmiştir (Ertimurtaş ve Özaktan, 2020).

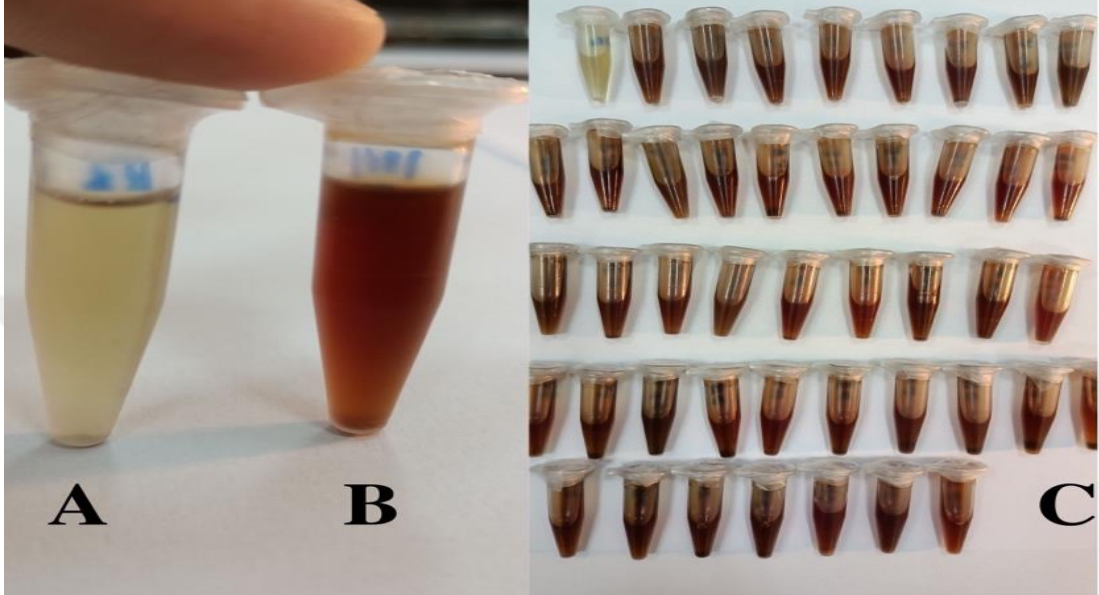


Şekil 4.14 Jelatin test sonucu görseller A; Jelatin hidroliz pozitif bakteri izolatı, B; Negatif kontrol, C; Jelatin hidroliz negatif ve pozitif bakteri izolatları

4.5.8 Esculin hidroliz testi bulguları

Esculin hidroliz testinde; bakteri içermeyen negatif kontrol dışında testlenen tüm badem, zeytin ve mahlep izolat tüplerinde koyu kahverengi renk değişimi gözlenmiş ve pozitif reaksiyon olarak kaydedilmişlerdir (Şekil 4.15). GATTa testlerinden olan

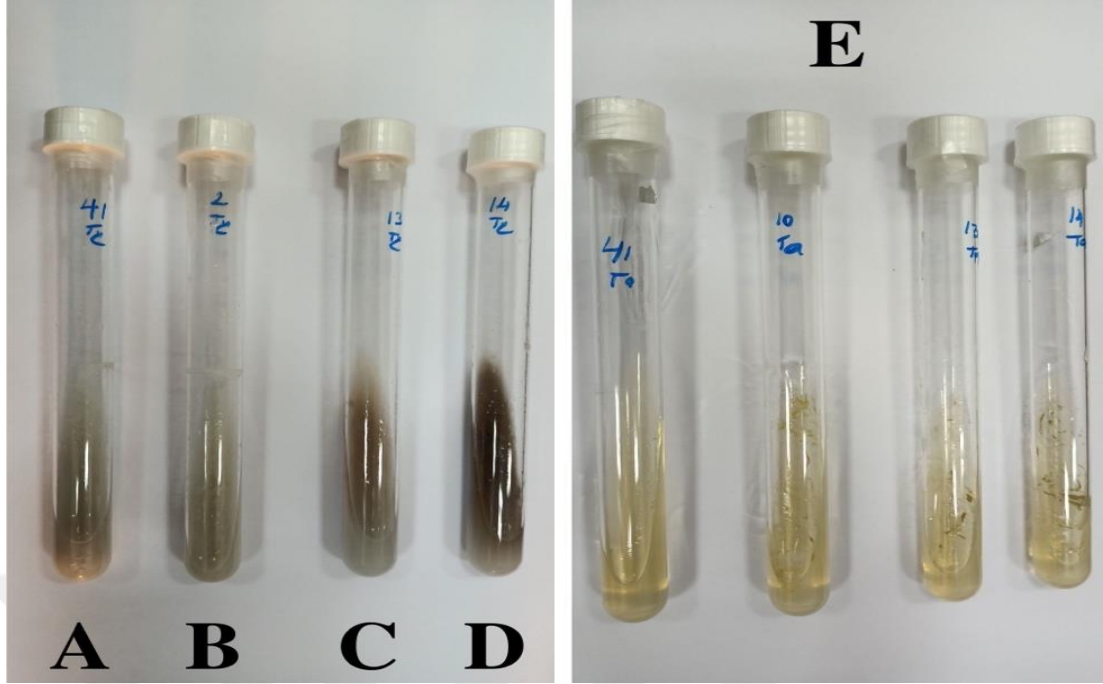
esculin hidroliz testinin kullanıldığı diğer bir çalışmada; *Pss* izolatlarının pozitif, *Psm* ırk 1 izolatlarının negatif, *Psm* ırk 2 izolatlarının ise hem negatif hemde pozitif sonuç verdiği vurgulanmıştır (Bultreys ve Kaluzna, 2010). Kayısı ağaçlarından izole edilen 75 *Pss* izolatının tamamının esculin hidroliz test sonucunda pozitif çıktığını bildiren diğer bir çalışmada mevcuttur (Gormez ve ark., 2013).



Şekil 4.15 Esculin test sonuç görselleri A; Bakteri içermeyen negatif kontrol test tüpü, B; Pozitif kontrol (*Pss*) test tüpü, C; Bakteri izolatlarının esculin test sonuçları

4.5.9 Tyrosin ve tartarik asit kullanım testi bulguları

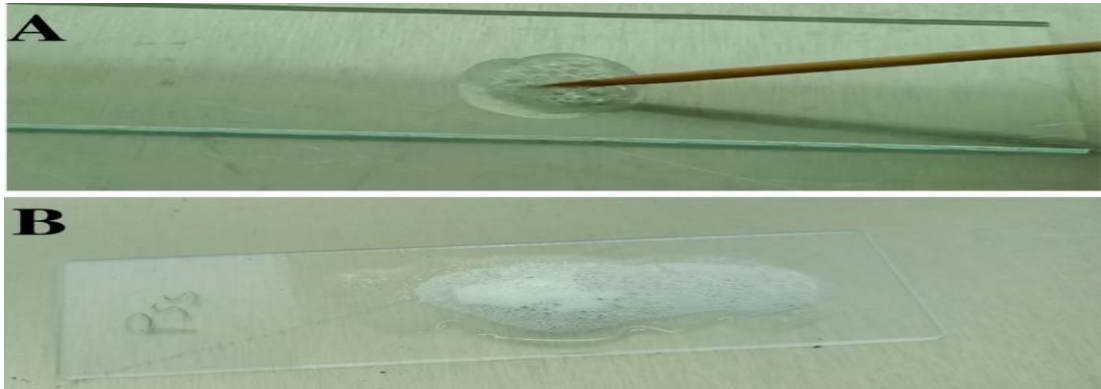
Karbon kaynaklarının bakteriler tarafından kullanımını belirlemek amacıyla bazal besi yeri hazırlanarak tyrosin ve tartarik asit ilave edildikten sonra bakteri izolatları test edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda tyrosin içeren tüplerde; badem izolatlarının 11'i negatif, 5'i pozitif, zeytin izolatlarının 4'ü pozitif, 1'i (M/D/Z/7) negatif, mahlep izolatlarının 3'ü pozitif, 1'i (M.04/15/4) negatif reaksiyon vermiştir. Tartarik asit içeren tüplerin hiçbirinde renk değişimi gözlenmemiş dolayısıyla negatif reaksiyon olarak kaydedilmişlerdir (Şekil 4.16). Toplam 110 *Pseudomonas syringae* izolatının ayırımında bu çalışmadakine benzer şekilde tyrosin ve tartaric asit kullanım testinin yapıldığı bir çalışmada; her iki test sonucu negatif olan izolatların *Pss*, pozitif olanların ise *Psm* ırk 1 şeklinde tanımlandığı ifade edilmiştir (Sulikowska ve Sobiczewski, 2008).



Şekil 4.16 Tyrosin ve tartarik asit test sonucu görselleri A; Tyrosin negatif kontrol tüpü, B; Tyrosin negatif bakteri izolatu, C; Tyrosin pozitif kontrol (*Pss*) tüpü, D; Tyrosin pozitif bakteri izolatu, E; Tartarik asit negatif reaksiyon tüpleri

4.5.10 Katalaz test bulguları

HR ve ana konukçu patojenisite test sonucu pozitif bakteri izolatlarının, % 3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) kullanılarak katalaz aktivitesini belirlemek için test gerçekleştirilmiştir. Test sonucunda bakteri içermeyen negatif kontrol dışındaki tüm badem, zeytin ve mahlep izolatlarının, % 3'lük H_2O_2 ile muamelede hava kabarcıkları oluşturduğu gözlenmiş ve pozitif reaksiyon olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.17). *Agrobacterium* izolatlarını tanımlamak amacıyla bu çalışmadakine benzer şekilde katalaz testinin uygulandığı bir çalışmada; test edilen patojen ve patojen olmayan tüm izolatların pozitif reaksiyon verdiği ifade edilmiştir (Keane ve ark., 1970).



Şekil 4.17 Katalaz test sonucu görselleri A; Katalaz pozitif bakteri izolatının % 3'lük H_2O_2 ile muamelede oluşturduğu hava kabarcıkları, B; Pozitif kültür bakteri izolatının (*Pss*) oluşturduğu pozitif reaksiyon

4.6 Bakteri İzolatlarının MALDI-TOF MS ve PCR Analiz Bulguları

Bakteri izolatlarından HR ve ana konukçu patojenisite testleri sonucunda patojen adayları olanlardan 17 izolat ve patojen olmayan izolatları temsilen seçilen 70 bakteri izolatı MALDI-TOF MS ile teşhis edilmiştir. Ayrıca badem ve mahlep patojen adayları izolatlarını temsilen seçilen; A/B/6/2, A/B/8/1 ve M.04/15/1 izolatlarına 27f/1492r universal primerleri ile 16s rDNA dizi analizi yapılmıştır. İlaveten M/D/Z/6, M/D/Z/8, M/D/Z/B3 ve M/D/Z/B5 zeytin izolatları ise IAALF/IAALR spesifik primerleri kullanılarak PCR analizi ile teşhis edilmiştir. Patojen adayları izolatların MALDI-TOF MS ve PCR analiz sonuçları Tablo 4.14’de birlikte sunulmuştur. Her iki analizinde uygulandığı A/B/6/2, A/B/8/1 ve M.04/15/1 izolatları iki analiz sonucunda da *Stenotrophomonas rhizophila* olarak tanımlanmıştır. Az sayıda izolat testlenmiş olsada MALDI-TOF MS sonuçlarının moleküler teşhis sonuçlarıyla örtüştüğü görülmektedir.

Tablo 4.14 HR ve ana konukçu patojenisite testleri pozitif badem, mahlep ve zeytin izolatlarının MALDI-TOF kütle spektrometre ve PCR teşhis sonuçları

İzolat Kodu	PCR Teşhis Sonucu	MALDI-TOF Teşhis Sonucu	Benzerlik İndeksi	İzolat Kodu	PCR Teşhis Sonucu	MALDI-TOF Teşhis Sonucu	Benzerlik İndeksi
D/EG/2/1	TY	Bacillus pumilus	2.01	D/D/11/2	TY	Bacillus altitudinis	1.91
D/EG/4	TY	Bacillus pumilus	2.215	D/D/9/1 B	TY	Bacillus pumilus	1.981
D/EG/1	TY	Bacillus majovensis	1.918	D/D/9/1 S	TY	Bacillus pumilus	1.981
D/EG/5/1	TY	Bacillus pumilus	2.013	Çe.7.Ö.	TY	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	2.276
D/ÇE/8/2	TY	Bacillus pumilus	2.157	M.04/15/1	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	2.391
D/ER/6	TY	Bacillus altitudinis	1.962	M.04/15/4	TY	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	2.115
D/ÇE/8/4	TY	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	1.961	M.04/4/2	TY	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	2.267
M.04/10/1	TY	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	2.423	M/D/Z/8	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	TY	-
A/B/6/2	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	2.369	M/D/Z/B3	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	TY	-
A/B/8/1	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	1.754	M/D/Z/B5	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	TY	-
M/D/Z/6	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	TY	-				

TY; Test yapılmadı

İzolat kodlarındaki ifadelerden: D/ÇE; Diyarbakır Çermik, D/EG; Diyarbakır Eğil, D/D; Diyarbakır Dicle, D/ER; Diyarbakır Ergani, M; Mardin, D; Derik, Z; Zeytin, A/B; Adıyaman Besni, ÇE; Çermik, (B); Beyaza yakın koloni rengini (S); Sarıya yakın koloni rengini temsil etmektedir

MALDI-TOF benzerlik indeksi değerleri 0-3 aralığındadır.

Benzerlik indeksi: 2,3’ten yüksekse; yüksek olasılıklı tür tanımlamasını,

Benzerlik indeksi: 2,0-2,299 ise, güvenilir cins - olası tür tanımlamasını,

Benzerlik indeksi: 1,7-1,999 ise; olası cins tanımlamasını,

Benzerlik indeksi: 1,7’den düşükse güvenilir olmayan tanımlamayı belirtmektedir (Cassagne ve ark., 2016)

4.6.1 Bakteri İzolatlarının MALDI-TOF MS ile Teşhis Bulguları

Sert çekirdekli bitkilerden izole edilen 218 bakteri izolatından; HR ve ana konukçu patojenisite testi negatif olan izolatları temsilen seçilen 70 izolatın MALDI-TOF kütle spektrometri ile teşhisi yapılmıştır. Ayrıca HR ve ana konukçu patojenisite test sonuçları pozitif olan 12 badem ve 3 mahlep izolatıda söz konusu yöntemle tanımlanmıştır (Tablo 4.15).

Tablo 4.15 HR ve ana konukçu patojenisite testleri pozitif badem ve mahlep izolatlarının MALDI-TOF kütle spektrometre teşhis sonuçları

İzolat Kodu	Gram Reaksiyonu	MALDI-TOF Teşhis Sonucu	Benzerlik İndeksi	İzolat Kodu	Gram Reaksiyonu	MALDI-TOF Teşhis Sonucu	Benzerlik İndeksi
D/EG/2/1	P	Bacillus pumilus	2.01	D/D/11/2	P	Bacillus altitudinis	1.91
D/EG/4	P	Bacillus pumilus	2.215	D/D/9/1B	P	Bacillus pumilus	1.981
D/EG/1	P	Bacillus majovensis	1.918	D/D/9/1S	P	Bacillus pumilus	1.981
D/EG/5/1	P	Bacillus pumilus	2.013	Çe.7.Ö.	N	Stenotrophomonas rhizophila	2.276
D/ÇE/8/4	N	Stenotrophomonas rhizophila	1.961	M.04/15/1	N	Stenotrophomonas rhizophila	2.391
M.04/10/1	N	Stenotrophomonas rhizophila	2.423	M.04/15/4	N	Stenotrophomonas rhizophila	2.115
A/B/6/2	N	Stenotrophomonas rhizophila	2.369	M.04/4/2	N	Stenotrophomonas rhizophila	2.267
A/B/8/1	N	Stenotrophomonas rhizophila	1.754				

P; Pozitif reaksiyon, N; Negatif reaksiyon

İzolat kodlarındaki ifadelerden: D/ÇE; Diyarbakır Çermik, D/EG; Diyarbakır Eğil, D/D; Diyarbakır Dicle, D/ER; Diyarbakır Ergani, M; Mardin, A/B; Adıyaman Besni, ÇE; Çermik, (B); Beyaza yakın koloni rengini (S); Sarıya yakın koloni rengini temsil etmektedir

MALDI-TOF benzerlik indeksi değerleri 0-3 aralığındadır.

Benzerlik indeksi: 2,3'ten yüksekse; yüksek olasılıklı tür tanımlamasını,

Benzerlik indeksi: 2,0-2,299 ise; güvenilir cins - olası tür tanımlamasını,

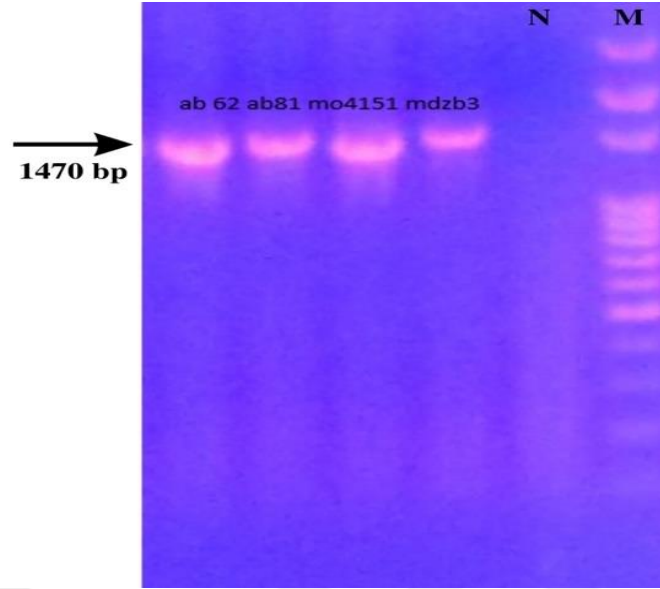
Benzerlik indeksi: 1,7-1,999 ise; olası cins tanımlamasını,

Benzerlik indeksi: 1,7'den düşükse güvenilir olmayan tanımlamayı belirtmektedir (Cassagne ve ark., 2016)

Teşhis sonucunda gram pozitif badem izolatlarının *Bacillus* cinsine dahil olduğu saptanmıştır. Yedi gram pozitif badem izolatına analiz yapılmış ve teşhis sonucunda; *Bacillus pumilus* (5 izolat), *Bacillus majovensis* (1 izolat) ve *Bacillus altitudinis* (1 izolat) oldukları belirlenmiştir. Beş gram negatif badem izolatına analiz yapılmış ve *Stenotrophomonas rhizophila* (5 izolat) olarak teşhis edilmiştir. MALDI-TOF kütle spektrometriyle mahlep izolatlarının 3 tanesi analiz edilmiş ve *Stenotrophomonas rhizophila* oldukları sonucuna varılmıştır.

