



**ADAY ANTAGONİST BAKTERİ İZOLATLARININ *PSEUDOMONAS SYRİNGAE*
PV. *SYRİNGAE*'YE KARŞI ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

AKIN İBAR

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Mustafa MİRİK

2022

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ADAY ANTAGONİST BAKTERİ İZOLATLARININ *PSEUDOMONAS SYRİNGAE*
PV. *SYRİNGAE*'YE KARŞI ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

AKIN İBAR

ORCID: 0000-0002-7072-5918

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Danışman: Prof. Dr. Mustafa MİRİK

TEMMUZ-2022
Her hakkı saklıdır.

BİLİMSEL ARAŞTIRMA VE YAYIN ETİĞİ KURALLARINA UYUM BEYANI

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak sunulan ve Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanan “Aday antagonist bakteri izolatlarının *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*’ye karşı etkisinin belirlenmesi” isimli bu tez çalışmasıyla ilgili olarak;

- Bu tez çalışmasının tarafımda hazırlanan özgün bir çalışma olduğunu,
- Hazırlık, veri toplama, analiz ve bulguların sunumu olmak üzere tüm aşamalarında “bilimsel araştırma ve yayın etiği kurallarına” uygun davrandığımı,
- Bu çalışma kapsamında elde edilmemiş olan tüm veri ve bilgiler için bilimsel normlara uygun kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara tezin “Kaynaklar” bölümünde yer verdiğimi,
- Tez çalışmamın Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesinde kullanılan “bilimsel intihal programı” ile tarandığını ve öngörülen standartları karşıladığımı,
- Çizelgede verilen bilgilerin doğruluğunu,

Şekil Sayısı	2	Çizelge Sayısı	7	Kaynak Sayısı	31
--------------	---	----------------	---	---------------	----

Ek Sayısı	...	Sayfa Sayısı	31	Tez Savunma Tarihi	19/07/2022
-----------	-----	--------------	----	---------------------------	------------

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Akın İBAR

19/06/2022

ÖZET

ADAY ANTAGONİST BAKTERİ İZOLATLARININ *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *SYRINGAE*'YE KARŞI ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Akın İBAR

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Mustafa MİRİK

Pseudomonas syringae pv. *syringae*'nin sebep olduğu bakteriyel dal yanıklığı hastalığı kiraz ağaçlarında önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu çalışmada 2019*2020 yılları arasında Tekirdağ ili kiraz üretim alanlarından çiçek ve yapraklardan toplam 37 adet aday antagonist bakteri izolatının ve Prof. Dr. Mustafa MİRİK'in kültür koleksiyonunda bulunan 40 adet antagonist bakteri izolatının *in vitro* ve yarı *in vivo* koşullarda *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* üzerine antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Yapılan denemeler sonucunda 5 adet antagonist bakteri izolatın %16.67-75 oranında patojeni baskıladığı belirlenmiştir. Etkili bulunan KA1, KA5, KA7, KA18 ve KA36 kodlu antagonist bakteri izolatları MALDI-TOF MS yöntemi ile *Bacillus mycoides*, *Pseudomonas chlororopsis*, *B. simplex*, *B. cereus* ve *P. gessardii* olarak tanılanmıştır. KA5 kodlu izolat hastalık gelişimini %75 oranında baskılayarak en yüksek antibakteriyel etkili izolat olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyel dal yanıklığı, Kiraz, Antagonistik aktivite

ABSTRACT

DETERMINATION OF EFFECT POTENTIAL ANTAGONIST BACTERIAL ISOLATES AGAINST *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *SYRINGAE*

Akın İBAR

Department of Plant Protection

M.Sc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa MİRİK

Bacterial canker, caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (*P. s.* pv. *syringae*) is economically important diseases of sweet cherry trees. In this study, antibacterial effect of 77 isolates consisted of 37 out of 77 isolates obtained from blossom and leaves and 40 isolates from the collection of Prof. Dr. Mustafa MİRİK were investigated against *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* under *in vitro* and semi-*in vivo* conditions. According to *in vitro* and semi-*in vivo* test, 5 antagonist bacteria isolates were suppressed the pathogen ranged from %16.67 to %75. When these effective antagonist isolates were identified as *Bacillus mycoides*, *Pseudomonas chlororapsis*, *B. simplex*, *B. cereus* and *P. gessardii* by MALDI-TOF MS, respectively. The most effective result was determined as *P. chlororapsis* namely KA5 inhibited pathogen growth as %75.

Keywords: Bacterial canker, Sweet cherry, Antagonist activity

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TEŞEKKÜR	vi
1. GİRİŞ	1
1.1. Literatür Özeti	7
1.2. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı	9
2. MATERYAL METOT	10
2.1. Materyal	10
2.2 Metot	10
2.2.1 Kiraz dal kanseri hastalığının biyolojik mücadelesine yönelik <i>in vitro</i> çalışmalar.....	10
2.2.1.1. Kiraz yaprak ve çiçeklerinden aday antagonist izolasyonu.....	10
2.2.1.2. Aday antagonistlerin tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonlarının belirlenmesi.	11
2.2.1.3. Aday antagonistlerin <i>in vitro</i> 'da <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> 'ye karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi	11
2.2.1.4. Aday antagonistlerin <i>in vivo</i> 'da <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> 'ye karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi	11
2.2.1.5. Antagonist izolatların tanısı	12
3. BULGULAR	13
3.1. Kiraz dal kanseri hastalığının biyolojik mücadelesine yönelik <i>in vitro</i> çalışmalar	13
3.3.1.1. Kiraz yaprak ve çiçeklerinden aday antagonist izolasyonu	13
3.3.1.2. Aday antagonistlerin <i>in vitro</i> 'da <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> 'e karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi	14
3.3.1.3. Aday antagonistlerin <i>in vivo</i> 'da <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> 'ye karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi.....	18
3.3.1.4. Antagonistik izolatların tanısı	19
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	20
KAYNAKLAR	22
ÖZGEÇMİŞ	25

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Kiraz üretiminde önde gelen ülkelerin kiraz üretim miktarları (FAO 2019)	2
Çizelge 1.2. Türkiye'de 2009-2019 yılları arası kiraz alan üretim ve verim miktarları (TÜİK 2020)	3
Çizelge 1.3. Türkiye'de 2010-2019 yıllarında kiraz ağaç sayısı ve üretim miktarları (TÜİK 2019)	4
Çizelge 1.4. Türkiye'de il bazında kiraz üretimi	5
Çizelge 3.1. Tekirdağ ili kiraz üretim alanlarından izole edilen antagonist izolatlar ve özellikleri.....	13
Çizelge 3.2. Aday antagonist bakteri izolatlarının oluşturduğu engelleme alanı (mm)	15
Çizelge 3.3. Antagonist izolatların <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> sebep olduğu hastalık şiddeti üzerine etkilerinin belirlenmesi	19

