Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi
Atatürk University Journal of Agricultural Faculty

Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 52 (2): 176-189, 2021
Atatürk Univ. J. of Agricultural Faculty, 52 (2): 176-189, 2021
ISSN: 1300-9036, E-ISSN: 2651-5016
http://dergipark.gov.tr/ataunizfd

Araştırma Makalesi / Research Article

Kirazda *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin Biyolojik Kontrolünde Yararlı Bakterilerin Kullanımı*

Mustafa AKBABA[1,**,a] **Hatice ÖZAKTAN**[2,b]
[1]Iğdır Universitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Iğdır, Türkiye
[2]Ege Universitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, İzmir, Türkiye
**Sorumlu yazar e-mail: mustafa.akbaba@outlook.com
doi: 10.17097/ataunizfd.830771

Geliş Tarihi (Received): 26.11.2020 Kabul Tarihi (Accepted): 06.02.2021 Yayın Tarihi (Published): 29.05.2021

ÖZ: Bakteriyel Kanser ve Zamklanma Hastalığı, ülkemizde kiraz yetiştiriciliği yapılan alanlarda önemli düzeyde ürün ve verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu hastalığa *Pseudomonas syringae*'nin birden çok patovarı neden olmaktadır. Bu patovarlardan *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 'ye karşı yararlı bakterilerin biyokontrol etkileri *in vitro* ve *in vivo* koşullarda belirlenmiştir. İzmir ve Manisa illerinde bakteriyel kanser belirtisi gösteren kiraz bahçelerinden alınan 44 sağlıklı bitki örneğinden 86 yararlı bakteri izole edilmiştir. *In vitro* test (antibiyosis aktivite; 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminaz üretimi, siderofor üretimi, hidrojen siyanid üretimi) sonuçlarına göre biyokontrol ve bitki gelişimini teşvik etme potaniyeline sahip 12 yararlı bakteri izolatı *in vivo* denemeler için seçilmiştir. Bu yararlı bakteri izolatları, iklim odası koşullarında mikroçoğaltım kiraz bitkicikleri üzerinde patojene karşı denenmiştir. İklim odası denemelerinin sonucunda yararlı bakteri uygulamalarının %30'u (YC1T2272, AL4HL1318, AL3HL2332, AL4T2347 kodlu izolatlar), patojenin neden olduğu hastalık şiddetini önemli seviyede (%50'nin üstünde) engelleme potansiyeli göstermiştir. Patojene karşı biyokontrol potansiyeline sahip 6 izolatın moleküler tanılaması, 16S rRNA gen sekansı kullanılarak yapılmıştır. Bu izolatlar, *Pantaeo* sp. (AL4HL1318, AL1T2344, AL4T2347 kodlu izolatlar), *Bacillus* sp. (HY1BL257 kodlu izolat), ve *Erwinia* sp. (YC1T2272 ve ÖR1T1302 kodlu izolatlar) olarak tanılanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kiraz, Bakteriyel kanser, Yararlı bakteri, Mikroçoğaltım, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

Use of Beneficial Bacteria for Biocontrol of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on Cherry

ABSTRACT: Bacterial Canker and Gummosis Disease causes significant yield losses in the sweet cherry growing regions in our country. This disease is caused by more than one pathovars of *Pseudomonas syringae*. Biocontrol effects of beneficial bacteria against *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* that was one of these pathovars were detected *in vivo* and *in vitro* conditions**.** Eighty-six beneficial bacteria were isolated from 44 plant samples obtained from healthy sweet cherry plants grown in orchards affected by bacterial canker located at İzmir and Manisa provinces. Twelve beneficial bacterial strains that have biocontrol and plant growth-promoting potential according to the results of *in vitro* tests (antibiosis activity; 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase production, siderophore production, hydrogen cyanide production) were selected for in vivo experiments. These beneficial bacterial strains were tested against the pathogen on micropropagation cherry plantlets under climatic chamber conditions. As a result of the climate chamber experiments, 30% of beneficial bacteria treatments (strains YC1T2272, AL4HL1318, AL3HL2332, AL4T2347) have significant potential (over 50%) in preventing the disease severity caused by the pathogen. Molecular identification of six isolates that have biocontrol potential against pathogen has been made using by 16S rRNA gene sequencing. These strains were identified as *Pantaeo* sp. (strains AL4HL1318, AL3HL2332, AL1T2344, AL4T2347), *Bacillus* sp. (strain HY1BL257), and *Erwinia* sp. (strains YC1T2272 and ÖR1T1302).

Keywords: Sweet cherry, Bacterial canker, Beneficial bacteria, Micropropagated, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

GİRİŞ

Hazar ve Karadeniz kıyılarını kapsayan bölgenin, Kiraz (*Prunus avium* L.)'ın anavatanı olduğu bilinmektedir (Iezzoni et al., 2017). Kiraz tohumlarının, Asya'dan hayvanlar aracılığıyla Avrupa'ya, Romalılar ile İngiltere'ye, sömürgeciler ile Avrupa'dan, Kanada ve Amerika'ya taşınmış olabileceği bildirilmektedir (Başkaya, 2009). Türkiye kiraz yetiştiriciliği yapılan ülkeler arasında

Bu makaleye atıfta bulunmak için / To cite this article: Akbaba, M., Özaktan, H., 2021. Kirazda *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin Biyolojik Kontrolünde Yararlı Bakterilerin Kullanımı. Atatürk Univ. Ziraat Fak. Derg., 52 (2): 176-189. doi: 10.17097/ataunizfd.830771

[a]ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7029-9461 [b]ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9971-6508

*Bu çalışma, Mustafa Akbaba'nın Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde kabul edilen doktora tezinin bir kısmıdır.

© Bu makale, Creative Commons Lisansı (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) kapsamında yayınlanmıştır.