4.6.2 PCR Analiz Bulguları

Bakteri izolatlarının PCR testleri için genel olarak 16s rDNA bölgesindeki baz dizilimleri karşılaştırılmaktadır. Bu bağlamda badem ve mahlep izolatlarını tanılamak için yaklaşık 1.470 bp büyüklüğündeki bölgenin çoğaltıldığı PCR işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.18). Elde edilen PCR ürünlerinin dizi analizleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.18 PCR sonucu elde edilen 1470 bp büyüklüğündeki jel görüntüsü M; Marker, N; Negatif kontrol, Sırasıyla A/B/6/2, A/B/8/1, M.04/15/1 izolatlarının ve pozitif kontrol bakteri izolatının PCR ürünleri

Dizi analizi sonucunda badem örneklerini temsilen seçilen A/B/6/2 ve A/B/8/1 izolatları ile mahlep izolatlarını temsilen seçilen M.04/15/1 izolatının kesin teşhisleri yapılmıştır. Bakterilerin sekans sonuçları National Center for Biotechnology Information (NCBI)'daki verilerle karşılaştırılarak tür tayinleri gerçekleştirilmiştir. Bahsi geçen badem ve mahlep izolatlarından; A/B/6/2 % 99,5, A/B/8/1 ve M.04/15/1 ise % 100'lük benzerlik oranıyla *Stenotrophomonas rhizophila* olarak tanılanmıştır (Tablo 4.16). Ayrıca teşhis edilen bakterilerin DNA dizileri Ek 2.A, Ek 2.B ve Ek 2.C'de sunulmuştur. Ginsengte bakteriyel kök çürüklüğüne *Pseudomonas aeruginosa* etmeninin neden olduğunun belirlendiği bir çalışmada; bu çalışmayla benzer şekilde 27f/1492r primerleri kullanılarak PCR analizinin yapıldığı ve bakteri izolatlarının teşhis edildiği belirtilmiştir (Gao ve ark., 2014). Bakterilerin tür düzeyinde tanımlanmasında 27f/1492r en geniş kapsamda kullanılan primerlerdir (Hou ve ark., 2018). *Stm*'nin 16s rDNA dizi analizinde 27f/1492r primerinin kullanıldığı diğer bir çalışmada bu araştırmayla benzer şekilde 1462 bp'lik bant elde edilmiştir (Wang ve ark., 2016). Dolayısıyla 27f/1492r primerleri *Stenotrophomonas* spp.'lerin tanımlanmasında kullanılabilir. 16s rDNA gen bölgesi bütün bakterilerde bulunan ve fonksiyonel olarak korunmuş bir bölgedir. Üzerinde iyi korunmuş ve heterojen bölgeler içerir. Bu bölgedeki genlerin karşılaştırılması ile bakterilerin cins veya tür düzeyinde tanımları yapılabilir. Ancak tanı sonucu daha çok cins

düzeyinde kabul edilmektedir. Bu nedenle 16s rDNA analiz sonucunda; badem ve mahlep izolatları *Stenotrophomonas* spp. olarak teşhis edilmiştir.

Tablo 4.16 Sekanslama ve Blast analiziyle bakterilerin filogenetik olarak ilişkili olduğu NCBI'ya kayıtlı en yakın bakteri türü ve benzerlik oranları

İzolat Kodu	Benzerlik Oranı	NCBI'daki En Yakın Bakteri Türü ve Aksesyon Numarası
A/B/6/2	% 99.5	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> (MK883184.1)
A/B/8/1	% 100	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> (MK883184.1)
M.04/15/1	% 100	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> (MN753976.1)

İzolat kodlarındaki ifadelerden: A/B; Adıyaman Besni, M; Mardin temsil etmektedir

Zeytin izolatlarının IAALF ve IAALR spesifik primerleri kullanılarak PCR analizi yapılmıştır. PCR işleminin akabinde jel görüntüleme sisteminde yapılan analiz neticesinde; pozitif kontrol *Psv* HZP14-PSV ile benzer şekilde 454 bp'lik bantlar elde edilmiş ve izolatların *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olduğu saptanmıştır (Şekil 4.19). Elde edilen sonuçlar türe özgü primerler olan IAALF ve IAALR'nin kullanıldığı diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir (Doksöz ve Bozkurt, 2020b; Mirik ve Aysan, 2011). Böylece HR ve havuç patojenisite testleri pozitif olan 4 zeytin izolatıda *Psv* olarak tanımlanmıştır (Tablo 4.17).

Tablo 4.17 Zeytin izolatlarının IAALF ve IAALR spesifik primerleriyle PCR analiz sonuçları

İzolat Kodu	PCR Bant Uzunluğu	Teşhis Sonucu
M/D/Z/6	454 bp	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>
M/D/Z/8	454 bp	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>
M/D/Z/B3	454 bp	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>
M/D/Z/B5	454 bp	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>

İzolat kodlarındaki ifadelerden: M; Mardin, D; Derik, Z; Zeytin, B; Beyaza yakın koloni rengini temsil etmektedir



Şekil 4.19 PCR sonucu elde edilen 454 bp büyüklüğündeki jel görüntüsü M; 100 bp'lik Markerlar, N; Negatif kontrol, P; Pozitif kontrol (*Psv* HZP14-PSV), Sırasıyla M/D/Z/6, M/D/Z/8, M/D/Z/B3, M/D/Z/B5 bakteri izolatlarının PCR ürünleri

4.7 Konukçu Dizisi Testi Bulguları

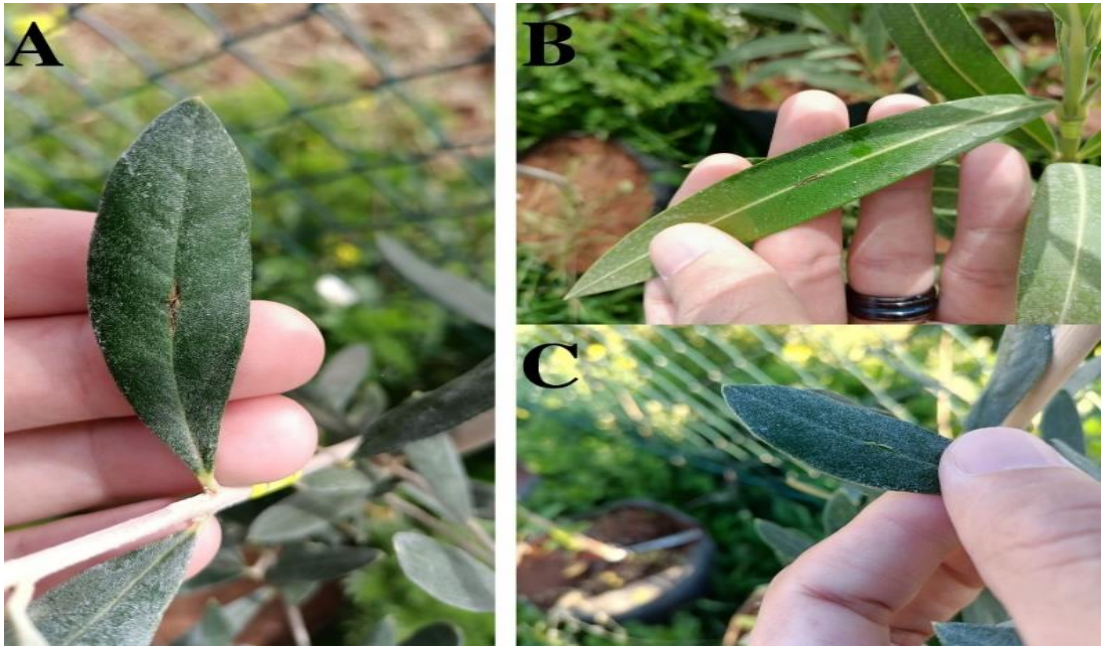
Zeytin ve zakkum bitkilerinin yaprak kısmına verilen M/D/Z/6 izolatının etkinliği 9 günlük inkübasyon süresinin sonunda kontrol edilmiş ve kaydedilmiştir (Tablo 4.18). Yapılan kontrollerde inokulasyon yapılan yerle sınırlı kalmış olan, kahverengi-siyah nekrotik lezyon zeytin, pembe ve beyaz zakkum bitkilerin uygulama yapılan tüm yapraklarında gözlenmiştir. Negatif kontrol olarak steril su uygulanan yaprakta ise herhangi bir lezyon belirtisi ortaya çıkmamıştır (Şekil 4.20). Dokuz günlük inkübasyon süresinden sonra inokulasyon yapılan bölgeler gözlenmeye devam edilmiş, ancak lezyon dışında herhangi bir siğil veya ur oluşumu belirtisi tespit edilmemiştir.

Tablo 4.18 Zeytin ve zakkum bitkilerinin yaprak kısmına uygulanan M/D/Z/6 izolatı ve negatif kontrol (steril su) uygulamasının reaksiyon sonuçları ile testin uygulama ve kontrol tarihleri

İzolot Kodu	Verildiği Bitki	Sonuç
M/D/Z/6	Zeytin	İnokulasyon yapılan yerle sınırlı kahverengi siyah nekrotik lezyon
M/D/Z/6	Beyaz Zakkum	İnokulasyon yapılan yerle sınırlı kahverengi siyah nekrotik lezyon
M/D/Z/6	Pembe Zakkum	İnokulasyon yapılan yerle sınırlı kahverengi siyah nekrotik lezyon
Negatif Kontrol (Steril Su)	Beyaz Zakkum	Belirti yok
Negatif Kontrol (Steril Su)	Zeytin	Belirti yok

Testin uygulanma tarihi: 09.04.22; Testin kontrol tarihi: 18.04.22

İzolot kodlarındaki ifadelerden: M/D; Mardin Derik, Z; Zeytin temsil etmektedir



Şekil 4.20 Zeytin ve zakkum bitkilerinin yaprak kısımlarına uygulanan M/D/Z/6 zeytin izolatının inkübasyon süresi sonundaki kontrol sonuçları A; Zeytin yaprağında oluşan lezyon, B; Zakkum yaprağında oluşan lezyon, C; Negatif kontrol steril su uygulanan zeytin yaprağı

Virölensliği yüksek olan A/B/6/2 ve pozitif kontrol *Pss* izolatlarının konukçu dizisi sonuçları 5-6 haftalık inkübasyon süresi sonunda; inokulasyon bölgeleri incelenerek değerlendirilmiş ve kaydedilmiştir. (Tablo 4.19) Lezyon uzunluğu, genişliği ve sürgün çapı verilerinin hepsi milimetre (mm) uzunluk birimi olarak ölçülmüştür. Lezyonların ölçülmesinde dijital kumpas kullanılmıştır (Şekil 4.21).

Tablo 4.19 A/B/6/2 ve pozitif kontrol (*Pss*) izolatlarının konukçu dizisi testinde farklı bitkilerdeki lezyon ölçümleri

İzolat Kodu	Verildiği Bitki	Lezyon Uzunluğu (mm)	Lezyon Genişliği (mm)	Sürgün Çapı (mm)	Lezyon Uzunluğunun Yarısı (mm) (b)	Lezyon Genişliğinin Yarısı (mm) (a)	Sürgün Yarıçapı (mm) (r)
A/B/6/2	Kayısı	46,47	2,92	7,8	23,235	1,46	3,9
A/B/6/2	Kayısı	17,32	3,51	6,1	8,66	1,755	3,05
A/B/6/2	Badem	18,16	2,54	6,46	9,08	1,27	3,23
A/B/6/2	Badem	16,8	2,16	7,14	8,4	1,08	3,57
A/B/6/2	Kiraz	19,34	4,03	7,08	9,67	2,015	3,54
A/B/6/2	Kiraz	18,25	4,62	6,35	9,125	2,31	3,175
A/B/6/2	Mahlep	19,76	3,12	5,47	9,88	1,56	2,735
A/B/6/2	Mahlep	15,6	3,02	7,07	7,8	1,51	3,535
A/B/6/2	İğde	0	0	12,4	0	0	6,2
A/B/6/2	İğde	0	0	12,11	0	0	6,055
A/B/6/2	Erik	26,98	5,38	9,38	13,49	2,69	4,69
A/B/6/2	Erik	12,76	7,57	11,17	6,38	3,785	5,585
A/B/6/2	Vişne	16,79	5,55	8,83	8,395	2,775	4,415
A/B/6/2	Vişne	27,45	4,05	6,33	13,725	2,025	3,165
A/B/6/2	Kızılcık	0	0	5,64	0	0	2,82
A/B/6/2	Şeftali	39,79	6,87	8,8	19,895	3,435	4,4
A/B/6/2	Şeftali	31,3	4,97	8,53	15,65	2,485	4,265
A/B/6/2	Zeytin	7,29+2,42*	1,84+2,35*	5,52	-	-	-
A/B/6/2	Zeytin	7,19+2,53*	1,91+1,8*	5,40	-	-	-
<i>Pss</i>	Badem	10,30	1,83	6,76	5,15	0,915	3,38

* Kabuk nekrozlarında her iki kabuktaki mevcut lezyon ölçümleri “+” işareti ile ayrı ayrı verilmiştir

Pss; Pozitif kontrol (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*)

Testin uygulama tarihi: 06.04.22; Testin kontrol tarihi: 17.05.22

A/B; Adıyaman Besni



Şekil 4.21 Konukçu dizisinde A/B/6/2 izolatının oluşturduğu lezyonların dijital kumpasla ölçümü A; Sürgün çapının ölçümü, B; Lezyon uzunluğunun ölçümü, C; Lezyon genişliğinin ölçümü

Zeytin ve zakkum bitkilerinin sürgünlerine verilen M/D/Z/6 izolatının 5-6 haftalık inkübasyon süresi sonundaki reaksiyonları kontrol edilerek değerlendirilmiştir (Tablo 4.20).

Tablo 4.20 M/D/Z/6 izolatının zeytin ve zakkum bitkilerindeki lezyon ölçümleri

İzolat Kodu	Verildiği Bitki	Lezyon Uzunluğu (mm)	Lezyon Genişliği (mm)	Sürgün Çapı (mm)	Lezyon Uzunluğunun Yarıısı (mm) (b)	Lezyon Genişliğinin Yarıısı (mm) (a)	Sürgün Yarıçapı (mm) (r)
M/D/Z/6	Zakkum (Pembe)	15,43	5,91	6,23	7,715	2,955	3,115
M/D/Z/6	Zakkum (Beyaz)	9,53+6,69*	2,24+2,89*	6,27	-	-	-
M/D/Z/6	Zeytin	10,18+7,68*	1,97+1,82*	5,51	-	-	-

* Kabuk nekrozlarında her iki kabuktaki mevcut lezyon ölçümleri “+” işareti ile ayrı ayrı verilmiştir
Testin uygulanma tarihi: 09.04.22; Testin kontrol tarihi: 17.05.22
M/D; Mardin Derik, Z; Zeytin

İnkübasyon süresi sonunda pozitif reaksiyon olan bitkilerde dijital kumpas yardımıyla ölçülen lezyon uzunluk, genişlik ve sürgün çapı verileri A/B/6/2 bakteri izolatının sert çekirdekli bitkilerdeki enfeksiyon alanının yüzde değerlerinin bulunması amacıyla kullanılmıştır. Konukçu dizisi testi sonucunda A/B/6/2 bakteri izolatının farklı sert çekirdekli bitkilerdeki enfeksiyon alan yüzde verileri elde edilmiştir. Enfeksiyon alan yüzdesi verilerine ArcSin açı transformasyonu uygulandıktan sonra istatistik analizleri SPSS (Version: 21.0.0.0) programı ile gerçekleştirilmiştir.

İstatistik analizi sonucunda, bitkilerdeki enfeksiyon alan yüzdelerinin gruplamaları transforme veriler üzerinden Tukey çoklu karşılaştırma testine göre yapılmış, ham yüzde değerleri ve standart hataları ayrıca verilmiştir (Tablo 4.21).

Tablo 4.21 A/B/6/2 bakteri izolatının konukçu dizisi testi istatistik analiz sonucu enfeksiyon alan yüzdesi ortalamaları, standart hata değerleri ve Tukey çoklu karşılaştırma testine göre grupları

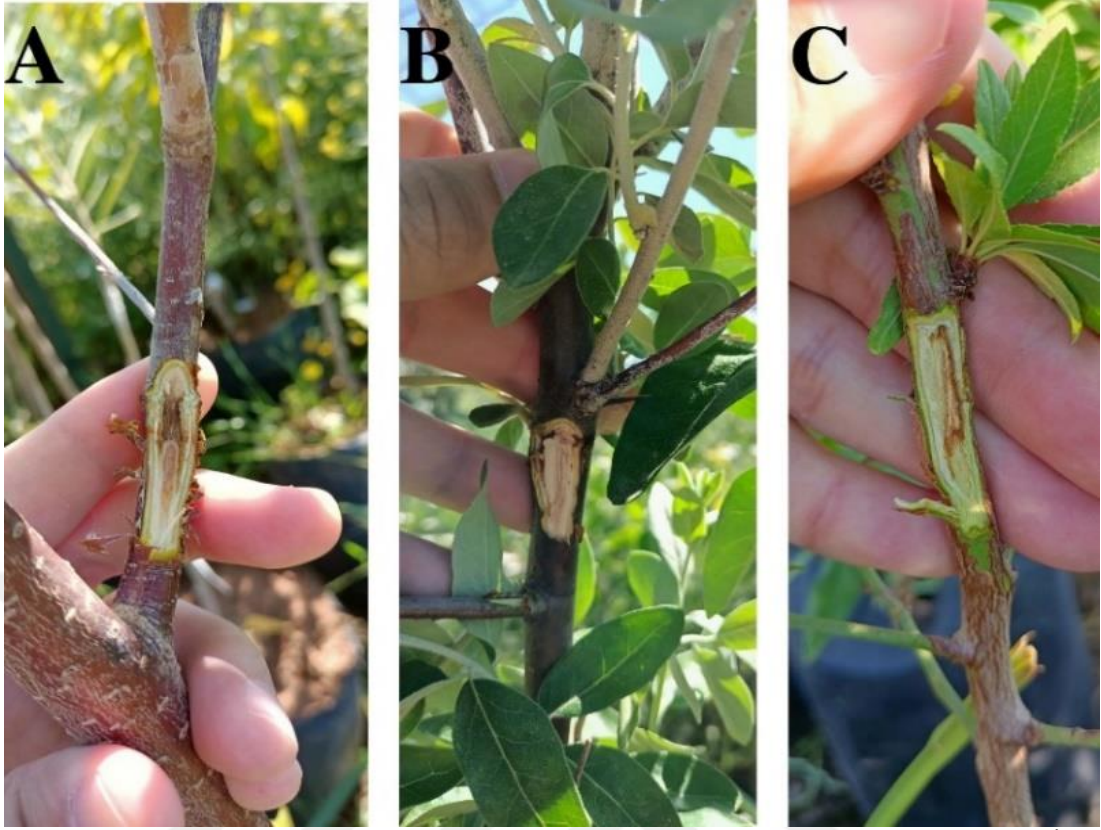
Bitki	Enfeksiyon Alan Yüzde Ortalamaları
Badem	8,6963±1,1333 b
Kayısı	11,8720±2,5131 bc
Kiraz	16,2095±1,9793 bc
Mahlep	12,4692±1,7903bc
İğde	0 a
Erik	15,6408±1,3018 bc
Vişne	15,8543±0,1409 bc
Kızılcık	0 a
Şeftali	17,0416±2,4754 d
Zeytin	15,0496±0,0596 bc

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır (Tukey^{rs} P<0.05)

±’dan sonra ilave edilen sayılar standart hataları

Yüzde ortalamaları ve standart hatalardan sonraki farklı harfler ise Tukey çoklu karşılaştırma test gruplarını ifade etmektedir

