ANADOLU, J. of AARI
ISSN: 1300-0225 (Print)
E-ISSN: 2667-6087 (Online)
2019, 29 (1): 1-14
DOI: 10.18615/anadolu.568756

Ege ve Doğu Marmara Bölgesi Ayva Plantasyonlarında Ateş Yanıklığı Hastalığının Değerlendirilmesi

Müge ŞAHİN[1*] Adalet MISIRLI[2] Hatice ÖZAKTAN[3]

[1]Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, İzmir/TURKEY
[2]Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, İzmir/TURKEY
[3]Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı, İzmir/TURKEY

** Corresponding author (Sorumlu yazar): mugesahin67@hotmail.com*

Received (Geliş tarihi): 30.11.2017 Accepted (Kabul tarihi): 02.01.2018

ÖZ: *Dünya ayva üretiminde ilk sırada yer alan ülkemizde ateş yanıklığı hastalığı, üretimde önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Ayva üretiminin yoğun olarak yapıldığı yörelerde hastalığın yaygınlık oranının belirlenmesi, mücadele açısından önem taşımaktadır. Bu bağlamda, İzmir, Manisa, Bursa, Sakarya ve Denizli illerinde 2015 yılında yürütülen çalışmada, hastalık şiddeti, oranı ile hastalığın yaygınlık oranının belirlenmesi ve ayva plantasyonlarından izole edilen **E. amylovora** izolatlarının klasik ve moleküler yöntemler ile kesin tanılamasının yapılarak virülensi yüksek izolatların saptanması amaçlanmıştır. Surveylerde ortalama 50.000 ağacın yer aldığı, 1.000 dekar ayva bahçesi taranmış ve survey alanında ortalama hastalık oranı % 4,24 olarak belirlenmiştir. İl bazında, bu oran; İzmir'de % 0,54; Manisa'da % 0,65; Bursa'da % 2,85; Sakarya'da % 2,95 ve Denizli'de % 5,90 olarak tespit edilmiştir. Hastalığın yaygınlık oranı ise İzmir'de % 37,50; Manisa'da % 100; Bursa'da % 28,50; Sakarya'da % 44,44 ve Denizli'de % 24,30 olarak belirlenmiştir. Şiddetli epidemi görülen bahçelerden alınan hastalıklı bitki örneklerinde yapılan klasik ve moleküler tanılama testleri sonucunda klasik tanılamada **E. amylovora** olduğu belirlenen izolatlardan bir tanesinin, moleküler tanılamada istenilen uzunlukta bant vermemesi, ateş yanıklığı hastalığına benzer belirti gösteren bakteriyel kanser ve yanıklık etmeni **Pseudomonas syringae** pv. **syringae** gibi farklı bakteriyel etmenlerin de ayva plantasyonlarında bulunduğunu göstermiş ve yapılan tanılama çalışmalarının moleküler yöntemlerle desteklenmesi gerekliliğini ön plana çıkarmıştır. İzolatların hastalık şiddeti % 0-83,33 arasında değişim göstermiştir. Bununla birlikte, 211, 217 ve 223 no'lu izolatlar % 83,33 hastalık şiddeti ve **E. amylovora** için karakteristik olan bakteriyel eksudat oluşumu ile öne çıkmıştır. Üreticilerle yapılan görüşmeler sonucunda, hastalığın bazı bölgelere budama uygulamalarıyla giriş yaptığı ve hızla yayılım gösterdiği tespit edilmiştir. Bursa'da "Eşme", Sakarya'da "Limon", Denizli'de her iki çeşidinde yaygın olarak yetiştirildiği, "Ege 22" çeşidinin, ise İzmir'de son yıllarda önem kazandığı ve hastalık şiddetinin diğer çeşitlere göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Araştırma bulguları sonucunda, duyarlı çeşitlerin yetiştirildiği bölgelerde, hastalık şiddeti ve oranının daha yüksek olduğu kanısına varılmıştır. Yeni plantasyonların tolerant çeşitlerle tesis edilmesine özen gösterilmesi, budama araç gereçlerinin çok iyi dezenfekte edilmesi ve budanan hastalıklı sürgünlerin imha edilmesi gibi kültürel önlemlerle hastalığa karşı mücadele edilmesi gerekmektedir.*

***Anahtar kelimeler: Cydonia oblonga** Mill, **Erwinia amylovora** Burrill, hastalık oranı, hastalık şiddeti, hastalık yaygınlığı.*

Evaluation of Fire Blight Disease on Quince Plantations in Aegean and East Marmara Regions

ABSTRACT: *Turkey which is in the first place in world quince production, fire bligth disease causes significant losses. Determination of the prevalence rate of disease in areas where the quince production is concentrated is very important in terms of struggle to disease. In this context, it was aimed to determine disease severity, disease rate and the prevalency of the disease on quince plantations in İzmir, Manisa, Bursa, Sakarya and Denizli provinces in 2015. In additon, **E. amylovora** isolates were obtained from these areas identified via classical and molecular methods and with high virulence were determined. On average, 50,000 trees were surveyed, and 1,000 decares quince orchards were screened and the average disease rate in the survey area was 4.24%. As the provincial basis, this rate was determined 0.54% in Izmir; 0.65% in Manisa; 2.85% in Bursa; 2.95% in Sakarya and 5.90% in Denizli. The prevalence rate of the disease was 37.50% in Izmir; 100% in Manisa; 28.50% in Bursa; 44.44% in Sakarya and 24.30% in Denizli. As a result of classical and molecular diagnostic tests carried out in the disease samples taken from the infected plants, one of the identified as **E. amylovora** in the classical diagnosis did not give the desired length of tape in the molecular diagnosis. This shows that different bacterial factors such as **Pseudomonas syringae** pv. **syringae** can also found in quince plantations and that the diagnostic studies should be supported with molecular methods. The disease severity of isolates varied between 0-83.33%. However, 211, 217 and 223 isolates were predominant with a disease severity rate*

*of 83.33% and bacterial exudate formation characteristic of **E. amylovora**. As a result of meeting with producers, it is found that the disease entered into some regions with pruning practices and showed rapid spread. It is determined that "Esme" in Bursa, "Limon" in Sakarya, and both varieties in Denizli province are cultivated widely and also "Ege 22" variety is widely cultivated in Denizli and İzmir in recent years and disease severity is lower than other varieties. As a result of the research findings, it has been concluded that the disease severity and proportion is higher in regions where susceptible varieties are grown. It is necessary to fight against the disease by cultural struggle such as taking care to establish new plantations with tolerant varieties, disinfecting the pruning tools very well and destroying the sickly shoots.*