639,564 ton/yıl üretim ile ilk sırada yer almaktadır (FAO, 2018). İzmir (66.136 ton/yıl) ve Manisa (48.465 ton/yıl) illeri Türkiye için kiraz yetiştiriciliğinin büyük ölçekte yapıldığı tarım alanlarına sahip yerleşim yerleri arasındadır (TÜİK, 2019). "Bakteriyel Kanser ve Zamklanma Hastalığı" dünya genelinde kiraz yetiştiriciliğinde ekonomik olarak ürün kayıplarına sebep olan önemli bitki hastalıklarından biridir (Vicente et al., 2004; Renick et al., 2008; Otto et al., 2017). Bu tahrip edici hastalığa, birden çok bakteriyel hastalık etmeni [*Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (*Pss*) ve *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* (*Psm* ırk-1/ırk-2)] neden olmaktadır (Bultreys and Kaluzna, 2010).Türkiye'de Sivas ve Malatya illerindeki kayısılarda ortaya çıkan hastalık belirtilerinden bakteriyel kanser hastalığı etmeni *Pss* ilk kez 1977 yılında izole edilmiştir (Türkoğlu et al., 1977). Türkiye'de sert çekirdekli meyvelerden, kayısı (Kotan and Sahin, 2002; Donmez et al., 2010), şeftali (Ozaktan et al., 2008) ve kiraz (Bülbül and Mirik, 2014)'da bakteriyel kanser etmenlerinin varlığı rapor edilmiştir. Bu hastalık etmenlerinin konukçularında neden olduğu tomurcuklar, yaralar ve dal bağlantıları etrafında gelişen nekrozlar, kanserler ve zamk akıntıları hastalığın en tipik belirtileridir. Sonbaharda, yaprak yaprak yara izlerini kullanarak bitki dokularını kolonize eder. Bu dönemde serin, rüzgarlı ve yağışlı iklim koşulları enfeksiyon için uygun şartları oluşturmaktadır (Kennelly et al., 2007). Hastalığın şiddeti yıldan yıla büyük farklılıklar göstermektedir. Bunun nedeni, patojen enfeksiyonunun hava şartlarına bağlı olması ve hastalık etmenlerinin sistemik olarak yayılmasıdır (Thornton and Nugent, 1997; Bultreys and Gheysen, 2003; Karahan et al., 2008; Ertimurtas 2012). Bakteriyel kanserin; Oregon (ABD)'da kiraz bahçelerinde soğuk kışların ve ilkbahar geç donlarının görüldüğü yıllarda, genç bahçelerde ağaçların %75 oranında, normal şartlarda ise, genç bahçelerde ağaçların %10-20 oranında kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Spotts et al., 2010). Kültür bitkilerinde *P. syringae* patovarlarının kontrolü için; bakırlı bileşikler ile kimyasal mücadele, mikrobiyal antagonistler ile biyolojik mücadele, konukçu dayanıklılığı ve diğer kültürel işlemler etkin bir şekilde üreticiler tarafından kullanılmaktadır. Bakteriyel hastalıkların kontrolünde yoğun olarak kullanılan bakırlı bileşiklere dayanınıklılık, bakteriyel hastalık etmenleri için son yıllarda yaygın bir durumdur (Cooksey, 1990; Sundin and Bender, 1993; Scheck et al., 1996; Cazorla et al., 2002). Ayrıca kiraz ağaçlarına karşı oldukça fitotoksik olan bakır, çiçeklenme döneminde sadece çok düşük dozlarda kullanılabilmektedir (Kennelly et al., 2007). *P. syringae*'nin yeni çeşitlere genetik olarak hızlı adapte olması ve odunsu bitkilerde ilerleyen yavaş ıslah sürecinden dolayı hastalık etmenlerine karşı dayanıklı kiraz çeşit elde edilmesi oldukça zordur (Moore, 1988). Son yıllarda bitki bakteri hastalıklarının kontrolü için bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPB)'in etkin bir şekilde kullanımını içeren biyolojik kontrol stratejileri bitki koruma alanında çalışan araştırmacılar arasında oldukça popülerdir. PGPB'ler, bitkiler ile simbiyotik ilişkiye sahip olan serbest yaşayan bakteriler (*Rhizobia* spp. ve *Frankia* spp.) ve bitkilerin içsel dokularını kolonize edebilen endofitik bakterilerdir. PGPB'ler, bitki gelişimini teşvik eden, bitkileri biotik ve abiyotik strese karşı farklı mekanizmalar [Siderofor, antibiyotik, litik enzim üretimi ve uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR) vd.] ile koruyabilen yararlı bakteri (YB)'lerdir (Bakker et al., 2007; de Souza et al., 2015). Bu YB'ler uzun yıllardır entegre hastalık yönetim stratejilerinin bir parçası olarak gelişmiş ülkelerde biyogübre ve biyopestisit olarak etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Bashan and Holguin, 1998; Hayat et al., 2010; Calvo et al., 2014). Dolayısıyla, kimyasallar ile mücadelesi gün geçtikçe sınırlanan patojenlerin kontrolünde kullanılan alternatif yöntemlerin, çevre ile uyumlu, üretici dostu ve bakteriyel patojenlere karşı etkili olması gerekmektedir (Kannan et al., 2015). Bu kapsamda İzmir ve Manisa ili çevresindeki bakteriyel kanser ile bulaşık kiraz bahçelerinden izole edilen YB'lerin *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'ye karşı etkileri*; in vitro* ve *in vivo* koşullarda belirlenmiştir. Bu mikroorganizmaların alternatif bir mücadele aracı olarak bakteriyel kanser etmenlerine karşı gelecekte etkin bir şekilde kullanılabilmesi çalışmanın temel amacını oluşturmaktadır.

MATERYAL VE METOT

Bitkisel materyal, patojen ve gelişme koşulları:

Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü iklim odası koşullarında denemeler 2014 ve 2015 ilkbahar döneminde yapılmıştır. Bu denemeler için Türkiye'de ticari olarak üretimi yapılan MaxMa 14 (*P. mahaleb* x *P. avium*) klon anacının mikroçoğaltım kiraz bitkileri (Agromillora, İzmir) kullanılmıştır. Mikroçoğaltım kiraz bitkileri, steril torf içeren plastik saksılarda (10 cm^2/500cm^3) yetiştirilmiştir. Mikroçoğaltım kiraz bitkileri, 25 ^oC gündüz, 22 ^oC gece ve 16-h fotoperiyotta standart iklim odası koşullarında yetiştirilmiştir. Çalışmamızda hastalıklı kiraz bitkilerinden izole edilmiş; patojenisitesi, fenotipik özelikleri ve moleküler olarak tanısı yapılmış, laboratuvar stoklarında bulunan bakteriyel kanser etmenlerinden *P. syringae* pv. *syringae* kodlu izolat BY5L316 test patojeni olarak kullanılmıştır (Akbaba and Ozaktan, 2021).

YB'lerin izolasyonu, gelişme koşulları ve fenotipik özeliklerinin belirlenmesi:

İzmir ve Manisa ilindeki 17 farklı lokasyonda bulunan kiraz bahçelerinde 2014 ve 2015 yıllarının ilkbahar mevsiminde sörveyler yapılmıştır. Bakteriyel kanser belirtisi gösteren kiraz bahçelerindeki sağlıklı kiraz ağaçlarının yaprak, sürgün, çiçek ve meyvelerinden YB izolasyonu için örnekler alınmıştır. YB'ler gelişme sezonu boyunca alınan bu farklı doku örneklerinden izole edilmiştir. Bu doku örneklerinden alınan kesitler, 10 ml steril saf su içeren polietilen torbalar içerisinde 30-dk süre ile çalkalanmıştır. Bu sürenin sonunda, bu süspansiyondan 100 ul alınarak Triptik Soy Agar (TSA) [30 g Triptic Soy Broth, 15 g agar and 1 L H_2O] içeren petrilerin yüzeyine yayılmıştır. Bu petriler, 24-48 saat 25 °C 'de inkubasyona bırakılmıştır. Gelişen koloniler renk, şekil, yükseklik, kenar yapısı, çap, yüzey, opaklık ve dokusu değerlendirilerek saflaştırılmıştır. %3'lük KOH çözeltisi kullanılarak gram reaksiyonlarına bakılmıştır (Suslow et al., 1982). Tütünde hipersensitiviti (HR) ve 37 °C'de gelişme testleri uygulanarak; HR (-) ve 37 °C'de gelişmeyen izolatlar çalışmanın ilerleyen aşamalarında kullanılmak üzere 15 % (v/v) gliserol içeren sıvı besiyeri içerisinde -80 ^oC saklanmıştır (Nunes et al., 2001; Gerami et al., 2013).

***In vitro*'da YB'lerin biyokontrol ve bitki gelişmini teşvik edici özelliklerinin belirlenmesi:**

Çalışmada izole edilen tüm YB izolatlarının biyokontrol ve bitki gelişimini teşvik edici özellikleri belirlenmiştir. *Pss*'ye karşı antibiosis aktivitesi (Jetiyanon and Kloepper, 2002), hidrojen siyanid (HCN) üretimi (Bakker and Schippers, 1987), ACC katkılı DF minimal tuz ortamında (Dworkin and Foster, 1958) 1-Aminocycolopropane-1-carboxylate (ACC) deaminaz aktivitesi (Saravanakumar and Samiyappan, 2007), Blue-CAS Agar besiyeri üzerinde siderofor üretimi (Louden et al. 2011) ilgili literatürlerden yararlanılarak *in vitro* koşullarda belirlenmiştir. YB'lerin *in vitro* biyokontrol ve bitki gelişimini teşvik etme potansiyellerinin belirlenmesine yönelik testlerin değerlendirilmesinde modifiye edilmiş tartılı derecelendirme yöntemi kullanılmıştır (Serce and Gorgulu, 2009; Akbaba and Ozaktan, 2018). Elde edilen *in vitro* test sonuçlarının bu yönteme [Antibiyosis aktivitesi için %40 (40 puan); Siderofor üretimi için %30 (30 puan); ACC-deaminaz aktivitesi için %20 (20 puan), HCN üretimi için %10 (10 puan) olarak belirlenmiştir] göre değerlendirilmesi sonucunda, en yüksek puana sahip olan YB'ler *in vivo* biyokontrol testleri için seçilmiştir.