Bakteri izolatının (A/B/6/2) konukçu dizisi testi sonucunda; bakterinin iğde ve kıvılcık bitkilerinde hastalık oluşturmadığı tespit edilmiştir. Enfeksiyon alan yüzde değerlerinin hesaplanmasından sonra uygulanan istatistik analizi sonucunda; bahsi geçen bakterinin sert çekirdekli bitkilerdeki hastalık oluşturma değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($F, 18.440, df: 9, P<0.001$) tespit edilmiştir. Bakteri, iğde ve kıvılcık bitkilerinde hastalık oluşturmazken şeftalide en şiddetli belirtiyi meydana getirmiştir. şeftaliden sonra sırasıyla kiraz, vişne, erik, zeytin, mahlep ve kayısı fidanları bakteri tarafından şiddetli şekilde hastalandırılmıştır. Söz konusu bakteri, izole edildiği badem bitkisinde hastalık belirtisi oluşturmuş ancak bu belirtili sayılan diğer sert çekirdekli bitkilerden daha zayıf oluşmuştur. A/B/6/2 izolatı pozitif kontrole göre, badem bitkilerde yaklaşık 2,5 kat daha şiddetli hastalık belirtisi oluşturmuştur (şekil 4.22). Bakterinin zeytin fidanında daha çok kabuk reaksiyonları meydana getirdiği buna karşın, badem ve kayısı bitkilerinde iletim demetine doğru ilerlediği ve özellikle i dokuda geliştiği yapılan testte belirlenmiştir. Yapılan alışma neticesinde bademde hastalık oluşturan bir bakterinin iğde ve kıvılcık hariç 8 farklı sert çekirdekli türde hastalık oluşturabileceği ve bu bitkileri ihtiva eden karışık bahçelerde bitkiden bitkiye yayılabileceği sonucuna varılmıştır. *Stenotrophomonas* cinsi içerisinde yer alan *Stm*'nin; klivya (*Clivia miniata*) yapraklarında, pirinç (*Oryza sativa*) yapraklarında, Liliium zambağının (*Lilium davidii* var. *unicolor*) meyve ve soğanlarında, sarımsak (*Allium sativum*) yumrusunda, muz (*Musa sapientum*) köklerinde ve gölevez (*Colocasia esculenta*) yumrularında patojen olduğuna dair çalışmalarda mevcuttur (Hu ve ark., 2021; Ling ve ark., 2019; Singh ve ark., 2001). Ayrıca *Stm*'nin Çin ginsenginin (*Panax notoginseng* [Burg] F. H: Chen) köklerinde patojen olduğunu belirtir araştırmada vardır (Zheng ve ark., 2022). İran'da Habibi ve Khodaygan (2015) tarafından kayısı, şeftali ve kiraz sert çekirdekli bitkilerinde *Stenotrophomonas* spp'nin patojen olduğuna dair kayıt mevcuttur. Bahsi geçen çalışma ile araştırmamızdaki kayısı, kiraz ve şeftali bitkilerinde yapay inokulasyondaki patojenisite sonucu, paralellik göstermektedir. Ancak alışmamızdaki; doğal koşullarda badem ve mahlepte, yapay inokulasyonda ise erik, vişne ve zeytinde patojen olma tespitine benzer bir çalışmaya incelenen kaynaklarda rastlanmamıştır.



Şekil 4.22 Konukçu dizisi test sonuçları A; Kiraz bitkisindeki lezyon oluşumu (pozitif sonuç), B; İğde bitkisindeki negatif sonuç, C; Pozitif kontrol (*Pss*) bakterinin badem bitkisinde oluşturduğu lezyon

Zeytinden izole edilen ve tekrarlanan havuç testinden yüksek miktarda ur oluşturduğu için seçilen M/D/Z/6 (*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*) izolatının zeytin ve Saygılı ve ark. (2019)’a göre konukçu dizisinde bulunan zakkum bitkilerindeki hastalık yüzdeleri değerlendirilmiştir. Bahsi geçen bakterinin zakkum bitkisinde zeytin bitkisine kıyasla daha şiddetli hastalık oluşturduğu belirlenmiştir.

Zakkumun pembe ve beyaz olarak iki farklı çeşidi çalışmada kullanılmış ve etmenin % 47 gibi yüksek bir enfeksiyon alan yüzdesiyle beyaza kıyasla pembe zakkumda çok daha şiddetli reaksiyon oluşturduğu belirlenmiştir.

4.8 Bakır Sülfat Denemesinin NA Besi Ortamındaki Standardının Belirlenmesi Bulguları

Stenotrophomonas spp. olarak teşhis edilen ve virülensliği yüksek bulunan patojen A/B/6/2 badem izolatının, NA besisi ortamındaki bakır sülfat toleransının belirlenmesi ve standardının oluşturulması amacıyla yinelenen testte; 12 saatlik gözlemler yapılarak bakteri kolonilerinin sayımları yapılmıştır. Yapılan gözlemler neticesinde; 48 saatlik sayımlarda bakterilerin sayılamayacak yoğunluğa ulaştığı, 36 saatlik sayımların en ideal sonuçları verdiği gözlenmiş ve bakır sülfat toleransının

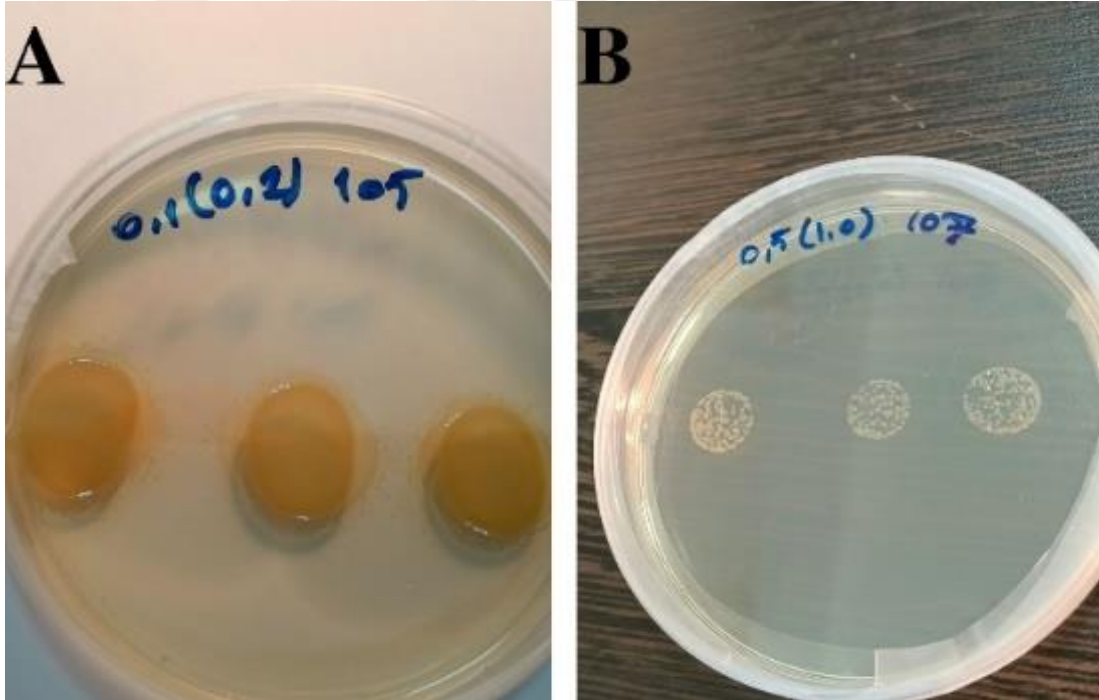
belirlenmesinde 36 saatlik sayım verileri kullanılmıştır (Şekil 4.23). Elde edilen verilerin istatistik analizleri SPSS (Versiyon: 21.0.0.0) programı ile yapılmıştır (Tablo 4.22).

Tablo 4.22 A/B/6/2 bakteri izolatının 10^{-6} seyreltmede ve farklı bakır sülfat konsantrasyonlarındaki koloni sayılarının ortalama, standart hata ve Tukey çoklu karşılaştırma testine göre grupları

Seyreltme Serisi	10^{-6}
Bakır Sülfat konsantrasyonu (mM)	Koloni sayıları (CFU/mL), standart hata ve tukey testi grupları
0	$10,2 \cdot 10^3 \pm 2,3094$ f
0,1	$8,6 \cdot 10^3 \pm 2,3094$ e
0,3	$7 \cdot 10^3 \pm 2,3094$ e
0,5	$6,8 \cdot 10^3 \pm 2,3094$ e
0,6	$5,8 \cdot 10^3 \pm 2,3094$ d
0,7	$4,8 \cdot 10^3 \pm 2,3094$ c
0,8	$2,6 \cdot 10^3 \pm 2,3094$ b
0,9	$0,2 \cdot 10^3 \pm 2,3094$ a
1	0 a
1,5	0 a
2	0 a

* Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiki açıdan birbirinden farklıdır (Tukey^{ns} $P < 0,05$)

Fdoz: 920,653, df: 43, 88, $P < 0,001$



Şekil 4.23 Bakır sülfat tolerans belirleme deneme sonuçları A; İlk bakır sülfat denemesindeki sayılamayacak yoğunluktaki bakteri kolonileri, B; Tekrarlanan ve NA besi ortamında standardın oluşturulması amacıyla yapılan sayılabilecek durumdaki bakteri kolonilerini ihtiva eden 36 saatlik bakır sülfat denemesi

Minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC); bakterilerin üremesini durduran bir kimyasalın en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır (Chikezie, 2017).

A/B/6/2 bakteri izolatının NA besi ortamında bakır sülfat toleransının belirlenmesi ve standart oluşturulması testi sonucunda; 1 mM bakır sülfat konsantrasyonunun MIC değeri olduğu tespit edilmiştir. Bakır sülfatın farklı konsantrasyonlarının (0,1-2,0 mM) bakteri gelişimi üzerine etkisinin istatistiki açıdan önemli olduğu belirlenmiştir (Fdoz, 920,653, df: 43, 88, $P<0,001$). Yapılan gözlemlerde pozitif kontrole (0 mM) kıyasla 0,8 ve 0,9 mM konsantrasyonlarında bakteri koloni çaplarının 0,1-0,3 mm arasında değişen oranlarda çok küçük koloniler olduğu ve gelişimlerinin olumsuz etkilendiği belirlenmiştir. Yapılan istatistik analiz sonucunda Tukey testine göre; seyreltme serilerinde bakteri yoğunluklarıyla paralel olarak en yüksek ortalamanın 10^{-6} seyreltmede ortaya çıktığı ve bunu sırasıyla 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} seyreltme serilerinin izlediği sonucuna ulaşılmıştır. Bakır konsantrasyonlarının istatistik analiz sonucunda Tukey testine göre; 6 farklı grupta dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Sert çekirdeklilerden izole edilen *Pseudomonas* izolatlarının bakır sülfat toleransının belirlendiği bir çalışmada; 0,36 mM ve üzeri konsantrasyonlarda gelişen izolatların bakıra dirençli olarak kabul edildiği bildirilmiştir (Sulikowska ve Sobiczewski, 2008). Mannitol-Glutamat ve Casitone maya ekstraktının besi ortamı olarak kullanıldığı söz konusu çalışmada bakterilerin uygulandığı petrilerin bu çalışmadan farklı olarak 28 °C’de 72 saat inokule edildikten sonra değerlendirildiği bildirilmiştir. Sert çekirdekli bitkilerdeki patojen *Ps* patovaryalarının farklı bakırlı bileşiklere karşı direncinin ve mekanizmasının belirlendiği bir çalışmada mevcuttur (Husseini ve Akköprü, 2020). Söz konusu çalışmada *Ps* patovaryalarının farklı bakır sülfat konsantrasyonlarındaki (0-2,0 mM) MIC değerinin 0,5-1,0 mM arasında değiştiği bildirilmiştir. 24 farklı izolatın değerlendirildiği çalışmada; 8 *Psm* izolatının MIC değerinin 0,5-1,1 mM arasında, 16 *Pss* izolatının MIC değerinin ise 0,77-2,0 mM arasında değiştiği ifade edilmiştir.

4.9 Hastalık ve Yaygınlık Oranı Bulguları

Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde 2019-2021 yıllarında gerçekleştirilen ve şansa bağlı olarak yürütülen sörvey çalışmasında toplam 80 sert çekirdekli meyve bahçesi incelenmiştir. Adıyaman ilinde badem ve zeytin bahçelerinden örnekleme yapılmıştır. Adıyaman il genelinde TÜİK (2021) verilerine göre 106.349 da alanda 3.036.528 badem ve zeytin ağacı yetiştirilmektedir. Bahsi geçen ağaç varlığının 122.430 adetini temsilen, 6.648 ağaçta gözlem yapılmıştır (Tablo 4.23).

Tablo 4.23 Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin il ve ilçelerinde bulunan örnekleme yapılan sert çekirdekli meyve ağacı sayıları ve üretim alanları (TUİK, 2021)

Araştırma İlleri	İlçeler	Örnekleme Yapılan Meyve Türleri	Üretim Yapılan Alan (da)	Toplam Ağaç Sayısı
Adıyaman	Besni	Badem, zeytin	34250	702323
	Kahta	Badem, zeytin	57849	2009615
	Merkez	Badem	14250	324590
	Toplam	Badem, zeytin	106349	3036528
Diyarbakır	Bismil	Badem, erik, kayısı, kiraz, mahlep, şeftali, vişne, zeytin	786	20547
	Çermik	Badem, kayısı, kiraz	1000	43300
	Çınar	Badem	300	16300
	Çüngüş	Badem, kiraz	1270	38100
	Dicle	Badem	917	26600
	Eğil	Badem, erik, kayısı, kiraz	4310	120345
	Ergani	Badem	1500	49000
	Yenişehir	Kayısı, kiraz	200	1340
	Toplam	Badem, erik, kayısı, kiraz, mahlep, şeftali, vişne, zeytin	10283	315532
Mardin	Derik	Zeytin	11661	325200
	Merkez	Badem, erik, kiraz, mahlep, şeftali, zeytin	9369	133078
	Toplam	Badem, erik, kiraz, mahlep, şeftali, zeytin	21030	458278

Diyarbakır ilinde 10.283 da alanda yetiştirilen 315.532 badem, erik, kayısı, kiraz, mahlep, şeftali, vişne ve zeytin ağacından 38.250 ağacı temsilen 2.910 ağaç incelenmiştir. Mardin ilinde ise badem, erik, kiraz, mahlep, şeftali ve zeytin bitkilerini ihtiva eden 21.030 da alandaki 458.278 ağaçtan, 10.660 ağacı temsilen 1.385 sert çekirdekli bitki ağacından örnekleme yapılmıştır (Tablo 4.24).

Tablo 4.24 Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin il ve örnekleme yapılan ilçelerinde bulunan toplam ağaç ile gözlem yapılan bahçe ve ağaç sayıları

Araştırma İlleri	Örnek Alınan İlçeler	Toplam Ağaç Sayısı	Gözlem Yapılan Bahçe Sayısı	Gözlem Yapılan Bahçelerdeki Ağaç Sayısı	Gözlem Yapılan Ağaç Sayısı
Adıyaman	Besni	702323	9	24080	1424
	Kahta	2009615	16	97150	5044
	Merkez	324590	2	1200	180
	Toplam	3036528	27	122430	6648
Diyarbakır	Bismil	20547	3	1390	130
	Çermik	43300	6	9830	690
	Çınar	16300	1	4500	225
	Çüngüş	38100	2	250	80
	Dicle	26600	6	2210	425
	Eğil	120345	6	19100	990
	Ergani	49000	7	870	330
	Yenişehir	1340	1	100	40
	Toplam	315532	32	38250	2910
Mardin	Derik	325200	2	3100	155
	Merkez	133078	19	7560	1230
	Toplam	458278	21	10660	1385

Adıyaman ilinde farklı yönlerden 27 bahçede örnekleme yapılmıştır. Diyarbakır ilinde 8 ilçeden toplam 32 farklı sert çekirdekli meyve bahçesi ziyaret edilmiş ve hastalıklı bitki örnekleri toplanmıştır. Mardin ilinde ise Derik ve Merkez ilçelerinden toplam 21 farklı sert çekirdekli bitki bahçesi incelenmiştir. Hesaplamalarda gözlem yapılan bahçelerden sadece badem ve zeytin bahçeleri değerlendirilmiştir. Badem bahçelerinde kanser belirtisi gözlenenler hastalıklı, gözlenmeyenler ise sağlıklı olarak kaydedilmiştir. İlâveten zeytin bahçelerinde kanser ve ur belirtisi görülenler

hastalıklı, görülmeyen bahçeler ise sağlıklı olarak değerlendirilerek hesaplamalar ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Sörvey çalışmasındaki veriler baz alınarak badem ve zeytin bahçeleri ile örnekleme il ve ilçeleri için hastalık şiddeti, hastalık oranı ve yaygınlık oranı hesapları bölüm 3.2.12’de belirtildiği üzere Bora ve Karaca (1970)’e göre yapılmıştır.

4.9.1 Badem bahçelerindeki kanser belirtisinin hastalık ve yaygınlık oranı bulguları

Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerindeki 54 kapama ve 5 karışık bahçedeki bademlerde gözlenen kanser belirtisine göre hastalık ve yaygınlık oranı hesaplanmıştır. Mardin ilinin bademde % 0,67 ile araştırma illeri içerisinde, en yüksek kanser hastalık oranına sahip il olduğu saptanmıştır.

Üç araştırma ili yaygınlık oranı açısından birlikte değerlendirildiğinde; Mardin illinin % 100 gibi yüksek bir değere sahip olduğu ve bunu sırasıyla % 61,53 ve % 34,782 oranlarıyla Diyarbakır ve Adıyaman illerinin takip ettiği belirlenmiştir. Aynı zamanda Diyarbakır ilinin üç il içerisinde en düşük kanser belirtisi hastalık oranına sahip olduğu saptanmıştır. İlçelerin yaygınlık oranının % 25 ile % 100 arasında değiştiği belirlenmiştir. Hastalık oranı en yüksek ilçelerin; Adıyaman ilinde Besni, Diyarbakır ilinde Bismil ve Mardin ilinde ise merkez ilçenin olduğu tespit edilmiştir. Kanser belirtisi görülen tüm ilçelerde ise Bismil % 2,21’lik hastalık oranıyla ön plana çıkmaktadır. En düşük hastalık oranına sahip ilçenin ise Adıyaman merkezi olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.25).

Tablo 4.25 Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerindeki badem bahçelerinde bulunan kanser belirtisinin il ve ilçelere göre hastalık ve yaygınlık oranları

Araştırma İlleri	Hastalık Oranı (I)	Yaygınlık Oranı (P)	Araştırma İllerinin İlçeleri	Hastalık Oranı (I)	Yaygınlık Oranı (P)
Adıyaman	% 0,309	% 34,782	Besni	% 1,31	% 42,85
			Kahta	% 0,05	% 28,57
			Merkez	% 0,02	% 50
Diyarbakır	% 0,127	% 61,53	Bismil	% 2,21	% 100
			Çermik	% 0,07	% 80
			Çınar	% 0,006	% 100
			Çüngüş	% 0,15	% 50
			Dicle	% 0,07	% 40
			Eğil	% 0,015	% 25
			Ergani	% 0,23	% 71,42
Mardin	% 0,67	% 100	Merkez	% 0,048	% 60

Tekirdağ ilindeki kiraz ağaçlarında, bakteriyel kanser hastalığının (*Pss* ve *Psm*) incelendiği bir çalışmada; 129 enfekteli bitki örneği toplandığı ifade edilmiştir. Hastalık yaygınlığının % 20-57 arasında değişen oranlarda olduğu ve enfekteli

ağaçlardaki hastalık şiddetinin ise % 20-85 arasında olduğu bildirilmiştir (Bülbül ve Mirik, 2014).