***Keywords: Cydonia oblonga** Mill, **Erwinia amylovora** Burrill, disease rate, disease severity, disease prevalence.*

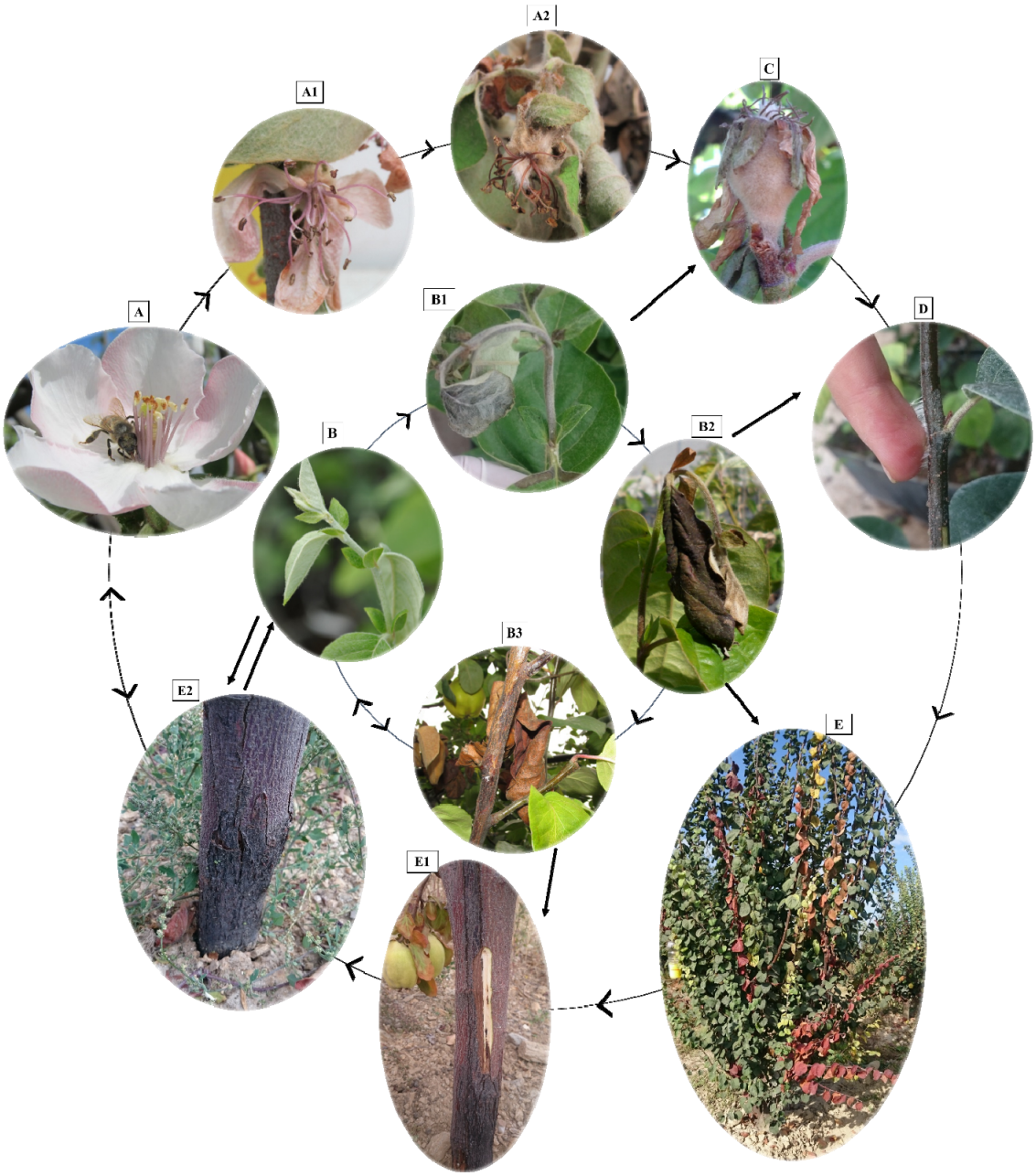
GİRİŞ

Ayva, yumuşak çekirdekli meyveler grubunda elma ve armuttan sonra üretimi en fazla olan türdür ve Türkiye, dünyada 174.038 ton üretim miktarı ile ilk sırada yer almaktadır. Çin, Özbekistan, İran ve Fas ise üretimin yoğun olarak yapıldığı ülkeler olarak ön plana çıkmaktadır (Anonymous, 2017). Türkiye'de ayva üretimi bölgeler bazında incelendiğinde, 133.037 ton ile toplam üretimin 76,44'ünün Marmara Bölgesi'nden sağlandığı görülmektedir. İller bazında ise en yoğun üretim miktarı 102.476 ton ile Sakarya'da olup Bursa, Bilecik, Denizli ve Çanakkale önemli üretim merkezleri olarak sıralanmaktadır (Anonim, 2017).

Ayva üretiminde de, diğer *Rosaceae* familyası türlerinde olduğu gibi, en önemli sorunlardan biri T. J. Burril tarafından 1882 yılında dünyada saptanan ve ilk bakteriyel hastalık olan ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* Burril.) hastalığıdır (Van der Zwet ve Keil, 1979). Gram negatif ve nekroz oluşturan bir bakteri olan *E. amylovora*'nın neden olduğu ateş yanıklığı, dünyada 200 yılı aşkın bir süredir bilinmekle birlikte, ülkemizde ilk kez 1985 yılında Afyon ili Sultandağ ilçesinde yetiştirilen armut ağaçlarında saptanmış (Oktem ve Benlioglu, 1988) ve çok kısa sürede hızla yayılarak ürün kayıplarına yol açmıştır (Oktem ve Benlioglu, 1988; Tokgonul ve Cınar, 1991; Momol ve ark., 1992; Demir ve Gundogdu, 1993). Ege Bölgesi'nde 1986-1991 yılları arasında yumuşak çekirdekli meyve türlerinin, değişen oranlarda bu etmenle bulaşık olduğu tespit edilmiştir (Demir and Gundogdu, 1993). Ayva yetiştiriciliğinde, 1989-1990 döneminde Yugoslavya'da birçok üretim bölgesinde hastalığın şiddetli ve epidemik boyutlarda ortaya çıktığı bildirilmekte (Arsenijevic ve Panic, 1992) ve ayvanın en duyarlı tür olduğu ifade edilmektedir (Postman, 2008; Bobev ve ark., 2009).

Hastalık etmeni, penetrasyon sağlayacak enzimleri bulunmadığından, nektar, stoma gibi doğal açıklıklar (Billing, 2011) ve yara yerlerinden (Van der Zwet ve Beer, 1991) giriş yaparak vasküler sistem ile bitkiye yayılmakta ve tohum dışındaki tüm organlar ile taşınabilmektedir. Enfeksiyon; çiçek, meyve, vejetatif sürgün, odunsu doku ve toprak altı kısımları olmak üzere üzere tüm bitki dokularında ortaya çıkmakta ve çiçek, sürgün ve anaç yanıklığına neden olmaktadır (Vanneste, 2000; Norelli ve ark., 2003). Hastalık döngüsü Şekil 1'de verilmiştir.

Meyve türlerinde görülen hastalıklarla ilgili değerlendirmelerde, yoğun yetiştiricilik yapılan bölgelerde hastalığın ortaya çıkma ve yayılma durumunun belirlenmesi amacıyla surveyler yapılmakta ve hem çeşitler hem de lokasyonlar bazında veriler elde edilmektedir. Diğer yandan ise bu süreçte, tanılama ve patojenisite testleri için gerekli izolat eldesi amacıyla hastalıklı bitki örnekleri toplanmaktadır. Ülkemizde ve dünyada elma, armut, ayva, muşmula ve yenidünya gibi yumuşak çekirdekli meyve türlerinde, ateş yanıklığı etmeninin izolasyonu, klasik ve moleküler yöntemlerle tanılanması, hastalığının şiddeti, oranı ve yaygınlık oranının belirlendiği ve mücadelesine yönelik yapılan birçok çalışma bulunmaktadır (Tokgonul ve Cınar, 1991; Oden ve Alp, 1994; Hepaksoy ve ark., 1999; Geider, 2000; Mirik, 2000; Aysan ve ark., 2004; Ozaktan ve Bora, 2004; Saygili ve ark., 2004; Lopez ve ark., 2006; De Bellis ve Schena, 2007; Atasagun, 2009; Aktepe, 2012; Tunalı, 2013; Arda, 2016; Gok, 2016; Kıpcak ve Akkopru, 2017). Bu araştırmalar ışığında planlanan çalışmada, dünya ayva üretiminde söz sahibi olan ülkemizde, üretim bakımından önem taşıyan Doğu Marmara ve Ege Bölge'sinde yer alan bazı il ve ilçelerde hastalığın durumunun değerlendirilmesi ve ayva plantasyonlarından izole edilen *E. amylovora* izolatlarının kesin tanılamasının yapılarak virülensi yüksek izolatların belirlenmesi amaçlanmıştır.



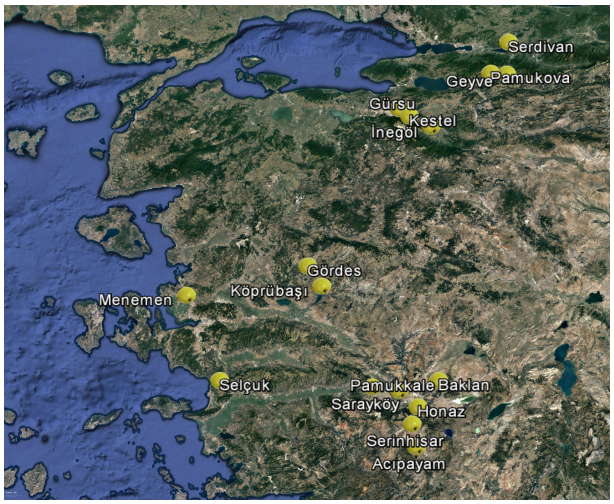
Şekil 1. Ayvada ateş yanıklığı hastalığı döngüsü (Fotoğraf: M. Şahin): A: bakterinin arı gibi vektörler ve nektar aracılığıyla çiçekten bitkiye giriş yapması, yayılması, A1: bulaşık çiçekte meydana gelen ilk belirti, suda haşlanmış görünüm, A2: hastalığın çiçekten yakın yapraklara ilerlemesi ve yanık çiçek ve yapraklar; B: taze ve sağlıklı sürgün, B1: stoma veya yara yerlerinden giriş yapan bakterinin taze sürgünlerde oluşturduğu baston (çoban değneği) görünümü, B2: 1 yıllık sürgünlerde hastalığın ilerlemesi, B3: 2 ve daha yaşlı dallarda hastalığın ilerlemesi, C: çiçek ve sürgün yanıklığının ilerlemesi sonucunda meydana gelen meyve yanıklığı, D: enfekte sürgünlerde oluşan ooze, E: çok yıllık dallarda meydana gelen enfeksiyon, E1: gövdeye ilerleyen hastalığın kabuk ve iç dokuda oluşturduğu tahribat, E2: çiçek, taze sürgün, çok yıllık dal, anaçtan çıkan taze sürgünlerden ilerleyen hastalığın kök boğazında oluşturduğu anaç yanıklığı görünümü.

Figure 1. Fire blight disease cycle in quince (Photo credit: M. Sahin): A: penetrating and spreading of the bacterium from the flowers to the plant via nectar and/or vectors such as bees, A1: first symptom occurring in the infected flower, watersoaked view, A2: disease progression in flowers to nearby leaves and blighted flowers and leaves, B: fresh and healthy shoot, B1: view of the shepherd's crook formed by the bacteria entering the stoma and/or wounds on fresh shoots, B2: disease progression in 1-year shoots, B3: Disease progression in branches of 2 and older, C: fruit blight occurring as a result of the progressing flowers and shoot blight, D: drops of bacterial ooze on the blighted shoots, E: infection occurring in branches, E1: damage of shell and inner tissue with disease progressing to the trunk, E2: view of collar and root blight via spreading of infection from the flowers, fresh shoots, perennial branches and/or fresh shoots originating from rootstocks.

MATERYAL VE METOT

Survey alanı

Surveyler, Doğu Marmara ve Ege Bölgesi'nde ayva üretiminin yoğun olarak yapıldığı; İzmir (Menemen, Selçuk), Manisa (Köprübaşı, Gördes), Bursa (Gürsu, Kestel, İnegöl), Sakarya (Geyve, Serdivan, Pamukova) ve Denizli (Sarayköy, Pamukkale, Baklan, Acıpayam, Serinhisar, Honaz) illerini kapsayacak şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Survey alanı.
Figure 2. Survey area.

E. amylovora izolatları

Surveylerde, ayva ağaçlarından izole edilen *E. amylovora* izolatlarının yanısıra, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı stoklarında bulunan 163 (elma) ve 205 (yabancı izolat) nolu izolatlar moleküler testlemelerde kontrol amacıyla kullanılmıştır.

Besi yerleri

E. amylovora izolatlarının izolasyonu ve tanılaması testlerinin geçekleştirilebilmesi için King B (King ve ark., 1954) ve SNA (Sucrose Nutrient Agar) (Schaad ve ark., 2001) besi yerleri kullanılmıştır. Besi yerlerinin kimyasal içerikleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Primerler

E. amylovora izolatlarının moleküler tanılaması için genomik DNA'lar ve Çizelge 2'de belirtilen G1F-G2R primerleri kullanılarak PCR testi gerçekleştirilmiştir (Taylor ve ark., 2001). Tüm izolatların PCR ürünleri için agaroz jel (% 1,5'lik), elektroforez analizleri için ise Tris-acetate-EDTA (TAE) buffer kullanılmıştır.

Çizelge 1. Besi yerleri ve kullanılan kimyasallar.
Table 1. Plating mediums and chemicals used.

King B		SNA	
Kimyasal Chemical	Miktar Amount	Kimyasal Chemical	Miktar Amount
Pepton	20 g/lt	Nutrient Broth	8 g/lt
K_2HPO_4	1,5 g/lt	Sakkaroz	50 g/lt
$MgSO_47H_2O$	1,5 g/lt	Agar	20 g/lt

Survey çalışmaları, hastalığın şiddeti ve yaygınlığının belirlenmesi

Surveylerin planlanması amacıyla ayva üretiminin yoğun olarak yapıldığı 5 ilde (Sakarya, Bursa, Denizli, İzmir, Manisa) T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarım İl ve İlçe Müdürlükleri'ne anket formları gönderilmiştir. Bu formlar;

- Üretici adı, köyü veya mahallesi,
- Yetiştiriciliği yapılan çeşitlerin yöresel adları (varsa),
- Ağaç sayısı ve bahçe büyüklüğü,
- Hasat tarihi (yaklaşık),
- Hastalığın bahçede görülme durumu,
- Hastalığa dayanımı yüksek olarak gözlemlenen ve/veya doğal olarak yayılış gösteren tiplerin varlığı konusundaki bilgileri içermektedir.

Türkiye İstatistik Kurumu kayıtları (mevcut üretim miktarları, ağaç sayısı istatistikleri), anket sonuçları ve şahsi görüşmeler doğrultusunda survey planı yapılmış ve güzergâhı belirlenmiştir. Buna göre 2015 yılında gerçekleştirilen surveylerde, hastalığın şiddeti, arazide ateş yanıklığı şiddetini belirlemek için kullanılan 1-10 skalası (Van Der Zwet ve Keil, 1979) modifiye edilerek tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Survey yapılan bahçelerdeki hastalık şiddeti ve hastalık oranının tespiti amacıyla, bahçede zig zag çizilerek ağaçlar tesadüfi olarak gezilmiş ve tipik ateş yanıklığı belirtisi taşıyanlar gözlemlenmiştir. Tek bir belirtinin varlığı durumunda, ağaç, hastalıklı olarak değerlendirilmiştir. Bu incelemeler, Lazarov ve Grigorov (1961) modeline göre yapılmış ve her bahçedeki toplam ağaç sayısına göre gözlemlenen ağaç sayısı Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 2. Primer çiftlerinin oligo dizinleri.
Table 2. Oligo sequences of the primer pairs.

Primerler Primers	Oligo dizin Oligo sequences
G1-F	5'- CCTGCATAAATCACCGCTGACAGCTCAATG- 3'
G2-R	5'- GCTACCACTGATCGCTCGAATCAAATCGGC- 3'

Çizelge 3. Ateş yanıklığı hastalık şiddetinin belirlenmesinde kullanılan 1-10 skalası.
Table 3. 1-10 scale used in determining the fire blight disease severity.

Skala değeri Scale value	Açıklama Description
1	Hastalık simptomu yok
2	% 1-3 hastalık şiddeti veya 1 yaşındaki sürgünler üzerinde belirtilerin ortaya çıkması
3	% 4-6 hastalık şiddeti veya 1-2 yaşındaki sürgünler üzerinde belirtilerin ortaya çıkması
4	% 7-12 hastalık şiddeti veya 1-3 yaşlarındaki sürgünlerin 1/8'nin üst kısımlarında belirtilerin ortaya çıkması
5	13-25 hastalık şiddeti veya 3 yaşındaki sürgünlerin 1/4'nin üst kısımlarında belirtilerin ortaya çıkması
6	% 26-50 hastalık şiddeti veya 3 yaşındaki sürgünlerin 1/2'nin üst kısımlarında belirtilerin ortaya çıkması
7	% 51-75 hastalık şiddeti veya ağaç tabanının ve yaşlı dalların 1/4'nin alt kısımlarında belirtilerin ortaya çıkması
8	% 76-88 hastalık şiddeti veya ağaç tabanının ve yaşlı dalların 1/2'nin alt kısımlarında belirtilerin ortaya çıkması
9	% 89-99 hastalık şiddeti veya gövdede belirtilerin ortaya çıkması
10	% 100 hastalık şiddeti veya ağacın tümünün ölmesi

Çizelge 4. Bahçelerdeki toplam ağaç sayısına göre incelenecek ağaç sayıları.
Table 4. Number of trees to be examined according to the total number of trees in orchards.

Toplam ağaç sayısı Total number of trees	İncelenecek ağaç sayısı The number of trees to be examined
20	20
21-70	21-30
71-150	31-40
151-500	41-80
501-1000	% 15
1000<	% 5

Bahçelerdeki hastalık şiddeti, oranı ve yaygınlık oranı aşağıda verilen formüllerden (Bora ve Karaca, 1970) yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Hastalık şiddeti } (S^*)\ (\%) = \frac{\Sigma\ (\text{Hastalıklı ağaç sayısı x Hastalık skalası})}{\text{Gözlenen ağaç sayısı x En yüksek skala değeri}} \times 100$$

$$\text{Hastalık oranı } (I^*)\ (\%) = \frac{\Sigma\ (\text{Hastalıklı ağaç sayısı x S})}{\text{Toplam gözlenen ağaç sayısı x 100}} \times 100$$

$$\text{Hastalık yaygınlığı } (P^*)\ (\%) = \frac{\Sigma\ (\text{Hastalıklı bahçe sayısı})}{\text{Bölgedeki toplam ağaç sayısı}} \times 100$$

* S: Severity; I: Intensity; P: Prevalence

Patojen izolasyonu, klasik ve moleküler tanısı ile virülensliklerinin belirlenmesi

Surveylerde elde edilen ateş yanıklığı belirtilerini gösteren hastalıklı bitki parçalarından etmenin izolasyonu, tanısı ve virülensinin belirlenmesi işlemleri Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Bakteriyoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Hastalık belirtisi gösteren ağaçlardan hastalıklı örnekler (çiçek, sürgün, yaprak, dal) toplanarak, kod numarası verildikten

sonra GPS cihazı ile koordinatları kayıt altına alınmıştır. Alınan bitki parçaları kuru gazete kağıdına sarılıp naylon torba içerisinde izolasyon yapılıncaya kadar +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Hastalıklı bitki parçaları %1'lik sodyum hipokloritde 1 dakika tutulup ardından 3 defa steril saf su ile durulandıktan sonra steril polietilen poşet içerisinde fizyolojik tuzlu suda (% 0,85'lik NaCl) el stomaker'ı yardımıyla ezilmiştir. Öze dolusu süspansiyon King B ve SNA besiyerleri içeren petrilere çizgi ekim yöntemi ile ekilmiştir. Petriler 24-25°C'de 48 saat inkube edildikten sonra koloni gelişimleri incelenmiştir. İstenilen özellikteki koloniler saflaştırılarak sonraki aşamalar için -80°C'de saklanmıştır.

İzolatların konvensiyonel tanısı için; Gram reaksiyonu (KOH testi), King B besiyerinde floresan pigmentasyonun varlığı ve LOPAT (levan, oksidaz, patateste pektolitik aktivite, arginin dehidrolaz ve tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu) testleri yapılmıştır.

Gram reaksiyon testi (KOH)

SNA besiyerinde geliştirilen *E. amylovora* kültürlerinden öze yardımıyla bir miktar alınıp lam üzerinde % 3'lük KOH çözeltisiyle karıştırılarak izolatların Gram reaksiyonları belirlenmiştir. Çözelti ve bakteri 5-10 saniye karıştırıldıktan sonra, öze yukarı doğru kaldırılmış ve çözeltinin viskoz bir hal alıp uzaması Gram negatif bakteri olduğunu göstermiştir (Fahy ve Persley, 1983; Sands, 1990).

King B ortamında gelişim (Floresan pigment oluşumu)

Çizgi ekim yöntemi ile King B besi ortamına ekimi yapılan izolatlar, inkübatörde 25°C' de 48 saat gelişmeye bırakılmıştır. Karanlık ortamda UV translimünatör altında mavi-yeşil pigment oluşumu gözlenmeyenler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Levan oluşumu testi

SNA besiyerine çizgi ekimi yapılan *E. amylovora* izolatları 23-25°C'de 48-60 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda kabarık, mukoid ve konveks olarak gözlemlenen koloniler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Klement ve Goodman, 1967; Lelliott ve Stead, 1987).

Oksidaz testi

Filtre kağıdı üzerine, taze olarak hazırlanan %1'lik N:N:N:N- Tetrametily-1,4 phenylenediammonium diclorid solüsyonu damlatılmıştır. King B besiyerinde 48 saat geliştirilen *E. amylovora* izolatları öze yardımıyla filtre kağıtları üzerine damlatılan solüsyona sürülmüştür. 10 saniye sonra mavi renk veren izolatlar pozitif, vermeyenler ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Kovaks, 1956).

Patateste pektolitik aktivite testi

Patatesler yüzeysel sterilizasyona (suda fırçalama, %1'lik NaCIO'de 3 dakika bekletme, steril saf su ile 2 kez durulama) tabi tutulmuştur. Sonrasında steril bistüri ile kabukları soyularak 1 cm kalınlıkta dilimlenmiş ve steril ıslak filtre kağıdı içeren steril petriye yerleştirilmiştir. Patates dilimlerinin orta kısımlarına açılan oyuklara öze dolusu *E. amylovora* kültürü bulaştırılmıştır. 25°C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirme yapılmıştır. İnokule edilen bölgedeki yumuşama pozitif olarak kabul edilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987).

Arginin dehidrolaz testi

Besiyerleri, litresinde 1 g pepton, 5 g NaCl, 0,3 g K_2HPO_4, 10 g L **(+)** arginin HCl, 0,01 g fenol kırmızısı, 3 g agar içerecek şekilde hazırlanarak pH 7,2'ye ayarlanmış ve tüplere (16*1,5 cm) 3 ml besiyeri konup otoklavlanmıştır. Taze geliştirilmiş *E. amylovora* izolatlarının nokta aşılama ile ekimi yapılmıştır. Tüplerdeki besiyeri üzerine steril parafin ilave edilerek kapatılmıştır. Kültürler 2 hafta 26°C'de inkübe edildikten sonra kırmızıdan vişne rengine dönenler pozitif kabul edilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987).

Tütünde aşırı duyarlılık (HR) reaksiyonu

E. amylovora izolatları %5 SNA içeren besiyerinde 48 saat geliştirildikten sonra hazırlanan 10^8 cfu/ml yoğunluğundaki bakteri süspansiyonu steril enjektör yardımıyla tütün (*Nicotiana tabacum* L. White Burley) yapraklarının alt kısmından damar aralarına enjekte edilmiştir. İnokule edilen bitkilerde ölü doku oluşumu pozitif, oluşmaması ise negatif olarak kabul edilmiştir (Klement ve Goodman, 1967; Lelliott ve Stead, 1987).

İzolatların moleküler tanısı için; konvensiyonel tanılama testlerinde *E. amylovora* olduğu düşünülen izolatların klasik PCR ile moleküler tanılamaları gerçekleştirilmiştir.

King B besiyerinde geliştirilen *E. amylovora* izolatlarının, steril saf su ile süspansiyonu hazırlanarak spektrofotometrede OD_{600nm}: 0,1 değeri ölçülüp, 1,5 ml'lik eppendorf tüplere doldurulmuştur. 10 dakika süre ile kaynatılan bakteri süspansiyonu daha sonra kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir. PCR çalışması Çizelge 5'de belirtilen Taylor ve ark. (2001)'a göre gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, reaksiyon tüpü adı verilen 0,5 ml'lik ince duvarlı eppendorf tüplerde toplam hacmi 25 µl olan reaksiyon karışımı kullanılmıştır. Thermalcycler cihazında kullanılan program Çizelge 6'da belirtildiği gibidir.

Elde edilen PCR ürünleri agaroz jelde yürütülmüştür. Bunun için;

1. 1,5 g agaroz 100 ml 1xTAE tamponuna konularak mikrodalga fırında eriyinceye kadar kaynatılmıştır.
2. Soğutulan solüsyona Cybersafe (Fermentas) eklenmiş tarak yerleştirilen tanka dökülmüştür.
3. Agaroz jelin donmasından sonra tarak dikkatli bir şekilde çekilerek çıkartılmış ve jeli örtünceye kadar 1xTAE tamponu eklenmiştir.
4. Hazırlanan agaroz jel çukurlarına 1 µl loading buffer ve 5 µl PCR ürünü karıştırılıp 5 µl mikropipetle çekilerek kuyucuklara yerleştirilmiştir. Moleküler ağırlık işaretleyici (Marker) olarak 100 bp DNA kullanılmıştır.
5. Elektroforez tankında agaroz jeldeki örnek hücrelerin bulunduğu yer, güç kaynağının negatif (-) kutbuna denk gelecek şekilde yerleştirilmiş ve PCR ürünleri 100 V elektrik akımında yaklaşık 40 dakika süre ile yürütülmüştür.
6. Transliminatörde bantlar incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

Çizelge 5. *E. amylovora* için PCR protokolü.
Table 5. PCR protocol for *E. amylovora*.

Kimyasallar Chemicals	Stok/Başlangıç Stock / Start	Final konsantrasyon Final concentration	1 örnek için gerekli miktar The amount required for 1 sample
PCR reaction Buffer	10 X	1X	2,5 µl
$MgCl_2$	25 mM	1.5mM	1,2 µl
$dNTP_S$	2,5 mM	0,1 mM	1 µl
G1F	10 mM	0,4 mM	1 µl
G2R	10 mM	0,4 mM	1 µl
H_2O	-	-	13,1 µl
TaqPolimeraz	5 U	1 U	0,2 µl
Örnek nükleik asit	10^7 cfu/ml	-	5 µl
Toplam hacim	-	-	25 µl

Çizelge 6. *E. amylovora i*çin PCR çalışma koşulları.
Table 6. PCR operating conditions for *E. amylovora*.

1 Döngü 1 Cycle	30 Döngü 30 Cycle			1 Döngü 1 Cycle	1 Döngü 1 Cycle
95 ºC	94 ºC	60 ºC	72 ºC	72 ºC	15 ºC
3 dk	30 sn	30 sn	1 dk	5 dk	∞

İzolatların virülenslikleri ham armut meyve testi ile belirlenmiş ve King B besiyerinde geliştirilen 48 saatlik bakteri kültüründen saf su ile elde edilen ve spektrofotometre ile 10^8 cfu/ml (OD_{600nm}: 0,4) yoğunlukta ölçülen süspansiyon kullanılmıştır (Thibault ve Lezec, 1990). Haziran ayında toplanan, henüz olgunlaşmamış 2-3 cm çaplı armut meyveleri %70'lik alkol ile dezenfekte edilip uzunlamasına ikiye kesilmiş, her bir dilimin dış yan yüzüne mantar deliciyle 2 adet çukur açılmıştır. Bu çukurlara her bir

E. amylovora izolatından 40 µl süspansiyon inokule edilmiştir. Her bir izolat için 4 adet meyve dilimi kullanılmış ve nemlendirilmiş steril kurutma kağıtlı plastik kaplara yerleştirilerek 27°C'de inkubasyona bırakılmıştır (Beer ve ark., 1984). Uygulamadan 6 gün sonra bakterilerin virülensi 0-3 skalasına (Çizelge 7) göre değerlendirilmiştir (Goorani ve Hassanein, 1991).

Çizelge 7. Ham armut testi 0-3 skalası.
Table 7. Raw pear test 0-3 scale.

Skala değeri Scale value	Açıklama Description
0	Hiç simptom yok
1	Hafif bakteriyel sızıntı ve suda ıslanmış görüntü
2	Daha çok bakteriyel sızıntı ve hafif renk değişikliği
3	Siyah lezyonlarla birlikte yoğun bakteriyel sızıntı

Elde edilen skala değerleri Townsend Heuberger (TH) formülü yardımı ile % hastalık şiddeti değerlerine dönüştürülmüştür (Karman, 1971).

Verilerin analizi

Verilere varyans analizi uygulanmıştır. İstatistiki açıdan önemli çıkan ortalama verileri için LSD testi ile farklılıklar belirlenmiştir (Steel ve Torrie, 1980; Yurtsever, 1984).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Survey çalışmaları, hastalığın şiddeti ve oranı ile yaygınlık oranı

Ayva üretiminin yoğun olarak yapıldığı 5 ilde T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarım İl ve İlçe Müdürlükleri'ni kapsayacak şekilde (Sakarya, 17; Bursa, 17; Denizli, 19; İzmir, 15; Manisa, 15 ilçe) toplam 83 ilçeye, resmi yazı ile gönderilen anket formlarından, 39 ilçeden geri dönüş alınamamıştır. Cevap gelen il ve ilçeler ile ilgili ayrıntılı bilgiler Çizelge 8'de yer almaktadır. Hastalık ilçelere göre farklılık göstermekle beraber, Denizli'de en yüksek yoğunlukta görüldüğü belirtilmiştir.

$$\% \text{ Hastalık şiddeti} = \frac{\Sigma \text{ (Skala değeri x Skalada değerlendirilen örnek sayısı)}}{\text{Toplam örnek sayısı x En yüksek skala değeri}} \text{ x } 100$$

Çizelge 8. Anket sonuçları ile ilgili ayrıntılı bilgiler.
Table 8. Detailed information about the survey results.

İl Province	İncelenen ilçe sayısı Number of district examined	Yetiştiricilik yapılan ve hastalığın görüldüğü ilçe sayısı Number of districts where cultivated and disease ocur	Hastalık yoğunluğu Disease density
Sakarya	7	3	2-orta 1-az
Bursa	13	7	3-yok 1-az 1-orta 2 yüksek
Denizli	14	8	1-az 3-orta 4-yüksek
İzmir	5	2	2-az

Çalışma süresince yaklaşık olarak 50.000 ayva ağacının yer aldığı, 1.000 dekar ayva bahçesi taranmıştır. Bu bahçelerde hastalık şiddeti, oranı ve iller bazında hastalığın yaygınlık oranına ilişkin bulgular Çizelge 9'da görülmektedir.

Survey alanında ortalama hastalık oranı %4,24 olarak belirlenmiştir. İl bazında ise; İzmir'de %0,54; Manisa'da %0,65; Bursa'da %2,85; Sakarya'da %2,95 ve Denizli'de %5,90 olarak tespit edilmiştir. Hastalığın yaygınlık oranı

İzmir'de %37,50; Manisa'da % 100; Bursa'da % 28,50; Sakarya'da % 44,44 ve Denizli'de % 24,30 olarak belirlenmiştir. Yetiştiricilerle yapılan görüşmeler sonucunda hastalığın Denizli ili Sarayköy ilçesine son yıllarda budamacılar aracılığıyla giriş yaptığı ve hızla yayılım gösterdiği tespit edilmiştir. Bu konuda Amasya ve Tokat illerindeki ayva plantasyonlarında yapılan çalışmada, sırasıyla hastalık oranı, %26,73 ve %45,13, yaygınlık oranı ise %100 (Mirik, 2000), Van yöresindeki elma plantasyonlarında ise ortalama yaygınlık oranı %36 olarak saptanmıştır (Kıpcak ve Akkopru, 2017).

Hastalık şiddeti çeşitler bazında incelendiğinde, bu oranın Ege 22 çeşidinde, Eşme, Limon ve Ekmek çeşitlerine göre daha düşük olduğu görülmektedir (Çizelge 9). Bursa'da Eşme, Sakarya'da Limon, Denizli'de hem Limon hem de Eşme çeşitlerinin yaygın olarak yetiştirildiği ve bunlara ek olarak Ege 22 çeşidinin ise İzmir'de son yıllarda önem kazandığı gözlemlenmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgular sonucunda, duyarlı çeşitlerin yetiştirildiği bölgelerde hastalık şiddeti ve oranının daha yüksek olduğu kanısına varılmıştır. Bunu destekler şekilde, Mirik (2000) Tokat ve Amasya'da Eşme, Limon ve Ekmek ayva çeşitlerinin hastalığa karşı çok duyarlı olduklarını saptamıştır. Ayrıca Adana, İçel ve Kahramanmaraş illerinde hastalık yaygınlık ve oranının nispeten yüksek seyretmesinin, çeşitlerin hastalığa karşı duyarlılık düzeylerinden kaynaklandığı ifade edilmektedir (Tokgonul ve Cınar, 1991).

Çizelge 9. Taranan bahçelerde, hastalık şiddeti (S), hastalık oranı (I) ve il bazında hastalığın yaygınlığı (P).
Table 9. Disease severity (S), disease rate (I) and prevalence of disease in province basis (P) in scanned orchards.

İl Province	İlçe District	Çeşit Variety	Toplam ağaç sayısı Total number of trees	İncelenen ağaç sayısı Number of trees examined	S (%)	I (%)	P (%)
İzmir	Menemen	-	420	70	5	0,83	37,50
	Selçuk	Ege 22	300	70	5	1,17	
	Selçuk	Ege 22	1500	225	2	0,30	
	Selçuk	Ege 22	400	70	0	0	
	Selçuk	Ege 22	1000	150	0	0	
	Selçuk	Ege 22	200	50	5	1,25	
	Selçuk	Ege 22	1600	240	5	0,75	
	Selçuk	Ege 22	500	80	0	0	
Manisa	Köprübaşı	-	4000	200	3	0,15	100
	Gördes	Ege 22	350	70	1	0,20	
	Gördes	Ekmek	500	80	10	1,60	
Bursa	Kestel	Eşme	350	70	3	0,60	28,50
	Gürsu	Eşme	600	90	40	6,00	
	Gürsu	-	200	50	5	1,25	
	Kestel	-	350	70	0	0	
	İnegöl	Çöğür	2800	140	0	0	
	İnegöl	Eşme	120	40	10	3,33	
	İnegöl	-	200	50	35	8,75	
Sakarya	Geyve	-	750	120	0	0	44,44
	Geyve	-	4000	200	2	0,10	
	Geyve	-	120	40	25	8,33	
	Geyve	-	120	40	0	0	
	Serdivan	Limon	500	80	0	0	
	Serdivan	-	750	120	0	0	
	Pamukova	-	1000	150	60	9,00	
	Pamukova	Limon	200	50	30	7,50	
	Pamukova	Limon	1330	70	30	1,58	

Çizelge 9. Devam.
Table 9. Continued.

İl Province	İlçe District	Çeşit Variety	Toplam ağaç sayısı Total number of trees	İncelenen ağaç sayısı Number of trees examined	S (%)	I (%)	P (%)
	Sarayköy	Ege 22	300	70	5	1,17	
	Sarayköy	-	1000	150	5	0,75	
	Sarayköy	Limon	240	55	0	0	
	Sarayköy	Eşme	225	60	50	13,33	
	Sarayköy	-	165	40	25	6,06	
	Sarayköy	Eşme	30	30	40	40,00	
	Pamukkale	-	660	100	0	0	
	Pamukkale	-	600	90	0	0	
	Pamukkale	-	270	60	50	11,11	
	Pamukkale	-	665	100	20	3,01	
	Pamukkale	-	1500	75	30	1,50	
	Pamukkale	-	5300	265	40	2,00	
	Pamukkale	Eşme	740	120	20	3,24	
	Pamukkale	-	50	30	30	18,00	
	Pamukkale	-	1500	75	40	2,00	
	Baklan	-	250	60	75	18,00	
	Baklan	-	500	80	0	0	
	Baklan	-	570	85	5	0,75	
Denizli	Baklan	-	200	30	30	4,50	24,32
	Baklan	-	500	80	0	0	
	Acıpayam	-	500	80	0	0	
	Acıpayam	Limon	380	70	0	0	
	Acıpayam	-	200	30	0	0	
	Acıpayam	-	110	40	10	3,64	
	Acıpayam	Limon	790	120	30	4,56	
	Serinhisar	-	30	30	0	0	
	Serinhisar	-	10	10	40	40,00	
	Honaz	-	320	70	50	10,94	
	Honaz	-	300	70	30	7,00	
	Honaz	-	260	60	20	4,62	
	Honaz	-	660	100	40	6,06	
	Honaz	-	260	60	15	3,46	
	Honaz	-	750	120	40	6,40	
	Honaz	-	2500	125	30	1,50	
	Honaz	-	700	120	5	0,86	
	Honaz	-	1250	65	15	0,78	
	Honaz	-	500	80	20	3,20	

Patojen izolasyonu, tanısı ve virülensliklerinin belirlenmesi

İzmir (Menemen, Selçuk), Manisa (Köprübaşı, Gördes, Salihli, Yenice, Demirci), Bursa (Gürsu, Kestel, İnegöl), Sakarya (Geyve, Serdivan, Pamukova) ve Denizli (Sarayköy, Pamukkale, Baklan, Acıpayam, Serinhisar, Honaz) illerinde incelenen ayva plantasyonlarından hastalık belirtisi gösteren yaprak, meyve ve sürgün örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucunda Çizelge 10'da yer alan izolatlar elde edilmiştir. Bu izolatlara ait klasik tanılama testleri (Gram reaksiyonu, floresan pigment oluşumu, LOPAT) sonuçları Çizelge 11'de belirtilmiştir.

Çizelge 10. Çalışma kapsamında izole edilen *E. amylovora* izolatları.
Table 10. Isolated *E. amylovora* isolates in the study.

İzolat no. Isolate no.	İl / İlçe Province/ District	İzolat no. Isolate no.	İl / İlçe Province/ District
154	Sakarya	211	Bursa
155	Sakarya	212	Bursa
159	Sakarya	213	Bursa
169	Sakarya	214	Baklan
170	Salihli	215	Baklan
172	Gördes	216	Acıpayam
173	Manisa	217	Baklan
174	Yenice	218	Honaz
176	Demirci	219	Pamukkale
177	Demirci	220	Honaz
204	Menemen	221	Pamukkale
208	Menemen	222	Honaz
209	Menemen	223	Selçuk
210	Menemen		

Çizelge 11. *E. a*mylovora izolatlarının klasik tanılama sonuçları.
Table 11. Classical diagnostic results of *E. amylovora* isolates.

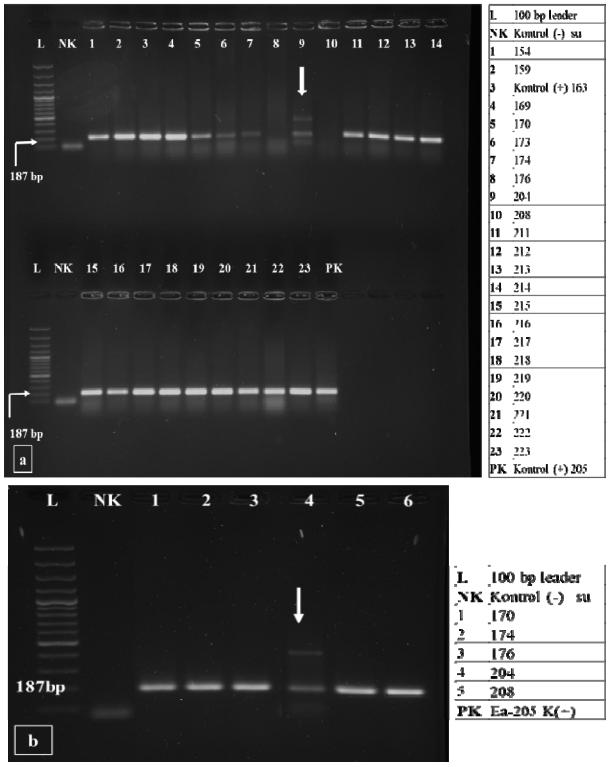
İzolat numarası Isolate no	Gram reaksiyon Gram reaction	Floresan pigment Fluorescent pigment	Levan oluşum Levan formation	Oksidaz Oxidase	Patateste pektolitik aktivite Pectolytic activity in potatoes	Arginin dehidrolaz Arginine dehydrolase	Tütünde aşırı duyarlılık Hypersensitivity to tobacco
154	-	-	+	-	-	-	+
155	-	-	-	-	-	-	-
159	-	-	+	-	-	-	+
169	-	-	+	-	-	-	+
170	-	-	+	-	-	-	+
172	-	-	-	-	-	-	-
173	-	-	+	-	-	-	+
174	-	-	+	-	-	-	+
176	-	-	+	-	-	-	+
177	-	-	-	-	-	-	-
204	-	-	+	-	-	-	+
208	-	-	+	-	-	-	+
209	-	-	-	-	-	-	-
210	-	-	-	-	-	-	-
211	-	-	+	-	-	-	+
212	-	-	+	-	-	-	+
213	-	-	+	-	-	-	+
214	-	-	+	-	-	-	+
215	-	-	+	-	-	-	+
216	-	-	+	-	-	-	+
217	-	-	+	-	-	-	+
218	-	-	+	-	-	-	+
219	-	-	+	-	-	-	+
220	-	-	+	-	-	-	+
221	-	-	+	-	-	-	+
222	-	-	+	-	-	-	+
223	-	-	+	-	-	-	+
E.a*	-	-	+	-	-	-	+

* Schaad ve ark.(2001)'den alınan tanılama testi sonuçlarıdır.

Şiddetli epidemi görülen bahçelerden alınan 27 hastalıklı bitki örneğinden yapılan klasik tanılama sonucunda, 22 adedi Schaad ve ark. (2001) tarafından verilen referans bilgileriyle benzerlik göstermiş ve Gram negatif, King B besiyerinde non-floresan, levan oluşumu pozitif, oksidaz negatif, pektolitik aktivite negatif ve tütünde aşırı duyarlılık belirtileri göstermesi nedeniyle HR pozitif olarak saptanmış 5 izolatta ise *E. amylovora'*dan farklı olarak levan oluşumu gerçekleşmemiş ve tütünde aşırı duyarlılık görülmemiştir. Elde edilen bulgular dünyada farklı araştırıcıların çalışmaları ile benzerlik göstermekte olup, *E. amylovora* strainlerinin SNA besi yerinde parlak, krem renkte, mukoid ve levan şeklinde koloniler şeklinde gelişim gösterdiği saptanmıştır (Agrios, 1997; Geider, 2000; Aysan ve ark., 2004; Atasagun, 2009; Aktepe, 2012; Tunalı, 2013; Arda, 2016).

Farklı bölgelerden elde edilen izolatların tanısında, ham armut testi (lezyon ve sonrasında bakteriyel akıntı) (Psallidas ve Dimova, 1986; Aysan ve ark., 2004; Tunalı, 2013; Arda, 2016), tütünde hipersensitif reaksiyon (Aysan ve ark., 2004; Arda, 2016) ve sürgün inokulasyonu (Arda, 2016) testleri gerçekleştirilerek sonuçlar pozitif olarak belirlenmiştir. Armut ve ayva plantasyonlarından, hastalıklı bitki parçalarından elde edilen 29 bakteri izolatının, klasik tanılama testleri sonucunda *E. amylovora* olduğu tespit edilmiştir (Yahyaoglu, 1998).

Klasik tanılama sonucunda *E. amylovora* olduğu belirlenen 22 izolattan elde edilen genomik DNA'ların *E. amylovora'ya* spesifik G1F-G2R primer çifti kullanılarak yapılan PCR ürünleri %1,5'lik agaroz jel üzerinde 187 bp'de belirgin bantlar oluşturmuştur (Şekil 4a). Bant oluşumu net olmayan izolatların PCR işlemlerinin tekrarlanması sonucunda (Şekil 4b), 204 nolu izolatta bu uzunlukta bant oluşmamıştır. Bu bulgular, aynı primer çifti kullanarak moleküler tanılama yapılan çalışmalarla (Lopez ve ark., 2006; De Bellis ve Schena, 2007; Arda, 2016; Kıpcak ve Akkopru, 2017) benzerlik göstermiş olup hızlı ve daha duyarlı bir tanılama sağlamıştır. Bu yöntemin, kesin tanı için kullanılması gerektiği önemle vurgulanmaktadır.



Şekil 4. *E. amylovora* izolatlarının 1. (a) ve 2. (b) PCR elektroferez-jel görüntüleri.
Figure 4. PCR electrophoresis-gel images of *E. amylovora* isolates' 1st (a) and 2nd (b).

Çizelge 12. Ham armut meyvelerinde patojenisite testi sonuçları.
Table 12. Test results of raw pear fruit pathogenicity.

İzolat no Isolate no	Hastalık şiddeti (%)* Disease severity (%)*	
154	33,33	e-g
159	50,00	c-e
169	33,33	e-g
170	58,33	b-d
173	0,00	h
174	0,00	h
176	0,00	h
208	0,00	h
211	83,33	a
212	41,66	d-f
213	41,66	d-f
214	25,00	fg
215	16,67	gh
216	66,66	ab
217	83,33	a
218	66,66	ab
219	75,00	ab
220	50,00	c-e
221	25,00	fg
222	33,33	e-g
223	83,33	a
CV (%)	38,97	
LSD (0,01)	22,05	

* İzolatlar arasındaki fark P<0,01 düzeyinde önemli.
* Difference between isolates significant at P<0.01.

E. amylovora olduğu kanıtlanan 21 adet izolattan, virülensi yüksek izolatları saptamak amacıyla gerçekleştirilen ham armut meyve testi sonuçları Çizelge 12'de belirtilmiştir. İzolatların hastalık şiddeti % 0-83,33 arasında değişim göstermiştir. 211, 217 ve 223 nolu izolatlar % 83,33 hastalık şiddeti oranı ve *E. amylovora* için karakteristik olan bakteriyel eksudat oluşumu ile öne çıkmıştır.

Ham armut meyve testi, virülensin belirlenmesinde kolay ve güvenilir bir test yöntemidir. Bu test sonuçlarına göre, seçilen izolatlar ham armut meyve testlerinde yüksek hastalık şiddeti oluşturmuştur. Bu yöntem ön eleme yöntemi olarak güvenilir ve dolayısıyla önerilebilir bir yöntem olarak görülmektedir (Psallidas ve Dimova, 1986; Aysan ve ark., 2004; Tunalı, 2013; Arda, 2016).

SONUÇ

Ateş yanıklığı hastalığının 2015 yılında yapılan surveyler sonucunda incelenen plantasyonların önemli bir kısmında görüldüğü, iller bazında ise hastalığın yaygınlık oranının % 24,30 - 100 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Bazı illerde yetiştiriciliği yaygın olan çeşitlerin, hastalığa dayanım durumlarının gözlemlenmesi sonucunda ise duyarlı çeşitlerin yetiştirildiği bölgelerde, hastalık şiddeti ve oranının daha yüksek olduğu kanısına varılmıştır. Kültürel uygulamaların, hastalığın kontrolü kadar yayılmasında da etkili olduğu tespit edilmiştir. Özellikle Denizli'de hastalığın farklı bölgelerden gelen budama ustaları nedeniyle ortaya çıktığı ve hızla yayıldığı, üreticiler tarafından ifade edilmiştir. Şiddetli epidemi görülen bahçelerden alınan hastalıklı bitki örneklerinin klasik tanılamada *E. amylovora* olduğu belirlenen bir izolat, moleküler tanılamada istenilen uzunlukta bant vermemiştir. Bu durum, ateş yanıklığı hastalığına benzer belirti gösteren bakteriyel kanser ve yanıklık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* gibi farklı bakteriyel etmenlerin de ayva plantasyonlarında bulunduğunu göstermektedir. Böylece tanılama çalışmalarının moleküler yöntemlerle desteklenmesi gerekliliği ön plana çıkmaktadır. Son yıllarda ekonomik önemi anlaşılan ve hızla kapama bahçelerin kurulduğu bu türde, iklim faktörlerinin de hastalık oluşumu için

uygun olduğu bölgelerde, özellikle, budama araç gereçlerinin çok iyi dezenfekte edilmesi ve budanan hastalıklı sürgünlerin imha edilmesi gibi kültürel önlemlerle beraber tolerant çeşit kullanımıyla hastalığa karşı mücadele edilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Ülkemiz ayva üretiminde ön planda olan Doğu Marmara ve Ege Bölgesi'nde, önemli ekonomik kayıplara neden olan ateş yanıklığı hastalığının durumunu ortaya koyması açısından bu çalışma önem taşımaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu makale, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'nce, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde yürütülen ve "Ayva Genotiplerinin Ateş Yanıklığı Hastalığına Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi ve Seleksiyon Islahı" isimli Doktora tezinden hazırlanmıştır. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü ve Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne teşekkür ederim.

LİTERATÜR LİSTESİ

Agrios, G. N. 1997. Plant pathology. 5th Ed. Academic press. p. 952. eBook ISBN: 9780080473789 / Hardcover ISBN: 9780120445653.

Aktepe, B. P. 2012. Yenidünya çeşitlerinin ateş yanıklığı hastalığına duyarlılıklarının belirlenmesi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.

Anonim. 2017. TUİK. https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr (Erişim tarihi 17/01/2019).

Anonymous. 2017. FAO. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC (Erişim tarihi 17/01/2019).

Arda, H. 2016. Ayvada ateş yanıklığı hastalığı etmeninin (*Erwinia amylovora*) tanısı ve entegre mücadele olanakları, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.

Arsenijevic, M., and M. Panic. 1992. First appearence of fire blight, saused by *Erwinia amylovora* on quinces and pears in Yugoslavia. Plant Disease 76 (12): 1283.

Atasagun, R. 2009. Rosaceae familyasindaki farklı bitki türlerinden elde edilen *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*'nin biyokimyasal ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testleriyle tanılanması. Selçuk Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 93 s.

Aysan, Y., F. Sahin, H. Saygili, M. Mirik, and R. Kotan. 2004. Phenotypic characterization of Erwinia amylovora from pome fruits in Turkey. Acta Horticulturae 704: 459-463.

Beer, S. V., J. R. Rundk, and R. S. Wodzinski. 1984. lnteraction between *Erwinia amylovora* and *Erwinia herbicola in vitro*, in immature pear fruits and in apple blossoms. Acta Horticulture 151: 203-204.

Billing, E. 2011. Fire blight, Why do views on host invasion by *Erwinia amylovora* differ?. Plant Pathology 60: 178-189.

Bobev, S., L. T. Angelov, G. I. Govedarov, and J. D. Postman. 2009. Field susceptibility of quince hybrids to fire blight in Bulgaria, APS Annual Meeting, Portland, Oregon, Abstracts of Presentations. Phytopathology 99: 13.

Bora, T. ve I. Karaca. 1970. Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi, Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No: 167, 43 s. Ege Üniversitesi, İzmir.

De Bellis, P., and L. Schena. 2007. Real-time Scorpion-PCR detection and quantification of *Erwinia amylovora* on pear leaves and flowers. European Journal of Plant Patology 118: 11-22.

Demir, G., and M. Gundogdu. 1993. Fireblight of pome fruit trees in Turkey: distribution of the disease, chemical control of blossom infections and susceptibility of some cultivars. Acta Horticulturae 338: 67-74.

Fahy, P. C., and G. J. Persley. 1983. Plant bacterial diseases: a diagnostic guide, (No. 632.3 F3).

Geider, K. 2000. Exopolysaccharides of *Erwinia amylovora*: Structure, biosynthesis, regulation, role in pathogenicity of amylovoran and levan. *In*: J. Vanneste (ed.). Fire blight: The disease and its causative agent *Erwinia amylovora* CABI Publishing. Wallingford Oxon/UK.-New York. pp. 117-140.

Goorani, M. A., and F. N. Hassanein. 1991. The effect of *Basillus subtilis* on in vitro growth and pathogenicty of Erwinia amylovora. J. Phytopathology 133: 134-38.

Gok, G. 2016. Iğdır ili elma ağaçlarında ateş yanıklığı hastalığına neden olan *Erwinia amylovora* (burr.) Winslow *et al.* etmeninin biyokimyasal ve moleküler (MIS) yöntemlerle tanısı, Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Iğdır, 72 s.

Hepaksoy, S., A. Unal, H. Z. Can, H. Saygili, and H. Türküsay. 1999. Distribution of fire blight (*Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.*) disease in Western Anatolia Region in Turkey, Acta Horticulturae 489: 193-197.

Karman, M. 1971. Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler. Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. Bölge Zirai Müzadele Araştırma Enstitüsü. İzmir – Bornova. T. C. Tarım Bakanlığı. Zirai Mücadele ve Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları. Mesleki Kitaplar Serisi. 279 s.

Kıpcak, C. ve A. Akkopru. 2017. Van gölü havzasındaki elmalarda ateş yanıklığı problemi: durumu ve hastalığın yaygınlık oranı, Yüzüncü Yıl Ünv. Tar. Bil. Dergisi 27 (2): 207-214.

King, E. O., M. K. Ward, and D. E. Raney. 1954. Two simple media for the demonstrating of phycocyanin and fluorescein, J. Lab. Clin. Med. 44: 301-307.

Klement, Z., and R. N. Goodman. 1967. The hypersensitive reaction to infection by bacterial plant pathogens, Annual Review of Phytopathology 5: 17- 44.

Kovaks, N. 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyoanea* by the oxidase reaction, Nature (London) 178: 703.

Lazarov, A. V., and P. Grigorov.1961. Karantina na Rastenijata. Zeminzdat, Sofia. 258 p.

Lelliott, R. A., and D. E. Stead. 1987. Method for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. Vol. 2. British Society for Plant Pathology, Blackwell Scientific Publications, 216 p.

Lopez, M. M., E. Bertolini, E. Marco, E. Noales, P. Llop, and M. Cambira. 2006. Update on moleculer tools for detection of plant pathogenic bakteria and viruses. Journal of Plant Pathology 91 (2): 249-292.

Mirik, M. 2000. Amasya ve Tokat illerinde yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al*.) hastalığının etmeninin tanılanması, yaygınlık durumu ve dayanıklı çeşitlerin saptanması, Trakya Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.

Momol, M. T., O. Yegen, H. Basim, M. A. Zachowski, and K. Rudolph. 1992. Identification of *Erwinia amylovora* and occurence of fire blight of pear in Western Mediterranean Region of Turkey. J. Turk. Phytopath. 21 (1): 41

Norelli, J. L., H. T. Holleran, W. C. Johnson, T. L. Robinson, and H. S. Aldwinckle. 2003. Resistance of Geneva and other apple rootstocks to *Erwinia amylovora.* Plant Disease 87: 26-32.

Oden, S., and S. Alp. 1994. Investigations on the fire blight infection in pome fruits grown in Van and around. S. 531-533. 9. Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası-Aydın.

Oktem, Y. E ve K. Benlioglu. 1988. Yumuşak çekirdekli meyve ağalarında görülen ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et. a*l.) üzerinde çalışmalar, *In*: V. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Ekim 18-21. Ankara.

Ozaktan, H., and T. Bora. 2004. Biological control of fire blight in pear orchards with a formulation of *Pantoea agglomerans* strain Eh 24. Brazilian Journal of Microbiology 35: 224-229.

Postman, J. D. 2008. The USDA quince and pear genebank in Oregon, a world source of fire blight resistance, Acta Horticulturae 793: 357-362.

Psallidas, P. G., and M. Dimova. 1986. Occurrence of the disease fire-blight of pomaceous trees in Cyprus. Characteristics of the pathogen *Erwinia amylovora*. In Annales de l'Institut Phytopathologique Benaki 15 (1): 61-70.

Sands, D. C. 1990. Physiological criteria-determinate tests. *In*: Z. Klement, K. Rhudolp, D. C. Sands (Eds.) Methods in Phytobacteriology. Academia Kiado, Budapest, Hungary.

Saygili, H., Y. Aysan, M. Mirik, and F. Sahin. 2004. Severe outbreak of fire blight on quince in Turkey. 10th ınternational workshop on fire blight, July 5-9 Bologna, Italy, Acta Horticulturae 704: 51-53.

Schaad, N. W., B. J. Jones, and W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification Plant Pathogenic Bacteria, APS Press, USA.

Steel, R. G. D., and J. H. Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics. Second Ed. McGraw-Hill Book Company Inc., New York.

Taylor, R. K., P. J. Guilford, R. G. Clark, C. N. Hale, and R. L. S. Forster. 2001. Detection of *Erwinia amylovora* in plant material using novel polymerase chain reaction (PCR) primers. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 29: 35-43.

Thibault, B., and M. L. Lezec. 1990. Agrimed research programme. Fireblight of Pomoidae (*E. amylovora Burrill, Winslow et. al.*), Applied Research in Europe (1978-88) EUR-12601, 96- Milan, Italy, pp. 270-281.

Tokgonul, S. ve O. Cınar. 1991. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Armutlarda Ateş Yanıklığı Hastalığı (*Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.*)' nın Tanısı ve Yaygınlık Durumu, VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Izmir, s. 303-306.

Tunalı, N. 2013. Bursa ve Yalova illerinde yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında ateş yanıklığı hastalığına neden olan *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et al., izolatlarının bakır sülfat ve streptomisine olan duyarlılık düzeylerinin araştırılması, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisan Tezi, Tekirdağ, s. 97.

Van der Zwet, T., and S. V. Beer. 1991. Fire Blight -It's Nature, Prevention and Control: A Practical Guide to Integrated Disease Management, U. S. Department of Agriculture, Agriculture Information Bulletin No. 631. pp. 83.

Van Der Zwet, T., and H. L. Keil. 1979. Fire Blight a Bacterial Disease of Rosaceus Plants, Agriculture Handbook, N. 510, U.S. Department of Agriculture, Washington. 200 p.

Vanneste, L. J. 2000. Fire blight, the disease and ıts causative agent, *Erwinia amylovora*, CABI publishing, New Zealand.

Yahyaoglu, M. 1998. Bursa yöresinde ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* (burr) Winslow *et al*.) üzerinde çalışmalar, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bursa, 55 s.

Yurtsever, N., 1984. Deneysel Istatistik Metotları. Köy Hizmetleri Toprak ve Gübre Arş. Enst. Müdürlüğü Yavınları Genel Yayın No. l21 Ankara.