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Patojenin sebep olduğu çiçek simptonlarının skala değeri..... 12

Şekil 3.1. Antagonist izolatların *in vitro* koşullarda etkinliklerinin tes edilmesi 18



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatımın her döneminde benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, bana sürekli doğruyu gösteren, verdiği fikirlerle beni her zaman bir adım öne geçiren, tez konumun belirlenmesinde, çalışmanın her aşamasında benden yardımını esirgemeyen saygı değer danışman hocam Sayın Mustafa MİRİK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım boyunca her zaman yanımda olan benden yardımını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Cansu ÖKSEL'e teşekkürlerimi sunarım. Ziraat mühendisi Mazlum VURAL'a teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimi tamamlamam konusunda iş planlamalarımın bana yardımcı olup desteğini benden hiç esirgemeyen her zaman yanımda olan Müdürüm Ziraat Yüksek Mühendisi Yalçın SARIKAYA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Beni her daim her koşulda destekleyip yaptıkları büyük fedakarlıklarla bu günlere getiren canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

Akın İBAR

Ziraat Mühendisi

1. GİRİŞ

Birçok meyvecilik kültürü ve meyvenin anavatanı olan Türkiye meyvecilik tarımında önem kazanmış üzüm, incir, armut, elma, ayva, erik gibi birçok meyvenin yetişmesinde ev sahipliği yapmıştır. Bunun sebebi meyvelerin sağladıkları kalorinin yanında içinde barındırdığı vitamin, tuz ve asitler ile insan beslenmesinde ve sağlığında önemli bir rol oynamasıdır (Gerçekçiöglu ve ark. 2006)

Kirazda birçok meyve gibi ülkemiz sınırları içinde yetişmektedir. Karadeniz ve Hazar Denizi arasında kalan bölge kirazın anavatanı olarak bilinmektedir. Diğer kıtalar ile Avrupa'ya kirazın taşınması kuşlar, diğer hayvanlar ve göçmenlerin taşınmasıyla gerçekleşmiştir. Kiraz yetiştiriciliği ülkemizin her bölgesinde yapılmakla birlikte üretilen kirazın büyük bir bölümü taze olarak tüketilmektedir (Burak 2003).

İyi bir kiraz üretimi için kiraz ağaçları sıcak bir büyüme sezonu ile birlikte kış döneminde bir süre dinlenme ve yağmursuz bir hasat dönemi istemektedir. Kış dinlenme döneminde soğuğa dayanım gösteren kiraz ağaçlarında ana dallar ve gövde -26°C , çiçek tomurcukları -2.4°C 'ye dayanabilmesine rağmen çiçeklenme döneminde bu sınırın -2°C olduğu görülmektedir. Ilıman iklim meyveleri arasında en erken olgunlaşan tür olan kiraz ağaçlarının verime geçmesi için 5-6 yaşına ulaşması gerekmele birlikte 25-30 yıllık bir ekonomik ömrü vardır. Gelişiminde en etkileyici faktörün sıcaklık olmasıyla birlikte gerek çok düşük gerek çok yüksek sıcaklıklara dayanamamaktadır (Burak 2003).

Türkiye'nin kiraz yetiştiriciliğinde birinci olduğu çizelge x de görüleceği gibi kiraz yetiştiriciliği dünyanın farklı bölgelerine yayılmıştır. Dünya kiraz üretiminin %27.8'ini Türkiye, %11.3'ünü Amerika Birleşik Devletleri (ABD), %8.86'sını İran karşılamaktadır. Türkiye 2018 yılında 639.564 ton kiraz üretimiyle birinci sırada yer alırken, ABD 312.430 ton üretimiyle ikinci sırada ve Özbekistan ise 172.035 ton üretimiyle üçüncü sırada yer almaktadır.

Çizelge 1.1: Kiraz Üretiminde Önde Gelen Ülkelerin Kiraz Üretim Miktarları (FAO 2019)

Kiraz Üretiminde önde gelen ülkelerin kiraz üretim miktarları (TON)						
		2014	2015	2016	2017	2018
	Üretim Alanı					
Türkiye	(da)	790.420	814.090	847.460	854.870	840.870
	Üretim (ton)	445.556	535.600	599.650	627.132	639.564
	Üretim Alanı					
ABD	(da)	363.000	363.530	363.000	365.400	343.980
	Üretim (ton)	329.852	306.991	315.454	398.140	312.430
	Üretim Alanı					
Özbekistan	(da)	75.970	78.460	90.010	98.300	121.610
	Üretim (ton)	80.000	90.000	110.466	136.609	172.035
	Üretim Alanı					
Şili	(da)	169.330	205.910	244.980	251.090	301.790
	Üretim (ton)	85.367	105.109	126.134	129.508	155.935
	Üretim Alanı					
İran	(da)	207.480	213.000	178.120	168.980	170.240
	Üretim (ton)	133.987	136.000	140.081	135.723	137.268
	Üretim Alanı					
İtalya	(da)	297.660	301.230	291.130	292.740	291.560
	Üretim (ton)	110.766	111.119	94.888	118.259	114.798
	Üretim Alanı					
İspanya	(da)	255.940	264.920	269.460	275.920	273.680
	Üretim (ton)	118.220	94.145	100.503	114.433	106.584

Çizelge 1.2: Türkiye’de 2009-2019 yılları arası kiraz alan, üretim ve verim miktarları (TÜİK 2020)

Türkiye’de 2009-2019 yılları arası kiraz alan, üretim ve verim verileri			
	Üretim Alanı (da)	Üretim (ton)	Verim (da/kg)
2009	624.585	417.694	669
2010	670.459	417.905	623
2011	699.846	438.550	627
2012	744.138	470.887	633
2013	764.594	494.325	647
2014	790.420	445.556	564
2015	814.078	535.600	658
2016	847.461	599.650	708
2017	854.009	627.132	734
2018	840.866	639.564	761
2019	834.474	664.224	796
2020	827.000	724.000	875

Son yıllarda ülkemizde gerek ağaç sayısı gerek üretim olarak sürekli artış göstermekte olan kiraz üretimi çizelge 1.3 de görüldüğü gibi 2010 yılında meyve veren 14740 ağaçtan 417.905 ton iken 2019 yılında 211.115 ağaçtan 664.224 tona yükselmiştir.

Çizelge 1.3: Türkiye’de 2010-2019 yıllarında kiraz ağaç sayısı ve üretim miktarları (TÜİK 2019)

	Meyve Veren	Meyve Vermeyen	Toplam	Üretim
	Ağaç	Ağaç	Ağaç	(Ton)
2010	14.740	7.409	22.149	417.905
2011	15.836	7.553	23.389	438.550
2012	16.916	7.264	24.180	480.748
2013	17.922	7.236	25.158	494.325
2014	19.087	7.232	26.319	445.556
2015	20.616	6.614	27.230	535.600
2016	21.314	6.447	27.761	599.650
2017	21.587	6.332	27.919	627.132
2018	20.880	6.060	26.940	639.564
2019	21.115	5.917	27.032	664.224

Çizelge 1.4’te görüldüğü gibi ülkemizde kiraz üretimi farklı illerde yapılmakla beraber Konya, Manisa ve İzmir üretimin en yoğun yapıldığı yerler olarak ön plana çıkmaktadır. Tekirdağ ilinde ise yıllık kiraz üretimi yaklaşık 3 ton civarındadır.

Çizelge 1.4: Türkiye’de il bazlı kiraz üretimi

		Konya	İzmir	Bursa	Manisa	Amasya	Afyon	Isparta	Diğer İller
2015	Alan(da)	66.762	118.649	60.115	96.482	23.149	35.768	53.762	359.481
	Üretim (ton)	44.085	68.376	28.470	39.713	34.390	28.246	13.768	278.552
2016	Alan(da)	66.635	120.974	62.496	98.855	25.291	42.152	54.268	431.058
	Üretim (ton)	55.426	46.574	32.468	46.648	25.008	40.387	55.657	297.482
2017	Alan(da)	67.044	120.845	60.786	98.770	25.921	42.043	55.330	383.270
	Üretim (ton)	56.294	68.509	34.524	43.638	39.694	35.818	33.353	315.302
2018	Alan(da)	70.987	119.865	60.109	96.533	25.751	43.493	53.319	370.809
	Üretim (ton)	68.204	57.892	52.235	47.348	36.444	41.043	36.275	300.123
2019	Alan(da)	70.543	119.920	59.880	96.004	25.841	43.743	51.330	367.213
	Üretim (ton)	68.213	66.136	60.854	48.465	38.542	37.282	36.533	308.199

Ülkemizde bu kadar yoğun kiraz üretimi yapılırken bu üretimleri tehdit eden birçok biyotik ve abiyotik sorunlar vardır. Fitopatolojik sorunlar arasında mumya (monilya) hastalığına sebep olan *Monilina laxa*, yaprak delen hastalığına sebep *Stigmia carpophila*, dal yanıklığı nedeni olan *Necteria galligena*, bakteriyel kanser hastalık etmeni olan *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ve *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* gibi hastalık etmenleri ürün kalitesi, ürün kayıpları ve ağaç ölümlerine neden olurlar.

Dünya kiraz üretimi yapılan bütün alanlarda yaygın olarak görülen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin neden olduğu dal kanseri mücadelesinin zor olması sebebiyle her yıl önemli kayıplar ortaya çıkmaktadır. Fidan üretim alanlarında ise sistemik enfeksiyonlar sonucunda fidan ölümleri gerçekleşmektedir. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'den dolayı her yıl Almanya’da ağaçların yaklaşık %30’u ölürken benzer kayıplar İtalya ve diğer Avrupa ülkelerinde de görülmektedir (Kennelly ve ark. 2007).

Pseudomonas syringae pv. *syringae* ve *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* hastalığa neden olan patojen bakteriler olmakla beraber düz ya da eğik çubuk şeklinde, 1 veya 2 kamçıya sahip gram negatif hücre yapısında, eni 0.5-1 µm, boyu 1.5-4.0 µm arasında ve DNA’sının %58-71 molü G+C içermektedir (Schaad ve ark. 2001). 1902 yılında Van Hall tarafından hastalıklı bir leylak (*Syringae vulgaris*) bitkisinden ilk *Pseudomonas syringae* izolatını izole etmiştir.

Hastalık etmeni olarak bilinen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin geniş bir konukçu dizisi vardır. Bunların başında kiraz ve kayısı olmakla beraber bunun dışında 80 kadar meyve türü ve turunçgil, armut, badem, dişbudak, ceviz, gül, leylak, zakkum, meşe, söğüt bitkiler ve birçok otsu bitkide de hastalık yaparlar. *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* ise badem, kiraz ve eriğe özelleşmiştir (Agrios 2005).

Pseudomonas syringae pv. *syringae* ve *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* etmeni hastalık belirtisi ağaç çeşidi, ağaç yaşı, bitki dokusu, izolatin virülensliği ve çevre koşullarına göre değişiklik gösterirken ağacın kök hariç bütün organ ve yapılarında ortaya çıkarak hastalık oluşturur (Gasic, Prokic, Ivanovic, Kuzmanovic ve Obradovic 2012).

Hastalık etmeni sürgünlerde geriye doğru ölüm, yaprak ve meyve lekeleri, çiçek demeti yanıklığı, meyve miktarında azalmalar, bitki odun dokusunda kanser ve zamklanmaya neden olur (Kennelly vd., 2007).

Hastalığa karşı farklı çeşitlerde yapılan çalışmalar sonucunda hastalık etmeninin kompleks yapısından dolayı farklı çeşitlerde etmene karşı dayanıklılık görülmüştür (Farhadfar, Keshavarzi, Bouzari, Monghadam ve Soleimani, 2016). Birçok araştırmacı hastalığın epifitik ve endofitik olması nedeniyle mücadelesinin zorlaştığını bildirmiştir (Hattingh, Roos ve Mansvelt, 1989; Kennelly vd., 2007). Hastalığa karşı bakırlı preparat kullanımı ise hastalık mücadelesini belli oranda kontrol altına almıştır (Stone ve Baker 2010).

Hastalık etmeni Türkiye'de 1966 yılında ilk kez Karaca tarafından rapor edilmiştir. Sonrasında *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* hastalık etmeni Antalya, Mersin ve Adana'da turunçgillerde (Mirik vd., 2005), Erzurum ve ilçelerinde kayısı ağaçlarında (Görmez 2011), *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* ise kirazda Marmara ve Ege bölgesinde tespit edilmiştir (Ertimurtaş ve Özaktan 2014; Mirik, Oksel ve Bülbül, 2015).

Tekirdağ kiraz üretim alanlarında arazi çıkışları sonucu yapılan çalışmalarda hastalık yaygınlığının %20-57, hastalık şiddetinin ise %20-85 arasında olduğu tespit edilmiştir (Mirik vd., 2015).