Yine Tekirdağ ilinde, kirazlardaki bakteriyel kanser etmenlerinin (*Pss* ve *Psm*) yaygınlığının belirlendiği diğer bir çalışmada; 150 hastalıklı örnek toplanmıştır. Sörvey yapılan tüm bahçelerde bakteriyel kanserin tespit edildiği, diğer çalışmayla benzer şekilde bahçelerdeki hastalık yaygınlığının % 20-57, hastalık şiddetinin ise % 20-85 arasında değiştiği ifade edilmiştir (Mirik ve ark., 2016).

Bu çalışmalara göre bakteriyel kanserin sert çekirdekli bitkilerden olan kirazda oldukça yaygın olarak görülebildiği anlaşılmaktadır. Çalışmamız bademdeki kanser belirtisinin yaygınlık oranının örneklem illerinde % 34,782-100 arasında değişen oranlarda ortaya çıktığını göstermektedir. Buna karşın örneklem illerindeki hastalık oranının % 0.127-0,67 arasında değiştiği belirlenmiştir.

4.9.2 Zeytin bahçelerindeki *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* etmeninin hastalık ve yaygınlık oranı bulguları

Adıyaman ve Mardin illerindeki 8 kapama zeytin bahçesinde gözlenen kanser ve ur belirtisine göre hastalık ve yaygınlık oranı hesaplanmıştır. Diyarbakır ilinde herhangi bir gözlem yapılmamıştır. Yapılan hesaplamalar neticesinde; Mardin ilinin % 33,281'lik hastalık oranı ile Adıyaman iline kıyasla daha yüksek hastalık oranına sahip il olduğu belirlenmiştir. Yaygınlık oranı açısından değerlendirildiğinde; Adıyaman ilinin % 50 yaygınlık oranına sahip olmasına karşın Mardin ilinin % 75 yaygınlık oranına sahip olduğu saptanmıştır. İlçelerin hastalık oranı karşılaştırıldığında; Kahta, Mardin Merkez ve Besni ilçelerinin birbirine yakın olarak sırasıyla % 0,01, % 0,15 ve % 0,2 hastalık oranına sahip olduğu tespit edilmiştir. Ancak TÜİK (2021) verilerine göre; 325.200 ağaç gibi yoğun zeytin yetiştiriciliği yapılan Derik ilçesindeki hastalık oranının % 50,37 olduğu belirlenmiştir. İlçelerin yaygınlık oranının % 50 ile % 100 arasında değiştiği ve Derik ilçesinin hastalık oranında olduğu gibi % 100 yaygınlık oranıyla diğer ilçelere kıyasla *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* etmeninin daha yaygın görüldüğü ilçe olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.26).

Tablo 4.26 Adıyaman ve Mardin illerindeki zeytin bahçelerinde bulunan *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* etmeninin il ve ilçelere göre hastalık ve yaygınlık oranları

Araştırma İlleri	Hastalık Oranı (I)	Yaygınlık Oranı (P)	Araştırma İllerinin İlçeleri	Hastalık Oranı (I)	Yaygınlık Oranı (P)
Adıyaman	% 0,017	% 50	Besni	% 0,02	%50
			Kahta	% 0,01	% 50
Mardin	% 33,281	% 75	Derik	% 50,37	% 100
			Merkez	% 0,15	% 50

Hatay ili zeytin bahçelerinde zeytin dal kanseri (*Psv*) hastalığının yaygınlığının belirlendiği bir çalışmada; hastalığın en yüksek yaygınlık oranı ile (% 90) Samandağ, İskenderun, Arsuz ilçelerinde bulunduğunu Hassa, Kırıkhan, Reyhanlı, ve Kumlu'da ise hastalığın saptanmadığı ifade edilmiştir. Örnekleme yapılan diğer ilçelerde ise hastalığın % 15-50 arasında yaygınlık gösterdiği bildirilmiştir (Doksöz ve Bozkurt, 2020b).

Marmara Bölgesi'ndeki zeytin ağaçlarında *Psv* hastalığının yaygınlığının araştırıldığı diğer bir çalışmada ise; 104 hastalıklı örnekten 208 bakteri izolatının elde edildiği belirtilmiştir. Örnekleme illerinden Çanakkale, Balıkesir, Tekirdağ ve Bursa'da yaygınlık oranının sırasıyla; % 100, % 81, % 66, ve % 4 olduğu ve Yalova ilinde hastalığa rastlanmadığı kaydedilmiştir. Hastalık oranının ise Çanakkale'de % 73, Balıkesir'de % 56, Tekirdağ'da % 30 ve Bursa'da % 0,6 olduğu bildirilmiştir (Mirik ve Aysan, 2011).

Çalışmamızda *Psv*'nin yaygınlık oranının örnekleme illerimizden Adıyaman'da % 50, Mardin'de ise % 75 olduğu saptanmıştır. Etmenin çalışmamızdaki örnekleme illerinde, bahsi geçen çalışmalardakine benzer bir yaygınlık sergilediği, hastalık oranında ise Adıyaman ve Mardin illeri arasında büyük bir farklılık olduğu görülmektedir. Mardin ili hastalık oranı Mirik ve Aysan (2011)'de bildirilen Tekirdağ iline benzer olarak % 33,281 olarak belirlenmiştir. Adıyaman ilinin ise aynı çalışmadaki Bursa iline benzer şekilde bir hastalık oranına (% 0,017) sahip olduğu tespit edilmiştir.

4.10 Genel Tartışma

Sert çekirdekli meyve türleri ekonomik açıdan en önemli ağaçlar arasındadır ve dünya çapında tüm kıtalarda farklı ölçülerde yetiştirilmektedirler (Lamichhane, 2014). Sert çekirdekli bitkiler de tıpkı diğer pek çok bitki türlerinde olduğu gibi bakterilerle çeşitli biçimlerde ilişki içindedirler. Dünyada varlığı bilinen yaklaşık

1.600 bakteri türünün çoğunluğunu saprofitik karaktere sahip ve organik artıkların parçalanmasında büyük rol oynayan bakteriler oluşturmaktadır. Bunların haricinde insan ve hayvanlarda patojen bakterilerin yanı sıra önemli ölçüde fitopatojen bakteri varlığıda mevcuttur (Benlioğlu, 2012; Eğerci ve ark., 2021). Bu kapsamda Güneydoğu Anadolu Bölgesinin sert çekirdekli bitki yetiştiriciliğinde ön plana çıkan illeri olan Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde 2019-2020 yıllarında sörvey çalışması yürütülmüş ve hastalıklı dokulardaki bakteriyel etmenlerin tanımlanması amaçlanmıştır. Sörvey çalışması ile 80 farklı sert çekirdekli meyve bahçesinden 174 adet hastalıklı bitki örneği toplanmıştır.

Bitki bakteri hastalıkları genellikle yaprak ve meyve lekeleri, kanserler, yanıklıklar, solgunluklar, çürümeler ve urlar gibi morfolojik belirtiler ile karakterize edilmektedir (Kannan ve ark., 2015). Sörvey çalışması esnasında çalışma konusunu teşkil eden sert çekirdekli meyve türlerinde gözlenen bakteriyel hastalık belirtilerini özetleyerek hastalık etmenlerinin genel bir profilinin çıkarılması mümkündür.

Bitki patojeni *Pseudomonas*'lardan *Pseudomonas syringae* (*Ps*); tek yıllık ve çok yıllık bitkiler, meyve ağaçları, süs bitkileri ve sebzeler dahil olmak üzere 180'den fazla bitki türünde hastalığa neden olabilmektedir (Agrios, 2005; Little ve ark., 1998). Fitopatojenik *Pseudomonas*'lar çalışmada bitkilerde gözlenen ve örnekleme yapılan hastalık belirtilerine de benzer şekilde; mantar yanıklığı (*P. tolasii*, *P. agarici* patovaları), urlar (*P. savastanoi* patovarı), yumuşak ve kahverengi çürüklük (*P. viridiflava*, *P. marginalis* patovaları), yaprak lekeleri, kanserler, geriye doğru ölüm, çiçek, dal, yaprak veya öz yanıklıkları (*P. syringae* patovaları) dahil olmak üzere farklı semptomlara sahip bitki hastalıklarına neden olmaktadır (Braun-Kiewnick ve Sands, 2001). Sörvey ve örnekleme çalışmalarımızda büyük çoğunluğunu badem oluşturan 80 adet farklı sert çekirdekli meyve bahçesinde diğer hastalık belirtilerine nazaran kanser belirtisinin % 48,75 gibi yüksek bir oranda bulunduğu saptanmıştır. Sert çekirdekli türlerde bakteriyel kanser belirtisine *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (*Pss*), *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* (*Psm*), *avii*, *persicae* ve *viridiflava* gibi farklı *Ps* patovaları neden olabilmektedir (Husseini ve Akköprü, 2020). Kanser belirtisine yalnızca bakteriyel etmenler sebep olmamakta, özellikle şeftalide *Fusicoccum*, *Cytospora* ve *Leucostoma* kanserleri gibi fungal etmenlerde

neden olabilmektedir (Sholberg ve Kappel, 2008). Ancak bu araştırmada; badem ve mahlep bitkilerinden izole edilen HR ve ana konukçu testi pozitif olup re-izolasyonu yapılan toplam 10 adet patojen bakteri izolatının biyokimyasal, MALDI-TOF MS ve 27f/1492r universal primerle 16s rRNA dizi analiz sonuçlarına göre *Stenotrophomonas rhizophila* olduğu teşhis edilmiştir (Tablo 4.27).

Tablo 4.27 Patojen bulunan badem ve mahlep bakteri izolatlarını tanılama çalışmalarında kullanılan biyokimyasal, patojenisite, 16s DNA dizi analizi ve MALDI-TOF MS testlerinin sonuçları

İzolat Kodu	Bitki	A KonP	L	16s rDNA	GR	MALDI TOF	K	Lev	Oks	Pek	Ar	HR	G	A	T	Ta
ÇE.7.Ö	B	+	TY	TY	-	Str	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
D/ÇE/8/4	B	+	-	TY	-	Str	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
M.04/10/1	B	+	+	TY	-	Str	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
A/B/6/2	B	+	+	Str	-	Str	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
A/B/8/1	B	+	+	Str	-	Str	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
D/EG/21/1/1	B	+	TY	TY	-	TY	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
M.04/15/1	M	+	+	Str	-	Str	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
M.04/15/3	M	+	+	TY	-	TY	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
M.04/15/4	M	+	+	TY	-	Str	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
M.04/4/2	M	+	+	TY	-	Str	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-

B; Badem bitkisi, M; Mahlep Bitkisi, AKonP; Ana konukçu patojenisite testi, L; Limon testi, H; Havuç testi, GR; Gram reaksiyonunun belirlenmesi testi, K; Katalaz reaksiyon testi, Lev; Levan oluşum testi, Oks; Kovacs oksidaz testi, Pek; Pektolitik aktivite testi, Ar; Arjinin dihidrolaz testi, HR; Tütünde hipersensitif reaksiyon testi, G; Jelatin hidroliz testi, A; Esculin hidroliz testi, T; Tyrosin kullanım testi, Ta; Tartarik asit kullanım testi, 16s rDNA; 16s rRNA dizi analizi sonucu, Str; *Stenotrophomonas rhizophila*, MALDI-TOF; Matris Destekli Lazer Desorpsiyon İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometre teşhis sonucu +; Pozitif reaksiyon, -; Negatif reaksiyon, TY; Test yapılmadı
İzolat kodlarındaki ifadelerden: D/EG; Diyarbakır Eğil, D/ÇE; Diyarbakır Çermik, M; Mardin, A/B; Adıyaman Besni temsil etmektedir

Ayrıca patojen *Str* izolatlarının elde edildiği bahçe lokasyonlarını gösterir harita Ek 3.A'da sunulmuştur. Yine aynı çalışmamızda hastalıklı örneklerden izole edilip, patojen olmayan 70 izolatın MALDI-TOF teşhisinde de 13 adetle *Str*'nin en fazla tür olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlarımıza göre *Str*'nin patojen ve patojen olmayan varyantlarının var olduğu anlaşılmaktadır.

Patojen *Str* izolatları'nın tamamı, patojen olmayanlara kıyasla tütün bitkisinde pozitif kontrol *Pss* izolatı ile benzer HR pozitif reaksiyon sergilemiştir. Bu bağlamda HR pozitif reaksiyon veren izolatların patojen olma ihtimali yüksektir ve çalışmada ana konukçu bitkilerinde patojenisite testi yapılarak patojen olduklarının kesinleştirilmesi amaçlanmıştır.

HR pozitif olduğu belirlenen *Str* izolatlarının patojen olduğunu kanıtlamak için ana konukçu bitkilerinde reaksiyon oluşturup oluşturmadığı Koch Postülatlarına uygun şekilde test edilmiştir. İzole edildikleri badem ve mahlep konukçu bitkilerine verilen

patojen *Str* izolatlarının tamamı pozitif kültür *Pss* ile benzer şekilde pozitif reaksiyon oluşturmuş ve re-izole edilmişlerdir. Aynı zamanda D/EG/21/1/1 ve Çe.7.Ö. izolatları dışında 4 badem ve 4 mahlep patojen *Str* izolatına pozitif kültür *Pss* izolatıyla birlikte limon meyve testi uygulanmıştır. D/ÇE/8/4 izolatı dışındaki tüm izolatlar limon meyvesinde *Pss* izolatına benzer siyah nektorik lezyon ve bazılarında hafif çöküntü oluşturmuştur. İncelenen diğer kaynaklarda *Str* izolatları için limon testinin kullanıldığı hakkında herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Ancak 10 izolattan 9'unun pozitif reaksiyon vermesi, patojen özellikteki *Str* izolatların ayırımında limon testinin bir ölçüde kullanılabileceğine dair fikir vermiştir. Fakat patojenisitenin belirlenmesinde limon testi yerine ana konukçu patojenisite testi esas alınmıştır.

HR ve ana konukçu testlerinde patojen bulunan *Str* izolatlarına *Pseudomonas* türlerini diğer bitki patojeni türlerden ayırımında standart olarak kullanılan gram reaksiyonu, floresan pigment oluşumu ve LOPAT testleri uygulanmış ve genel test sonuçları Tablo 4.28'de verilmiştir (Gašić ve ark., 2012).

Patojen 10 *Str* izolatının tamamı pozitif kültür *Pss* ile benzer şekilde, gram negatif reaksiyon vermiştir. Araştırmamızdaki patojen *Str* izolatları, pek çok farklı çevrede ve özellikle bitkilerde bulunan diğer *Str* izolatları üzerine yapılan çalışmalardakine benzer şekilde gram negatif özellik göstermiştir (Zaki ve ark., 2014). Ayrıca *Stenotrophomonas* spp. ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda da gram boyama test sonucunun negatif olduğu bildirilmiştir (An ve Tang, 2018; Berg ve ark., 1996; Ribbeck-Busch ve ark., 2005; Swings ve ark., 1983; Zheng ve ark., 2022). Dolayısıyla bakterileri 2 ana taksona ayıran ve tanıda sıklıkla yararlanılan gram boyama test sonuçlarının, kaynaklardaki sonuçlarla örtüştüğü görülmektedir.

King B besi ortamında 5 badem (Çe.7.Ö., A/B/6/2, A/B/8/1, M.04/10/1, D/EG/21/1) ve 4 mahlep (M.04/15/1, M.04/15/3, M.04/15/4, M.04/4/2) izolatı zayıf floresan, sarı pigment oluşturmuş ancak uzun süreli muhafazada floresan özelliklerini yitirdikleri belirlenmiştir. *Stm* üzerine yapılan diğer bir çalışmada da etmenin Lizojen broth (LB) ortamında sarı pigment oluşturduğu kaydedilmiştir. Ancak zayıfta olsa floresan özellikten bahsedilmemiştir.

Patojen *Str* izolatlarının biyokimyasal test sonuçlarında; levan ve HR pozitif, oksidaz, arjinin ve pektolitik aktivite negatif sonuç vermişlerdir. Levan testindeki pozitif sonuç, *Stm* üzerine yapılan diğer bir çalışmadakinden farklılık göstermektedir (Messiha ve ark., 2007). Çalışmada % 5 sakkaroz içeren NA ortamında *Stm* izolatlarının levan oluşturmadığı ifade edilmiştir. Bahsi geçen çalışmadakinin aksine; *Str* olarak tanımlanan ve tamamı levan oluşturduğu belirlenen 10 patojen izolatın test sonucu, aynı cinse ait farklı türlerin biyokimyasal özelliklerinde farklılık olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda patojen bulunan *Str* izolatlarının oksidaz test sonucunun negatif olduğu tespit edilmiş ve bu sonuç *Stm* üzerine yapılan bazı çalışmamalarla benzerlik göstermektedir (Oves ve ark., 2013; Swings ve ark., 1983). Ancak *Stm*'nin oksidaz pozitif olduğuna dair çalışmada mevcuttur (Zheng ve ark., 2022). Yada izolatların çoğunun oksidaz pozitif olduğu ve değişken test sonuçlarının elde edildiği farklı bir çalışmada bulunmaktadır (Palleroni ve Bradbury, 1993). Bu bağlamda Kovacs oksidaz testinde *Stenotrophomonas* türlerinde farklılıklar görülebilmektedir. İncelenen kaynaklarda pektolitik aktivite ile ilgili pek bilgiye rastlanmamıştır. Patojen 10 *Str* izolatıda pektolitik aktivite testinde negatif sonuç vermiştir. Söz konusu patojen izolatların hepsinin arjinin test sonucunun negatif olduğu ve bu sonucun *Stm* ile ilgili farklı bir çalışmadaki sonuçla benzer olduğu saptanmıştır (Messiha ve ark., 2007). Ancak *Stm* üzerine olan ve arjinin dihidrolaz test sonucunun pozitif olduğunu bildirir başka çalışmada mevcuttur (Zheng ve ark., 2022). Bu araştırmalar ışığında; özellikle *Stenotrophomonas* spp. türlerindeki arjinin dihidrolaz test sonucunda farklılıklar olabileceği anlaşılmaktadır.

Pozitif kültür *Pss* ile aynı LOPAT test sonuçlarını veren patojen *Str* izolatlarına genellikle *Ps* patovarlarını ayırt etmede kullanılan GATTa testleri uygulanmıştır (Lelliott ve Stead, 1987; Popović ve ark., 2021). GATTa testlerinin sonucunda izolatlar arasında farklılıklar belirlenmiştir. GATTa testlerinde; İki badem (Çe.7.Ö. ve D/EG/21/1/1) ve 2 mahlep izolatının (M.04/15/1 ve M.04/4/2) pozitif kültür *Pss* ile aynı şekilde jelatin hidrolizi, esculin hidrolizi, tyrosin kullanımı pozitif ve tartarik asit kullanımı negatif sonuç vermişlerdir. Diğer izolatların GATTa testi sonuçları sırasıyla; D/ÇE/8/4 ve M.04/15/4 (++--), M.04/10/1, A/B/6/2, A/B/8/1, M.04/15/3 (-

++-) şeklinde gerçekleşmiştir (Tablo 4.28). GATTa testlerinin kullanıldığı çalışmalarda çoğunlukla sonuçların sırasıyla; (++--) *Pss*, (---) *Psm* ırk 1, (+---) ise *Psm* ırk 2 şeklinde *Ps* patovarylarını ayırt ettiği bildirilmiştir (Kałużna ve ark., 2010). Ancak GATTa test sonuçlarında *Pseudomonas* patovarylarında değişkenlikler olabileceğine dair sonuçlar da mevcuttur (Gormez ve ark., 2013; Ertimurtaş ve Özaktan, 2020).