***In vivo'*da *Pss*'ye karşı YB'lerin biyokontrol etkilerinin belirlenmesi:**

In vitro testler sonucunda seçilen YB'lerin, mikroçoğaltım kiraz bitkiciklerinde *Pss*'ye karşı biyokontrol etkileri belirlenmiştir. Bu amaçla, -80'de depolanan YB kültürleri canlandırılarak, TSA'ya ekilmiş, 24-48 saat boyunca inkubatörde inkubasyona bırakılmıştır. Gelişen koloniler OD_{600nm}:0.5 konsantrasyonda steril saf su kullanılarak süspanse edilmiştir. YB süspansüyonları, 1-2 damla tween damlatılarak patojen inokulasyonundan 12 saat önce bitki başına yaklaşık 10 ml olacak şekilde mikrocoğaltım bitkiciklerinin yapraklarının alt tarafına püskürtülerek uygulanmıştır. YB uygulamasından 12 saat sonra, yaklaşık 10 ml patojen süspansüyonu (OD_{600nm}:0,1: 10^9cfu/ml) mikrocoğaltım bitkiciklerinin yapraklarını kaplayacak şekilde yaprakların alt yüzeyine püskürtme yöntemi ile uygulanmıştır. Sadece steril su uygulanan bitkicikler negatif kontrol, steril su ve daha sonra patojen süspansiyonu püskürtülen bitkicikler pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir. İnokulasyon sonrası, yüksek oransal nem için bitkicikler polietilen torbalarda 2-gün boyunca 22±2 °C'de 16 h fotoperiotta tutulmuştur. 2-gün sonra torbaları açılarak standart koşullarda denemeye devam edilmiştir. Denemeler 4 tekerrürlü ve her tekerrürde 4-5 yapraklı, 1 mikroçoğaltım kiraz bitkisi olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre iklim odası şartlarında gerçekleştirilmiştir. Denemeler iki kez tekrarlanmıştır. Patojen inokulasyonu sonrası 14 gün boyunca büyüme odasında yetiştirilen bitkiciklerde ortaya çıkan belirtiler dikkatle takip edilmiştir. Hastalığın şiddeti inokulasyondan sonraki, 10. gün sonunda 0-9 skalasına göre değerlendirilmiştir (Vicente and Roberts, 2003). 0-9 skalası: 0, belirti yok; 1, bitkinin bir veya iki yaprağında küçük nekrotik veya klorotik alanların görülmesi; 3, bir bitkinin yarısından azında nektorik veya klorotik lezyonların varlığı; 5, bir bitkinin yarısında nektorik veya klorotik lezyonların görülmesi; 7, bir bitkinin yarısından fazlasında gövde ve yaprakta nekrotik lezyonların görülmesi; 9, ölü bitki. Liu et al. (1995) uyarlanan hastalık indeksi "DI = [Σ (Skala değerine giren toplam bitki sayısı × Skala değeri)/(Toplam bitki sayısı × En yüksek skala değeri)] × 100%" formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

***In vitro* ve *In vivo*'da başarılı olan YB izolatlarının moleküler tanısı:**

Sağlıklı kiraz ağaçlarından alınan bitki örneklerinden izole edilerek, tütünde HR (-) sonuç veren, 37 ^oC'de gelişmeyen YB'ler öncelikle, Gram reaksiyonu (KOH), floresan pigment üretimi gibi testleri ile genus düzeyinde sınıflandırılmıştır (Schaad et al., 2001). *In vivo* test sonuçlarına göre

Pss'ye karşı başarılı bulunan YB'lerin moleküler tanısı, 16s rRNA gen bölgesine göre tasarlanmış, universal primerler 27F (5′ AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3′) ve 1492R (5′ TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3′) kullanılarak yapılmıştır (Hodkinson and Lutzoni 2009). PCR için DNA ekstraksiyonu kaynatma yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Omar et al., 2014). YB kültürleri, TSA besiyerinde 24-48 saat 25 °C'de gelişmeleri için inkubasyona bırakılmıştır. Gelişen YB kültürleri steril saf su ile süspanse edilerek DNA ekstraksiyonu için uygun yoğunlukta (OD_{600nm}, 0.1) hazırlanmıştır. Akbaba and Ozaktan, (2018) tarafından optimize edilmiş PCR protokolü ve YB'lerden ekstrakte edilmiş DNA örnekleri kullanılarak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri, RedSafeT (2000x, iNtRON Biotechnology) nükleik asit boyama solusyonu ile boyanmış, 0.5 x TAE buffer (50xTris-acetate-EDTA, Fermentas) içeren % 1,5'lik agaroz jelde, 80 V'ta 90 dk boyunca yürütülmüştür. GeneRulerTM100 bp DNA ladder (Fermentas) kullanılarak, 1428 bp ortaya çıkan bantlar UV ışık altında görselleştirilmiştir. PCR ürünleri QIA-quick Gel Extraction Kit (QIAGEN) kullanılarak pürifiye edilmiştir. PCR ürünlerinin sekans analizi, Medsantek (Türkiye) şirketi tarafında gerçekleştirilmiştir. Sekansların temizlenmesi ve düzenlenmesi Geneious Prime (Version 2019.0.3) ile yapılmıştır. DNA sekansları, Blastn software (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/) kullanılarak GenBank sekansları ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmadaki YB'lere ait 16S rRNA sekansları, GenBank database içerisine erişim numaraları ile kayıt edilmiştir.

İstatistiksel analizler:

Microsoft Excel 2010 ve SPSS (IBM SPSS Statistics, version 18.0) programları kullanılarak tüm veriler analiz edilmiştir. Verilere varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve ortalamalar arasındaki farklılıklar yapılan DUNCAN çoklu karşılaştırma testiyle belirlenmiştir.

BULGULAR

YB'lerin izolasyonu ve fenotipik özeliklerinin belirlenmesi:

İzmir ve Manisa illerinde 17 farklı lokasyondaki kiraz bahçelerinden alınan 44 sağlıklı bitki örneğinden YB izolasyonu yapılmıştır. İzolasyonların sonucunda gelişen koloniler arasından saflaştırılan; HR (-) veren, 37 ºC'de gelişmeyen 86 izolat uzun süreli saklama için -80 ºC'de depolanmak üzere kayıt altına alınmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Yararlı bakteri izolatlarının özellikleri ve örnekleme yerleri
Table 1. *Sampling locations and characteristics of beneficial bacterial strains*

Sayı	İzolat Kodu*	Örnekleme Yeri	Bitki Dokusu	Gram Test	37 ºC Test	Tütün Test	Floresan Test
1	Y2T1230	Yiğitler	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
2	K1T231	Kemalpaşa	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
3	BY4B1233	Bağyurdu	Tomurcuk	-	-	-	-
4	Ö2T1234	Ören	Sürgün/Gövde	-	-	-	Yeşil
5	Y1T1235	Yiğitler	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
6	Y3B236	Yiğitler	Tomurcuk	-	-	-	-
7	Y2T2239	Yiğitler	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
8	HY1L240	Yiğitler	Yaprak	-	-	-	-
9	BY1L249	Bağyurdu	Yaprak	-	-	-	-
10	Y1T1250	Yiğitler	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
11	Ö2T2251	Ören	Sürgün/Gövde	-	-	-	Yeşil
12	KA1T2254	Kampüs	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
13	A1T256	Armutlu	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
14	HY1BL257	Yiğitler	Çiçek	+	-	-	-
15	HÖ2B3259	Ören	Tomurcuk	+	-	-	-
16	BY2T263	Bağyurdu	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
17	Y3T264	Yiğitler	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
18	A2B265	Armutlu	Tomurcuk	-	-	-	-
19	BY2B266	Bağyurdu	Tomurcuk	-	-	-	-
20	TU3L1267	Turgutlu	Yaprak	+	-	-	-
21	TU3L2268	Turgutlu	Yaprak	-	-	-	-
22	YC1E2269	Yukarıçobanisa	Eksudat	-	-	-	-
23	HAL2T3270	Allahdiyen	Sürgün/Gövde	-	-	-	-