Pseudomonas syringae'nin üretim alanlarında mücadelesi zordur. Patojen hem genç hem de yaşlı ağaçları öldürme yeteneğinde olduğu için dünya çapında önemli kayıplara neden olmaktadır. Sistemik enfeksiyonlar ve genç ağaçların ölümü fidanlıklarda sürekli bir sorundur. Meyve yetiştiriciliği yapılan birçok ülkede ise, sert çekirdekli meyve ağaçlarının yetiştiriciliğini engelleyen en önemli hastalıklardan biridir (Kennelly vd., 2007).

Bu çalışma kapsamında Tekirdağ ilinde kiraz üretiminin yapıldığı Merkez, Yeniçiftlik ve Marmara ereğlisi bölgelerinde toplamda 11 kiraz bahçesi gezilmiş, 37 hastalık şüphesi olan örnek toplanmıştır. Yapılan izolasyon sonucu elde edilen izolatların patojenitesi LOPAT ve GATTa testleri, karbon kaynaklarından asit oluşumu gibi klasik testlerle tanısı yapılarak *Pseudomonas syringae* olup olmadığı tanımlanmıştır.

1.1. Literatür Özeti

Pseudomonas syringae'nin neden olduğu bakteriyel kanser hastalığı dünyada kiraz üretimi yapılan her yerde yaygın olarak görülmekte ve kiraz üretimini önemli ölçüde etkilemektedir. *Pseudomonas syringae* ilk olarak 1902 yılında Van Hall tarafından leylak (*Syringae vulgaris*) bitkisinden izole edilmiştir.

Patojen kiraz ağacının yaprak, sürgün, meyve ve çiçeklerde çeşitli semptomlara neden olmaktadır. Hastalığın karakteristik belirtileri çiçek demeti yanıklığı, sürgünlerde geriye doğru ölüm, yaprak ve meyve lekeleri, odun dokularında açık yaralar (kanser) ile birlikte zamklanma ve genel olarak meyve miktarında azalmalar şeklinde ortaya çıkmaktadır (Kennelly et al. 2007). Patojenin bitkide sebep olduğu hastalık belirtileri; izolatın virülensliğine, çevre koşullarına, konukçu bitkinin yaşına, varyetesine ve bitkidokusuna göre değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Gasic, Prokic, Ivanovic, Kuzmanovic ve Obradovic, 2012).

Pseudomonas syringae pv. *syringae* ülkemizde; Antalya, Mersin ve Adana'da turunçgillerde (Mirik ve ark. 2005), Erzurum ve ilçelerinde kayısı ağaçlarında (Görmez 2011), *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* ise Marmara ve Ege Bölgesinde kirazda, aynı zamanda Ege Bölgesinde bademlerde görülmektedir (Anonim 2008). Hastalık etmeninin Tekirdağ bölgesinde kiraz üretim alanlarında varlığı yapılan survey çalışmaları ile belirlenmiştir (Bülbül 2014).

Pseudomonas syringae patojenik varyetelerinin tanılama çalışmalarında, LOPAT (Levan tipte koloni oluşumu, Oksidaz reaksiyonu, Patateste pektolitik aktivite, Arginin dehidrolaz aktivitesi, Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu testi), GATTa testleri (Gelatine hidrolizi, Aesculin hidrolizi, Tyrosin ve Tartaric asit aktivitesi), karbon kaynaklarından asit oluşumu testi gibi klasik yöntemlerin yanı sıra, patojenisite ve patolojik temelli fitotoksinlerinin dikkate alındığı *in vitro*'da syringomycin üretimi ve buz çekirdeği oluşturma aktivitesinin (ice nucleation activity, INA) saptanması gibi yöntemler de kullanılmaktadır. Ayrıca, moleküler yöntemlerle de izolatların tanıları desteklenmektedir (Ertimurtaş ve ark. 2014, Bülbül 2014).

(Mirik vd. 2015) kiraz dal yanıklığına sebep olan etmenin fenotipik ve genotipik karakterizasyonunu belirlemek için yaptıkları çalışmada LOPAT ve GATTA test sonucuna göre 29 adet izolatu *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, 20 izolatu *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* olarak tanımlamıştır.

Hastalık ile mücadelede, fidan üretiminde sağlıklı üretim materyali kullanılmalı, bahçe tesis edilirken sertifikalı fidan kullanılmalı, kurumuş ve belirti bulunana dallar sonbaharda ilaçlamadan önce enfekteli kısmın 30-60 cm altından kesilerek imha edilmeli, budama aletleri sık sık %10'luk sodyum hipoklorite daldırılarak dezenfekte edilmeli, yabancı ot temizliği yapılmalıdır. Hastalığın kimyasal mücadelesi için bordo bulamacı kullanılmalıdır (Anonim, 2019).

Yapılan çalışmalar; bakır kullanımının çevreye, canlılara, bitki gelişimi ve toprak faunası üzerinde olumsuz etkilere yol açtığını; fitotoksiteye, meyve üzerinde kalıntı problemine ve patojenlerde dayanıklılık mekanizmasının uyarılmasına sebep olduğunu ortaya koymaktadır (Mernington, Rogers ve Zweite, 2002; Vannesta et al., 2003).

Hastalık ile mücadelede biyolojik mücadele altında antagonist bakteri izolatlarının kullanımı, alternatif bir yöntem sunmaktadır. Antagonist bakteriler antimikrobiyal bileşenler, siderefor ve bitkide sistemik kazanılmış dayanıklılık mekanizmasını aktif edilmesini sağlayarak patojen popülasyonu ve gelişimini baskı altına alabilmektedir (Berg ve Hallmann 2006; Reinhold-Hurek ve Hurek, 2011; Zachow et al., 2015)

Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında sorun olan *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırılmasına yönelik yapılan bir çalışmada, meyve ağaçlarının toprak üstü kısımlarından 35 farklı cins ve 62 türe ait toplam 206 adet bakteriyel izolat elde edilmiştir. Elde edilen izolatların antagonistik aktivitesi ve patojen gelişimi üzerine olan antagonistik aktiviteleri *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile test edilmiştir. Test edilen izolatların sadece 71'inin *in-vitro* testlerde patojene karşı antagonistik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlardan 22'si *in-vitro*'da ikili kültür petri denemelerinde 50 mm'nin üzerindeki inhibisyon zonu oluşturmuş ve potansiyel antagonist olarak seçilmiştir. Seçilen bu izolatlar *in-vivo* şartlarda Golden delicious elma sürgünleri kullanılarak test edilmiştir. Çalışma sonucunda testlenen antagonistik bakterilerin patojenin sebep olduğu hastalığı önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Çalışmada en etkili bulunan antagonist bakteri türleri *Pantoea agglomerans*, *Leclercia adecarboxylata*, *Pseudomonas putida*, *Curtobacterium flaccumfaciens*,

Erwinia rhapontici, Alcaligenes piechaudii, Serratia liquefaciens olarak tanımlanmıştır (Kotan ve Şahin, 2006).

1.1.1. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Bu çalışmanın amacı, kiraz üretim alanlarında bakteriyel kansere sebep olan *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'ye karşı etkili bir antagonist bakterilerin *in vitro* ve *in vivo* şartlarda etkinliğini belirlemektir.



2.MATERYAL ve METOT

2.1.Materyal

Patojen İzolat: Çalışmada Tekirdağ ili kiraz üretim alanlarından izole edilmiş olan Naip1 izolatı kullanıldı.

Aday Antagonist İzolatlar: Çalışmada kullanılacak aday antagonistler Tekirdağ ili kiraz bahçelerinden izole edildi.

Besi Yerleri: Çalışmalarda patojen ve aday antagonist izolasyonu için genel besi yeri olarak Nutrient Agar (NA), aday antagonist izolasyonu için Pseudomonas F Agar (PSF) (Lelliott ve Stead, 1987) besi yeri kullanılmıştır. İzolatların +4°C' de uzun süre muhafazası için Yeast Ekstrakt Kalsiyum Karbonat Agar (YDCA) (Lelliott ve Stead, 1987) besi yeri kullanıldı.

Alet ve Ekipman: Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakterioloji laboratuvarında mevcut bulunan otoklav, inkübatör, etüv, pH metre, orbital çalkalayıcı, hassas terazi, manyetik karıştırıcı, spektrofotometre, steril kabin, saf su cihazı, buz dolabı tez çalışmasında kullanıldı.

2.2. Metot

2.2.1 Kiraz Dal Kanseri hastalığının biyolojik mücadelesine yönelik *in vitro* çalışmalar

2.2.1.1. Kiraz yaprak ve çiçeklerinden aday antagonist izolasyonu

2019-2020 yılları Mart-Temmuz aylarında Tekirdağ ili kiraz bahçelerine yapılan surveylerde, sağlıklı ağaçlardan yaprak ve çiçek örnekleri alınacak ve kağıt torbalara konularak laboratuvara getirildi. Aday antagonist bakteri izolasyonu için PSF besi ortamı kullanıldı. İzolasyon için 10 g yaprak ve çiçek örneği tartılarak 90 ml nutrient broth içerisinde 2-3 saat süreyle 150 rpm hızla orbital çalkalayıcıda çalkalanacaktır. Daha sonra yaprak ve çiçek süspansiyonundan 1'er ml alınarak içerisinde 9 ml nutrient broth bulunan tüplere aktarıldı. Her bir örnekten ayrı ayrı seyreltme serisi hazırlandı. Seyreltme serilerinin -4, -5 ve -6'sından 100 µl alınarak 3 tekerrürlü olacak şekilde PSF içeren petrilere baget ile yayılacaktır. Petrilere 48-72 saat 25 °C' de inkübe edilecektir. Petrilere gelişen farklı renk ve tipteki koloniler saflaştırılıp tütün testi yapıldı.

2.2.1.2. Aday antagonistlerin tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonlarının belirlenmesi

Aday antagonist bakteri izolatlarının 24 saatlik kültürlerinden bir öze dolusu alınarak 9 ml nutrient broth ile karıştırıldı ve steril bir şırınga ile tütün yaprağının damar arasına enjekte edildi. 24 saat sonra tütün yapraklarında damar arasında su emmiş leke, nekroz oluşumu gösteren izolatlar patojen olduğu için elendi, herhangi bir belirti göstermeyen izolatlar daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere YDCA besi yerinde inkübe edilip +4°C'de buzdolabında muhafaza edildi.

2.2.1.3. Aday antagonistlerin *in vitro*'da *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'e karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi

Aday antagonist bakteri izolatlarının *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'e karşı etkinliğini belirlemek için ikili kültür testleri yapıldı (Krishnamurthy ve Gnanamarickam, 1998; Mirik, 2005; Küsek, 2007; Çetinkaya-Yıldız, 2007; Horuz, 2014). Elde edilen aday antagonist izolatlar NA besi yerinde geliştirilecek ve gelişen kültürlerin her biri petride 120 derecelik açıyla birbirinden uzak çizilerek üç noktaya nokta ekimi yapılacaktır. Petriler 25 °C'de 24 saat inkübe edilerek aday antagonistlerin gelişimi sağlanacaktır. 24 saat sonra patojenin 1×10^8 hücre/ml konsantrasyondaki süspansiyonu eşit mesafeden petrilere püskürtülerek patojenin eşit olarak yayılması sağlandı. 25°C'de 2 gün inkübasyondan sonra petrilere oluşan engelleme alanları ölçülerek aday antagonist izolatların etkinliği belirlenecektir. Petri denemeleri *in vitro* koşullarda üç tekerrürlü olarak kuruldu.

2.2.1.4. Aday antagonistlerin *in vivo*' da *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'ye karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi

Aday antagonist bakteri izolatlarının *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* karşı *in vivo* koşullarda etkinliğini belirlemek için sağlıklı kiraz çiçek demetleri kullanıldı (Lelliott ve Stead, 1987). Çiçek demetleri koparılarak içerisinde su bulunan şişelere yerleştirilecektir. Aday antagonist bakteri izolatların 24 saatlik kültüründen 10^8 hücre/ml konsantrasyonunda süspansiyon hazırlanarak çiçek demetlerine püskürtüldü. Çiçek demetleri nem çemberinde tutuldu. Aday antagonist uygulamasından 24 saat sonra, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* izolatın 1×10^8 hücre/ml yoğunluğunda konsantrasyonu hazırlanarak çiçek demetlerine püskürtülecektir. Deneme her bir aday antagonist için 3 tekerrürlü olarak kuruldu. Kontrol olarak saf su kullanıldı. Uygulamadan 8-10 gün sonra çiçek demetlerinde oluşan lekelenmeler, oluşturulan 0-4 skala değerine (0:%0-, 1:%10-25, 2:%25-50, 3: %50-75, 4: %75-100) göre

etkili olan antagonist izolatlar belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre uygulamalar arasındaki farklılık Duncan's Multiple Range Testi ile analiz edildi ($P \leq 0.05$).



Şekil 2.1: Patojenin sebep olduğu çiçek belirtilerinin skala değerleri

2.2.1.5. Antagonist İzolatların Tanısı

Deneme sonucuna göre etkili olan antagonist izolatların tanısı MALDI-TOF ile Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Bitki Sağlığı Kliniği Laboratuvarında, Prof. Dr. Soner SOYLU'nun denetiminde yapıldı. MALDI-TOF MS yöntemi analiz edilecek mikroorganizmaların protein yapılarının kütle spektrometresindeki iyonizasyon değerine göre veri tabanında kayıtlı diğer mikroorganizmalar ile karşılaştırılarak tanısı yapıldı (Pavlovic ve ark., 2012).

3. BULGULAR

3.1. Kiraz Dal Kanseri hastalığının biyolojik mücadelesine yönelik *in vitro* çalışmalar

3.3.1.1 Kiraz yaprak ve çiçeklerinden aday antagonist izolasyonu

Tekirdağ ili kiraz üretim alanlarından toplanan çiçek ve yaprak örneklerinin izolasyonu için nutrient agar besi ortamı bulunan petrilere yayma ekim yapılmıştır. Petri kabında farklı renkte ve tipte gelişen koloniler seçilerek NA besi ortamında saflaştırılma işlemi gerçekleştirilmiş ve tütünde HR testi yapılmıştır. Test sonucu negatif olan 29 adet izolat ve Prof. Dr. Mustafa Mirik'in kültür koleksiyonunda bulunan 40 adet izolat, ikili kültür denemelerinde *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* karşı kullanılmıştır.

Çizelge 3.1: Tekirdağ ili kiraz üretim alanlarından izole edilen antagonist izolatlar ve özellikleri

No	İzolat Adı	Alındığı Yer	Bitki Materyali	Morfolojik Koloni Gelişimi	Tütün HR Reaksiyonu
1	KA-1	Naip	Çiçek	Krem	-
2	KA-2	Naip	Çiçek	Krem	-
3	KA-3	Naip	Çiçek	Krem	-
4	KA-4	Naip	Çiçek	Krem	-
5	KA-5	Naip	Yaprak	Krem	-
6	KA-6	Naip	Yaprak	Koyu krem	-
7	KA-7	Naip	Yaprak	Krem	-
8	KA-8	Naip	Yaprak	Krem	-
9	KA-9	Kumbağ	Çiçek	Krem	-
10	KA-10	Kumbağ	Çiçek	Krem	-
11	KA-11	Kumbağ	Çiçek	Krem	-
12	KA-12	Barabros	Yaprak	Krem	-
13	KA-13	Barbaros	Çiçek	Krem-beyaz	+
14	KA-14	Barbaros	Çiçek	Beyaz	-
15	KA-15	Marmaraereğlisi	Yaprak	Mat beyaz	-
16	KA-16	Marmaraereğlisi	Çiçek	Krem-beyaz	+
17	KA-17	Marmaraerelisi	Yaprak	Mat beyaz	-
18	KA-18	Marmaraereğlisi	Yaprak	Mat beyaz	-
19	KA-19	Marmaraerelisi	Çiçek	Krem-beyaz	+

Çizelge 3.1 devamı

20	KA-20	Marmaraereğlisi	Çiçek	Krem-beyaz	+
21	KA-21	Marmaraereğlisi	Çiçek	Krem-beyaz	+
22	KA-22	Marmaraereğlisi	Çiçek	Krem-beyaz	+
23	KA-23	Yeniçiftlik	Çiçek	Krem	-
24	KA-24	Yeniçiftlik	Çiçek	Krem-beyaz	-
25	KA-25	Yeniçiftlik	Çiçek	Krem-beyaz	-
26	KA-26	Yeniçiftlik	Çiçek	Krem-beyaz	+
27	KA-27	Yeniçiftlik	Çiçek	Krem-beyaz	+
28	KA-28	Yeniçiftlik	Çiçek	Mat beyaz	-
29	KA-29	Yeniçiftlik	Yaprak	Mat beyaz	-
30	KA-30	Yeniçiftlik	Yaprak	Mat beyaz	-
31	KA-31	Yeniçiftlik	Yaprak	Beyaz	-
32	KA-32	Yeniçiftlik	Yaprak	Beyaz	-
33	KA-33	Yeniçiftlik	Çiçek	Beyaz	-
34	KA-34	Yeniçiftlik	Çiçek	Beyaz	-
35	KA-35	Yeniçiftlik	Çiçek	Beyaz	-
36	KA-36	Yeniçiftlik	Çiçek	Beyaz	-
37	KA-37	Yeniçiftlik	Çiçek	Beyaz	-

3.3.1.2. Aday antagonistlerin *in vitro*' da *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'e karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi

Elde edilen aday antagonist bakterilerin *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* üzerine antibakteriyel etkisini gözlemlemek için ikili kültür yöntemi kullanılmıştır. İkili kültür testi ile aday antagonist izolatların patojeni baskılama yetenekleri oluşturdukları engelleme alanı ile belirlenmiştir. Çizelge 3.1' de görüldüğü gibi etkili olan 5 izolattan 3 tanesi yapraktan 2 tanesi çiçek örneklerinden elde edilmiştir.

Çizelge 3.2: Aday antagonist bakteri izolatlarının oluşturduğu engelleme alanı (mm)

No	İzolat Adı	İnhibisyon zonu			
		Tekerrür			Ort.
		1	2	3	
1	KA-1	4	3	6	4.33
2	KA-2	-	-	-	
3	KA-3	-	-	-	
4	KA-4	-	-	-	
5	KA-5	5	3	3	3.66
6	KA-6	-	-	-	
7	KA-7	7	5	5	5.66
8	KA-8	-	-	-	
9	KA-9	-	-	-	
10	KA-10	-	-	-	
11	KA-11	-	-	-	
12	KA-12	-	-	-	
13	KA-13	-	-	-	
14	KA-14	-	-	-	
15	KA-15	-	-	-	
16	KA-16	-	-	-	
17	KA-17	-	-	-	
18	KA-18	8	4	5	6.33
19	KA-19	-	-	-	
20	KA-20	-	-	-	
21	KA-21	-	-	-	
22	KA-22	-	-	-	
23	KA-23	-	-	-	
24	KA-24	-	-	-	
25	KA-25	-	-	-	
26	KA-26	-	-	-	
27	KA-27	-	-	-	
28	KA-28	-	-	-	

Çizelge 3.2 devamı

29	KA-29	-	-	-	
30	KA-30	-	-	-	
31	KA-31	-	-	-	
32	KA-32	-	-	-	
33	KA-33	-	-	-	
34	KA-34	-	-	-	
35	KA-35	-	-	-	
36	KA-36	2	2	3	2.33
37	KA-37	-	-	-	
38	MMA-1	-	-	-	
39	MMA-2	-	-	-	
40	MMA-3	-	-	-	
41	MMA-4	-	-	-	
42	MMA-5	-	-	-	
43	MMA-6	-	-	-	
44	MMA-7	-	-	-	
45	MMA-8	-	-	-	
46	MMA-9	-	-	-	
47	MMA-10	-	-	-	
48	MMA-11	-	-	-	
49	MMA-12	-	-	-	
50	MMA-13	-	-	-	
51	MMA-14	-	-	-	
52	MMA-15	-	-	-	
53	MMA-16	-	-	-	
54	MMA-17	-	-	-	
55	MMA-18	-	-	-	
56	MMA-19	-	-	-	
57	MMA-20	-	-	-	
58	MMA-21	-	-	-	
59	MMA-22	-	-	-	
60	MMA-23	-	-	-	

Çizelge 3.2 devamı

61	MMA-24	-	-	-
62	MMA-25	-	-	-
63	MMA-26	-	-	-
64	MMA-27	-	-	-
65	MMA-28	-	-	-
66	MMA-29	-	-	-
67	MMA-30	-	-	-
68	MMA-31	-	-	-
69	MMA-32	-	-	-
70	MMA-33	-	-	-
71	MMA-34	-	-	-
72	MMA-35	-	-	-
73	MMA-36	-	-	-
74	MMA-37	-	-	-
75	MMA-38	-	-	-
76	MMA-39	-	-	-
77	MMA-40	-	-	-

Aday antagonistlerin patojenin gelişimini 2.33-6.33 mm arasında değişen engelleme alanı oluşturduğu görülmüştür. Çalışmada 77 adet aday antagonist kullanılmış fakat sadece 5 adet izolatın *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* üzerine antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.1.: Antagonist izolatların in vitro koşullarda etkinliklerinin test edilmesi

3.3.1.3. Aday antagonistlerin *in vivo*' da *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'ye karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi

Çiçekli kiraz sürgünlerine yapılan uygulamalardan 10 gün sonra antagonistik izolatların çiçeklerdeki hastalığı %16.67-75 arasında baskıladığı saptanmıştır. Çiçeklere KA5 kodlu antagonistik izolat uygulandığında çiçeklerdeki enfeksiyonu %75 oranında baskılayarak istatistiki analiz sonucunda tek bir grupta yer almıştır. KA36 kodlu antagonistik izolat uygulandığında çiçek enfeksiyonunu %50 oranında baskıladığı görülmüştür. Bu izolatlar etkili antagonistler olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.3). Çiçeklere uygulanan 5 izolat hastalığı %16.67-75 oranında baskılayarak *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'ye karşı etkili izolatlar olarak belirlenmişlerdir. Bu izolatlar istatistiki analiz sonucunda dört farklı grupta yer almışlardır. Değerlendirmelerde sadece patojen uygulaması yapılan pozitif kontrolde ortalama hastalık oranı %100 olarak belirlenmiş ve negatif kontrol olarak saf su uygulanmış çiçeklerde hastalık belirtisi görülmemiştir.

Çizelge 3.3: Antagonist izolatların *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin sebep olduğu hastalık şiddeti üzerine etkilerinin belirlenmesi

İzolat adı	Hastalık skala değeri			HASTALIK ŞİDDETİ
	1	2	3	
KA1	2	3	2	%58.33
KA5	2	1	1	%25
KA7	3	3	3	%75
KA18	3	3	4	%83.33
KA36	2	2	2	%50
Patojen	4	4	4	%100
Kontrol	0	0	0	0

3.3.1.4. Antagonistik İzolatların Tanısı

MALDI-TOF MS ile tür düzeyinde yapılan tanılama sonucunda KA1 kodlu antagonist kütüphanedeki izolatlarla karşılaştırıldığında 2.088 skorla *Bacillus mycoides*, KA5 kodlu izolat 1.778 skorla *Pseudomonas chloropsis*, KA7 kodlu izolat 1.728 skorla *Bacillus simplex*, KA18

kodlu izolat 1.966 skorla *Bacillus cereus* ve KA36 kodlu izolat 1.741 skorla *Pseudomonas gessardii* olarak tanılanmıştır.



4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sert çekirdekli meyve ağaçları için önemli hastalık etmenlerinden birisi olan *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin sebep olduğu bakteriyel dal kanseri, ülkemiz için ekonomik öneme sahip kirazın kalite ve verimi üzerinde etkili olarak pazar değerini düşürmektedir. Bakteriyel hastalık etmenleri ile mücadele genel olarak kimyasal kullanımının sınırlı olması ve hastalık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* epifitik hayat dönemine sahip olması, mücadelesini oldukça zorlaştırmaktadır (Kennelly ve ark. 2007).

Son zamanlarda kimyasal kullanımın çevreye ve insan sağlığına olan yan etkileri ele alındığın, çevre dostu alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılmasına yönelik çalışmalar önem kazanmaktadır. Bakteriyel hastalık etmenleri ile mücadelede son yıllarda çevreye dost alternatif mücadele yöntemleri üzerine çalışmalar yürütülmektedir. Bu amaçla bitki uçucu yağ ve ekstrakt uygulamaları, çeşitli bitki aktivatörleri ve antagonist bakteriler ile hastalığın kontrol altına alınabilmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır (Öksel 2014; Baştaş 2015; Aktepe 2017; Karabüyük 2018).

Çalışmada, kiraz üretim alanlarında bakteriyel dal yanıklığına sebep olan *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ile mücadele antagonist bakterilerin etkinliği araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen KA5 kodlu antagonist bakteri izolatu *Pseudomonas chlororopsis* olarak tanılanmış ve hastalığı %75 oranında baskılamıştır. KA36 ve KA1 kodlu *Pseudomonas gessardii* ve *Bacillus mycoides* izolatları %50 ve %41.67 oranında patojenin gelişimini engellemişlerdir.

Biyolojik mücadele çalışmalarında *Pseudomonas* ve *Bacillus* içerikli biyopreparatların çeşitli fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinin gelişimini baskıladığı bildirilmiştir (Thomson, 1986). *Pseudomonas* cinsi bakterilerin indolasetik asit ve siderefor üreterek bitki gelişimini teşvik ettiği ve bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyal etki gösterdiği düşünülmektedir (Mandryk ve ark. 2007). Yapılan çalışmalar *Bacillus* spp. izolatları kullanılarak ile *Ralstonia solanacearum*, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Xanthomonas arboricola* pv. *fragariae* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* karşı biyolojik mücadele çalışmalarının ümit var sonuçlar ortaya koyduğu tespit edilmiştir (Mora ve ark. 2015).

Lana Filho ve ark. (2013), domates fidelerinde *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ile mücadelede *Bacillus amyloliquefaciens* ve *B. pumilus*'un %84-97 oranında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Farklı *Bacillus* spp. izolatları ile yapılan çalışmalarda şeker pancarı

yapraklarında *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'den kaynaklanan doku nekrozlarının %92 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Nikolic ve ark. 2018).

Yapılan çalışmalar ile paralel olarak yüksek lisans tezinde elde edilen sonuçlar, *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinsi antagonist bakteri izolatlarının kiraz dal yanıklık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiğini ortaya koymaktadır *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* hastalık etmeni ile biyolojik mücadele çalışmaları *in vitro* ve yarı *in vivo* olarak yapılmıştır. Bu çalışmada kiraz üretim alanlarında çiçek ve yapraklardan elde edilmiş olan 37 adet aday antagonist ve Prof. Dr. Mustafa MİRİK'in koleksiyonunda bulunan 40 adet antagonis bakteri izolatının *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'ye karşı anti bakteriyel etkisi denenmiş ve 5 adet antagonist bakteri izolatı hem *in vitro* hemde yarı *in vivo* çalışmalarında patojenin gelişimini baskılamıştır.

Elde edilen sonuçlar, patojen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ile kiraz üretim alanlarında mücadelede patojenin gelişiminin baskılanacağına yönelik ümit var sonuçları işaret etmekte ve yapılacak arazi çalışmaları için alt yapı hazırlamaktadır.

KAYNAKLAR

- Agrios, G. N. (2005). Bacterial cankers. *Plant Pathology*, 667-671.
- Anonim (2008). Sert çekirdekli meyvelerde bakteriyel yanıklık hastalığı. *Zirai Mücadele Teknik Talimatları*, Ankara, Cilt 4 içinde (66-68).
- Anonim (2019). www.tagem.gov.tr.
- Baştaş, K. K., (2015). Determination of Antibacterial Efficacies of Plant Extracts on Tomato Bacterial Speck Disease. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 44 (1-3) 1-10.
- Burak, M. (2003). *Meyvecilik-1*, 147-151.
- Bülbül M (2014). Tekirdağ' da Kiraz Dal Kanseri hastalığına neden olan bakteriyel etmenlerin izolasyonu, tanısı ve yaygınlığı. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Çetinkaya-Yıldız, R. (2007). Domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*)' nin tanılanması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakterler ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması. (Doktora Tezi), Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana
- Ertimurtaş, D. ve Özaktan, H. (2014). Sert çekirdekli meyvelerde bakteriyel kansere neden olan *Pseudomonas syringae* pathovarlarının tanısı. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, Antalya
- Ertimurtaş D, Özaktan H (2014). Sert çekirdekli meyvelerde bakteriyel kansere neden olan *Pseudomonas syringae* pathovarlarının tanısı. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, Antalya.
- FAO (2018). www.faostat.fao.org. Dünya kiraz üretimi. 29\11\2018.
- Gasic, K., Prokic, A., Ivanovic, M., Kuzmanovic, N. ve Obradovic, A. (2012). Differentiation of *Pseudomonas syringae* pathovars originating from stone fruits. *Pestic. Phytomed*, 27(3): 201-229
- Gerçekçioğlu, R., Bilginer, Ş. ve Soylu, A. (2006). Genel meyvecilik (Meyve yetiştiriciliği esasları kitabı).

Görmez, A. (2011). Erzurum ilinde kayısı ağaçlarından izole edilen *Pseudomonas* türlerinin tanısı, karakterizasyonu ve çeşit reksiyonları. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Horuz S (2014). Karpuzda bakteriyel meyve lekesi hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli*'nin tanısı, moleküler karakterizasyonu ve bakteriyel antagonistlerle biyolojik mücadele. (Doktora tezi) Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana

Karabüyük (2018). Bitki Ekstraktlarının Domates Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Antimikrobiyal Etmenlerine Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. (Doktora Tezi), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana

Kennely M M, Cazorla F M, Vicente A, Ramos C, Sundin G W (2007). *Pseudomonas syringae* disease on fruit trees. Plant Disease, 91 (1).

Kennelly, M .M., Cazorla, F. M., Vicente, A., Ramos, C. ve Sundin, G. W. (2007). *Pseudomonas syringae* diseases of fruit trees progress toward understanding and control. Plant Disease, 91,1

Krishnamurthy, K., Gnanamarickam, S. S., (1998). Biological control of rice blast by *Pseudomonas fluorescens* strain Pf-14: evaluation of a marker gene and formulations. Biological Control, 13:(158-165).

Küsek, M., (2007). Asmada (*Vitis vinifera* L.) ura neden olan *Agrobacterium vitis*'in tanılanması ve mücadele olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi.

Lanna Filho, R., De Souza, R.M., Ferreira, A., Quecine, M.C.,Alves, E. and De Azevedo, J.L. (2013) Biocontrol activityof *Bacillus*against a GFP-marked *Pseudomonas syringae* pv. *tomatoon tomato phylloplane*. Australas Plant Pathol42, 643–651.

Lelliott R A, Stead D E, (1987). *Methods form he Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants*. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications.

Mandryk, M.N, Kolomiets E.I. and Dey, E.S. (2007). Characterization of antimicrobial compounds produced by *Pseudomonas aurantiaca* S-1. Polish Journal of Microbiology, 56 (4): 245-250.

Mirik M, Baloğlu S, Aysan Y, Çetinkaya Yıldız R, Küsek M and Şahin F (2005). First outbreak and occurrence of citrus blast diseasae, caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on orange and mandarin trees in Turkey. Plant Pathology, 54 (2): 238.

Mirik, M., Baloglu, S., Aysan, Y., Cetinkaya-Yildiz, R., Kusek, M. ve Sahin, F. (2005). First outbreak and occurrence of citrus blast disease, caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, on orange and mandarin trees in Turkey. Plant Pathol. 54:238.

Mora, I., Cabrefiga, J. and Montesinos, E. (2015) Cycliclipopeptide biosynthetic genes and products, andnhibitory activity of plant-associated *Bacillus* against phytopathogenic bacteria. PLoS ONE10, e0127738.

Nikolic1, T. Beric1, I. Dimkic1, T. Popovic2, J. Lozo1, D. Fira1 and S. Stankovi (2018). Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. aptataon sugar beet with *Bacillus pumilus*SS-10.7 and *Bacillus amyloliquefacien s*(SS-12.6 and SS-38.4) strainsI Journal of Applied Microbiology, 126:165-176.

Öksel (2014). Zeytin dal kanseri etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'ye karşı in vitro koşullarda farklı bitkilerin uçucu yağlarının etkisi. (Yüksek Lisans Tezi), Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ

Pavlovic, M., Kondrad R., Iwobi, A.N., Sing, A., Bush, U. and Huber, I. 2012. A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. *FEMS Microbiology Letters* (328):46-53.

Schaad, N. W., Jones, J. B. ve Chun, W. (2001). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN., USA.

Thomson, S. V. (1986). The role of the stigma in fire blight infections. *Phytopathology* 76:476-482.