Jelatin hidroliz testinde; 6 izolat pozitif sonuç verirken 4 izolat ise negatif sonuç vermiştir. Özellikle *Stm* üzerine yapılan diğer çalışmalarda ise etmenin jelatin hidroliz test sonucunun pozitif olduğu bildirilmiştir (Hugh ve Ryschenkow, 1961; Ling ve ark., 2019; Messiha ve ark., 2007; Oves ve ark., 2013). Bu kapsamda *Str* olarak tanımlanan izolatların test sonucundaki farklılık; bahsi geçen testin ayırım yapmada yetersiz olabileceği ancak, *Stm* bakterisinin ayırımında kullanılabileceği şeklinde değerlendirilebilir. Wolf ve ark. (2002) yapmış oldukları çalışmaya göre; esculin test sonucu hem *Str* hemde *Stm* için pozitifdir. Çalışmamızdaki 10 patojen *Str* izolatında esculin test sonucunun pozitif olduğu belirlenmiştir. Bahsi geçen çalışmayla paralellik gösteren bu sonuç; esculin testinin *Str* ve *Stm* için benzer reaksiyon gösterdiğini ifade etmektedir.

Pss ile benzer durum *Str* izolatları içinde söz konusu olabilir ve GATTa testi bu türün izolatlarını ayırt etmede yetersiz olabilir. Diğer taraftan türün patojen ve patojen olmayan varyantlarını da içeren geniş bir izolat çeşitliliğinden dolayı söz konusu testler yetersiz kalabilir. GATTa test sonuçlarındaki değişkenlikler, *Pseudomonas* patovarylarında olduğu gibi güçlü bir ayırım yapmada GATTa testlerinin *Str* izolatları için yetersiz olduğu şeklinde değerlendirilebilir.

Stm başlangıçta *Pseudomonas maltophilia*, daha sonra ise *Xanthomonas maltophilia* olarak tanımlanan *Stenotrophomonas* cinsi içindeki türlerden birisidir (Hugh ve Ryschenkow, 1961). Akabinde Xanthomonadaceae içindeki çoğu tür gibi bitkilerde patojen olmadığından *Stenotrophomonas* olarak yeniden sınıflandırılmıştır (Palleroni ve Bradbury, 1993). *Stm* ana biyotopu toprak ve bitkiler olan çok çeşitli çevresel habitatlarda bulunmasına rağmen, tercihen bitki rizosferine ve özellikle endofitik olarak bitki kök ve gövdesine yerleşmektedir (Berg ve ark., 1996; Germida ve

Siciliano, 2001; Juhnke ve des Jardin, 1989; Krechel ve ark., 2002; Ryan ve ark., 2009; Taghavi ve ark., 2009). Aynı zamanda karmaşık bileşikleri ve kirleticileri parçalamak için biyoremediasyon işleminde kullanılabilmektedir (Binks ve ark., 1995; Oves ve ark., 2013; Ribitsch ve ark., 2012). İlâveten bitki patojenlerini engellemede ve bitki büyümesini ve sağlığını teşvik etmede biyokontrol ajanı olarak kullanımında mevcuttur (Berg ve Ballin, 1994; Messiha ve ark., 2007; Nakayama ve ark., 1999; Schmidt ve ark., 2012). Hücre dışı enzimlerin salgılanması, biyofilm oluşumu, hemoliz ve hareketlilik *Stm*'nin ana özellikleri olarak bildirilmiştir (de Abreu Vidipó ve ark., 2001; Pompilio ve ark., 2010). Farklı çalışmalarla; PhoPQ iki bileşenli sistem, Ax21- ve DSF-çoğunluk algılama sistemleri gibi çeşitli virülans düzenleyicilerin, *Stm*'deki virülanslıkla ilişkili süreçlere aracılık ettiği tespit edilmiştir (An ve Berg, 2018; An ve Tang, 2018; Ryan ve ark., 2015). Söz konusu bakterinin bitkide patojen olma durumuyla ilgilide çalışmalar bulunmaktadır. *Stm*'nin Hindistan ve Pakistan'daki pirinçlerde (*Oryza sativa*) beyaz leke hastalığına neden olduğuna dair kayıtlar mevcuttur (Riaz ve ark., 2016; Singh ve ark., 2001). Diğer bir çalışmada ise Çin'de Lanzhou zambağı (*Lilium davidii* var. *unicolor*) bitkisinin meyvelerinde yumuşak çürüklüğe neden olduğu bildirilmiştir (Ling ve ark., 2019). Bunlardan başka daha önce Bölüm 4.8'de (Konukçu Dizisi Testi Bulguları) ifade edildiği gibi *Stm*'nin; klivya (*Clivia miniata*) yapraklarında, sarımsak (*Allium sativum*) yumrusunda, muz (*Musa sapientum*) köklerinde ve gölevez (*Colocasia esculenta*) yumrularında patojen olduğuna dair çalışmada mevcuttur (Hu ve ark., 2021). Ayrıca *Stm*'nin Çin ginsenginin (*Panax notoginseng* [Burg] F. H: Chen) köklerinde patojen olduğunu belirtir araştırmada vardır (Zheng ve ark., 2022).

Wolf ve ark. (2002) tarafından *Stenotrophomonas* cinsi içerisinde yer alıp patojen olmayan ve bitki ile ilişkili habitatlarda bulunabilen, yeni bir bakteri olarak *Stenotrophomonas rhizophila* türü tanımlanmıştır. Başka bir çalışmada *Stenotrophomonas* türlerinin bitkilerde patojen olup olmadığının henüz bilinmediği kaydedilmiştir (Ryan ve ark., 2009). Buna karşın Pinski ve ark. (2020) çalışmalarında, *Str* hakkındaki bilginin henüz kısıtlı olduğunu vurgulanmışlardır. Ayrıca *Stenotrophomonas*'ı bitkilerde fırsatçı patojen olarak niteleyen çalışmalar da mevcuttur (Ribbeck-Busch ve ark., 2005). İlâveten Alimi ve Darzi (2012) tarafından, İran'ın Kuzeyinde turunçgil yanıklığı etmeni olarak buz çekirdeği aktivitesi pozitif

Str ve *Stm* izolatlarının tespit edildiği bildirilmiştir. Bu bilgiler ışığında *Stenotrophomonas* cinsi içerisindeki özellikle *Str* ve *Stm* bakterilerinin bitki patojeni olma ihtimallerinin güçlü olduğu anlaşılmaktadır.

İran’da Habibi ve Khodaygan (2015) tarafından kayısı, şeftali ve kiraz sert çekirdekli bitkileri üzerine yapılmış bir çalışma araştırmamızdaki bulguları doğrular niteliktedir. Çalışmada bahsi geçen bitkilerdeki *Pss* ve *Xap* bakterilerinin neden olduğu belirtilere benzer yaprak lekesi, geriye doğru ölüm ve kanser belirtilerinden izolasyon yapıldığı ve elde edilen izolatların biyokimyasal ve moleküler özelliklerine göre tanılandığı kaydedilmiştir. Teşhis sonucunda; gram reaksiyon, levan oluşumu, oksidaz, arjinin dihidrolaz negatif, tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu pozitif olan ve *Pss* veya *Xap* olmayan bakteri izolatları elde edildiği belirtilmiştir. HR pozitif izolatların konukçu yapraklarına verilerek yapılan patojenisite testinde, arazideki belirtilere benzer yaprak lekeleri oluşturdukları ve buz çekirdeği aktivitelerinin pozitif olduğu ifade edilmiştir. Yapılan 16s rDNA analizi sonucunda izolatların % 99 benzerlik oranı ile *Stenotrophomonas* olarak tanılandığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar çalışmanın *Stenotrophomonas* türlerinin kayısı, kiraz ve şeftali bitkilerinde kanser ve yaprak lekesi hastalığına neden olduğuna dair ilk rapor olduğunu bildirmişlerdir. Söz konusu çalışma, araştırmamızdaki sonuçları destekler niteliktedir. Zira çalışmamızda 10 patojen *Str* izolatı çoğunlukla sert çekirdekli bitkilerdeki kanserli dokulardan izole edilmiştir. Her iki çalışmada da, levan testi dışında yapılan diğer biyokimyasal testler ise paralellik göstermektedir. Bu bağlamda araştırmamızda; *Stenotrophomonas* spp.’nin sert çekirdekli bitkilerde patojen olma ihtimalinin mevcut olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca araştırmamızda etmenin doğal konukçusu olduğu badem ve mahlep bitkilerine ilaveten, yapay inokulasyonlarla konukçu dizisi belirlenerek hangi sert çekirdekli bitkilerde ne ölçülerde hastalık oluşturduğu kaydedilmiştir.

Araştırmamızda, patojen *Str* izolatlarının haricinde badem bitkisinde HR, ana konukçu ve gram reaksiyonu pozitif olan 7 adet bakteri izolatı daha elde edilmiştir. Ana konukçu testinde pozitif kültür, *Pss* izolatından daha zayıf pozitif reaksiyon oluşturan bu izolatlar MALDI TOF MS analizi sonucunda *Bacillus* spp. olarak teşhis edilmişlerdir. Konukçu bitkide oluşturdukları zayıf pozitif reaksiyona rağmen söz

konusu izolatlar yine de *Pseudomonas syringae* patovarylarını ayırt etmede kullanılan LOPAT ve GATTa testlerine tabi tutulmuştur. HR, limon ve ana konukçu testleri pozitif olan bu izolatların biyokimyasal özellikleri değerlendirildiğinde; gram reaksiyon, katalaz, esculin hidroliz testleri pozitif, floresan pigment oluşumu, oksidaz, arjinin dihidrolaz, tyrosin ve tartarik asit kullanımı negatif, levan, pektolitik aktivite, jelatin hidroliz özelliklerinin ise tutarsız olduğu tespit edilmiştir. MALDI-TOF MS analizi ile 5 izolatın *Bacillus pumilus*, 1 izolatın *Bacillus majovensis* ve 1 izolatın *Bacillus altitudinis* olarak tanımlandığı izolatların; ana konukçudaki reaksiyonları değerlendirildiğinde patojen *Str* izolatlarına kıyasla çok daha zayıf pozitif reaksiyon vermişlerdir. *Bacillus pumilus* ve *Bacillus altitudinis* başta olmak üzere bazı *Bacillus* türlerinin; sarıçam [iğne, odun doku, kabuk], mango [yaprak, dal], zencefil [rizom], kayısı [yaprak, meyve], patates [yumru], armut [yaprak, meyve], elma [yaprak, meyve] ve nar [çekirdek] gibi pek çok farklı bitkide patojen olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (Bathily ve ark., 2010; Elbanna ve ark., 2014; Galal ve ark., 2006; Kovaleva ve ark., 2015; Lemjiber ve ark., 2021; Liu ve ark., 2021; Peng ve ark., 2013). Bu hususta gram pozitif *Clavibacter* sp., *Streptomyces* sp. gibi bitki patojeni bakterilerin yanı sıra *Xanthomonas* spp., *Ps* patovaryları, *Erwinia* spp., *Ralstonia* spp. ve *Rhizobium* gibi, diğer pek çok gram negatif bakterilerde vardır (JensBoch, 2001). Gram pozitif bakteriyel patojenler; hücre içi ve hücreler arası çoğalmaya izin vermek için fitotoksinlerin üretimi, hastalık için ur dokuları oluşturmada sitokininin üretimi, kanserleri tetiklemek için proteinlerin salgılanması, kullanımı ve yapısını değiştirmek dahil olmak üzere bitki konukçularını enfekte etmek için çeşitli saldırganlık stratejileri kullanırlar (Hogenhout ve Loria, 2008). Ancak çalışmamızda patojenisite testinde oluşturdukları zayıf pozitif reaksiyon sebebiyle gram pozitif 7 badem izolatından ziyade 10 *Str* izolatu bakteriyel hastalıklara neden olan patojenler olarak değerlendirilmiştir.

Zeytin bahçelerinde ise sürgünlerde yeşilden-koyu kahverengi arasında değişen renklerde farklı boyutlarda urlar tespit edilmiş ve urların yoğun olarak bulunduğu sürgünlerde kanser belirtileri gözlenmiştir. Zeytin dal kanseri etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (*Psv*) üzerine yapılan çalışmalarda; araştırmada tespit edilen urların yapısına benzer şekilde; patojenin genel olarak gövde ve dallarda, ilk dönemlerinde yeşil renkli üzeri pürüzlü ve yumuşak olan daha sonra ise pürüzlü ve

odunsu bir yapı kazanarak koyu kahverengiden siyaha kadar değişen renklerde urlar oluşturduğu belirlenmiştir (Doksöz ve Bozkurt, 2020b; Mirik ve ark., 2019). Yapılan LOPAT testinde sırasıyla; 2 adet (----+), 2 adette (+---+) şeklinde sonuç veren izolat elde edilmiştir (Tablo 4.28).

Tablo 4.28 Zeytin izolatlarını tanılama çalışmalarında kullanılan biyokimyasal, patojenisite ve PCR testlerinin sonuçları

İzolat Kodu	Bitki	AKonP	PCR	H	GR	Flo	K	Lev	Oks	Pek	Ar	HR	G	A	T	Ta
M/D/Z/6	Z	+	<i>Psv</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
M/D/Z/8	Z	TY	<i>Psv</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-
M/D/Z/B3	Z	TY	<i>Psv</i>	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
M/D/Z/B5	Z	TY	<i>Psv</i>	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-

Z; Zeytin bitkisi, AKonP; Ana konukçu patojenisite testi, H; Havuç testi, GR; Gram reaksiyonunun belirlenmesi testi, Flo; Floresan pigment oluşum testi, K; Katalaz reaksiyon testi, Lev; Levan oluşum testi, Oks; Kovacs oksidaz testi, Pek; Pektolitik aktivite testi, Ar; Arjinin dihidrolaz testi, HR; Tütünde hipersensitif reaksiyon testi, G; Jelatin hidroliz testi, A; Esculin hidroliz testi, T; Tyrosin kullanım testi, Ta; Tartarik asit kullanım testi, PCR; IAALF-IAALR spesifik primerleri ile PCR analizi test sonucu, *Psv*; *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, +; Pozitif reaksiyon, -; Negatif reaksiyon, TY; Test yapılmadı

İzolat kodlarındaki ifadelerden: M; Mardin, D; Derik, Z; Zeytin, B; Beyaza yakın koloni rengini temsil etmektedir

Zeytin izolatlarının hepsi havuç disklerinde tipik ur belirtisi oluşturmuştur. *Psv* ile ilgili diğer çalışmalarda da patojenin LOPAT testinde sırasıyla; (----+) şeklinde sonuç verdiği bildirilmiştir (Bultreys ve Kaluzna, 2010; González ve ark., 2003; Lelliott ve ark., 1966). Ancak Sisto ve ark. (2007) yapmış oldukları çalışmada İtalya'dan izole edilen *Psv* izolatlarının levan pozitif karakterde olduklarını kaydetmişlerdir. Dolayısıyla levan testinde coğrafik dağılıma göre farklılar olabilmektedir. Dört zeytin izolatından 2 izolat (M/D/Z/B3 ve M/D/Z/B5) zayıf floresan özellik gösterirken 2 izolat ise (M/D/Z/6 ve M/D/Z/8) floresan özellik göstermemiştir. Mirik ve Aysan (2011) yapmış oldukları çalışmada; tanıladıkları *Psv* izolatlarının floresan özelliklerinin zayıf pozitif olduğunu, referans *Psv* izolatının ise (CFPB 1672) pozitif floresan özellik verdiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda Doksöz ve Bozkurt (2020b), yapmış oldukları çalışmada; zeytinden izole edilen 14 *Psv* izolatından 8 tanesinin floresan pigment ürettiğini, 6 tanesinin üretmediğini kaydetmişlerdir. Bu bağlamda floresan pigment oluşturmada, *Psv* izolatları arasında çalışmamızdakine benzer şekilde farklılıklar olabilmektedir. Çalışmada izole edilen 4 zeytin izolatı; biyokimyasal test sonuçları, havuç disklerindeki tipik ur belirtileri ve IAALF-IAALR spesifik primerleri ile yapılan PCR analizine göre *Psv* olarak tanılanmıştır.

Patojen 10 *Str* izolatı içerisinde ana konukçu patojenisite testinde en şiddetli belirtiyi oluşturan A/B/6/2 izolatı, patojen *Str*'lerin konukçu dizisinin ve bakır sülfat direncinin belirlenmesi amacıyla seçilmiştir. Bahsi geçen izolatın bakır sülfatın farklı konsantrasyonlarındaki MIC değerinin 1 mM olduğu tespit edilmiştir. Araştırmamızdaki konukçu dizisi testi sonucunda; *Str* bakterisinin badem, erik, kayısı, kiraz, mahlep, şeftali, vişne ve zeytin bitkilerinde patojen olabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Yine konukçu dizisi testinde en şiddetli reaksiyonun şeftali bitkisinde ortaya çıktığı belirlenmiştir. İğde ve kıvılcık bitkilerinin ise patojen *Str* izolatları tarafından enfekte edilmediği dolayısıyla konukçusu olmadığı saptanmıştır. Aynı zamanda çalışma kapsamında patojen *Str* izolatlarının sert çekirdekli bitkilerde kanser ve zamk belirtisine sebep olabileceği belirlenmiştir. Araştırma illerinde badem ve mahlepteki kanser belirtisinin yaygınlık oranının % 34,782-% 100 arasında olduğu tespit edilmiştir. İlâveten bahsi geçen illerdeki kanser belirtisi hastalık oranının % 0,127-0,67 arasında değiştiği saptanmıştır. Patojen olmayan izolatların MALDI-TOF MS ile analizi ile sert çekirdekli bitkilerde en yaygın bulunan saprofitik bakterinin yine *Str* olduğu tespit edilmiş ve bu durum aynı etmenin patojen ve saprofit karaktere sahip izolatlarının aynı konukçu bitkide bulunabildiği şeklinde değerlendirilmiştir.