Çizelge 1'in devamı
Contuniation of Table 1

24	YC1T1271	Yukarıçobanisa	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
25	YC1T2272	Yukarıçobanisa	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
26	AC1T1273	Aşağıçobanisa	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
27	AC1T2274	Aşağıçobanisa	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
28	TU2T1277	Turgutlu	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
29	TU2T2278	Turgutlu	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
30	C1T2280	Çiçekliköy	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
31	AC2T1281	Aşağıçobanisa	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
32	C1T3283	Çiçekliköy	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
33	C1T4284	Çiçekliköy	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
34	TU3T1285	Turgutlu	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
35	TU3T2286	Turgutlu	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
36	TU1T1288	Turgutlu	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
37	AL3T2289	Allahdiyen	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
38	TU3T3290	Turgutlu	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
39	HTU1L1291	Turgutlu	Yaprak	-	-	-	-
40	HTU1L2292	Turgutlu	Yaprak	-	-	-	-
41	C1L1293	Çiçekliköy	Yaprak	+	-	-	-
42	C1L2294	Çiçekliköy	Yaprak	+	-	-	-
43	HT2T1295	Tellikavak	Sürgün/Gövde	+	-	-	-
44	HT2T2296	Tellikavak	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
45	HC1L297	Çiçekliköy	Yaprak	-	-	-	-
46	KA1T298	Kampüs	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
47	HYC1L299	Yukarıçobanisa	Yaprak	-	-	-	-
48	K2T1300	Kemalpaşa	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
49	K2T2301	Kemalpaşa	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
50	ÖR1T1302	Örnekköy	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
51	ÖR1T2303	Örnekköy	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
52	Ö6T1304	Ören	Sürgün/Gövde	+	-	-	-
53	Ö6L1306	Ören	Yaprak	+	-	-	-
54	A4L1307	Armutlu	Yaprak	+	-	-	-
55	A3F2311	Armutlu	Meyve	+	-	-	-
56	A4T1317	Armutlu	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
57	AL4HL1318	Allahdiyen	Yaprak	-	-	-	-
58	AL4L1319	Allahdiyen	Yaprak	+	-	-	-
59	HHAL1320	Halilbeyli	Yaprak	+	-	-	-
60	HHAL2321	Halilbeyli	Yaprak	-	-	-	-
61	BO1F1322	Bozdağ	Meyve	-	-	-	-
62	AL2HL1325	Allahdiyen	Yaprak	-	-	-	-
63	HAL1T1326	Halilbeyli	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
64	HAL3T3327	Halilbeyli	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
65	AL3L1328	Allahdiyen	Yaprak	-	-	-	-
66	AL3L2329	Allahdiyen	Yaprak	+	-	-	-
67	GKYM1L330	Gökçeyurt	Yaprak	+	-	-	-

Çizelge 1'in devamı
Contuniation of Table 1

68	HAL1T2331	Halilbeyli	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
69	AL3HL2332	Allahdiyen	Yaprak	-	-	-	-
70	AL2HL2333	Allahdiyen	Yaprak	+	-	-	-
71	AL1L1335	Allahdiyen	Yaprak	-	-	-	-
72	AL2L1336	Allahdiyen	Yaprak	+	-	-	-
73	BO1T1337	Bozdağ	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
74	HAL2T1338	Halilbeyli	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
75	AL5HL1339	Allahdiyen	Yaprak	-	-	-	-
76	GK3T3340	Gökköy	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
77	GK1L1341	Gökköy	Yaprak	+	-	-	-
78	GK1L2342	Gökköy	Yaprak	-	-	-	-
79	AL1T2344	Allahdiyen	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
80	GK3T2345	Gökköy	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
81	AL4T1346	Allahdiyen	Sürgün/Gövde	+	-	-	-
82	AL4T2347	Allahdiyen	Sürgün/Gövde	-	-	-	-
83	HAL3L1350	Halilbeyli	Yaprak	-	-	-	-
84	GK2L1351	Gökköy	Yaprak	+	-	-	-
85	AL3T1352	Allahdiyen	Sürgün/Gövde	+	-	-	-
86	GKYM1L353	Gökçeyurt	Yaprak	-	-	-	-

* İzolat kodlarının sonlarındaki 3 rakam, izolatın – (80) stoğundaki yerini göstermektedir.

YB'lerin *in vitro* biyokontrol ve bitki gelişimini teşvik edici özelliklerinin belirlenmesi ve YB'lerin seçimi:

İzolasyonlar sonucu elde edilen 86 YB izolatı arasından, 4-izolatın stok kültüründe bulaşma olmuştur. 82 izolatın ise, *in vitro*'da biyokontrol ve bitki gelişimini artırma potansiyelleri belirlenmiştir. Yapılan testler sonucunda 82 YB izolatı içerisinde; 3 izolatın antibiosis aktivitesi testinde, 74 izolatın siderofor üretimi testinde, 44 izolatın ACC-deaminaz aktivitesi testinde ve 1 izolatın HCN üretiminin belirlenmesi testinde pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir (Çizelge 2). 82 YB izolatının *in vitro* testlerden elde edilen verileri tartılı derecelendirme yöntemine göre değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonuclarına göre, 36-79 arasında puan alan, 12 YB izolatı (AL4HL1318, YC1T2272, AL3HL2332, Ö6T1304, AL1T2344, AL5HL1339, AL4T2347, HAL3T3327, AL4L1319, ÖR1T1302, A4L1307, HY1BL257 kodlu izolatlar) *in vivo* testler için seçilmiştir.

Çizelge 2. Yararlı bakteri izolatlarının *in vitro* test sonuçları
Table 2. *In vitro test results of beneficial bacterial strains*

Sayı	**İzolat Kodu***	**Antibiyosis Testi (mm)****	**Siderofor Testi (mm)*****	**ACC-deaminaz aktivitesi**	**HCN Ürt.**	**Tartılı Derece. (Puanı)** *****
1	Y2T1230	0	1	-	-	13
2	K1T231	0	1	-	-	13
3	BY4B1233	0	1	-	-	13
4	Ö2T1234	0	1	+	-	33
5	Y1T1235	0	1	-	-	13
6	Y3B236	0	1	+	-	33
7	Y2T2239	0	1	-	-	13
8	HY1L240	0	0	+	-	30
9	BY1L249	0	1	+	-	33
10	Y1T1250	0	1	+	-	33
11	Ö2T2251	0	1,5	+	-	33
12	KA1T2254	0	2	-	-	16
13	A1T256	0	1	-	-	13

Çizelge 2'nin devamı
Contuniation of Table 2

14	HY1BL257	8,3	5	+	-	**79**
15	HÖ2B3259	0	1	+	-	33
16	BY2T263	0	1	-	-	13
17	Y3T264	0	1	-	-	13
18	A2B265	0	1	-	-	13
19	BY2B266	0	1	-	-	13
20	TU3L1267	0	1	-	-	13
21	TU3L2268	0	3	-	-	16
22	YC1E2269	0	1	-	-	13
23	HAL2T3270	0	1	+	-	33
24	YC1T1271	0	2,5	-	-	16
25	YC1T2272	0	6,5	+	-	**42**
26	AC1T1273	0	1	+	-	33
27	AC1T2274	0	0	+	-	30
28	TU2T1277	0	1	+	-	33
29	TU2T2278	0	1	-	-	13
30	C1T2280	0	2,5	-	-	16
31	AC2T1281	0	1	-	-	13
32	C1T3283	0	1	-	-	13
33	C1T4284	0	2	-	-	16
34	TU3T1285	0	1	-	+	3
35	TU3T2286	0	1	+	-	33
36	TU1T1288	0	1	+	-	33
37	AL3T2289	Bulaşık	Bulaşık	Bulaşık	Bulaşık	-
38	TU3T3290	0	1	+	-	33
39	HTU1L1291	0	3,5	-	-	16
40	HTU1L2292	0	1	+	-	33
41	C1L1293	0	1	+	-	33
42	C1L2294	0	1	+	-	33
43	HT2T1295	0	1	+	-	33
44	HT2T2296	Bulaşık	Bulaşık	Bulaşık	Bulaşık	-
45	HC1L297	0	0,5	-	-	13
46	KA1T298	0	1	-	-	13
47	HYC1L299	0	1	-	-	13
48	K2T1300	0	1,5	+	-	33
49	K2T2301	0	2	-	-	16
50	ÖR1T1302	0	18	+	-	**60**
51	ÖR1T2303	0	1	+	-	33
52	Ö6T1304	2	16	+	-	**69**
53	Ö6L1306	Bulaşık	Bulaşık	Bulaşık	Bulaşık	-
54	A4L1307	0	18	+	-	**60**
55	A3F2311	0	1	+	-	33
56	A4T1317	Bulaşık	Bulaşık	Bulaşık	Bulaşık	-
57	AL4HL1318	0	3,5	+	-	**36**
58	AL4L1319	0	11,5	+	-	**48**
59	HHAL1320	0	1	+	-	33
60	HHAL2321	0	1	+	-	33
61	BO1F1322	0	0	-	-	10
62	AL2HL1325	0	0	+	-	30
63	HAL1T1326	0	1	-	-	13
64	HAL3T3327	1,5	2	+	-	**44**
65	AL3L1328	0	1	+	-	33
66	AL3L2329	0	1	+	-	33
67	GKYM1L330	0	1	+	-	33
68	HAL1T2331	0	1	-	-	13

Çizelge 2'nin devamı
Contuniation of Table 2

69	AL3HL2332	0	2	+	-	**36**
70	AL2HL2333	0	0	+	-	30
71	AL1L1335	0	3	-	-	16
72	AL2L1336	0	1	-	-	13
73	BO1T1337	0	0	-	-	10
74	HAL2T1338	0	1	+	-	33
75	AL5HL1339	0	2	+	-	**36**
76	GK3T3340	0	1	-	-	13
77	GK1L1341	0	1	-	-	13
78	GK1L2342	0	0	+	-	30
79	AL1T2344	0	2,5	+	-	**36**
80	GK3T2345	0	1,5	+	-	33
81	AL4T1346	0	1	+	-	33
82	AL4T2347	0	4	+	-	**39**
83	HAL3L1350	0	3	-	-	16
84	GK2L1351	0	0	-	-	10
85	AL3T1352	0	1	-	-	13
86	GKYM1L353	0	1	-	-	13

* İzolat kodlarının sonlarındaki 3 rakam, izolatın – (80) stoğundaki yerini göstermektedir.
** King B'de YB'lerin etrafında oluşan engeleme zonunun yarıçapının ölçülmesi ile elde edilen sonuçlar 4 tekerrürün ortalamasıdır.
*** CAS agarda YB'lerin etrafında oluşan sarımsı-turuncu zonun yarıçapının ölçülmesi ile elde edilen sonuçlar 4 tekerrürün ortalamasıdır.
**** Tartılı derecelendirmeye göre puanlamada HCN'in bitkiler açısından toksik özellik taşıması nedeniyle HCN üretiminin olmaması durumu + 10 puan olarak değerlendirilmiştir.

***In vivo*'da *Pss*'ye karşı YB'lerin biyokontrol etkilerinin belirlenmesi:**

In vitro testlerin tartılı derecelendirme sonuçlarına göre biyokontrol ve bitki gelişimini artıcı özelliklere sahip olan 12 YB izolatının mikroçoğaltım kiraz bitkilerine inokule edilen BY5L316 kodlu *Pss* izolatına karşı biyokontrol etkileri bitki büyüme odası koşullarında belirlenmiştir. Patojen inokulasyonundan 10 gün sonra, yapılan denemelerin ortalama sonuçlarına göre; testlenen YB'lerin % 30 (YC1T2272, AL4HL1318, AL3HL2332, AL4T2347 kodlu izolatlar) kiraz mikroçoğaltım bitkilerinde *Pss*'nin neden olduğu hastalık şiddetini (Pozitif kontrolde hastalık şiddeti: % 48,1) % 50'nin üzerinde engellemiştir. AL4T2347 kodlu YB izolatı % 65.3 hastalık şiddetini engelleme oranı ile pozitif kontrol ve diğer tüm izolatlardan istatistiksel olarak ayrı grupta yer almıştır (Çizelge 3).

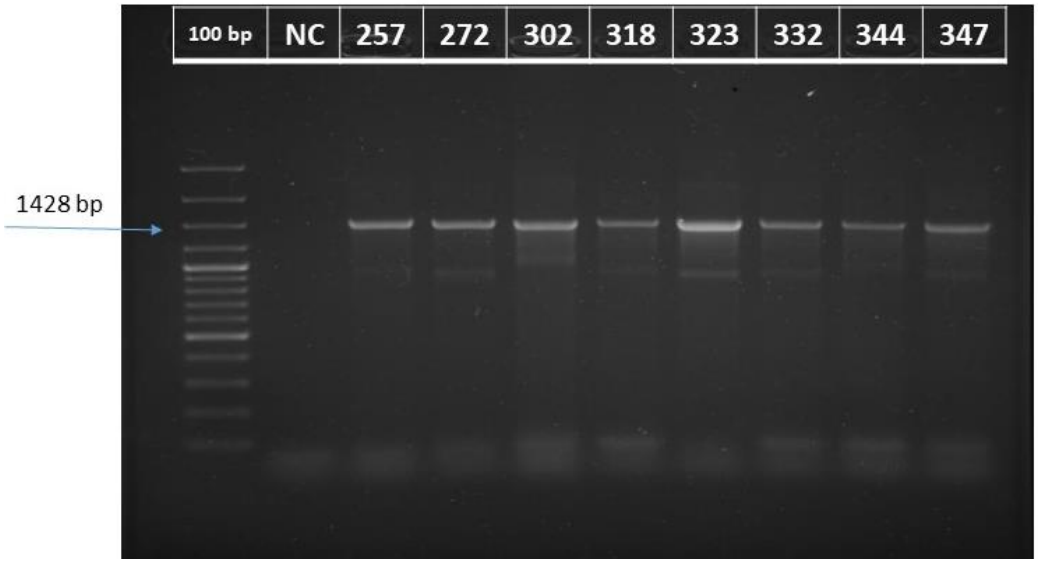
Çizelge 3. *In vivo*'da yararlı bakteri izolatlarının *P. syringae* pv. *syringae'y*e karşı biyokontrol etkileri
Table 3*. In vivo biocontrol effects of beneficial bacterial strains against P. syringae pv. syringae*

Uygulamalar	**Ortalama Hastalık Şiddeti*****	**% Etki**
AL4T2347	16.7 ± 0.84 **a***	65.3
AL3HL2332	18.1 ± 0.69 **ab**	62.5
AL4HL1318	20,8 ± 0.72 **ab**	56.8
YC1T2272	23.6 ± 1.13 **ab**	50.9
Ö6T1304	25.0 ± 0.44 **a-c**	48
AL4L1319	25.0 ± 0.57 **a-c**	48
A4L1307	27.8 ± 0.65 **a-c**	42.3
AL1T2344	27.8 ± 0.39 **a-c**	42.3
ÖR1T1302	29.2 ± 0.91 **a-c**	39.4
HY1BL257	30.6 ± 0.49 **a-c**	36.5
HAL3T3327	30.6 ± 0.66 **a-c**	36.5
AL5HL1339	36.1 ± 0.45 **bc**	24.9
BY5L316 (PK)**	**48.1** ± 0.51 **c**	**0**

*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark P < 0.05'e göre önemsizdir.
** Yalnızca patojen bakteri inokulasyonu yapılmış (PK: Pozitif Kontrol)
***Hastalık indeksi sonuçları iki denemenin ortalamasıdır.

***Pss*'ye karşı başarılı olan YB izolatlarının moleküler tanısı:**

In vitro ve *in vivo* testlerin sonuclarına göre; *Pss*'ye karşı etkili bulunan sadece 6 YB izolatının (HY1BL257, YC1T2272, ÖR1T1302, AL4HL1318, AL1T2344, AL4T2347 kodlu izolatlar) 16s rRNA gen bölgesi için tasarlanmış 27F/1492R primerleri kullanılarak moleküler tanıları yapılmıştır. PCR ürünleri, GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder kullanılarak, 1428 bp'de elde edilen bantlar UV ışık altında görüntülenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. 16s rRNA gen bölgesi için elde edilen PCR ürünün jel görüntüsü (NC: Negatif Kontrol, İzolat kodunun son 3 rakamı (örneğin; HY1BL257 yerine sadece 257) kullanılmıştır

Figure 1. *PCR amplification image of the 16S rRNA gene; Negative Control (NC), Last 3 digits of the code of isolate (eg only 257 instead of HY1BL257) was used on the image to indicate of the sample*

PCR'ın ardından, amplifkasyon ürünleri pürüfikasyon ve sekans analizleri için özel bir şirkete (Medsantek, Türkiye) gönderilmiştir. Düzenlenen sekans sonuçlarına ve NCBI'da gerçekleştirilen BLAST analizlerine göre; HY1BL257 (NCBI Erişim no: MK138675; *Bacillus velezensis* strain CBMB205 sekans benzerliği %92) kodlu izolatın *Bacillus* sp., YC1T2272 (NCBI Erişim no: MK163463; *Erwinia billingiae* strain LMG 2613 sekans beznerliği %95) ve ÖR1T1302 (NCBI Erişim no: MK138678; *Erwinia billingiae* strain LMG 2613 sekans benzerliği %95) kodlu izolatların *Erwinia* spp., AL4HL1318 (NCBI Erişim no: MK138676; *Pantoea agglomerans* strain NCTC9381 sekans benzerliği %91), AL3HL2332 (yeterli sekans elde edilememiştir), AL1T2344 (NCBI Erişim no: MK138679; *Pantoea agglomerans* strain ATCC 27155 sekans benzerliği %99) , AL4T2347 (NCBI Erişim no: MK138696; *Pantoea agglomerans* strain NCTC9381 sekans benzerliği %95) kodlu izolatların ise *Panteoa* spp. olduğu tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Türkiye kiraz üretiminin %70-80'i 0900 ziraat kiraz çeşidi üzerine yoğunlaşmıştır (Bujdosó and Hrotkó, 2017). Üretimin büyük bölümünün tek çeşit üzerine odaklanması yıllara göre üretim miktarlarında büyük ölçüde dalgalanmalara neden olmaktadır. Tek çeşide dayalı üretim, hastalık ve zararlılardan kaynaklanan ürün kayıplarının oranınıda artırmaktadır. Bu kapsamda, *Pseudomoans syringae* patovarlarının neden olduğu bakteriyel kanser hastalığı, ülkemiz kiraz yetiştiriciliğinde üreticilerin başlıca problemlerinden biri olarak dikkat çekmektedir. *Pseudomonas syringae* patovarlarından kaynaklanan çoğu meyve ağaclarındaki hastalıkların yönetimi, başarılı kimyasal ve biyolojik mücadele stratejilerinin olmaması, çeşit dayanıklılığının sınırlı olması nedeniyle oldukça zordur (Kennelly et al., 2007). Biyolojik savaş ajanları; besin rekabeti (karbonhidratlar, azot, demir ve büyüme faktörleri), alan rekabeti (hücre yüzeyindeki reseptörler) veya oksijen için rekabet, antibiyosis, uyarılmış sistemik dayanıklılık ve patojenlerin yaşamsal faaliyetlerini sınırlama mekanizmaları ile mücadelesi zor olan bu tarz bakteriyel bitki hastalıklarının kontrol altına alınmasında etkilidir (Arwiyanto, 2014). Bu kapsamda yaptığımız çalışmada, bakteriyel kanser etmeni *Pss*'ye karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda

başarılı olan YB izolatları tespit edilmiştir. Başarılı olduğu belirlenen bakteri izolatlarının *Erwinia, Panteoa* ve *Bacillus* genusları içerisinde yer aldığı saptanmıştır. Bitki gelişiminin teşvik edilmesi ve bitki hastalıklarının kontrolünde potansiyele sahip olan YB'lerin; *Acinetobacter, Bacillus, Brevibacterium, Chryseobacterium, Citrobacter, Curtobacterium, Enterobacter, Methylobacterium, Microbacterium, Micromonospora, Pantoea, Paenibacillus, Pseudomonas, Ochrobactrum, Streptomyces* ve *Tsukamurella* genusları içerisinde bulunduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Assumpção et al., 2009; Babalola, 2010).

Erwinia, Panteoa ve *Bacillus* genusları içersinde bulunan çalışmamızdaki YB izolatlarının; genel özellikleri incelendiğinde siderofor üretimlerinin yüksek, bazılarının etilenin öncülü olan ACC'yi parçalama kabiliyetine sahip olduğu, küçük bir kısmının antibiyosis aktivitesi gösterdiği ve bitkide fitotoksisiteye neden olabilecek HCN gibi üretmediği tespit edilmiştir. Bu çalışmada *Panteoa* genusunda bulunan AL4T2347 kodlu YB izolatı (*P. agglomerans* strain NCTC9381, % 95 sekans benzerliği) ve *Erwinia* genusunda bulunan YC1T2272 kodlu YB izolatı (*E. billingiae* strain LMG 2613, % 95 sekans benzerliği), *Pss*'nin hastalık şiddetini iklim odası şartlarında sırasıyla % 65,3 ve % 50,9 oranında engellediği saptanmıştır. Almanya'daki bir çalışmaya göre, Elma ve armuttan izole edilen *E. billingiae* (İngiltere) veya *E. tasmaniensis* (Avustralya) süspansüyonu ile inokule edilen ham armut meyvelerinde, bu bakteriler tarafından *E. amylovora*'nın gelişiminin sınırlandırılması nedeniyle bakteriyel akıntı ve nekrotik belirtilerin ortaya çıkmadığı bildirilmiştir. Ayrıca bu bakteri izolatlarının uygulandığı elma çiçeklerine *E. amylovora* inokule edildiğinde, patojenin kolonizasyonunun önemli düzeyde azaldığı ve hastalık belirtilerinin ortaya çıkmadığı kaydedilmiştir. Bu YB'ler ortama yaydığı bazı inhibitör maddelerin hastalık etmenin etkinliğinin sınırlandırılmasında aktif rol oynadığı bildirilmiştir (Geider et al., 2006). Kirazda bakteriyel kanserin biyolojik mücadelesi ile ilgili olarak, Polonya'daki bir çalışmada, nekrozlardan ve kanserlerden elde edilen 79 bakteri izolatının, 29'unun *in vitro* koşularda *Pss*'nin büyümesini inhibe ettiği bildirilmiştir. Bu izolatların *Erwinia, Escherichia, Bacillus* ve *Pseudomonas* genusları içerisinde yer aldığı bildirilmiştir (Sobiczewski, 1987). Domates rizosferinden elde edilen bakteri izolatlarının, *Pss* ve *Psm*'ye karşı biyokontrol potansiyellerinin incelendiği bir araştırmaya göre, test edilen *P. putida* (P482 ve P487) ve *P. fluorescens* (T660 ve T777)'in patojene karşı önemli düzeyde biyokontrol etki sergilediği bildirilmiştir (Golanowska et al. 2012).

YB'lerin; bitkilere uygulanma şekli ve zamanının, bitki gelişmini teşvik etme ve biyokontrol mekanizmalarının, bu bakterilerin patojenlerin kontrolünde etkili kullanılabilmelerini önemli düzeyde etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamızda, YB uygulamaları bitki savunma sisteminin uyarılması için patojen inokulasyonundan önce gerçekleştirilmiştir. Montana (ABD) 'da gerçekleştirile başka bir araştırmada, başaklara püskürtme şeklinde uygulanan Arpa bitkisinden izole edilen *P. agglomerans* izolatlarının, *Pss* 'nin arpa bitkilerinde neden olduğu hastalığın gelişimini önemli oranda azalttığı bildirilmiştir. Bu hastalığın oranının kullanılan izolatlara bağlı olarak sera denemelerinde %50 ile %100 ve tarla denemelerinde ise %45 ile %74 arasında azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca izolatların biyokontrol etkisinin zamana ve uygulanma sıklığına bağlı olarak değiştiği, patojenden önce *P. agglomerans* izolatlarının uygulanmasının bulaşık tanelerin oranını önemli seviyede azalttığı rapor edilmiştir (Braun-Kiewnick et al., 2000). Patojen inokulasyonu öncesinde YB uygulamalarının; patojene karşı ISR'i tetikleyebileceği ve YB'lerin ACC-deaminaze aktivitesi aracılığıyla bitkinin hastalık stresinden daha az etkilenmesini sağlayabildikleri çalışmamız sonuçlarına göre düşünülmektedir. Bakteriler tarafından üretilen ACC deaminaz enziminin, etilen öncülü ACC'yi bozarak bu tür stresleri hafifletebildiği bildirilmiştir (Mayak et al., 2004). Bu bilgiler ışığında YB'lerin ayrıca; patojen ile bitki yüzeyinde veya bitkiye giriş noktalarında karşılaşarak yer ve besin rekabeti içine girmiş olabileceği değerlendirilmektedir. Önceki çalışmalar, patojenler ile PGPB'ler arasındaki rekabetin, bitki hastalıklarının görülme sıklığını ve şiddetini sınırlandırabileceğini göstermiştir. Bu durumun, genellikle PGPB'lerin bitki yüzeylerini hızla kolonize etmesine ve mevcut besin maddelerinin çoğunluğunu kullanmasına dayalı olarak, patojenlerin gelişimini zorlaştırdığı temeline dayandığı bildirilmiştir (Glick, 2012). Ayrıca YB'lerin ürettiği bitki hormonlarının; konukçularının kök solunum hızına ve biyokütlesine, bitkinin metabolik faliyetlerine katkı sağlayarak, bitkilerin mineral ve su alımını geliştirdiği bildirilmiştir (Babalola, 2010). Demirin sınırlı olduğu koşullarda YB'lerin serbest bıraktığı sideroforların, patojenlere karşı biyolojik mücadelede önemli bir rol olduğu bildirilmiştir (Saha et al., 2016). *R. solanacearum*'un neden olduğu *Eucalyptus urophylla*'daki bakteriyel solgunluk hastalığının baskılanmasında etkili olan ISR mekanizmasında, *P. putida* WCS358 tarafından üretilen sideroforların rollerinin olduğu bildirilmiştir (Ran et al., 2005). Ayrıca, YB'ler tarafından üretilen sideroforla, demiri bağlamak yoluyla, patojenlerin demiri kullanabilmesine engel olmaktadır. Bu

durumun, patojenlerin ölümüne ya da yaşam faaliyetlerinin yavaşlamasına neden olarak dolaylı yoldan bitkilerin büyümesini teşvik ettiği bildirilmiştir (Crowley, 2006). Bazı bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (*Pseudomonas* spp., *Serratia* spp. ve *Bacillus* spp.)'in, patojen ile doğrudan temas etmeden patojene karşı konukçu bitkinin savunmasını uyarıcı sinyaller göndererek, ISR'yi tetiklediği bildirilmiştir (Pieterse et al. 2014). YB'lerin, bu mekanizmaların herhangi birini veya bir kaçını kullanarak bitki gelişimini teşvik edebileceği ve bitkiye yaşamı boyunca çeşitli zamanlarda farklı faydalar sağlayabileceği bildirilmiştir (Glick, 2005).

Bakırlı bileşiklere ve antibiyotiklere dayanıklı bakteri izolatlarının sayısındaki önlenemeyen artış, bakteriyel patojenlere karşı kullanılan aktif mücadele stratejilerinin etkiliğinin sınırlanmasına neden olmuştur. Entegre mücadele stratejileri için alternatif arayışları, bitki bakteriyel hastalıklarının birçoğuna karşı YB'lerin etkin bir şekilde kullanılma potansiyellerinin araştırılmasına fırsat vermiştir. Bu araştırmalar kapsamında, biyolojik kontrol potansiyelleri belirlenen YB izolatlarının uygun formülasyonlarının elde edilmeleri durumunda bakteriyel kanser hastalığın mücadelesinde etkin olarak kullanılabileceği bu çalışmanın sonucunda alınan başarılı sonuçlar ile ıspatlanmıştır. Kiraz bahçelerinden izole edilen YB'ler, farklı mekanizmalar kullanarak (antibiyosis, siderofor, ACC-deaminaz) hastalık şiddetini azaltmış veya hastalık etmenlerinin gelişimini sınırlandırmıştır. YB'lerin gösterdiği bu potansiyel etkilerin iyi bir kültürel mücadele ile birlikte kullanılması, bitkinin bakteriyel kansere duyarlı döneminin atlatılması ve hastalığın zarar seviyesinin sınırlandırılmasını sağlayabilir. Ancak, pek çok biyolojik savaş ajanı içinde geçerli olduğu gibi çevresel faktörler ve hedef patojenin duyarlılığı gibi etkenler YB'ler ile mücadelenin başarısınıda önemli seviyede etkilemektedir. YB'lerin çevreye daha uyumlu olmaları, doğada daha uzun süre kalmaları ve patojene karşı etkilerini uzun süreli olarak devam ettirebilmeleri için bitkiye uygulama yöntemlerinin ve tekniklerinin geliştirilmesi ileriki çalışmalarımızın başlıca hedefleri arasında yer alacaktır.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP) kapsamında desteklenmesine olanak sağlayan Ege Üniversitesi ÖYP koordinasyon birimine ve Mikroçoğaltım kiraz bitkilerini sağlayan AGROMİLLORA Ltd. Şti. (Türkiye)'ne teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Yazar Katkıları

HÖ ve MA araştırmayı tasarladı, çalışma planını organize etti, sonuçları değerlendirdi. MA analizlerini yaptı, resimlerin ve tabloların hazırlanması çalışmalarını yürüttü. Tüm yazarlar makalenin yazımına katkı sağladı ve yayın sürecinde makaleyi okuyup onayladı.

KAYNAKLAR

Akbaba, M., Ozaktan, H., 2018. Biocontrol of angular leaf spot disease and colonization of cucumber (*Cucumis sativus* L.) by endophytic bacteria. Egypt. J. Biol. Pest Control, 28 (1): 14.

Akbaba, M., Ozaktan, H., 2021. Evaluation of bacteriophages in the biocontrol of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* isolated from cankers on sweet cherry (*Prunus avium* L.) in Turkey. Egypt. J. Biol. Pest Control, 31 (1): 1-11.

Arwiyanto, T., 2014. Biological control of plant diseases caused by bacteria. Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia, 18 (1): 1-12.

Assumpção, L.D.C., Lacava, P.T., Dias, A.C.F., Azevedo, J.L.D., Menten, J.O.M., 2009. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 44 (5): 503-510.

Babalola, O.O., 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. Biotechnol. Lett., 32 (11): 1559-1570.

Bakker, A.W., Schippers, B., 1987. Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* SPP-mediated plant growth-stimulation. Soil Biol. Biochem.19 (4): 451-457.

Bakker, P.A., Pieterse, C.M., Van Loon, L.C., 2007. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. Phytopathology, 97 (2): 239-243.

Bashan, Y., Holguin, G., 1998. Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant growth-promoting bacteria) and PGPB. Soil Biol. Biochem., 30 (8-9): 1225-1228.

Başkaya, Z., 2009. Türkiye'de Kiraz Tarımının Coğrafi Esasları. Doğu Coğrafya Derg., 26: 45-72.

Braun-Kiewnick, A., Jacobsen, B.J., Sands, D.C., 2000. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, the causal agent of basal kernel blight of barley, by antagonistic *Pantoea agglomerans*. Phytopathology, 90 (4): 368-375.

Bujdosó, G., Hrotkó, K., 2017. Cherry Production. In: Paławska, L.G., Quero-García, J., Iezzoni,

A. (ed) Cherries: Botany, Production and Uses. CABI, Wallingford, pp. 1-13.

Bultreys, A., Gheysen, I., 2003. Diversity among *Pseudomonas syringae* strains from Belgian orchards. In: Iacobellis N.S. et al. (ed) *Pseudomonas syringae* and related pathogens. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 69-77.

Bultreys, A., Kaluzna, M., 2010. Bacterial cankers caused by *Pseudomonas syringae* on stone fruit species with special emphasis on the pathovars *syringae* and *morsprunorum* race 1 and race 2. J. Plant Pathol., 92 (1 supplement): 21-33.

Bülbül, M., Mirik, M., 2015. Prevalence, isolation and identification of bacterial canker pathogens on sweet cherry trees in Tekirdağ. Journal of Turkish Phytopathology, 43: 15-24.

Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J.W., 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. Plant Soil, 383 (1-2): 3-41.

Cazorla, F.M., Arrebola, E., Sesma, A., Pérez-García, A., Codina, J. C., Murillo, J., Vicente, A., 2002. Copper resistance in *Pseudomonas syringae* strains isolated from mango is encoded mainly by plasmids. Phytopathology, 92: 909-916.

Cooksey, D. A. 1990. Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria. Annu. Rev. Phytopathol., 28: 201-219.

Crowley, D. E., 2006. Microbial siderophores in the plant rhizosphere. In: Barton L.L., Abadia J. (ed) Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 169-198.

de Souza, R., Meyer, J., Schoenfeld, R., da Costa, P.B., Passaglia, L.M., 2015. Characterization of plant growth-promoting bacteria associated with rice cropped in iron-stressed soils. Ann. Microbiol., 65 (2): 951-964.

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. Eur. J. Plant Pathol., 126: 241-247.

Dworkin, M., Foster, J.W., 1958. Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen. J. Bacteriol., 75 (5): 592.

Ertimurtas, D., 2012. Sert çekirdeklilerde bakteriyel kansere neden olan *Pseudomonas syringae* pathovarlarının klasik ve moleküler yöntemlerle tanısı. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 82 s.

FAO, 2018. Production of Cherries: top 10 producers. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize (Accessed Date: 23 November 2020).

Geider, K., Jakovljevic, V., Mohammadi, M., Jock, S., 2006. Characterization of epiphytic bacteria from Australia and Europe as possible fire blight antagonists. Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases, 23rd - 26th October 2005, Seeheim/Darmstadt, Germany, pp. 245-248.

Gerami, E., Hassanzadeh, N., Abdollahi, H., Ghasemi, A., Heydari, A., 2013. Evaluation of some bacterial antagonists for biological control of fire blight disease. J. Plant Pathol., 95 (1): 127-134.

Glick, B.R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Scientifica, volume 2012, (online) Article ID 963401, 15 p., (Accessed Date: 23 November 2020).

Glick, B.R., 2005. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. FEMS Microbiol. Lett., 251 (1): 1-7.

Golanowska, M., Ankiewicz, H., Taraszkiewicz, A., Kamysz, W., Czajkowski, R., Królicka, A., Jafra, S., 2012. Combined effect of the antagonistic potential of selected *Pseudomonas* spp. strains and the synthetic peptide "CAMEL" on *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and *P. syringae* pv. *morsprunorum*. J. Plant Pathol., 94 (1 suplement): 1-69.

Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., Ahmed, I., 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. Ann. Microbiol., 60 (4): 579-598.

Hodkinson, B.P., Lutzoni, F., 2009. A microbiotic survey of lichen-associated bacteria reveals a new lineage from the Rhizobiales. Symbiosis, 49 (3): 163-180.

Iezzoni, A., Wünsch, A., Höfer, M., Giovannini, D., Jensen, M., Quero-García, J., Campoy, J. A., Vokurka, A., Barreneche, T., 2017. Biodiversity, germplasm resources and breeding methods. In: Quero-Garcia Iezzoni, A., Pulawska, J., Lang, G. (ed) Cherries: botany, production and uses. CABI International, pp. 36-59.

Jetiyanon, K., Kloepper, J.W., 2002. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. Biol. Control, 24 (3): 285-291.

Kannan, V.R., Bastas, K.K., Antony, R., 2015. Plant Pathogenic Bacteria: An Overview. In Sustainable Approaches to Controlling Plant Pathogenic Bacteria, 1st ed., CRC Press, pp. 16-31.

Karahan, A., Ülke, G., Üstün, N., 2008. Sert çekirdekli meyve ağaçlarinda bakteriyel kanser ve zamklanma (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *P. s.* pv. *morsprunorum*). In: Aydemir, M. (ed) Zirai Mücadele Teknik

Talimatları, Cilt 4, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Ankara, s: 66-69

Kennelly, M.M., Cazorla, F.M., Vicente, A., Ramos, C., Sundin, G.W., 2007. *Pseudomonas syringae* diseases of fruit trees: progress toward understanding and control. Plant Dis., 91: 4-17.

Kotan, R., Sahin, F., 2002. First record of bacterial canker caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, on apricot trees in Turkey. J. Plant Pathol., 51:798-798.

Liu, L., Kloepper, J., Tuzun, S., 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. Phytopathology, 85: 695-698.

Louden, B. C., Haarmann, D., Lynne, A. M., 2011. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. J. Microbiol. Biol. Educ., 12 (1): 51-53.

Mayak, S., Tirosh, T., Glick, B. R., 2004. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. Plant Sci., 166 (2): 525-530.

Moore, L.W., 1988. *Pseudomonas syringae*: dısease and ice nucleation activity. Ornamentals Northwest Archives, 12 (2): 3-16.

Nunes, C., Usall, J., Teixidó, N., Viñas, I., 2001. Biological control of postharvest pear diseases using a bacterium, *Pantoea agglomerans* CPA-2. Int. J. Food Microbiol., 70 (1-2): 53-61.

Omar, B.A., Atif, H.A., Mogahid, M.E., 2014. Comparison of three DNA extraction methods for polymerase chain reaction (PCR) analysis of bacterial genomic DNA. Afr. J. Microbiol. Res., 8: 598-602.

Otto, M., Petersen, Y., Roux, J., Wright, J., Coutinho, T.A., 2017. Bacterial canker of cherry trees, *Prunus avium*, in South Africa. Eur. J. Plant Pathol., 151: 427-438.

Ozaktan, H., Akkopru, A., Bozkurt, A., Erdal, M. 2008. Information on peach bacterial canker in Aegean Region of Turkey. In: Proceedings of STF Meeting on "Determination of the incidence of the different pathovars of Pseudomonas syringae in stone fruits" COST Action 873, Bacterial diseases of stone fruits and nuts, p. 8.

Pieterse, C.M., Zamioudis, C., Berendsen, R.L., Weller, D.M., Van Wees, S.C., Bakker, P.A., 2014. Induced systemic resistance by beneficial microbes. Annu. Rev. Phytopathol., 52: 347-375.

Ran, L. X., Li, Z. N., Wu, G. J., Van Loon, L. C., Bakker, P.H., 2005. Induction of systemic resistance against bacterial wilt in *Eucalyptus urophylla* by fluorescent *Pseudomonas* spp. Eur. J. Plant Pathol., 113 (1): 59-70.

Renick, L. J., Cogal, A. G., Sundin, G. W., 2008. Phenotypic and genetic analysis of epiphytic *Pseudomonas syringae* populations from sweet cherry in Michigan. Plant Dis., 92: 372-378.

Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B.K., Bhattacharjee, S., Tribedi, P., 2016. Microbial siderophores and their potential applications: a review. Environ. Sci. Pollut. Res., 23 (5): 3984-3999.

Saravanakumar, D., Samiyappan, R., 2007. ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. J. Appl. Microbiol., 102 (5): 1283-1292.

Schaad, N.W., Jones, J.B, Chun, W., 2001. Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria. Vol 3, APS Press, St Paul, USA, p. 373.

Scheck, H.J., Pscheidt, J.W., Moore, L.W., 1996. Copper and streptomycin resistance in strains of *Pseudomonas syringae* from Pacific Northwest nurseries. Plant Dis., 80: 1034-1039.

Serce, S., Görgülü, Ö., 2009. Yapay bir veri seti ile tartılı derecelendirme yönteminin yeniden değerlendirilmesi. Alatarım, 8 (2): 43-50.

Sobiczewski, P., 1987. Antagonistic bacteria in relation to *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* occurring in necroses and cankers of sour cherry trees. Fruit Science Reports, 14 (4): 179-85.

Spotts, R.A., Wallis, K.M., Serdani, M., Azarenko, A.N., 2010. Bacterial canker of sweet cherry in oregon-infection of horticultural and natural wounds, and resistance of cultivar and rootstock combinations. Plant Dis., 94: 345-350.

Sundin, G.W., Bender, C.L., 1993. Ecological and genetic analysis of copper and streptomycin resistance in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Appl. Environ. Microbiol., 59 (4): 1018-1024.

Suslow, T., Schroth, M., Isaka, M., 1982. Application of a rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. Phytopathology, 72: 917-918.

Thornton, G., Nugent, J., 1997. Bacterial canker control for sweet cherries. District Fruit IPM Agent and District Horticultural Agent Michigan State University, USA, pp. 1-3.

TÜİK, 2019. Bitkisel Üretim İstatistikleri, Türkiye İstatistik Kurumu, Ankara, https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr (Erişim Tarihi: 23 Kasım 2020).

Türkoglu, K., Cınar, Ö., Öktem, Y., 1977. Sivas ve Malatya illerinde kayısı ağaçlarında kurumaların sebebleri ve en uygun mücadele

metodunun tesbiti üzerinde araştırmalar. TÜBİTAK Yayınları, s. 332.

Vicente, J., Roberts, S., 2003. Screening wild cherry micropropagated plantlets for resistance to bacterial canker. In: Iacobellis N.S. et al. (ed) *Pseudomonas syringae* and related pathogens, Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 467-474.

Vicente, J.G., Alves, J.P., Russell, K., Roberts, S.J., 2004. Identification and discrimination of *Pseudomonas syringae* isolates from wild cherry in England. Eur. J. Plant Pathol., 110: 337-351.