Bakır sülfat direncinin tespiti amacıyla yapılan denemede patojen *Str* izolatının MIC değerinin 1,0 mM olduğu saptanmıştır. *Pss*'nin bakır toleransının belirlenmesi üzerine İtalya'da yapılan benzer bir çalışmada; bakıra hassas *Pss* izolatının belirlenmediği, bazı *Pss* izolatlarının düşük bakır sülfat konsantrasyonlarına hassas olduğu (1,0-1,6 mM) ancak çoğunluğunun 1,8-3,2 gibi yüksek konsantrasyonlara karşı hassas olduğunu dolayısıyla *Pss* bakterisinde bakır direncinin geliştiğini ifade etmişlerdir (Aiello ve ark., 2015). Diğer bir çalışmada *Pss* izolatlarının bakır sülfata karşı MIC değerinin 0,4-1,8 mM arasında değiştiği bildirilmiştir (Gutiérrez-Barranquero ve ark., 2013). Badem, kiraz ve şeftali sert çekirdekli bitkilerinden izole edilen *Pss* izolatlarını da içeren diğer bir çalışmadaki bakır sülfat testinde MIC değerlerinin söz konusu *Pss* izolatlarında 0,5-2,0 mM arasında değiştiği tespit edilmiştir (Eğerci ve ark., 2021). Dolayısıyla MIC değeri 1,0 mM olarak bulunan patojen *Str* izolatı sert çekirdekli bitkilerde bakteriyel kanser ve zamklanma hastalığına neden olan *Pss* bakterisine benzer şekilde bir bakır toleransına sahiptir ve

Çalışmalardan anlaşıldığı üzere bakıra tolerans düzeyi aynı türün farklı izolatlarında dahi oldukça değişkenlik gösterebilmektedir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışması neticesinde elde edilen sonuçların genel bir değerlendirilmesi yapıldığında;

Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde 2019-2021 yıllarında yürütülen sörveyler ile çalışma konusunu teşkil eden sert çekirdekli bitkilerde; kloroz, nekroz, bakteriyel akıntı, kanser, yaprak lekesi, bitki organlarının atılması (çiçek ve tomurcuk dökümü), doku anormallikleri (ur) gibi bakteriyel hastalık belirtileri gözlenmiştir. Badem ve mahlep hastalıklı örneklerinden elde edilen ve patojen bulunan 10 izolat; uygulanan biyokimyasal, MALDI-TOF MS ve 16s rRNA dizi analizleri ile *Stenotrophomonas* spp. olarak tanılanmıştır.

Patojen bulunan *Stenotrophomonas* spp.'nin konukçu dizisini belirlemek için çalışmalar yapılmıştır. *Stenotrophomonas* spp.'nin; iğde ve kıvılcıkta hastalık oluşturmadağı buna karşın badem, erik, kayısı, kiraz, mahlep, şeftali, vişne ve zeytin bitkilerinde ise hastalık oluşturduğı, dolayısıyla bu bitkilerin etmenin yapay inokulasyon denemelerinde konukçusu olduğı belirlenmiştir. En şiddetli hastalık belirtisini şeftalide oluşturan *Stenotrophomonas* spp.'nin, izole edildiğı badem bitkisinde biraz daha az olmak kaydıyla erik, kayısı, kiraz, mahlep, vişne ve zeytin bitkilerinde benzer oranda enfeksiyon oluşturduğı saptanmıştır.

Bakteriyel hastalık etmenleriyle mücadelede örnekleme illerinde yaygın olarak kullanılan bakır sülfata karşı *Stenotrophomonas* spp.'nin tolerans düzeyinin ve nutrient agar besi ortamında standardının belirlenmesi amacıyla çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışma neticesinde; 1 mM bakır sülfat konsantrasyonunun, bahsi geçen bakterinin MIC değeri olduğı tespit edilmiştir. Ayrıca *St* spp. izolatına karşı ancak 0,9 mM üzerindeki yüksek bakır sülfat konsantrasyonlarının etkili olduğı belirlenmiştir.

Özellikle örnekleme illerinden Mardin'de geniş ölçekte yetiştirilen zeytin bitkisinden elde edilen izolatlara yapılan biyokimyasal, patojenisite testleri ve spesifik primerlerle (IAALF-IAALR) dizi analizi neticesinde; zeytin dal kanseri etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin varlığı saptanmıştır. Ayrıca konukçu

dizisi testinde zeytin bitkisinin yanı sıra pembe ve beyaz zakkum bitkileri de *Pseudomonas savastanoi pv. savastanoi* ile testlenmiştir. Çalışma sonucunda; zeytin bitkisine kıyasla zakkumda ve özellikle pembe zakkumda en şiddetli reaksiyonun görüldüğü tespit edilmiştir.

Çalışmada ayrıca Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin'deki badem bitkilerinde görülen kanser belirtisinin yaygınlık ve hastalık oranı belirlenmiştir. Kanser belirtisinin yaygınlığının % 34,782-100 arasında değiştiği, hastalık oranının ise % 0,127-0,67 aralığında seyrettiği saptanmıştır. İlaveten Adıyaman ve Mardin illerindeki zeytin bahçelerinde görülen zeytin dal kanserinin (*Psv*) yaygınlık ve hastalık oranı hesaplanmıştır. *Psv*'nin yaygınlığının % 50-75 aralığında değiştiği ve Adıyaman ilindeki hastalık oranını % 0,017 iken, Mardin ilinde Adıyaman iline kıyasla % 33,281 gibi yüksek bir oranda olduğu tespit edilmiştir.

Sert çekirdekli bitkilerdeki patojen olmayan bakteriler MALDI-TOF MS analizi ile teşhis edilmiştir. Çalışma sonucunda; sert çekirdekli bitkilerdeki en yaygın saprofit bakterinin de *Str* olduğu dolayısıyla aynı etmenin hem saprofit hem de patojen karakterdeki varyantlarının konukçu bitkide bulunabileceği tespit edilmiştir.

Araştırmada; Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde sert çekirdekli meyve türlerinde patojen olabildiği belirlenen *Stenotrophomonas spp.*'nin, aynı zamanda kanser ve zamk belirtileri oluşturabildiği tespit edilmiştir. Ancak söz konusu sonuç; virülenslik özelliklerinin belirlenmesi, tüm genom yapısının ortaya konulması gibi güven aralığı daha geniş ilave çalışmalarla pekiştirilerek teyite muhtaçtır.

KAYNAKLAR

- Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology, Fifth Edition. Elsevier Academic Press, University of Florida. 922 p.
- Aiello, D., Ferrante, P., Vitale, A., Polizzi, G., Scortichini, M., Cirvilleri, G. (2015). Characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* isolated from mango in Sicily and occurrence of copper-resistant strains. Journal of Plant Pathology, 97(2), 273-282.
- Akbaba, M., Özaktan, H. (2021a). Evaluation of bacteriophages in the biocontrol of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* isolated from cankers on sweet cherry (*Prunus avium* L.) in Turkey. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 31(1), 1-11.
- Akbaba, M., Özaktan, H. (2021b). Kirazda *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin biyolojik kontrolünde yararlı bakterilerin kullanımı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 52(2), 176-189.
- Akköprü, A. (2016). Determination of bacterial disease on stone fruits grown in Lake Van Basin, East Anatolia of Turkey. Acta Horticulturae, 1149, 15-20.
- Aktan, Z. C., Soylu, S. (2020). Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarından endofit ve epifit bakteri türlerinin izolasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının karakterizasyonu. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 23(3), 641-654.
- Alimi, M., Darzi M. T. (2012). "First detection of species *Stenotrophomonas maltophilia*, *S. rhizophila*, and *Alcaligenes faecalis* associated with citrus blast in Iran", APS Annual Meeting Abstracts of Presentations (102:S4.3). İran.
- Amanifar, N., Taghavi, M., Izadpanah, K., Babaei, G. (2014). Isolation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa* from grapevine and almond in Iran. Phytopathologia Mediterranea, 53(2): 318-327.
- An, S. Q., Berg, G. (2018). *Stenotrophomonas maltophilia*. Trends in microbiology, 26(7), 637-638.
- An, S. Q., Tang, J. L. (2018). Diffusible signal factor signaling regulates multiple functions in the opportunistic pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. BMC research notes, 11(1), 1-6.
- Başkaya, Z. (2011). Türkiye'de kiraz tarımının coğrafi esasları. Eastern Geographical Review, 16(26), 45-72.
- Bathily, H., Babana, A. H., Samaké, F. (2010). *Bacillus pumilus*, a new pathogen on potato tubers in storage in Mali. African Journal of Microbiology Research, 4(20), 2067-2071.
- Benlioğlu, K. (2012). Bitki patojeni bakteriler. Bitki Koruma Ders Notları, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 1-13.
- Berg, G., Ballin, G. (1994). Bacterial antagonists to *Verticillium dahliae* Kleb. Journal of Phytopathology, 141(1), 99-110.

- Berg, G., Marten, P., Ballin, G. (1996). *Stenotrophomonas maltophilia* in the rhizosphere of oilseed rape-occurrence, characterization and interaction with phytopathogenic fungi. Microbiological Research, 151(1), 19-27.
- Binks, P. R., Nicklin, S., Bruce, N. C. (1995). Degradation of hexahydro-1, 3, 5-trinitro-1, 3, 5-triazine (RDX) by *Stenotrophomonas maltophilia* PB1. Applied and environmental microbiology, 61(4), 1318-1322.
- Bolat, İ., Pırlak, L. (1998). Erzurum koşullarında yetiştirilen Kütahya vişne çeşidine bazı biyolojik özelliklerinin ve meyve gelişiminin incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 29(1), 1-11.
- Bora, T., Karaca, İ. (1970). Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi. Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No: 167, Ege Üniversitesi Matbaası. Bornova-İzmir, 43 s.
- Boudon, S., Manceau, C., Nottéghem, J. L. (2005). Structure and origin of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* populations causing bacterial spot of stone fruit trees in Western Europe. Phytopathology, 95(9), 1081-1088.
- Bozkurt, İ. A., Soylu, S., Kara, M., Doksöz, S. F., Altan, B., Çarpar, H. (2022). Molecular characterization of stem gall disease caused by *Agrobacterium tumefaciens* (= *Agrobacterium* biovar 1) on citrus trees as a new host, in the Eastern Mediterranean region of Turkey. Journal of Plant Diseases and Protection, 1-9.
- Brady, C. J. (1993). Stone fruit. In: Seymour, G. B., Taylor, J. E., Tucker, G. A. (eds) Biochemistry of Fruit Ripening. Springer, Dordrecht. Pp. 379-404. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1584-1_13
- Braun-Kiewnick, A., Sands, D. C. (2001). *Pseudomonas*. In: Schaad, N. W., Jones, J. B., Chun, W. (eds) Laboratory Guide for identification of plant pathogenic bacteria. Third Edition. St. Paul, Minnesota, USA, pp. 84 – 120.
- Bremer, H. (1954). Türkiye Fitopatolojisi. Zirai Vekalet ve Haberleşme Müdürlüğü. Ankara. S. 295.
- Bultreys, A., Kaluzna, M. (2010). Bacterial cankers caused *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(Ek 1): 21-33.
- Bülbül, M., Mirik, M. (2014). Prevalence, isolation and identification of bacterial canker pathogens on sweet cherry trees in Tekirdağ. The Journal of Turkish Phytopathology, 43(1-2-3), 15-24.
- Cassagne, C., Normand, A. C., L'Ollivier, C., Ranque, S., Piarroux, R. (2016). Performance of MALDI-TOF MS platforms for fungal identification. Mycoses, 59(11), 678-690.
- Chikezie, I. O. (2017). Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) using a novel dilution tube method. African journal of microbiology research, 11(23), 977-980.
- Çaglayan, K., Gazel, M., Serçe, Ç. U., Bozkurt, İ. A., Elçi, E. (2011). Phytoplasma diseases of stone fruit trees in Turkey and their containment. Phytopathogenic Mollicutes, 1(2), 95-97.

- Çetinkaya Yıldız, R., Horuz, S., Karataş, A., Aysan, Y. (2015). Identification and disease incidence of bacterial canker on stone fruits in the Eastern Mediterranean Region, Turkey. In II International Workshop on Bacterial Diseases of Stone Fruits and Nuts 1149, April, (pp. 21-24).
- Çınar, Ö. (1990). Bakteriyoloji. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 69, Adana. S. 5-184.
- Das, B., Ahmed, N., Singh, P. (2011). Prunus diversity-early and present development: A review. Int J Biodivers Conserv, 3(14), 721-734.
- de Abreu Vidipó, L., de Andrade Marques, E., Puchelle, E., Plotkowski, M. C. (2001). *Stenotrophomonas maltophilia* interaction with human epithelial respiratory cells in vitro. Microbiology and immunology, 45(8), 563-569.
- Derakhshan, E., Baghaee-Ravari, S., Moghadam, E. M. (2016). Molecular detection and genetic diversity evaluation of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* from stone fruit in Khorasan Razavi. 22. Iranian Plant Protection Congress, 27-30 August. College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
- Dillon, M. M., Ruiz-Bedoya, T., Bundalovic-Torma, C., Guttman, K. M., Kwak, H., Middleton, M. A., Wang, P. W., Horuz, S., Aysan, Y., Guttman, D. S. (2021). Comparative genomic insights into the epidemiology and virulence of plant pathogenic pseudomonads from Turkey. Microbial genomics, 7(7).
- Doksöz, S. F., Bozkurt, İ. A. (2020a). A new and simple pathogenicity test using carrot slices for *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, causal disease agent of olive knot. Journal of Plant Pathology, 102: 1173-1177.
- Doksöz, S. F., Bozkurt, İ. A. (2020b). Hatay ili zeytin üretim alanlarında zeytin dal kanseri (*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*) hastalığının belirlenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 7(1), 96-103.
- Donmez, M. F., Karlidag, H., Esitken, A. (2010). Identification of resistance to bacterial canker (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) disease on apricot genotypes grown in Turkey. European Journal of Plant Pathology, 126: 241-247.
- Dunez, J., (1990). Virus and MLO diseases in stone fruit trees. IAM Bari Italy.
- Duru, S., Hayran, S., Gül, A. (2022). Türkiye’de sert çekirdekli meyvelerin üretimi ve ihracatta rekabet gücünün değerlendirilmesi. Bahçe, 51(1), 29-36.
- Eğerci, K., Özaktan, N. H., Eğerci, Y. (2021). Bazı bitki patojeni ve saprofit bakterilerin bakırlı bileşiklere karşı duyarlılık düzeylerinin araştırılması. The Journal of Turkish Phytopathology, 50(1), 1-7.
- Eichmeier, A., Kiss, T., Necas, T., Penazova, E., Tekielska, D., Bohunicka, M., Valentova, L., Cmejla, R., Morais, D., Baldrian, P. (2019). High-Throughput sequencing analysis of the bacterial community in stone fruit phloem tissues infected by “*Candidatus* Phytoplasma prunorum”. Microbial ecology, 77(3), 664-675.
- Elbanna, K., Elnaggar, S., Bakeer, A. (2014). Characterization of *Bacillus altitudinis* as a New Causative Agent of Bacterial Soft Rot. Journal of Phytopathology, 162(11-12), 712-722.

- Engin, H., Akçal, A. (2013). Kiraz yetiştiriciliği. Kiraz ağaçlarındaki anormallikler ve yetiştirme aşamasında alınması gereken önlemler (Bölüm 6). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Çanakkale, 97-104.
- Ercisli, S. (2004). A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. Genetic Resources and Crop Evolution, 51(4), 419-435.
- Ercisli, S. (2009). Apricot culture in Turkey. Sci. Res. Essays, 4(8), 715-719.
- Eroğlu, Z. Ö., Mısırlı, A. (2012). Şeftali ıslahı ve gelişimi. Bahçe, 41(2), 37-46.
- Eroğul, D., Hepaksoy, S. (2013). Bazı İdris (*Prunus mahaleb* L.) genotiplerinin fenolojik ve pomolojik özellikleri üzerine araştırmalar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 50(3), 261-266.
- Ertimurtaş, D., Özaktan, H. (2020). Sert çekirdeklielerde bakteriyel kansere neden olan *Pseudomonas syringae* pathovarlarının klasik ve moleküler yöntemlerle tanısı. The Journal of Turkish Phytopathology, 49(3), 55-61.
- Fahy, P. C., Persley, G. J., (1983). Plant Bacterial Diseases, A Diagnostic Guide. Academic Press Australia. Sydney. S. 5-358.
- FAO. (2020). Crops and livestock products. <https://bit.ly/3OD0Bpt>. (Erişim Tarihi: 25 Mart 2022)
- Galal, A. A., El-Bana, A. A., Janse, J. (2006). *Bacillus pumilus*, a new pathogen on mango plants. Egypt J Phytopathol, 34(1), 17-29.
- Gao, J., Wang, Y., Wang, C. W., Lu, B. H. (2014). First report of bacterial root rot of ginseng caused by *Pseudomonas aeruginosa* in China. Plant Disease, 98(11), 1577-1577.
- Gašić, K., Prokić, A., Ivanović, M., Kuzmanović, N., Obradović, A. (2012). Differentiation of *Pseudomonas syringae* pathovars originating from stone fruits. Pesticidi i Fitomedicina, 27(3), 219-229.
- Germida, J., Siciliano, S. (2001). Taxonomic diversity of bacteria associated with the roots of modern, recent and ancient wheat cultivars. Biology and Fertility of Soils, 33, 410-415.
- González A.J., Rodicio M.R., Mendoza M.C., (2003). Identification of an emergent and atypical *Pseudomonas viridiflava* lineage causing bacteriosis in plants of agronomic importance in a Spanish region. Applied and Environmental Microbiology 69: 2936-294
- Gormez, A., Sahin, F. (2012). Determination of the pathogenic and non-pathogenic bacteria on stone fruits grown in Northeast Anatolia region of Turkey. Canadian Journal of Plant Pathology, 34(1): 42-50.
- Gormez, A., Sahin, F., Gulluce, M., Aslan, I. (2013). Identification and characterization of *Pseudomonas syringae* isolated from apricot trees in the Erzurum province of Turkey and evaluation of cultivar reaction. Journal of Plant Pathology, 95(3): 525-532.
- Gutiérrez-Barranquero, J. A., de Vicente, A., Carrión, V. J., Sundin, G. W., Cazorla, F. M. (2013). Recruitment and rearrangement of three different genetic determinants into a conjugative plasmid increase copper resistance in

- Pseudomonas syringae*. Applied and environmental microbiology, 79(3), 1028-1033.
- Gül, M., Akpınar, M. G. (2006). Dünya ve Türkiye meyve üretimindeki gelişmelerin incelenmesi. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19(1), 15-27.
- Gür, İ. (2011). Şeftali yetiştiriciliği. Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın, 8. 1-12s.
- Habibi, H., Khodaygan, P. (2015). The first report of *Stenotrophomonas* sp. associated with canker and leaf spot disease of stone fruits in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology, 51(1).
- Halkman, A. K., Doğan, H. B. (2000). Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları. Genişletilmiş 2. baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını, Sim Matbaası, S: 8 Ankara.
- Hogenhout, S. A., Loria, R. (2008). Virulence mechanisms of Gram-positive plant pathogenic bacteria. Current opinion in plant biology, 11(4), 449-456.
- Horuz, S., Çağlar, B. K., Küsek, M., Aysan, Y. (2018). Crown gall disease susceptibility of some stone fruit rootstocks in Turkey. Journal of Agricultural Sciences, 24(4), 439-444.
- Hou, Q., Bai, X., Li, W., Gao, X., Zhang, F., Sun, Z., Zhang, H. (2018). Design of primers for evaluation of lactic acid bacteria populations in complex biological samples. Frontiers in microbiology, 9, 2045.
- Hu, M., Li, C., Xue, Y., Hu, A., Chen, S., Chen, Y., Zhou, J. (2021). Isolation, characterization, and genomic investigation of a phytopathogenic strain of *Stenotrophomonas maltophilia*. Phytopathology, 111(11), 2088-2099.
- Hucker, G. J. (1921). A new modification and application of the gram stain. Journal of Bacteriology, 6(4), 395-397.
- Hugh, R., Ryschenkow, E. (1961). *Pseudomonas maltophilia*, an alcaligenes-like species. Microbiology, 26(1), 123-132.
- Husseini, A. (2019). Sert çekirdekli meyvelerde bakteriyel kanser etmeni *Pseudomonas syringae* patovarylarının bakır toleransının belirlenmesi (Yayımlanmış Yüksek lisans tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Husseini, A., Akköprü, A. (2020). The possible mechanisms of copper resistance in the pathogen *Pseudomonas syringae* pathovars in stone fruit trees. Phytoparasitica, 48(5), 705-718.
- Jami, F., Kazempour, M. N., Elahinia, S. A., Khodakaramian, G. (2005). First report of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* on stone fruit trees from Iran. Journal of Phytopathology, 153(6), 371-372.
- Janse, J. D., Obradovic, M. (2010). *Xylella fastidiosa*: its biology, diagnosis, control and risks. Journal of Plant Pathology, 92(Ek 1): 35-48.
- Javadi-Dodaran, N., Khakvar, R., Aliasgarzad, N. (2022). Isolation and characterization of bacterial endophytes from weeds against *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* causing bacterial canker of stone fruit trees. Fundamental and Applied Agriculture, 7(2), 104-111.

- JensBoch, U. (2001). Gram-negative plant pathogenic bacteria. *Contrib Microbiol*, 8, 186-96.
- Juhnke, M. E., des Jardin, Elizabeth. (1989). Selective medium for isolation of *Xanthomonas maltophilia* from soil and rhizosphere environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(3), 747-750.
- Kałużna, M. (2019). Characterization and phylogeny of the novel taxon of *Pseudomonas* spp., closely related to *Pseudomonas avellanae* as causal agent of a bacterial leaf blight of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) and *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* as a new bacterial pathogen of red dogwood (*Cornus sanguinea* L.). *Journal of Plant Pathology*, 101(2), 251-261.
- Kaluzna, M., Ferrante, P., Sobiczewski, P., Scortichini, M. (2010a). Characterization and genetic diversity of *Pseudomonas syringae* from stone fruits and hazelnut using repetitive-PCR and MLST. *Journal of Plant Pathology*, 781-787.
- Kałużna, M., Puławska, J., Sobiczewski, P. (2010b). The use of PCR melting profile for typing of *Pseudomonas syringae* isolates from stone fruit trees. *European Journal of Plant Pathology*, 126(4), 437-443.
- Kałużna, M., Albuquerque, P., Tavares, F., Sobiczewski, P., Puławska, J. (2016). Development of SCAR markers for rapid and specific detection of *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* races 1 and 2, using conventional and real-time PCR. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(8), 3693-3711.
- Kałużna, M., Sobiczewski, P. (2009). Virulence of *Pseudomonas syringae* pathovars and races originating from stone fruit trees. *Phytopathologia*, 54, 71-79.
- Kannan, V. R., Bastas, K. K., Antony, R. (2015). 1 Plant Pathogenic Bacteria. *Sustainable Approaches to Controlling Plant Pathogenic Bacteria*, 1-3.
- Kara, M., Uysal, A., Sönmez, E., Soylu, E. M., Kurt, Ş., Soylu, S. (2017). Employment of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of antagonist and plant growth promoting bacterial isolates. 3rd International Symposium for Agriculture and Food – ISAF 2017, 18-20 October 2017, Ohrid/Republic of Macedonia. p. 338.
- Karabacak, K. (2017). Türkiye’de tütün tarımı ve coğrafi dağılışı. *Coğrafi Bilimler Dergisi*, 15(1), 27-48.
- Karaca, İ. (1966). Sistematik bitki hastalıkları (Bakteriyel hastalıklar). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 124. İzmir. S. 12-14.
- Karaca, İ. (1977). Fitobakteriyoloji ve bakteriyel hastalıklar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:294. İzmir. S. 109-270.
- Karadeniz, T., Çatmadım, G., Öylek, H. Ş. (2019). Türkiye’de yerli ve yabancı badem çeşitleri ile yapılan adaptasyon çalışmaları üzerine araştırmalar. *Uluslararası Anadolu Ziraat Mühendisliği Bilimleri Dergisi*, 1(5), 45-51.
- Karamürsel, Ö. F. (2011). Erik yetiştiriciliği. *Meyvecilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Yayınları*, Yayın 6. 1-16s.

- Kavak, H., Çıtır, A. (1995). Malatya İli Merkez İlçede Kayıslarda Görülen Hastalıkların Tanıları ve Yaygınlık Oranları Üzerinde Araştırmalar. Türkiye VII. Fitopatoloji Kongresi, Adana. S.531-534.
- Kavak, H., Üstün, N., (2009). Oleander knot caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* on *Nerium oleander* in Turkey. Journal of Plant Pathology, 91: 701-703.
- Keane, P. J., Kerr, A., New, P. B. (1970). Crown gall of stone fruit II. Identification and nomenclature of *Agrobacterium* isolates. Australian Journal of Biological Sciences, 23(3), 585-596.
- Kerr, A. (1969). Crown gall of stone fruit. Australian Journal of Biological Sciences, 22(1), 111-116.
- Kıpçak, C. (2016). Van Gölü havzasında yetiştiriciliği yapılan elmalarda *Erwinia amylovora*'nın neden olduğu ateş yanıklığı hastalığının tespiti ve hastalık oranının belirlenmesi (Yayımlanmış Yüksek lisans tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- King, E. O., Ward, M. K., Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. Journal of Clinical Medicine, 44: 301-307.
- Klement, Z., Lovrekovich, L., Farkas, G. L. (1964). Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. Phytopathology, 54: 474-477.
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D. C. (1990). Methods in phytopathology. Akademiai Kiado, 153-180, Budapest.
- Koçal, H. (2011). Kayısı yetiştiriciliği. Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın, 7. 1-8s.
- Konavko, D., Moročko-Bičevska, I., Bankina, B. (2014). *Pseudomonas syringae* as important pathogen of fruit trees with emphasis on plum and cherry. Research for Rural Development, 1, 19-25.
- Kotan, R., Şahin, F., Ala, A. (2006). Identification and pathogenicity of bacteria isolated from pome fruits trees in eastern Anatolia region of Turkey. Journal of Plant Diseases and Protection, 113(1): 8-13.
- Kovacs, N. (1956). Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. Nature, London, 170, 173.
- Kovaleva, V. A., Shalovylo, Y. I., Gorovik, Y. N., Lagonenko, A. L., Evtushenkov, A. N., Gout, R. T. (2015). *Bacillus pumilus*-a new phytopathogen of Scots pine. Journal of Forest Science, 61(3), 131-137.
- Krechel, A., Faupel, A., Hallmann, J., Ulrich, A., Berg, G. (2002). Potato-associated bacteria and their antagonistic potential towards plant-pathogenic fungi and the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. Canadian Journal of Microbiology, 48(9), 772-786.
- Kurt, Ş. (2013). Bitki Fungal Hastalıkları. Akademisyen Kitabevi, Ankara, 161-173s.
- Kuzmanović, N., Ivanović, M., Prokić, A., Gašić, K., Blagojević, N., Pulawska, J., Obradović, A. (2013). Identification and characterization of *Agrobacterium*

- spp. isolated from apricot in Serbia. *European Journal of Plant Pathology*, 137: 11-16.
- Küden, A. B., Küden, A., Bayazit, S., Çömlekçioğlu, S., İmrak, B., Rehber Dikkaya, Y. (2014). *Badem Yetiştiriciliği*. TÜBİTAK-TARP Yayınları. Ankara, 1-18s.
- Lamichhane, J. R. (2014). *Xanthomonas arboricola* diseases of stone fruit, almond, and walnut trees: progress toward understanding and management. *Plant Disease*, 98(12), 1600-1610.
- Lane, DJ. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. Stackebrandt E, Goodfellow M, eds Wiley, New York 5:115–175
- Lazarov, A., Grigorov, P. (1961). *Karantina na rastenijata*. Zemizdat. Sofia. S. 258.
- Lelliott R.A., Billing E., Hayward A.C., (1966). A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic *Pseudomonads*. *Journal of Applied Bacteriology* 29: 470
- Lelliott, R. A., Stead, D. E. (1987). *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. British Society for Plant Pathology and Blackwell Scientific Publication, Oxford
- Lemjiber, N., Naamani, K., Merieau, A., Dihazi, A., Zhar, N., Jediyyi, H., Boukerb, A. M. (2021). Identification and genomic characterization of pathogenic *Bacillus altitudinis* from common pear trees in Morocco. *Agronomy*, 11(7), 1344.
- Ling, L., Jiao, Z., Ma, W., Zhao, J., Feng, J., Zhang, X., Li, Z., Zhang, J., Lu, L. (2019). Preliminary report on the study of postharvest fruit rot bacteria and yeasts in Lanzhou Lily (*Lilium davidii* var. *unicolor*) in China. *Journal of Phytopathology*, 167(3), 135-145.
- Little, E. L., Bostock, R. M., Kirkpatrick, B. C. (1998). Genetic characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains from stone fruits in California. *Applied Environmental Microbiology*. Vol. 64. pp. 3818 – 3823.
- Liu, Q., Li, D., Hu, H., Huang, Q., Zhang, Y., Zhou, F., Li, C. (2021). First report of *Bacillus altitudinis* causing seed rot of pomegranate in China. *Australasian Plant Pathology*, 50(4), 427-429.
- López, M. M., Gorris, M. T., Salcedo, C. I., Montojo, A. M., Miró, M. (1989). Evidence of biological control of *Agrobacterium tumefaciens* strains sensitive and resistant to agrocin 84 by different *Agrobacterium radiobacter* strains on stone fruit trees. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(3), 741-746.
- López, M. M., Roselló, M., Palacio-Bielsa, A. (2010). Diagnosis and detection of the main bacterial pathogens of stone fruit and almond. *Journal of plant pathology*, S57-S66.
- López-Soriano, P., Boyer, K., Cesbron, S., Morente, M. C., Penalver, J., Palacio-Bielsa, A., Verniere, C., López, M. M., Pruvost, O. (2016). Multilocus variable number of tandem repeat analysis reveals multiple introductions in Spain of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, the causal agent of bacterial spot disease of stone fruits and almond. *PLoS One*, 11(9), e0163729.

- Martinati, J. C., Pacheco, F. T. H., Miranda, V. F. O., Tsai, S. M. (2007). 16S-23S rDNA: Polymorphisms and their use for detection and identification of *Xylella fastidiosa* strains. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38: 159-165.
- Messiha, N. A. S., Van Diepeningen, A. D., Farag, N. S., Abdallah, S. A., Janse, J. D., Van Bruggen, A. H. C. (2007). *Stenotrophomonas maltophilia*: a new potential biocontrol agent of *Ralstonia solanacearum*, causal agent of potato brown rot. *European journal of plant pathology*, 118, 211-225.
- Mirik, M., Aysan, Y. (2011). Marmara Bölgesinde zeytin dal kanseri hastalığının yaygınlığı ve *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının fenotipik ve genotipik karakterizasyonu. *Tarım Bilimleri Dergisi*.
- Mirik, M., Aysan, Y., Soylu, S. (2019). Zeytin Dal Kanseri, Nar Dal Kanseri, Bacterial Knot Diseases, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Alınmıştır: Bitki Bakteri Hastalıkları, (ed) Saygılı, H., Aysan, Y., Şahin, F., Soylu, S., Mirik, M., 113-115.
- Mirik, M., Öksel, C., Özdemir, M. (2016). Tekirdağ ilinde kirazda bakteriyel kanser hastalığına neden olan hastalık etmenlerinin karakterizasyonu. *Bitki Koruma Bülteni*, 56(4): 385-397.
- Moffett, M. I. (1973). Bacterial spot of stone fruit in Queensland. *Australian Journal of Biological Sciences*, 26(1), 171-180.
- Nakayama, T., Homma, Y., Hashidoko, Y., Mizutani, J., Tahara, S. (1999). Possible role of xanthobaccins produced by *Stenotrophomonas* sp. strain SB-K88 in suppression of sugar beet damping-off disease. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10), 4334-4339.
- Obradovic, A. (2010). *Pseudomonas* Pathogens of Stone Fruits and Nuts: Classical and Molecular Phytobacteriology, COST873 Stone Fruit Nut Health Training Course Handbook, Belgrade, 69p.
- Ogawa, J. M., Zehr, E. I., Bird, G. W., Ritchie, D. F., Uriu, K., Uyemato, J. K. (1995). *Compendium of stone fruit diseases*. APS Press, St. Paul, MN, USA.
- Oves, M., Khan, M. S., Zaidi, A., Ahmed, A. S., Ahmed, F., Ahmad, E., Sherwani, A., Owais, M., Azam, A. (2013). Antibacterial and cytotoxic efficacy of extracellular silver nanoparticles biofabricated from chromium reducing novel OS4 strain of *Stenotrophomonas maltophilia*. *PloS one*, 8(3), e59140.
- Öksel, C., Avin, F. A., Mirik, M., Baysal-Gurel, F. (2022). Identification and genetic characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* from sweet cherry in Turkey. *Plant Disease*, 106(4), 1253-1261.
- Öztürk, İ., İkinci, A., Bolat, İ. (2019). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde zeytin yetiştiriciliğinin mevcut durumu ve karşılaşılan problemler.1. Uluslararası Harran Multidisipliner Çalışmalar kongresi, 578-580s.
- Palacio-Bielsa, A., Pothier, J. F., Roselló, M., Duffy, B., López, M. M. (2012). Detection and identification methods and new tests as developed and used in the framework of COST 873 for bacteria pathogenic to stone fruits and nuts. *Journal of plant pathology*, 94(1sup), 1-135.

- Palleroni, N. J., Bradbury, J. F. (1993). *Stenotrophomonas*, a new bacterial genus for *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1980) Swings et al. 1983. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 43(3), 606-609.
- Pavlovic, M., Konrad, R., Iwobi, A. N., Sing, A., Busch, U., Huber, I. (2012). A dual approach employing MALDITOF MS and real-time PCR for fast species identification within the enterobacter cloacae complex. FEMS Microbiology Letters, 328: 46–53.
- Peng, Q., Yuan, Y., Gao, M. (2013). *Bacillus pumilus*, a novel ginger rhizome rot pathogen in China. Plant disease, 97(10), 1308-1315.
- Penyalver, R., García, A., Ferrer, A., Bertolini, E., López, M. M. (1991). Detection of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive plants by enrichment and PCR. Applied and Environmental Microbiology, 66(6), 2673-2677.
- Pinski, A., Zur, J., Hasterok, R., Hupert-Kocurek, K. (2020). Comparative genomics of *Stenotrophomonas maltophilia* and *Stenotrophomonas rhizophila* revealed characteristic features of both species. International journal of molecular sciences, 21(14), 4922.
- Pirgün, Y., (2007). Hatay’da yetiştirilen Gemlik ve Halhalı zeytinlerinin antioksidan etkilerinin belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi), Adana, 46s.
- Pompilio, A., Crocetta, V., Confalone, P., Nicoletti, M., Petrucca, A., Guarnieri, S., Fiscarelli, E., Savini, V., Piccolomini, R., Di Bonaventura, G. (2010). Adhesion to and biofilm formation on IB3-1 bronchial cells by *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from cystic fibrosis patients. BMC microbiology, 10, 1-15.
- Popović, T., Menković, J., Prokić, A., Zlatković, N., Obradović, A. (2021). Isolation and characterization of *Pseudomonas syringae* isolates affecting stone fruits and almond in Montenegro. Journal of Plant Diseases and Protection, 128(2), 391-405.
- Pulawska, J. (2010). Crown gall of stone fruits and nuts, economic significance and diversity of its causal agents: tumorigenic *Agrobacterium* spp. Journal of Plant Pathology, S87-S98.
- Riaz, K., Riaz, K., Dilferoze, A., Alam, M., Riaz, A., Jameel, S., Khan, S., Hannan, A. (2016). Emergence of a novel white stripe disease pathogen *Stenotrophomonas maltophilia* strain Sia5 in rice fields of Punjab under the climate change scenario. Presented at: American Phytopathological Society 2015 Annual Meeting, August 1-5, 2015, Tampa FL. In Phytopathology (Vol. 106, No. 12, pp. 120-120).
- Ribbeck-Busch, K., Roder, A., Hasse, D., De Boer, W., Martínez, J. L., Hagemann, M., Berg, G. (2005). A molecular biological protocol to distinguish potentially human pathogenic *Stenotrophomonas maltophilia* from plant-associated *Stenotrophomonas rhizophila*. Environmental Microbiology, 7(11), 1853-1858.
- Ribitsch, D., Heumann, S., Karl, W., Gerlach, J., Leber, R., Birner-Gruenberger, R., Gruber, K., Eiteljoerg, I., Remler, P., Siegert, P., Lange, J., Maurer, K. H.,

- Berg, G., Guebitz, G. M., Schwab, H. (2012). Extracellular serine proteases from *Stenotrophomonas maltophilia*: screening, isolation and heterologous expression in *E. coli*. *Journal of biotechnology*, 157(1), 140-147.
- Riva, S. C., Opara, U. O., Fawole, O. A. (2020). Recent developments on postharvest application of edible coatings on stone fruit: A review. *Scientia Horticulturae*, 262, 109074.
- Roos, I. M. M., Hattingh, M. J. (1986a). Pathogenic *Pseudomonas* spp. in stonefruit buds. *Phytophylactica*, 18(1), 9-12.
- Roos, I. M. M., Hattingh, M. J. (1986b). Resident populations of *Pseudomonas syringae* on stone fruit tree leaves in South Africa. *Phytophylactica*, 18(2), 55-58.
- Roos, I. M. M., Hattingh, M. J. (1986c). Weeds in orchards as potential source of inoculum for bacterial canker of stone fruit. *Phytophylactica*, 18(1), 5-8.
- Ryan, R. P., An, S. Q., Allan, J. H., McCarthy, Y., Dow, J. M. (2015). The DSF family of cell-cell signals: an expanding class of bacterial virulence regulators. *PLoS pathogens*, 11(7), e1004986.
- Ryan, R. P., Monchy, S., Cardinale, M., Taghavi, S., Crossman, L., Avison, M. B., Dow, J. M. (2009). The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*. *Nature Reviews Microbiology*, 7(7), 514-525.
- Samson, J. A. (1980). *Tropical Fruits Tropical Agriculture Series*. Longman Group Limited ISBN 0-582-46032-8, ABD.
- Saygılı, H. (1995). *Fitobakteriyoloji*. Doğruluk Matbaası, İzmir. 203 S.
- Saygılı, H., Şahin, F., Aysan, Y. (2006). *Fitobakteriyoloji*. Meta Basım Matbaacılık. İzmir. S. 58-163.
- Saygılı, H., Aysan, Y., Şahin, F., Soylu, S., Mirik, M., Kotan, R. (2014). *Fitobakteriyoloji I*. Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Baskı Yayın No: 19. Tekirdağ. S. 20-22.
- Saygılı, H., Aysan, Y., Şahin, F., Soylu, S., Mirik, M. (2019). Bitki bakteri hastalıkları. *Toprak Ofset Matbaacılık*. Tekirdağ. S. 113-119.
- Schaad, N. W., Jones, B. J., Chun, W. (2001). *Laboratory guide for identification plant pathogenic bacteria*, APS Press, USA, 543p.
- Schmidt, C. S., Alavi, M., Cardinale, M., Müller, H., Berg, G. (2012). *Stenotrophomonas rhizophila* DSM14405 T promotes plant growth probably by altering fungal communities in the rhizosphere. *Biology and fertility of soils*, 48, 947-960.
- Scortichini, M. (2010). Epidemiology and predisposing factors of some major bacterial diseases of stone and nut fruit trees species. *Journal of Plant Pathology*, 92(Ek 1): 73-78.
- Sholberg, A. P., Kappel, F. (2008). Integrated management of stone fruit diseases. *Integrated Management of Diseases Caused by Fungi, Phytoplasma and Bacteria*, 3-25.

- Singh, N. I., Swings, I. J., Devi, R. T., Imotomba, R. K. (2001). White stripe, a new disease of rice caused by *Stenotrophomonas maltophilia* in India. *Indian Phytopathology*, 54(2).
- Sipahioğlu, H. M., Demir, S., Polat, B., Akköprü, A., Usta, M. (2004). Van ve civarında yetiştiriciliği yapılan sert çekirdekli meyve ağaçlarında tespit edilen viral ve fungal hastalık etmenleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 14(2), 133-139.
- Sisto, A., Cipriani, M. G., Tegli, S., Cerboneschi, M., Stea, G., Santilli, E. (2007). Genetic characterization by fluorescent AFLP of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* strains isolated from different host species. *Plant Pathology*, 56: 366-372.
- Sneath, P. H. A. (1956). Cultural and biochemical characteristics of the genus chromobacterium, *J. Gen. Microbiol*, 15:70-98.
- Soylu, A. (2012). Meyve yetiştiriciliğinin temel ilkeleri. Hasad Yayıncılık. İstanbul. S. 19-21.
- Spiegel, M. R., Liu, J., Lipschutz, S. (1968). *Mathematical handbook of formulas and tables* (Vol. 3). New York: McGraw-Hill.
- Storey, W. B. (1969). Recent Developments in Tropical Fruit Crops. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 82, 333-9, Miami, ABD.
- Sulikowska, M., Sobiczewski, P. (2008). *Pseudomonas* spp. isolated from stone fruit trees in Poland. *Zemdirbyste-Agriculture*, 95(3), 166-170.
- Swings, J., De Vos, P., Van den Mooter, M., De Ley, J. (1983). Transfer of *Pseudomonas maltophilia* Hugh 1981 to the genus *Xanthomonas* as *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1981) comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 33(2), 409-413.
- Şahin, G., Taşlıgil, N. (2013). Türkiye'de tütün (*Nicotiana tabacum* L.) yetiştiriciliğinin tarihsel gelişimi ve coğrafi dağılımı. *Doğu Coğrafya Dergisi*, 18(30), 71-102.
- Taghavi, S., Garafola, C., Monchy, S., Newman, L., Hoffman, A., Weyens, N., Barac, T., Vangronsveld, J., van der Lelie, D. (2009). Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a beneficial effect on growth and development of poplar trees. *Applied and environmental microbiology*, 75(3), 748-757.
- Tokuşoğlu, Ö., (2010). Özel meyve zeytin: Kimyası, kalite ve teknolojisi. Seher Matbaacılık, İzmir, 330s.
- TÜİK. (2021). Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://bit.ly/3VuQWTM>. (Erişim Tarihi: 25 Mart 2022)
- Türkmenoğlu, Z. (1965). Zeytin dal kanseri, *Pseudomonas savastanoi* (Smith) Stevens üzerine antibiotik ihtiva eden preparatlarla yapılan araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 5(3): 101-112.
- Türkoğlu, K., Çınar, Ö., Öktem, Y. (1974). Sivas ve Malatya illerinde kayısı ağaçlarında kurumaların sebepleri ve en uygun mücadele metodunun tespiti

üzerinde araştırmalar. TÜBİTAK. TOAG. 149 No'lu Projenin Kesin Raporu. S. 62.

- Valasevich, N., Schneider, B. (2016). Detection, identification and molecular diversity of '*Candidatus phytoplasma prunorum*' in Belarus. *Journal of Plant Pathology*, 98(3): 625-629.
- Vanneste, J. L., McLaren, G. E., Yu, J., Conzish, D. A., Boyd, R. (2005). Copper and streptomycin resistance in bacterial strains isolated from stone fruit orchards in New Zealand. *New Zealand Plant Protection*, 58, 101-105.
- Vigouroux, A. (1997). Role of frost and stem water content on the development of bacterial canker in acclimated stone fruit trees. In *Pseudomonas Syringae Pathovars and Related Pathogens*. Springer, Dordrecht. 97-102.
- Wang, Z., Sun, L., Cheng, J., Liu, C., Tang, X., Zhang, H., Liu, Y. (2016). The optimization of fermentation conditions and enzyme properties of *Stenotrophomonas maltophilia* for protease production. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 63(2), 292-299.
- Wilson, E. (1933). Bacterial canker of stone-fruit trees in California. *Hilgardia*, 8(3), 83-123.
- Wilson, E. E. (1953). Bacteriel canker of stone fruits. *Year Book of Agriculture*. USDA. S. 722-729.
- Wolf, A., Fritze, A., Hagemann, M., Berg, G. (2002). *Stenotrophomonas rhizophila* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with antifungal properties. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(6), 1937-1944.
- Young, J. M. (1987). Orchard management and bacterial diseases of stone fruit. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 15(2), 257-266.
- Yüzbaşıoğlu, E. G., Aysan, Y. (2021). Farklı konukçu bitkilerden izole edilen *Agrobacterium tumefaciens* izolatlarının fenotipik ve genotipik karakterizasyonu. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(2), 247-259.
- Zaki, S., Kamal, A., Elkady, M., Abu-Elreesh, G., Abd-El-Haleem, D. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Stenotrophomonas rhizophila* and its application as a disinfectant agent of water. *Eur. J. Exp*, 4, 662-669.
- Žežlina, I., Rot, M., Kač, M., & Trdan, S. (2016). Causal agents of stone fruit diseases in Slovenia and the potential for diminishing their economic impact—a review. *Plant Protection Science*, 52(3), 149-157.
- Zheng, K., Su, X., Xue, Z., Zhang, L., Chen, Y., Wu, K., Li, T., Zang, Z., Zhao, Z. (2022). First report of *Stenotrophomonas maltophilia* causing root soft rot of Sanqi (*Panax notoginseng*) in China. *Plant Disease*, 106(2), 755.
- Zwet, T., Keil, H. L. (1979). Fire blight a bacterial disease of rosaceous plants. *United Department of Agricultural handbook number:510 Washington D.C*. P:21-35 *Agriculture Handbook*, No: 520, 200 p.



EKLER

Ek: 1 PCR analizi yapılan bakteri izolatlarının DNA dizisi

Ek 1.A A/B/6/2 bakteri izoları DNA dizisi

CAGTCGAACGGCAGCACAGTAAGAGCTTGCTCTTATGGGTGGCGAGTGG
CGGACGGGTGAGGAATACATCGGAATCTACCTTTTCGTGGGGGATAACG
TAGGGAAACTTACGCTAATACCGCATAACGACCTTCGGGTGAAAGCAGGG
GACCTTCGGGCCTTGCGCGGATAGATGAGCCGATGTCGGATTAGCTAGTT
GGCGGGGTAAAGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGG
ATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGG
CAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATAC
CGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTCGGGTGTAAAGCCCTTTTGTGGGAAAG
AAAAGCAGTCGATTAATACTCGGTTGTTCTGACGGTACCCAAAGAATAA
GCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGAAG
CGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGTGGTTGTTTAAGT
CTGTTGTGAAAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAATTGCAGTGGATACTGGGC
GACTAGAGTGTGGTAGAGGGTAGTGGAATTCCCGGTGTAGCAGTGAAAT
GCGTAGAGATCGGGAGGAACATCCATGGCGAAGGCAGCTACCTGGACCA
ACACTGACACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAC
CCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTT
GGCACGCAGTATCGAAGCTAACGCGTTAAGTTCGCCGCCTGGGGAGTAC
GGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAGCGG
TGGAGTATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTT
GACATGTCGAGAACTTTCCGGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAAGTCGAA
CACAGGTTGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCC
GCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAAC
TCTAAGGAGACCGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCA
AGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTACTACAATGGTAGG
GACAGAGGGCTGCAAACCCGCGAGGGCAAGCCAATCCCAGAAACCCTAT
CTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCT
AGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTA
CACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTTGTGTCACCAGAAGCAGGTAGCT
TAACCTTCGGGAGGGC

Ek 1.B A/B/8/1 bakteri izolatı DNA dizisi

TTGGAATTGCGTTGCCTACACATGCAGTCGAACGGCAGCACAGTAAGAG
CTTGCTCTTATGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGTGAGGAATACATCGGAA
TCTACCTTTTCGTGGGGGATAACGTAGGGAACTTACGCTAATACCGCAT
ACGACCTTCGGGTGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCGCGGATAGAT
GAGCCGATGTCGGATTAGCTAGTTGGCGGGGTAAAGGCCACCAAGGCG
ACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGAAGTGAAG
CACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATG
GGCGCAAGCCTGATCCAGCCATAACGCGTGGGTGAAGAAGGCCTTCGGG
TTGTAAAGCCCTTTTGTGGGAAAGAAAAGCAGTCGATTAATACTCGGTT
GTTCTGACGGTACCCAAAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAG
CCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTACTCGGAATTACTGGGCGTAA
AGCGTGCGTAGGTGGTTGTTTAAGTCTGTTGTGAAAGCCCTGGGCTCAAC
CTGGGAATTGCAGTGGATACTGGGCGACTAGAGTGTGGTAGAGGGTAGT
GGAATTCGCGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATCGGGAGGAACATCC
ATGGCGAAGGCAGCTACCTGGACCAACACTGACACTGAGGCACGAAAGC
GTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGA

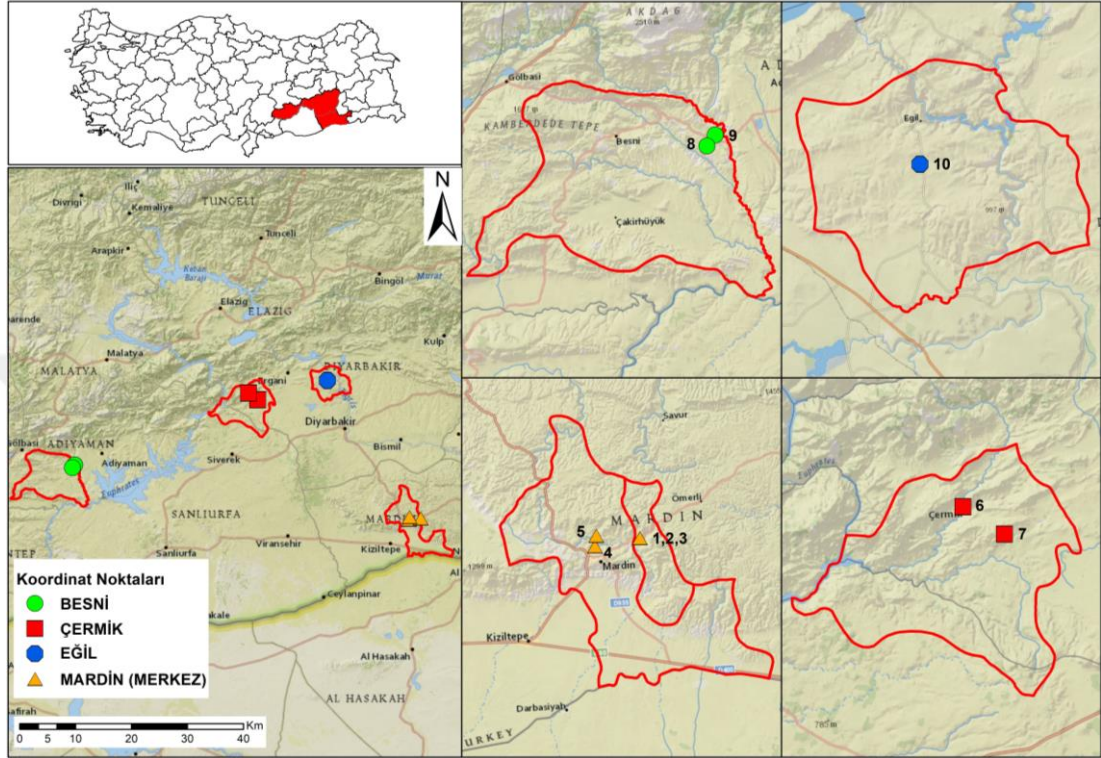
TGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGGCACGCAGTATCGAAGCTAACGC
 GTTAAGTTCGCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGG
 AATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAATTCGATG
 CAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATGTCGAGAACTTTCCAGAGA
 TGGATTGGTGCCTTCGGGAACTCGAACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTC
 AGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTT
 GTCCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAACTCTAAGGAGACCGCCGGT
 GACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTAC
 GACCAGGGCTACACACGTACTACAATGGTAGGGACAGAGGGCTGCAAAC
 CCGCGAGGGCAAGCCAATCCCAGAAACCCTATCTCAGTCCGGATTGGAG
 TCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGATCAGC
 ATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACAC
 CATGGGAGTTTGTGTCACCAGAAGCAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGC
 GCTGCCACGGTTGCCGAAGGGG

Ek 1.C M.04/10/1 bakteri izolatu DNA dizisi

GGCAGCACAGTAAGAGCTTGCTCTTATGGGTGGCGAGTGGCGGACGGGT
 GAGGAATACATCGGAATCTACCTTTTCGTGGGGGATAACGTAGGGAAAC
 TTACGCTAATACCGCATAACGACCTTCGGGTGAAAGCAGGGGACCTTCGG
 GCCTTGCGCGGATAGATGAGCCGATGTCGGATTAGCTAGTTGGCGGGGT
 AAAGGCCACCAAGGCGACGATCCGTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAG
 CCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
 GGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATAACCGCGTGGG
 TGAAGAAGGCCCTTCGGGTGTAAAGCCCTTTTGTGTTGGGAAAGAAAAGCA
 GTCGATTAATACTCGGTTGTTCTGACGGTACCCAAAGAATAAGCACCGGC
 TAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTACTC
 GGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGTGGTTGTTTAAAGTCTGTTGTG
 AAAGCCCTGGGCTCAACCTGGGAATTGCAGTGGATACTGGGCGACTAGA
 GTGTGGTAGAGGGTAGTGGAATTCCCGGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGA
 GATCGGGAGGAACATCCATGGCGAAGGCAGCTACCTGGACCAACACTGA
 CACTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTA
 GTCCACGCCCTAAACGATGCGAACTGGATGTTGGGTGCAATTTGGCACGC
 AGTATCGAAGCTAACGCGTTAAGTTCGCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCA
 AGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGTA
 TGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATGT
 CGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTCGAACACAGG
 TGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCC
 GCAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTGCCAGCACGTAATGGTGGGAAC
 TCTAAGGAGACCGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCA
 AGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTACTACAATGGTAGG
 GACAGAGGGCTGCAAACCCGCGAGGGCAAGCCAATCCCAGAAACCCTAT
 CTCAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCT
 AGTAATCGCAGATCAGCATTGCTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
 CACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTTGTGTCACCAGAAGCAGGTAGCT
 TAACCTTCGGGAGGG

Ek: 2 Patojen *Stenotrophomonas rhizophila* izolatlarının elde edildiği lokasyonlar

Ek 2.A Örnekleme illerinde patojen *Stenotrophomonas rhizophila* izolatlarının elde edildiği bahçelerin lokasyonlarını belirtir koordinat noktalarını gösteren harita



Koordinat noktalarındaki sayıların karşılık geldiği izolat kodları ve enlem-boylam koordinatları: 1: M.04/15/1 (37,3472221; 40,8238210); 2: M.04/15/3 (37,3472221; 40,8238210); 3: M.04/15/4 (37,3472221; 40,8238210); 4: M.04/4/2 (37,3384696; 40,7311453); 5: M.04/10/1 (37,3557494; 40,7348270); 6: D/ÇE/8/4 (38,1406938; 39,4503949); 7: ÇE.7.Ö. (38,0978513; 39,5226160); 8: A/B/6/2 (37,6701994; 38,0456737); 9: A/B/8/1 (37,6874681; 38,0630109); 10: D/EG/21/1/1 (38,2190894; 40,0793806)

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyad, Ad

Bayman, Serkan

Web sayfası

(Research Gate, Academia, vs.)

<https://ozgecmis.yok.gov.tr/>

Eğitim Bilgileri

Derece	Kurum	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Dicle Üniversitesi	2017
Lisans	Harran Üniversitesi	2012
Lise	Gönen Ömer Seyfettin Lisesi	2003

İş Deneyimi

Dönem (Yıl)	Şirket, Kurum	Görev
2013- (Devam ediyor)	Dicle Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce (2022 Ağustos YÖKDİL 78.75)

Yayınlar

- 1.Bayman, S., Turgut, M. M. (2018). The effect of different tillage practices on the soil bacteria microflora in winter wheat cultivation. Agronomy Series of Scientific Research/Lucrari Stiintifice Seria Agronomie, 61(2).
- 2.Bayman, S., Turgut, M. M. (2018). Evaluation of tillage sysyems on soil fungus microflora under winter wheat cultivation. Scientific Papers-Series A, Agronomy, 61(1), 438-441.
- 3.Kizilgeci, F., Bicer, B. T., Yildirim, M., Akinci, C., Albayrak, O., Bayman, S. (2019). Evaluation of yield traits, quality parameters and seed yield stability for lentil genotypes under different locations in Turkey. Fresenius Environmental Bulletin, 28, 1926-1932.
- 4.Bayman, S., Kavak, H. (2022). Profiling of non-pathogenic bacterial population by MALDI-TOF mass spectrometry in stone fruits. International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences, 6(2), 220-225.

Özel İlgiler

Bakteriler

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ BENZERLİK BİLDİRİMİ FORMU

Öğrencinin Adı, Soyadı	Serkan Bayman
Öğrenci No	17810501
Ana Bilim Dalı	BİTKİ KORUMA
Program Türü	Proje ☐ Yüksek Lisans ☐ Doktora ☒
Tez Danışmanı (Ünvanı, Adı, Soyadı)	Prof. Dr. Hamit Kavak
Tez Başlığı	Adıyaman, Diyarbakır ve Mardin illerinde Sert Çekirdekli Meyve Ağaçlarındaki Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tespiti
RAPOR BİLGİLERİ	
Raporlama Aşaması	Tez Savunma Sınavı Öncesi
Sayfa Sayısı	162
Raporlama Tarihi	13/07/2023
Benzerlik Oranı (%)	17

Yukarıda bilgileri verilen tez çalışmamın toplam 162 sayfalık kısmına ilişkin, 13/07/2023 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin isimli intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 17 olarak tespit edilmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

- ☐Başlangıç Bölümleri (Kabul ve Onay sayfası, Teşekkür sayfası, Özet/Abstract) hariç
☐Kaynaklar hariç
☐Alıntılar hariç/dâhil
☒Diğer (Her şey dahil)

Tezimin benzerlik oranı, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İntihal Raporu Uygulama Esaslarında belirtilen üst sınır benzerlik oranını aşmamaktadır. Benzerlik oranım üst sınır benzerlik oranının altında olsa dahi aksinin tespit edilmesi durumunda her türlü yasal sorumluluğu kabul ettiğimi ve hukuki sonuçlarına razı olduğumu bildirir, gereğini arz ederim.

Öğrencinin Adı, Soyadı: Serkan Bayman

Tarih: 13/07/2023

İmza:

Danışman Adı, Soyadı:

Prof. Dr. Hamit Kavak

Tarih: 13/07/2023

İmza:

Ana Bilim Dalı Başkanı Adı, Soyadı:

Prof. Dr. Ahmet Bayram

Tarih: 13/07/2023

İmza: