



T.C.
OSMANİYE KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ogün KÜÇÜKTAMER

ZEYTİN DAL KANSERİ ETMENİ
Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi*'nin
İZOLASYONU, TANISI VE *İN VİTRO*
BİYOLOJİK MÜCADELESİ

**ORGANİK TARIM İŞLETMECİLİĞİ ANABİLİM
DALI**

OSMANİYE – 2024

T.C.
OSMANİYE KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZEYTİN DAL KANSERİ ETMENİ *Pseudomonas savastanoi*
pv. *savastanoi*'nin İZOLASYONU, TANISI VE *İN VİTRO*
BİYOLOJİK MÜCADELESİ

Ogün KÜÇÜKTAMER

ORGANİK TARIM İŞLETMECİLİĞİ
ANABİLİM DALI

OSMANİYE
ŞUBAT-2024

TEZ ONAYI

ZEYTİN DAL KANSERİ ETMENİ *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin
İZOLASYONU, TANISI VE *İN VİTRO* BİYOLOJİK MÜCADELESİ

Ogün KÜÇÜKTAMER tarafından Dr. Öğr. Üyesi Benian Pınar AKTEPE danışmanlığında Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Organik Tarım İşletmeciliği** Anabilim Dalı'nda hazırlanan bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Benian Pınar AKTEPE
Organik Tarım İşletmeciliği Anabilim Dalı, Osmaniye Korkut
Ata Üniversitesi, Osmaniye

Üye: Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Bitki Koruma Anabilim Dalı, Çukurova Üniversitesi, Adana

Üye: Doç. Dr. Tugay AYAŞAN
Organik Tarım İşletmeciliği Anabilim Dalı, Osmaniye Korkut
Ata Üniversitesi, Osmaniye

Yukarıdaki jüri kararı Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve /..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Eyyüp TEL
Enstitü Müdürü, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

.....

Bu tez çalışması, OKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (OKÜBAP-2023-PT2-005) tarafından desteklenmiştir.

Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içeriğinde yer alan bilgilerin tamamının etik davranış ve akademik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini, çalışma sonucunda elde edilmeyen her türlü bilgi ve ifade için ilgili kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını ve bu tezin Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını beyan ederim.

Ogün KÜÇÜKTAMER



ÖZET

ZEYTİN DAL KANSERİ ETMENİ *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin İZOLASYONU, TANISI VE *İN VİTRO* BİYOLOJİK MÜCADELESİ

Ogün KÜÇÜKTAMER

Yüksek Lisans, Organik Tarım İşletmeciliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Benian Pınar AKTEPE

Şubat 2024, 49 sayfa

Bu çalışmada, Mersin ve Osmaniye illerinde zeytin üretimi yapılan 18 alan ziyaret edilerek, dal kanseri hastalık belirtileri gösteren 6 adet urlu ağaçtan 26 adet patojen bakteri izolasyonu yapılmıştır. Patojen bakteriler, potasyum hidroksit testiyle Gram Reaksiyon, LOPAT karakterleri, havuç dilimlerinde ve zeytin fidanlarında patojenite testleri ve bakteriyel izolatların proteinlerinin peptid kütle parmak izi analizine dayanan MALDI-TOF testleriyle *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* olarak tanımlanmıştır. Biyolojik mücadele araştırmalarında, Organik Tarım İşletmeciliği Bölümü kültür koleksiyonunda bulunan 19 adet epifitik ve endofitik antagonist bakterilerin patojene antibakteriyel etkisi *in vitro* petri denemeleriyle araştırılmıştır. İkili kültür testinde, tüm antagonistler, patojenin gelişimini baskılamış ve 2.00mm-9.33mm arasında inhibisyon zonu oluşturmuşlardır. Aynı istatistikî grupta yer alan beş antagonist (KSY9, ABK-FY-2-5, MTHM.3, FT2.1, MTHM2 kodlu izolatlar) patojen gelişimini engellemede en başarılı izolatlar olarak belirlenmiştir. KSY9 kodlu izolat ortalama 9.33 mm engelleme zonu oluşturarak en başarılı antagonistik izolat olarak belirlenmiştir. Başarılı antagonistlerin MALDI-TOF ile yapılan tanı testlerinde tümünün *Bacillus* cinsine ait izolatlar olduğu saptanmıştır. Yapılan bu çalışmayla, hastalıkların baskılanmasında çevre dostu ve organik tarımda kullanılan mücadele yöntemlerinden biri olan biyolojik mücadelenin önemi bir kez daha ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Ur hastalığı, patojen, antagonist, organik tarım.

ABSTRACT

ISOLATION, DIAGNOSIS, AND *İN VİTRO* BIOLOGICAL CONTROL OF THE OLIVE KNOT PATHOGEN *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*.

Ogün KÜÇÜKTAMER

M.Sc., Department of Organic Agriculture Management

Supervisor: Assist. Dr. Öğr. Üyesi. Benian Pınar AKTEPE

Şubat 2024, 49 pages

In this study, 18 olive production areas in Mersin and Osmaniye provinces were visited and 26 pathogenic bacterial strains were isolated from 6 infected trees showing knot disease symptoms. The pathogenic bacterial strains were identified as *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* by Gram Reaction with potassium hydroxide test, LOPAT characters, pathogenicity tests on carrot slices and pathogenicity test on olive branches and MALDI-TOF tests based on peptide mass fingerprint analysis of proteins of bacterial strains. In biological control research, the antibacterial effect of 19 epiphytic and endophytic antagonist bacterial strains in the culture collection of our department was investigated by *in vitro* petri trials. In the dual culture test, all antagonists suppressed the growth of the pathogen and formed an inhibition zone between 2.00mm-9.33mm. Five antagonists in the same statistical group (KSY9, ABK-FY-2-5, MTHM3, FT2.1, MTHM2) were the most successful isolates in inhibiting pathogen growth. KSY9 coded strain was determined as the most successful antagonistic strains with an average inhibition zone of 9.33 mm. In the MALDI-TOF diagnostic tests of the successful antagonists, it was determined that all of them were isolates belonging to the genus *Bacillus*. This study highlights the importance of biological control, which is one of the environmentally friendly and organic farming methods used to suppress diseases.

Key Words: Knot disease, olive knot pathogen, antagonist, organic farming.

İTHAF SAYFASI



Çok kıymetli aileme...

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez konumu belirleyerek, tez çalışmamın yürütülmesini destekleyen, tez çalışmam boyunca değerli bilgi ve tecrübesiyle desteğini esirgemeyen, danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Benian Pınar AKTEPE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince, benden desteğini esirgemeyen ve jüri üyeliğini kabul etme nezaketinde bulunan Sayın Prof. Dr. Yeşim AYSAN hocama teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu yüksek lisans çalışmamda jüri üyeliğini kabul eden Doç. Dr. Tugay AYAŞAN'a teşekkür ve saygımı sunarım. Ayrıca tez çalışmam boyunca bana destek olan bölüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmamı maddi olarak destekleyen OKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: OKÜBAP-2023-PT2-005) teşekkür ederim.

Benim bu günlere gelmemde her türlü desteği sağlayan ve her zaman benim başarılı olmamdan mutluluk duyan sevgili aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
3. MALZEME VE YÖNTEM	14
3.1. Malzeme.....	14
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1 Hasta Bitkilerden Urlu Dalların Toplanması	14
3.2.2. Patojen Bakteri İzolasyonu ve Tanısı	15
3.2.3. Patojenite Testleri	17
3.2.4. Aday Antagonist İzolatların <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> 'ye Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi	18
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	20
4.1. Hasta Bitkilerden Urlu Dalların Toplanması	20
4.2. Patojen Bakteri İzolasyonu ve LOPAT karakterizasyonu	21
4.3. Patojenite Testleri	24
4.4. Patojen Bakteriyel İzolatların MALFITOF MS ile Tanısı.....	27
4.5. Aday Antagonist İzolatların <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> 'ye Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi	28
4.6. Antagonist İzolatların MALDI-TOF MS ile Tanısı.....	30
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	33
KAYNAKLAR	35
EKLER.....	46

EK-1. <i>PSEUDOMONAS SAVASTANOİ</i> İZOLATLARININ MALDI TOF-MS SONUÇLARI.....	46
EK-2. ANTAGONİST İZOLATLARININ MALDI TOF-MS SONUÇLARI.....	46
EK-3. ANTAGONİST İZOLATLARIN <i>PSEUDOMONAS SAVASTANOİ</i> 'YE ANTAGONİSTİK ETKİLERİNİN VARYANS ANALİZİ.....	48
ÖZGEÇMİŞ	49



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Mersin ve Osmaniye illerinden elde edilen izolatları ve LOPAT karakterizasyonu	22
Çizelge 4.2. Havuç dilimlerinde sonucu oluşan urların ağırlıkları.	24
Çizelge 4.3. Zeytin fidanlarında patojenite sonucu oluşan urların ağırlıkları.....	26
Çizelge 4.4. Bakteriyel izolatların benzerlik indeksleri.....	28
Çizelge 4.5. Antagonistik izolatların <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> 'ye karşı in vitro engelleyici etkisi.....	29



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Dünyada zeytin üretimi yapılan alanlar (FAO,2021)	2
Şekil 1.2. <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> 'nin zeytin dallarında oluşturduğu ur belirtisi	6
Şekil 3.1. Aday antagonist izolatların <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv <i>savastanoi</i> 'ye antagonistik etkilerinin belirlenmesi.....	19
Şekil 4.1. Hasta Bitkilerden Uurlu Dalların Toplanması	20
Şekil 4.2. Zeytin ağaçlarında budama yerleri yakınında görülen Zeytin Dal Kanseri Hastalığının belirtileri	21
Şekil 4.3. KOH testinde izolatlarda yapışkanimsi sünme oluşumu	23
Şekil 4.4. <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> izolatlarının tütünde oluşturduğu aşırı duyarlılık reaksiyonu.....	23
Şekil 4.5. Havuç dilimlerinde patojenite sonucu oluşan urlar	25
Şekil 4.6. Zeytin fidanlarına yapay inokülasyonlar sonucu oluşan urlar	27
Şekil 4.7. En etkili antagonist KSY9'un <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> izolatına oluşturduğu inhibisyon zonu	29

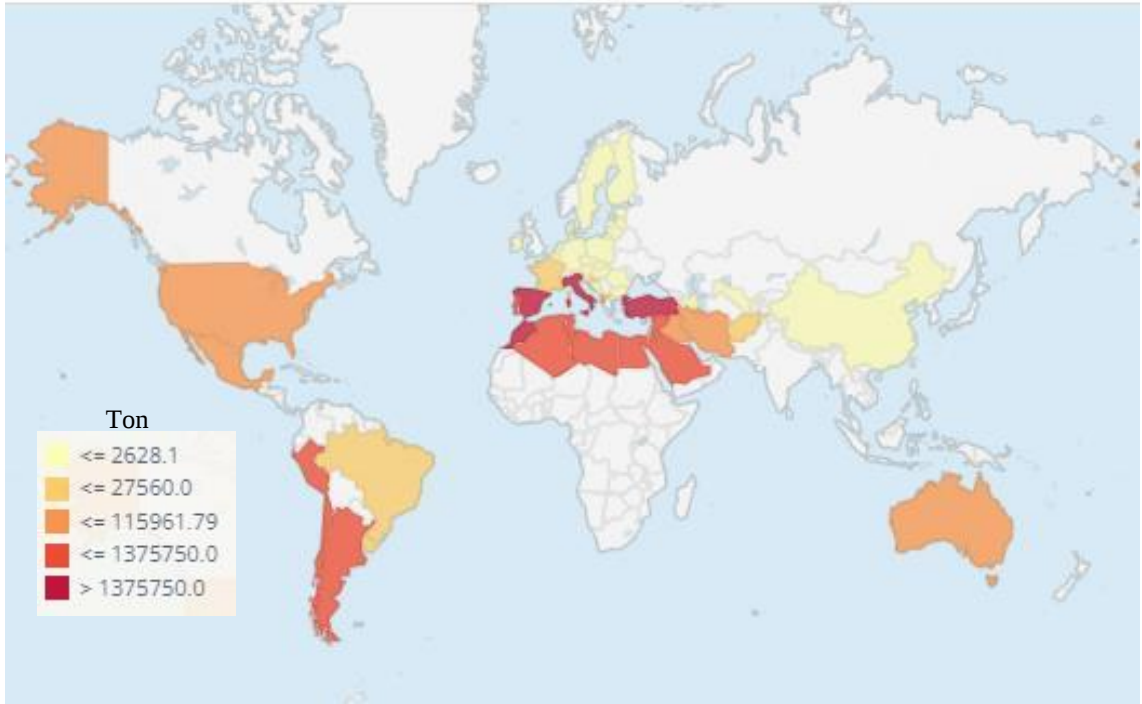
SİMGELER ve KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Celsius (derece)
µl	Mikrolitre
Cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
LSD	Least Significant Difference (En Az Önemli Fark)
lt	Litre
MALDI-TOF	Matriks Asisted Lazer Desorpsiyon İyonizasyonu- Kütle Spektrometresi)
ml	Mililitre
mm	Milimetre
NA	Nutrient Agar
NaCl	Sodyum Klorür
pv	Pathovar (Alt tür)
TSA	Tryptic Soy Agar
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
YDC	Yeast Deskstroz Kalsiyum Karbonat

1. GİRİŞ

Zeytin ağacı (*Olea europaea* L.), dünya genelinde özellikle Akdeniz havzası ülkeleri arasında, Türkiye dahil olmak üzere, birçok ülkede ekonomik açıdan değerli olarak, yağı üretilen bitkilerden birisidir (Loumou ve Giourga, 2003) (Şekil 1.1). Zeytin, tarih boyunca insanlık için önemli bir tarım ürünü olmuş olup, günümüze uzanan köklü bir geçmişe sahiptir. İnsanlık tarihi kadar eski olan zeytin, sadece tarımsal bir ürün olmanın ötesinde barışın simgesi ve kutsal bir varlık olarak kabul edilmiştir. Aynı zamanda, zeytin tarihi boyunca birçok efsaneye de konu olmuştur. Anadolu coğrafyasında ortaya çıkan ve binlerce yıl boyunca Akdeniz havzasındaki tarım geleneğine adapte olmuş bir bitkidir. Zeytincilik; ekonomik, siyasal ve sosyal yapıları etkileyen önemli bir geçim kaynağıdır. Zeytin, özellikle Akdeniz mutfağının temel bir bileşenidir. Sofralık zeytinler atıştırmalıkların yanı sıra salatalar, mezeler ve diğer yemekler için de kullanılır. Zeytinyağı, yemek pişirme, sos yapma ve salata sosları için geniş bir kullanım alanına sahiptir. Ayrıca, doymamış yağ asitleri, antioksidanlar ve diğer sağlıklı bileşenler açısından zengindir. Bu nedenle, sağlıklı bir diyetin bir parçası olarak tüketildiğinde kalp sağlığını destekleyebilir, kolesterol düzeyini düzenleyebilir ve anti-inflamatuar özelliklere sahip olabilir. Bunların yanında Zeytin ağaçları, erozyonu önleme, toprak stabilizasyonu ve biyoçeşitliliği destekleme gibi çevresel faydalar sağlamaktadır. Ayrıca, zeytin ağaçları karbon emilimine katkıda bulunarak iklim değişikliği ile mücadeleye yardımcı olabilir (Özcan, 2020).

Türkiye, sofralık ve yağlık zeytin üretimi konusunda öne çıkan ülkelerdendir. Zeytin yetiştiriciliği ülkemizde 35 ilde, 5 farklı bölgede gerçekleştirilmektedir (Hayretçi, 2022). Ülkemizde Akdeniz iklimine hakim kıyı şeridinde yoğun olarak yetiştirilen zeytinin 2022 yılı üretim miktarı 2.977.000,00 tondur (TÜİK, 2022). Bu üretim payı içerisinde çalışmanın yürütüldüğü Osmaniye ili 77194 ton zeytin üretimiyle ilk on il arasında yer almaktadır.



Şekil 1.1. Dünyada zeytin üretimi yapılan alanlar (FAO, 2021).

Çizelge 1.1. Türkiye’de zeytin üretimi gerçekleştirilen iller ve bu illerdeki üretim miktarları (ton).

İller	2020	2021	2022
İzmir	94875,00	168914,00	461813,00
Manisa	354269,00	269160,00	418155,00
Mersin	63787,00	104952,00	356279,00
Aydın	120705,00	287707,00	332164,00
Balıkesir	130574,00	177712,00	261859,00
Muğla	47077,00	182528,00	245119,00
Hatay	67212,00	119991,00	221278,00
Bursa	115072,00	146477,00	187692,00
Çanakkale	42810,00	34618,00	125852,00
Osmaniye	62792,00	33980,00	77194,00
Antalya	54285,00	45000,00	70201,00
Adana	7210,00	21000,00	63829,00

Zeytin ağacının ekonomik ömrü genellikle 50-75 yıl arasında değişir, bu uzun ömürlü meyve türü, doğal ortamda 500 yıl hatta 1000 yıl kadar yaşayabilmektedir. Doğal koşullarda zeytin ağacının taç yüksekliği 15 metreye kadar ulaşabilir. Ancak, modern yetiştirme yöntemlerinde genellikle taç yüksekliği 3-5 metre civarında tutulmaktadır. Zeytin ağacı dikildikten sonra, ilk 3-4 yıl boyunca genellikle kazık kök gelişimi gösterir. Daha sonra, ilerleyen yıllarda kök yumrularının oluşmasıyla birlikte saçak kök gelişimi gerçekleşir. Zeytin ağacının odun yapısı, çürümeye karşı oldukça

dayanıklıdır. Hem olumsuz çevresel koşullara hem de mekanik hasarlara karşı direnç göstererek yeni sürgünler geliştirebilir. Bu özellikleri sayesinde zeytin ağacı uzun yıllar boyunca sağlıklı bir şekilde yaşayabilir. Ancak, üretimi ve verimliliği, dünya genelinde zeytin mahsulünü olumsuz etkileyen nedenler arasında kabul edilen Zeytin Sineği (*Bactrocera oleae*), Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan zeytinin, zararlıları arasında ilk sırayı almakta olup, tüm zeytin yetiştiriciliği yapılan bahçelerde görülebilmektedir. Zeytin sineği ekonomik olarak hatırı sayılır bir zayıyata sebep olmaktadır. Ayrıca Zeytin Kabuklu Biti (*Parlatoria oleae*), Pamuklubit (*Eupyllura* spp.), Zeytin Güvesi (*Prays oleae*), Zeytin Fidan Tırtılı (*Palpita unionalis*), Zeytin Kızılkurdu (*Lasioptera berlesiana*), Filizkıran (*Phloeotribus scarabaeoides*) da önemli zeytin zararlıları arasındadır (Anonim, 2024).

Zeytin üretim alanlarında birçok hastalık etmenleri de ürün kayıplarına neden olmaktadır. Bu hastalıklar içerisinde kök çürüklüğüne neden olan *Rhizoctonia Solani*, *Fusarium* spp., *Armillaria Mellea* gibi fungal etmenlerin, ayrıca zeytin ağaçlarında dal kurumalarına neden olan *Verticillium Solgunluğu* (*Verticillium dahliae* Kleb.)’nun ve Zeytin Halkalı Leke Hastalığının (*Spilocaea oleagina* (Cast) Hugines) önemli fungal hastalıklardan olduğu bildirilmiştir (Yolageldi ve ark. 2001; Sancar ve Mirik, 2018; Anonim, 2024). Bunların yanında; Amerika, Avrupa, İran, Tayvan ve İsrail’de *Xylella fastidiosa* (EPPO,2022), dünya genelinde zeytin üretiminin yapıldığı yerlerde *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*’nin sebep olduğu Zeytin Dal Kanseri gibi bakteriyel hastalık nedeniyle de zeytin üretimi ciddi şekilde zarar görmektedir (Marchi ve ark., 2005 ; Obanor ve ark., 2008; Salman ve ark., 2011; Quesada ve ark., 2012; EPPO, 2022).

Zeytin Dal Kanseri Hastalığı etmeni Gram-negatif, aerobik bir bakteri olan *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* ((Smith) Gardan, Bollet, Abu Ghorrah&Grimont, 1992) adlı bakteri, zeytin dallarında ırların oluşmasına neden olmaktadır (Şekil 1.2). Hastalık etmeni bakteri 1908 yılında Smith tarafından *Bacterium savastanoi* olarak isimlendirilmiştir. Ferraris, 1926 yılında zakkum bitkilerinden yaptığı izolasyonlar sonucunda etmenin yeni ismi *Bacterium tonellianum* olmuştur. Daha sonra, Young ve arkadaşlarının 1978 yılında yaptıkları çalışma ile *Pseudomonas syringae* pathovarı olarak belirlemişlerdir (Janse, 1982). Sonraki yıllarda Gardan ve arkadaşları 1992 yılı içerisinde yaptıkları taksonomik çalışma ile patojen bakteriyi *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olarak isimlendirmiştir. Bu çalışma ile, *Pseudomonas*

savastanoi pv. *savastanoi*'nin esasen *Pseudomonas syringae*'den genetik olarak değişik olduğu açığa çıkarılmıştır. *Pseudomonas syringae* tür kompleksi, önde gelen bir araştırma modeli ve ekonomik açıdan dünya çapında önemli bir fitopatojenik bakteri olarak kabul edilmektedir. Bitkilerle ve su döngüsüyle ilişkili 15 farklı *Pseudomonas* türünü kapsayan en az 13 filo gruptan (PG) oluşur. *Pseudomonas savastanoi*, *Pseudomonas syringae* kompleksinin PG3'üne aittir. Bu, odunsu dokularda tümörlü aşırı büyümelere (urlar) neden olan bakterileri içeren tek filo gruptur. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin sebep olduğu Dal Kanseri Hastalığı, Zeytin bitkisinin ilk sırada yer alması ile birlikte *Oleaceae* familyasına ait Zakkum (*Nerium oleander*) (*Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii*), Dişbudak (*Fraxinus excelsior* L.) (*Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini*) ve Sarı Süpürge (*Retama sphaerocarpa*) *Pseudomonas savastanoi* pv. *retacarpa* (Garcia De Los Rios, 1999) bitkilerinde de ur oluşumuna neden olmaktadır (Janse, 1982; EPPO, 2024). Bu dört patovarin farklı konukçu aralıklarına sahip olduğu, patojenite testleri yoluyla deneysel olarak belirlenmiştir: *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* zeytin ve dişbudakta ur oluşumuna neden olurken zakkumda ur oluşturmaz; *Pseudomonas savastanoi* pv. *nerii* her üç konukçuda da; *Pseudomonas savastanoi* pv. *retacarpa* ise yalnızca sarı süpürgede ur oluşumuna neden olur (Álvarez ve ark., 1998). Buna karşılık, *Pseudomonas savastanoi* pv. *fraxini* hem dişbudak hem de zeytinde semptomlara neden olur (Janse, 1982; Iacobellis ve ark., 1998; Ramos ve ark., 2012). Bununla birlikte, bazı *Pseudomonas savastanoi* popülasyonları, aynı patovarin strainleri arasında bile büyük ölçüde farklılık gösterebilen heterojen konukçu aralıkları göstermektedir (Cinelli ve ark., 2014; Morris ve ark., 2019). Ayrıca etmenin konukçuları arasında Leylak (*Syringae* spp.), Akçakesme (*Phillyrea* spp.), Kurtbağrı (*Ligustrum japonicum*), Yasemin (*Jasminum* spp.) (Janse, 1981), Çan Çiçeęi (*Forsythia* spp.) (Iacobellis ve ark., 1998), Geyik dikenini (*Rhamnus alaternus*) (Saad& Hanna, 2002), Mersin (*Myrtus* spp.) (Mirik ve ark., 2006), Akdiken (*Rhamnus alaternus*), Cılbırtı Çalısı (*Fontanesia phillyreoides*) (Mirik ve ark., 2011), Brezilya Yasemini (*Mandevilla sanderi*) (Eltlbany et al., 2012) Çin ardıcı (*Loropetalum chinense*) (Conner ve ark., 2013), Nar ağaçları (Bozkurt ve ark., 2014) bulunmaktadır (Sancar ve Mirik, 2018).

Pseudomonas savastanoi pv. *Savastanoi*'nin neden olduğu urların oluşumu esas olarak indol-3-asetik asit (IAA) ve sitokininlerin bakteriyel sentezinden kaynaklanmakta ve bu da bitki hücresinde bir artışa (hipertrofi) ve ardından anormal bir hücre bölünmesine (hiperplazi) neden olmaktadır (Rodríguez-Moreno ve ark. 2012;

Quesadave ark., 2012). Ur oluşumu tipik bir yara peridermi ile başlayarak kontrol edilmeyen hücre bölünmesiyle devam eder. Sonrasında sürekli yeni bölünmelerin oluşturduğu düzensiz dokular meydana gelir ve tüm ksilem boruları tıkanarak bitkinin iletim sistemi zarar görür (Saygılı ve ark., 2006). Yaprak ve meyvelerde de zaman zaman *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin neden olduğu urlar görülebilmektedir (Trapero-Casas ve Ramos, 2015). *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* genellikle zeytin ağacı filosferinde epifitik (Quesadave ark., 2012) ve/veya endofitik (Marchive ark., 2009) olarak yaşayabilmektedir (Buonaurio ve ark., 2015).

Zeytin Dal Kanseri Hastalığı, zeytin yetiştiriciliği yapılan alanlarda görülebilen, endemik bir hastalıktır. Türkiye'de hastalık; Marmara Bölgesinde (Mirik ve ark., 2007), Ege Bölgesinde (Azeri, 1993; Servi ve Baştaş 2012) ve Akdeniz bölgesinde (Basım ve Ersoy 2000, Tatlı ve Benlioğlu 2004, Mirik ve ark., 2004; Mirik ve ark., 2008a) bulunmaktadır.

Patojen, özellikle ilkbahar sonu donları, dolu ve tarım uygulamalarının (örneğin budama ve ürün hasadı) ince dallar üzerindeki neden olduğu yaralar ve çatlaklar yoluyla bitkiye giriş yapmaktadır. Bu patojen doğal açıklıklardan (stoma, hidatod, lentisel) bitkiye giriş yapamaz. Ayrıca yağmur, su sıçraması, rüzgar, böcekler, kuşlar ve insan faaliyetleri (budama ve hasat) yoluyla yayılabilmektedir (Quesada ve ark., 2010). Patojenin gelişmesi için en uygun sıcaklık 20-25°C arasında olup, minimum 5 ila 10°C ve maksimum 32°C sıcaklıkta gelişebilmektedir. Enfeksiyon iklim koşullarının hastalık gelişimi için ideal olduğu ilkbahar ve sonbahar ayları içerisinde meydana gelmektedir (Lavermicocca ve ark., 2002).



Şekil 1.2. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin zeytin dallarında meydana getirdiği ur belirtisi.

Zeytin Dal Kanseri Hastalığı, zeytinin ekonomik açıdan en önemli hastalıklarından biridir. Enfeksiyonlar genellikle ağaçlarda yaprak dökülmesine, dalların kurummasına ve ağacın gücünün azalmasına yol açarak sonuçta verimin, meyve boyutunun ve yağ kalitesinin düşmesine neden olmaktadır. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin bitkiye girişini ve yayılmasını önlemek, Zeytin Dal Kanseri Hastalığının mücadelesinde en umut verici stratejidir. Bununla birlikte, bakteri epifitik olarak hayatta kalabilme yeteneğine sahip olduğundan, hastalık belirtisi görülmeyen bitki aksamında da varlığının olması nedeniyle mücadele zorlayıcıdır (Penyalver ve ark. 2006). Ayrıca, hastalıklı ağaçlarla temas eden ekipmanların *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* ile kontamine olması durumunda yeterli *sanitasyon* önlemleri alınmaması patojenin sağlıklı ağaçlara yayılmasına neden olabilmektedir. Patojenin bir ağaca veya meyve bahçesine bulaştıktan sonra ortadan kaldırılması son derece zordur (Quesada ve ark., 2010). Patojene karşı mücadele edilmezse, yıldan yıla artan patojen bakteri popülasyonu bir şekilde zeytinin kalitesini ve miktarını düşürerek önemli ekonomik ürün kayıplarına neden olabilmektedir (Quesada ve ark. 2010). Bu hastalığın mücadelesi esas olarak önleyici tedbirlere dayanmaktadır. Bu önleyici tedbirler çoğunlukla dayanıklı çeşitlerin kullanımını, temiz üretim materyali kullanmak, budama uygulamalarını ve kimyasal mücadeleyi veya bunların kombinasyonunu içermektedir (Trapero-Casas ve ark., 2009;

Abuamsha ve ark., 2023). Kimyasal mücadele esas olarak bakır içerikli bileşiklerin genellikle bakır hidroksit ve dormant dönemde bakır sülfat kullanımına dayanmaktadır (Trapero-Casas ve ark., 2009). Bakırlı preparatların kapsamlı ve yoğun kullanımıyla, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* popülasyonlarında bakır direnci oluşabilmektedir (Nguyen, 2017). Bunun yanında fungusitlerin insan sağlığına ve çevreye olan zararları da yadsınamaz bir gerçektir. Bu nedenle, bu hastalığın sürdürülebilir yönetimine katkı sağlayan stratejiler, bilim camiasındaki öncelikli konulardan biri haline gelmiştir (Al-Khatib ve ark., 2010; Krid ve ark., 2012). Son zamanlarda bitkisel dokularda yaşayan patojen popülasyonlarını ortadan kaldırma veya azaltma potansiyeline sahip antagonistler kullanılarak bitki patojenlerinin biyolojik mücadelesi, sürdürülebilir tarımda kimyasal mücadeleye alternatif olarak önem kazanmıştır (Cook, 1993; Di Francesco ve ark., 2016; Doksöz ve Bozkurt, 2022b). Hastalığa karşı halen etkili bir biyolojik mücadele mevcut olmasada bazı araştırmacılar bu alanda umut verici sonuçlar bildirmiştir. Zeytin ağaçlarının köklerinden ve yapraklarından elde edilen *Pseudomonas fluorescens* ve *Bacillus subtilis* izolatlarının *in vitro* koşullar altında *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*' ye karşı etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır (Krid ve ark., 2010). Son zamanlarda biyopreparat üretim faaliyetleri, en başarılı antagonistlerin toplu üretimi, en elverişli yöntemlerin bulunması, bu etkili antagonistlerin hedef alınan patojenlere *in vitro* ve *in vivo* etkililik düzeyleri durumu gibi çalışmalara biyolojik mücadele, inceleme araştırması yapan uluslararası kuruluşlarca her geçen zaman içerisinde daha çok maddi kaynak ayrılmaktadır (Sancar ve Mirik, 2018). Biyolojik mücadelede kullanılan bakteriler için genellikle bitki gelişimini teşvik eden kök bakterilerini ifade etmek için PGPR terimi kullanılırken, son yıllarda bakterinin izole edildiği bitki kısmına bakılmaksızın bitki gelişimini teşvik eden bakteriler için PGPB, biyolojik mücadele etkisi gösteren bakteriler için ise Biyolojik Mücadele Elemanı (BME) terimleri kullanılabilmektedir (Förnkrantz ve ark., 2009). Biyolojik mücadele elemanı bakteriler bitkilerde bulundukları yerlere göre endofitik ve epifitik olarak iki şekilde isimlendirilirler. Epifit yararlı bakteriler bitkilerin yaprak, çiçek, sürgün ve meyve gibi toprak üstü ve kök gibi toprak altı bölümlerinde yüzeysel olarak kolonize olabilen ve bitkilerin herhangi bir bölümüne olumsuz etkisi olmayan bakteriler olarak ifade edilebilmektedir (Hallmann ve ark., 1998). Endofit faydalı bakteriler ise; yaygın olarak, bitki iç dokuları bünyesinde kolonize olabilen ve herhangi bir şekilde simptome ve bitkide olumsuz etkiye sebep olmayan bakteriler olarak tanımlanmaktadır (Schulz ve Boyle, 2006). Epifit ve endofit bakteriler

antibiyosis, siderofor üretimi, glukanaaz, kitinaaz, proteaz, amilaz, lipaz, pektinaaz ve selülaaz gibi enzimlerin üretimi, bitkilerde dayanıklılığın sistemik olarak uyarılması (ISR induced systemic resistance) gibi mekanizmaları bitki patojenlerinin biyolojik mücadelesinde kullanılmaktadırlar (Lodewyckx ve ark., 2002; Geetha ve ark., 2014).

Zeytin Dal Kanseri hastalığı gibi bitki patojenik bakteri hastalıkları ile mücadelede etkili bir bakterisit olmama sebebi ve kimyasal mücadelenin yetersiz olması, bizleri biyolojik mücadele çalışma araştırmalarına sevk etmektedir. Bu tez çalışmasının amacı da bölgemizde zeytin yetiştiriciliği yapılan alanlar gezilerek zeytin ağaçlarından karakteristik olarak hastalık belirtisi gösteren dallardan Zeytin Dal Kanseri faktörü *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin izolasyonunu yapmak, elde edilen izolatların morfolojik ve biyokimyasal testler (Gram reaksiyon, Levan, oksidaz, pektolitik aktivite, arginine dehidrolaz, tütünde hiper sensitive reaksiyon) ve MALDITOF MS ile tanısını yapmak, ayrıca patojene karşı antagonistik bakterilerle *in vitro* koşullarda biyolojik mücadelesini araştırmaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Dünyada ve ülkemizde son yıllarda ekonomik anlamda sorun olmaya devam eden Zeytin Dal Kanseri Hastalığının biyolojik mücadelesi üzerine araştırmalar yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Bitki bakteri hastalıklarının kimyasal mücadelesinde, ülkemizde koruyucu olarak bakır içerikli preparatların kullanılması önerilmektedir (Kotan, 2002). Standart mücadelede kullanılan zirai ilaçlara karşı ortaya çıkan direnç sorunu ve etkili preparat eksikliği gibi nedenlerle araştırmacıları farklı mücadele stratejilerini geliştirmeye sevk etmiştir (Nguyen, 2017). Dünya genelinde son yıllarda gerçekleştirilen çeşitli araştırmalarda, bakteriyel antagonistlerin Zeytin Dal Kanseri Hastalığı ile mücadelede önemli bir etkisi olduğu vurgulanmıştır. Bu kısımda ülkemizde zeytinde ur hastalığının varlığı, yaygınlığı, tanısı ile farklı ülkelerde biyolojik mücadelesi ve ülkemizde yapılan çalışmalara yer verilmiştir.

Tatlı ve Benlioğlu (2004), Aydın ve Muğla illerindeki zeytin ağaçlarından topladığı urlardan yarı seçici besiyeri PVF-1 ve King B besiyerine yaptığı izolasyonlardan 22 adet patojen izolat elde etmiştir. Bu isolatların patojenitelerini zeytin (Memecik ve Manzanilla çeşitlerinde) ve zakkum bitkisinin sürgünleri ile iklim odasında yapmışlardır. Yapılan bu çalışma Zeytin Dal Kanseri hastalığının bu bölgede mevcut olduğunun, ilk resmi belgesi olarak karşımıza çıkmaktadır.

Mourad ve ark. (2009), Cezayir topraklarından elde ettikleri *Rhizobium* türlerinin Zeytin Dal Kanseri Hastalığı faktörü *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'ye karşı antimikrobiyal aktiviteleri açısından kontrol etmişlerdir. *Rhizobium* sp. ORN 24 ve ORN 83 kodlu isolatların *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'ye karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Servi ve Baştaş (2012), Aydın ilinde (Bozdoğan, Buharkent, Çine, Karacasu, Karpuzlu, Koçanlı, Kuyucak, Nazilli, Söke) yürüttüğü sörveylerde, 189 tane hastalıklı dal örneği toplamıştır. Hastalığın izolasyonu ve tanımlanmasında esas olarak PVF1 ve King B besiyerinde gelişimi, SNA besiyerinde levan oluşumu, tütün yaprağında aşırı duyarlılık reaksiyonu, oksidaz testi, esculin hidrolizi, arginine dehidrolaz testi, patatestte pektolitik aktivite, nitrat redüksiyonu, jelatinin hidrolizi, üreaz aktivitesi, mannitol, sorbitol, erythritol ve sakkarozdan yararlanmışlardır. Sörveyler neticesinde toplanan 125 izolatın 85'i biyokimyasal ve moleküler metotlarla *Pseudomonas savastanoi* pv.

savastanoi olarak tanımlanmış ve Aydın ili sınırları içerisinde hastalığın yaygınlık durumu %44.9 olarak tespit edilmiştir.

Quesadaa ve ark., (2010) yaptıkları çalışmada, dört yıl boyunca aynı meyve bahçesindeki *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* inokule edilmiş ağaçlarda ve sağlıklı ağaçlardaki *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* epifitik popülasyonlarını izlemişlerdir. Hem bulaşık hem de sağlıklı kontrol zeytin ağaçlarında hastalık şiddeti gözlemlenmiştir. Ortalama olarak *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* popülasyonları yapay inokule edilmiş zeytin ağaçlarında daha yüksek olmasına rağmen, epifitik *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* popülasyonlarının sağlıklı ağaçlara yayıldığını tespit etmişlerdir. Sağlıklı kontrol ağaçlarından elde edilen *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının moleküler tiplendirmesi, yapay inokuleli ağaçlardan elde edilen izolatlara benzer olduğunu doğrulamışlardır. Bu verilere dayanarak, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin kontrol edilen zeytin bahçelerinde kısa mesafelere yayılabildiği ve *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin epifitik popülasyonu ile zeytin ağaçlarındaki ur miktarı arasında bir ilişki olduğu görülmektedir.

Mirik ve Aysan (2012), Tekirdağ, Balıkesir, Bursa, Çanakkale ve Yalova illerindeki zeytincilik faaliyeti yürütülen bahçelerde sörvey çalışmaları yapmış ve *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin sebep olduğu zeytin dal kanseri patojeninin zeytin bahçelerinde yaygınlığını araştırmıştır. Hastalık Çanakkale, Balıkesir, Tekirdağ ve Bursa illerinde sırasıyla %100, %81, %66 ve %4 oranlarında tespit edilmiş, Yalova ilinde ise hastalık etmenine rastlanmadığını belirtmiştir. Hastalığın zeytin bahçesi içerisindeki yayılım oranının ise; %73 Çanakkale, %56 Balıkesir, %30 Tekirdağ ve %0.6 Bursa'da olduğunu tespit etmiştir. Sörveyler sonucunda toplanan hastalıklı örneklerden 208 adet bakteri izolatları elde etmişlerdir. Yapılan Patojenite testi sonucunda 88 izolat zeytin fidanlarında ur oluşturmuştur. Bu izolatların tamamını SNA besisi yerinde levan oluşturmayan, oksidaz, patateste pektolitik aktivite ve arginine dehidrolaz aktivitesi negatif ancak tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu pozitif olarak tespit etmiştir.

Sivri (2012), Gaziantep ve Kilis'te zeytin yetiştiriciliği yapılan alanlardan topladığı urlardan elde ettiği izolatların morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler yöntemle tanısını yapmıştır. Yapılan izolasyonlar sonucunda beyaz-krem renkte düzgün

gelişen 143 izolat elde etmiştir. İzolatların bir yaşındaki zeytin fidanlarında yapılan patojenite testi sonucunda 31 izolat zeytin dallarında 5.5 ile 17 mm arasında değişen büyüklükte ur oluşumuna neden olduğu tespit edilmiştir. Temel tanı yöntemi olarak LOPAT testleri kullanmış ve izolatların LOPAT profili tanıya uygun şekilde (+) bulmuştur. İzolatlar, PCR yöntemiyle *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olarak tanımlanmıştır. Faaliyeti yürütülen sörveylerde hastalığın yaygınlık durumu Gaziantep (Nizip ve Oğuzeli ilçeleri) ve Gaziantep çıkışı (Uluyol) % 100 olarak; Kilis merkezinde % 80 olarak; Kahramanmaraş ilinde ise % 85 olarak rapor etmiştir.

Sancar ve Mirik (2018), Tekirdağ ilindeki yetiştirilen zeytinlerde dal kanserine neden olan *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin tanısı ve antagonistler ile biyolojik mücadelesini araştırmıştır. Zeytin üretim alanlarındaki yaprak ve çiçeklerinden 50 tane, zeytin ağacı kök üstü toprağından 60 tane izolat elde edildiğini bildirmişlerdir. Bu izolatlardan 52 tanesini patojenite testi sonucunda zeytin fidanları üzerinde ur oluşumuna neden olduğunu saptamıştır. İzolatların tamamı KOH testinde gram negatif olduğu bulunmuş ve LOPAT 1B grubunda olduğu tespit edilmiştir. Buna ilave olarak, yapılan araştırmalar ile zeytin dal kanseri hastalığının Tekirdağ ilindeki bulaşıklığı %33 oranlarında yaygınlık gösterdiğini rapor etmiştir. İkili kültür testinde 23 antagonistik izolatın 1-10.8 mm aralığında inhibisyon zonu oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Basım ve ark. (2019), *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin mikrobiyolojik açıdan ilk kez detaylı bir şekilde tanısını yapmışlardır. Batı Akdeniz Bölgesinde özellikle zeytin yetiştiriciliğinin yoğun yapıldığı Antalya ve bazı ilçelerine (Manavgat, Serik, Aksu, Kaş, Kale, Döşemealtı) yönelik yapılan incelemelerde hastalık yayılım oranını %4 ile %80 arasında belirlemişlerdir. Hastalıklı bitki örneklerinden bakteri izolasyonunu King B, SNA ve yarı seçici besi yeri PVF1 ile yapılmış ve 27°C'de inkübasyona bırakılarak *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'ye ait kolonileri elde etmişlerdir. Bakteriyel izolatların morfolojik ve biyokimyasal tanısında SNA ortamında levan oluşumu ve LOPAT testlerini uygulamışlar ve 67 izolat *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olarak tanımlanmıştır. Elde edilen bakteriyel izolatların moleküler düzeyde kesin tanıları ilk defa bu çalışmada tasarlanan primerler kullanılarak yapılmıştır. Patojen bakterinin moleküler karakterizasyonu için Rep-PCR tekniği kullanılarak, bu bakteriyel

etmenin Batı Akdeniz Bölge izolatları arasındaki genom düzeyinde farklılıkları açığa çıkarılmıştır.

Bouaichi ve ark. (2019), Fas'ta zeytin ağaçlarından izole ettikleri bakteriyel izolatlarının biyolojik mücadelesini *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırmışlardır. *In vitro* denemelerde kullandıkları 18 antagonistin 8-23 mm arısında inhibisyon zonu oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Antagonist izolat *Basillus subtilis* 2515-1'in iki patojen izolatın (*Pseudomonas savastanoi* 2064-8 ve *Pseudomonas savastanoi* 2102-4) oluşturduğu ur sayısını ve ağırlığını önemli ölçüde (%95.60 ve %50) azalttığını belirtmişlerdir.

Bitgen ve Mirik (2021), Tekirdağ ili içerisinde bulunan zeytin üretim alanlarında zeytin dal kanseri etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin tanısı ve il genelindeki yaygınlık durumu ile biyolojik mücadele yöntemlerini araştırmışlardır. Tekirdağ genelinde yetiştiriciliği yapılan zeytin çeşitlerinden toplam olarak 78 adet zeytin dal kanseri hastalığı belirtisi gösteren bitki örneği toplanmış ve 52 adet zeytin dal kanseri hastalık etmeni izolatı elde edilerek, tanılanmasını sağlamışlardır. Elde edilen ve *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olarak tanılanan tüm patojen bakteri izolatları, yapılan patojenite testi sonucunda, zeytin fidanlarında ur oluşturmuş ve King B besi yerinde zayıf floresan pigment üretimi gözlemlenmiştir. Tütün yapraklarında yapılan aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturan patojen izolatların tümü Gram, levan, oksidaz, pektolitik aktivite ve arginine dehidrolaz testleri negatif olup, LOPAT 1b grubunda yer aldığı tespit etmişlerdir. Yapılan biyokimyasal ve morfolojik tahliller sonuçlarına göre izolatların tamamı *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olarak tanılanması sağlamışlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda, zeytin dal kanseri hastalığının yaygınlık durumu Tekirdağ'da %86.6 oranında olduğunu tespit etmişlerdir. *in vitro* denemelerinde 23 adet antagonist izolatın, besi yerinde, hastalık etmeninin gelişimini 3.5-28.00 mm etki değerleri arasında inhibisyon zonları oluşturarak engellediği tespit edilmiştir.

Doksöz ve Bozkurt (2020), Hatay ilinde bulunan zeytin üretim alanlarında Zeytin Dal Kanseri Hastalık etmeninin yaygınlık oranlarını tespit etmişlerdir. Hastalığın en yüksek yaygınlık oranı %90 ile Samandağ, Arsus ve İskenderun ilçelerinde tespit edilirken, Hassa, Kırıkhan, Kumlu ve Reyhanlı ilçelerinde ise hastalık gözlemlenmemiştir. Diğer ilçelerdeki durum ise; zeytin dal kanseri hastalığının %15 ile %50 oranları arasında yaygınlık gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır. Yaptıkları

izolasyonlar sonucunda 14 izolatın saflaştırıldığını rapor etmişlerdir. Hastalığın karakteristik belirtisi olan urlardan izole ettikleri bakteriyel izolatların tanısını; Gram boyama, LOPAT testleri, MALDITOF-MS ve moleküler yöntem kullanılarak yapmışlardır. Tanı testleri sonucunda toplam 14 izolat *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* olarak tanılamışlardır.

Doksöz ve Bozkurt (2022b), Zeytin dal kanseri hastalığı etmenini taşımayan zeytin ağaçlarının kök ve sürgün bölümleri üzerinden izole edilen epifitik ve endofitik bakterileri kullanarak *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Psv) ile biyolojik mücadele olanaklarını araştırmışlardır. Antagonistik etkinin belirlenmesinde 81 epifit ve endofit bakteri izolatu patojen gelişimini farklı ölçülerde gelişimini engellediği bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda *Bacillus subtilis* HZEN1 (%78.72), *Bacillus megaterium* HZEP7 (%60.87), *Pseudomonas koreensis* HZEN27 (%46.09) ve *Bacillus pumilus* HZEP29 (%44.87) antagonist izolatlarının zeytin dal kanseri hastalığı ile mücadelede biyolojik mücadele elemanı olaraktan değerlendirilebileceğini vurgulamışlardır.

Koscak ve ark. (2023), Üç Avrupa ülkesindeki (Hırvatistan, Slovenya ve Portekiz) enfekteli zeytin ağaçlarından (*Olea europaea* L.) izole ettikleri *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatların koloni morfolojisi, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre karakterize etmişlerdir. LOPAT profiline göre *Pseudomonas savstanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının %38,6'sı Ib kümesinde gruplandığını bildirmişlerdir. Portekiz *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının bu bakterinin tipik LOPAT profiliyle tamamen tutarlı olduğunu saptamışlardır. Sloven *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının çoğu gecikmiş oksidaz aktivitesi gösterirken, Hırvat *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatları herhangi bir floresan pigment üretmediğini rapor etmişlerdir. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* moleküler tanımlaması için, gerçek zamanlı PCR'nin yanı sıra, ek olarak proteomik analizi ile tür tanımlaması için kullanılan MALDI-TOF kullanılarak izolatların %46.6'sının *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* patojen bakterisi olduğunu belirlemişlerdir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Malzeme

Patojen Bakteri İzolatı: Bu tez çalışması kapsamında, ur belirtisi olduğu bildirilen Mersin ilinin Erdemli ilçesindeki bir ev bahçesi, Osmaniye ilinin Merkez ve Kadirli ilçelerinde zeytin üretiminin yapıldığı alanlarındaki zeytin ağaçlarının dal ve gövdelerdeki yumuşak dokulu, açık krem renkli urlardan izole edilen patojenik bakteriyel izolatlar kullanılmıştır. Adana Çukurova Üniversitesi içerisindeki Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan Cmm 3/1-A kodlu *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatı, YA-223 kodlu *Erwinia amylovora* izolatı, YA-888 kodlu *Acidovorax citrulli* izolatı, YA-703 kodlu *Pectobacterium carotovorum* izolatı, YA-10 kodlu *Pseudomonas syringae* pv *tomato* izolatı, YA-647 kodlu *Pseudomonas corrugata* izolatı, patojenik bakteriyel izolatların biyokimyasal testlerle tanısında kontrol izolatlar olarak kullanılmıştır.

Aday Antagonist Bakteri İzolatları: Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Organik Tarım İşletmeciliği Laboratuvarında Dr. Öğr. Üyesi Benian Pınar AKTEPE'nin kültür koleksiyonunda bulunan 19 epifitik ve endofitik bakteriyel izolatlar aday antagonistler olarak kullanılmıştır.

Besi Yerleri: Çalışmada bakterilerin izolasyonu ve çoğaltılmasında Tryptic Soy Agar (TSA) (40 gr/lt (Merck)), bakteri izolatlarının saklanması Yeast Dekstroz Kalsiyum Karbonat Agar (YDC) (yeastextract 10 gr, dextrose 20 gr, kalsiyum karbonat 20 gr, agar 15 gr, 1lt saf su) besi yerleri kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

Kullanılan Alet ve Ekipmanlar: Saf su cihazı, hassas tartı aleti, PH metre, otoklav, mikrodalga fırın, sıcak su banyosu, otomatik pipet seti, erlen çalkalayıcı, steril kabin, etüv, inkübatör, buzdolabı, plastik küvetler, spektrofotometre ve el pulverizatörü çalışma boyunca kullanılan alet ve ekipmanlardır.

3.2. Yöntem

3.2.1 Hasta Bitkilerden Urlu Dalların Toplanması

Mersin ve Osmaniye illerindeki zeytin ağaçlarından karakteristik olarak hastalık belirtilerini gösteren alanlar Mart-Mayıs ayları arasında gezilerek hastalıklı bitki

örnekleri alınmıştır. Mersin'in Erdemli ilçesindeki bir ev bahçesinde bulunan bir ağacın dallarında krem renkte irili ufaklı yumuşak urlar tespit edilmiştir. Bu krem renkli taze urlar dallardan kopararak %70'lik alkol ile yüzeysel olarak sterilizasyon yapıldıktan sonra 4 ml steril sıvı besi yeri içeren cam tüplere konularak laboratuvara getirilmiştir. Osmaniye ilinin Merkez ilçesindeki zeytin fidan üretimi yapan bir üreticinin bilgi vermesi üzerine fidanlık hastalık kontrolü yapmak üzere ziyaret edilmiştir. Yapılan incelemede fidanın budama yerlerinde ve dallarında urlar tespit edilmiştir. Osmaniye'nin Kadirli ilçesinde yapılan incelemelerde zeytin üretim alanları gezilmiştir. Zeytin bahçeleri Kadirli İlçe Tarım Müdürlüğü bünyesinde görevli ziraat mühendisleri tarafından hastalık belirtilerinin tespit edildiği Yukarıbozkuyu Köyü ve İlbistanlı Köyü incelenmiştir. Bu alanlarda yapılan incelemelerde ağaçların dal ve gövdelerinde urlar tespit edilmiştir. Urlu dalların hastalıklı kısımdan itibaren yaklaşık olarak 30 cm kesilerek içinde temiz çeşme suyu bulunan pet şişeler içerisine konularak laboratuvara getirilmiştir (Mirik ve Aysan, 2011).

3.2.2. Patojen Bakteri İzolasyonu ve Tanısı

Laboratuvara, izolasyon işlemi yapılmak üzere getirilen örneklerin, urlu kısmı, %70'lik alkolle yüzeysel olarak dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra kabuk dokusu soyularak bistüri yardımıyla yaklaşık olarak iki mm'lik kısım alınmıştır. Alınan parçalar yeniden alkol ile yüzeysel dezenfeksiyonu yapılmıştır. Örnekler steril havanda ezildikten sonra saline buffer (%0,85'lik NaCl) çözeltisi ile homojenizasyonu gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan süspansiyondan steril bir öze yardımıyla üç çizgi ekim yöntemiyle TSA besi yeri içeren petrilere ekim yapılarak 25°C sıcaklıkta bulunan inkübatör içerisine, gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen koloniler incelenerek krem renkli koloni morfolojisine sahip olan izolatlar saflaştırılmıştır. Yapılan izolasyonlardan elde edilen patojen izolatlar daha sonraki çalışmalarımızda kullanılmak üzere YDCA besi yerinde +4°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir (Doksöz ve Bozkurt 2020). İzolasyon sonrası saflaştırılan ve *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olabileceğinden şüphelenilen bakteriyel izolatların morfolojik ve biyokimyasal testlerle tanısı, Lelliott ve Stead (1987)'a göre yapılmıştır:

Gram Reaksiyonun belirlenmesi: %3'lük potasyum hidroksit solüsyonu lam üzerine 10 µl damlatılıp 48 saatlik bakteri kültürlerinden steril plastik özeye alınan bakteri solüsyonuyla karıştırılmıştır. 10 saniye sonra öze yukarı doğru kaldırıldığında sünme olursa bakteri Gram negatif olarak tespit edilmiştir. Kontrol olarak Gram

pozitif *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatu (Cmm 3/1-A) (Çetinkaya-Yıldız ve Aysan, 2008), Gram negatif özelliğe sahip *Erwinia amylovora* izolatu (YA-223) kullanılmıştır (Sands, 1990).

Levan Oluşumu: Bölge isolatları, Sakkaroz Nutrient Agar besisi yerine çizildikten sonra 24 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Beyaz renkte, konveks, mukoid şekilde koloni oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir. Kontrol levan oluşturma özelliğine sahip *Erwinia amylovora* izolatu (YA-223) kullanılmıştır (Sands, 1990).

Oksidaz Testi: %1’lik N’-Tetramethyl- 1.4 phenylenediammonium diclorid çözeltisi sterilolan filtre kağıdına damlatılmış ve her bir izolat kürdan yardımıyla solüsyon damlatılan alana çizildiğinde 10 saniye içinde oluşacak mor renklenme pozitif olarak tespit edilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Acidovorax citrulli* izolatu (YA-888) kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

Pektolitik Aktivite Testi: Temiz çeşme suyu ile yüzeysel temizliği yapılan patatesin dış yüzeyi %1’lik sodyum hipoklorit (NaOCI) çözeltisinde 5 dk. yüzeysel dezenfeksiyondan sonra steril saf suda 2 dk. bekletilip steril bir bıçakla kabukları soyulmuştur. Patates dilimleri steril petriler içindeki filtre kağıdının üzerine yerleştirilmiştir. Patojen bakteri kültüründen steril bir öze dolusu alınarak bulaştırılan patates dilimleri 25°C’de dört gün inkübasyonda bekletildikten sonra değerlendirilmiştir. İnokule edilen bölgede oluşan yumuşama pozitif olarahtan değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Pecto bacterium carotovorum* izolatu (YA-703) kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

Arginine Dehidrolaz Testi: 1 gr. peptone, 5 gr. NaCl, 0.3 gr. K₂HPO₄, 10 gr. L-arginine, 3 gr. Agar, 0.01 gr. Phenolred, 1000 ml distile su ile hazırlanarak pH: 7.2’ye ayarlanan Thorney 2A besisi yeri, deney tüplerine 3’er ml olarahtan konulmuş ve 121°C’de 15 dakika otoklav içerisinde steril edilmiştir. Patojen bakteri kültürleriyle aşılanaak besisi yerlerinin üstü 2 ml sıvı parafinle kapatılmıştır. Besi yerleri 25 °C’de 7-10 gün inkübe edildikten sonra ortamın renginin pembe-kırmızıya dönmesi pozitif olarahtan değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas corrugata* izolatu (YA-647), negatif kontrol olarahtanda *Pseudomonas syringae* pv *tomato* izolatu (YA-10) kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi: İzolatların 10^7 hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan olan süspansiyonları tütün (*Nicotiana Tabacum* cv. Samsun N) bitkisi yaprağının damar aralarına inokule edilmiştir. İnokulasyondan 24-48 saat sonra inokule edilen alanlarda görülen nekrotik oluşum pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatu (YA-10) kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

MALDI-TOF MS: Bakteriyel izolatların tanısı, proteinlerinin peptid kütle parmak izi analizine dayalı tanı yöntemi olan MALDI-TOF MS teknolojisiyle MKÜ Bitki Sağlığı Kliniği Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde Prof. Dr. Soner SOYLU tarafından yapılmıştır (Soylu ve ark., 2020; Soylu ve ark., 2021). Bu teknoloji, mikroorganizmaların tanımlanmasını daha kolay ve hızlı bir şekilde mümkün kılmaktadır. MALDI-TOF MS yöntemi, mikroorganizmanın protein yapılarını kütle spektrometresinde izole ederek m/z değerlerine göre oluşturulan spektrallerin, sistem veri tabanındaki referans organizmalara uyum sağlayarak mikroorganizmaların cins ve türlerini hızlı bir şekilde tanımlamaktadır (Pavlovic ve ark., 2012). Bu yöntem, mikroorganizmalara ait biyomoleküllerin (örneğin, protein ve şeker) ve büyük organik moleküllerin (polimer, dendrimer, makromolekül) iyonizasyonunu ve manyetik alandan geçirilmesini içerir. Bu sayede, mikroorganizmalara ait protein profilleri ayrıntılı bir şekilde çıkarılabilir ve hızlı bir tanıma imkan tanır. Bu teknik, mikroorganizmaların türlerini veya suşlarını belirleme, tanımlama ve sınıflandırmada etkili bir araç olarak kullanılmaktadır. (Yılmaz ve ark., 2014). MALDI-TOF MS skor değerinin ≥ 2 olursa tür düzeyinde, 1.7 ve 1.9 arasında olursa cins düzeyinde ve skor değerinin < 1.7 olması güvensiz tanı olarak değerlendirilmektedir (Pavlovic ve ark., 2012; Uysal ve ark., 2019; Kara ve Soylu, 2022).

3.2.3. Patojenite Testleri

Patojenite testi hastalık belirtisi gösteren bitki organlarından izole edilen patojen bakterinin patojenite özelliğini gösteren bir uygulamadır ve etmenin tanısını kesin yapabilmek için gereklidir. Bakterinin doğal konukçusunda hastalık belirtilerine neden olup olmadığını belirlemek için yapılan konukçu testleri, patovar (alt tür) düzeyinde tanı koymada önemli bir rol oynamaktadır. Patojen bakterinin patojenitesini testlemenin yanında izolatların virülensliğinin belirlenmesinde de kullanılan bir yöntemdir. Genellikle testlerde orijinal konukçusu tercih edilse de özellikle odunsu dokularda bu

durum her zaman pratik olmayabilir. Bu şartlarda otsu bitkilerden (Domates, havuç, kalonşe) konukçu seçilebilir (Küsek ve Çınar, 2007; Yüzbaşıoğlu ve Aysan, 2021).

Havuç dilimlerinde patojenite testi: Patojenite testinde kullanılacak havuçlar %70'lik alkol ile yüzeysel sterilizasyonu yapıldıktan sonra steril bistüriyle 1 cm kalınlığında dilimlenmiştir. İçerisinde steril kurutma kağıdı bulunan 9 cm'lik cam petriler içerisine yerleştirilmiş ve steril saf suyla nemlendirilmiştir. Urlu bitkilerden izole edilen bakteriyel izolatların 10^8 hücre/ml popülasyonunda spektrofotometrede hazırlanan solüsyonundan havuç dilimlerinin üzerine 50 µl inokule edilerek ve 25°C'de 14 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Deneme 3 tekerrür olarak gerçekleştirilmiştir. İzolatların virülenslik düzeyleri, pozitif kontrolde hastalık belirtileri ortaya çıktıktan sonra ur ağırlıkları ölçülerek tespit edilmiştir (Küsek ve Çınar, 2007; Doksöz ve Bozkurt, 2020).

Zeytin fidanlarında patojenite testleri: Urlu bitkilerden izole edilen bakteriyel izolatlarının fidanlara yapay inokulasyonunda ticari bir firmadan alınan ve ülkemizde yaygın olarak kullanılan Gemlik çeşidi fidanlar kullanılmıştır. Fidanların dallarına steril bir bistüriyle yaralar açılarak otomatik pipet yardımıyla 10^8 hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan bakteri süspansiyonundan 10 µl inokule edilmiştir. Daha sonra inokulasyon noktalarına steril saf su ile nemlendirilerek pamuk ile kaplanıp parafilm ile sarılmıştır. Her izolat için 3 dal kullanılmıştır. İzolatların virülenslik düzeyleri, pozitif kontrolde hastalık belirtileri ortaya çıktıktan sonra ur ağırlıkları ölçülerek tespit edilmiştir. Virülensliği en yüksek olan izolat ikili kültür testi için kullanılmak üzere YDCA besi yerinde +4°C'de buzdolabında stok edilmiştir (Doksöz ve Bozkurt, 2020).

3.2.4. Aday Antagonist İzolatların *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'ye Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi

Organik Tarım İşletmeciliği bölüm laboratuvarının kültür koleksiyonundaki daha önce elde edilmiş olan 19 epifitik ve endofitik bakteriyel izolat TSA besi yeri üzerine eşit mesafelerde üç noktaya ekilmiş (Bitgen ve Mirik, 2021) ve petriler 25°C'de iki gün inkübe edilmiştir. Patojen izolatın süspansiyonu 600 nm dalga boyuna ayarlanan spektrofotometrede 0.2 ölçüm değerinde 10^8 hücre/ml yoğunluğunda hazırlanmıştır. Hazırlanan patojen solüsyonu petrilerde 24 saat sonra gelişen aday antagonistlerin üzerine el pülverizatörüyle püskürtülerek uygulanmıştır (Şekil 3.1). Petrilerin 25°C'deki

inkübatörde 48 saat inkübasyonundan sonra oluşan inhibisyon çapları mm olarak ölçülerek kaydedilmiştir. Etkili izolatlarının engelleme alanlarına göre elde edilen veriler CoStat İstatistik Yazılımı (CoHort Software, Pacific Grove, CA, U.S.A. Version 6.4) kullanılarak analiz edilmiştir. Tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılarak $p \leq 0.05$ önem düzeyinde LSD çoklu karşılaştırma testiyle uygulamalar arasındaki farklılık ortaya konmuştur.



Şekil 3.1. Aday antagonist izolatların *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*'ye antagonistik etkilerinin belirlenmesi.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Hasta Bitkilerden Urlu Dalların Toplanması

Çalışmada, Mersin ve Osmaniye illerindeki 18 adet zeytin üretim alanı ur hastalığı yönünden incelendiğinde altı zeytin üretim alanında *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi*'nin sebep olduğu Zeytin Dal Kanseri Hastalığı tespit edilmiştir (Şekil 4.1). İncelenen zeytin üretim alanlarının %33.33'ünde hastalık tespit edilmiştir. Üretim alanlarına yapılan incelemelerde, hasta dallarda ur hastalığının belirtileri özellikle budama yerlerinde tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Özellikle krem renkli yumuşak dokulu urlar bu bölgede mart ayında tespit edilmiştir. Zeytin bahçelerinde ur hastalığı yönünden yapılan incelemeler neticesinde toplam 9 adet urlu dal izolasyonları yapılmak üzere laboratuvara getirilmiştir.

Osmaniye'nin Kadirli ilçesinde yapılan incelemelerde İlbistanlı Köyünde dört bahçenin bir tanesinde, Yukarubozkuyu Köyünde ise 12 zeytin bahçesinin üç tanesinde ur belirtileri tespit edilmiştir. Mersin'in Erdemli ilçesinde bir ev bahçesindeki dört ağacın bir tanesinin dallarında ur tespit edilmiştir. Osmaniye'nin Merkez ilçesinde yer alan bir fidanlık üzerinde yapılan incelemede, sadece bir fidanda ur hastalığı tespit edilmiştir. Fidanlıklarda ur belirtilerinin tespit edilmesi, hastalığın hem üretim alanlarına hem de diğer bölgelere yayılması açısından önemli bir risk taşımaktadır. Fidanlıklarda hastalık belirtilerinin erken tespiti ve etkili bir yönetim stratejisi, üretim kayıplarını önleyerek sürdürülebilir tarım sağlamaya yardımcı olabilir.



Şekil 4.1. Hasta Bitkilerden Urlu Dalların Toplanması.



Şekil 4.2. Zeytin ağaçlarında budama yerleri yakınında görülen Zeytin Dal Kanseri Hastalığının belirtileri.

4.2. Patojen Bakteri İzolasyonu ve LOPAT karakterizasyonu

Mersin ve Osmaniye illerinde, 2022 yılının mart-mayıs aylarında zeytin bahçelerinde yapılan incelemelerde, 2 ile 15 yaş arasındaki zeytin ağaçlarından toplanan urlu dallardan toplam 26 adet bakteri izolatu saflaştırılmıştır. Bakteri izolatlarına yapılan potasyum hidroksit (KOH) testinde izolatlarda viskoz, yapışkanimsi bir sünme meydana gelmiş ve tamamı gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.2). Bakteriyel izolatların SNA besi yeri içerisinde Levan tipte koloni oluşturmamış olup, oksidaz, arginine ve patatesta pektolitik aktivite testleri negatif olarak değerlendirilmiştir. Tütün yapraklarında inokule edilen izolatların tamamı inokulasyon yapılan sınırlı alanda nekrotikleşme oluşturmuş (Şekil 4.3) ve tütünde aşırı duyarlılık testi pozitif olaraktan değerlendirilmiştir (Çizelge 4.1).

Zeytinde ur hastalığına neden olan *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* izolatlarının tamamı Tatlı ve Benlioğlu (2004), Servi ve Baştaş (2012), Mirik ve Aysan (2012), Sivri (2012), Sancar (2018), Basım ve ark. (2019), Bitgen ve Mirik (2021), Doksöz ve Bozkurt (2020), Koscak ve ark. (2023) araştırmacıları tarafından daha önce yayınladıkları verilerde olduğu gibi Gram negatif ve benzer LOPAT (----+) özellikte olan veriler elde edilmiştir.

Çizelge 4.1. Mersin ve Osmaniye illerinden elde edilen izolatları ve LOPAT karakterizasyonu.

No	İzolat Kodu	Lokasyon	L*	O	P	A	T
1	YKB1-1	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
2	YKB1-2	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
3	YKB1-3	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
4	YKB1-4	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
5	YKB2-1	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
6	YKB2-2	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
7	YKB2-3	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
8	YKB2-4	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
9	YKB3-1	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
10	YKB3-2	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
11	YKB3-3	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
12	YKB3-4	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
13	YKB4-1	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
14	YKB4-2	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
15	YKB4-3	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
16	YKB4-4	Kadirli-Osmaniye	-	-	-	-	+
17	ZAE1	Erdemli-Mersin	-	-	-	-	+
18	ZAE2-1	Erdemli-Mersin	-	-	-	-	+
19	ZAE3	Erdemli-Mersin	-	-	-	-	+
20	ZFO1-1	Merkez-Osmaniye	-	-	-	-	+
21	ZFO1-2	Merkez-Osmaniye	-	-	-	-	+
22	ZFO1-3	Merkez-Osmaniye	-	-	-	-	+
23	ZFO1-4	Merkez-Osmaniye	-	-	-	-	+
24	ZFO1-5	Merkez-Osmaniye	-	-	-	-	+
25	ZFO1-6	Merkez-Osmaniye	-	-	-	-	+
26	ZFO1-7	Merkez-Osmaniye	-	-	-	-	+

*: L: Levan, O: Oksidaz, P: Pektinolitik aktivite, A: Arginine dihidrolaz, T: Tütünde aşırı duyarlık. +: izolatın bu testte pozitif reaksiyon verdiğini gösterir; -: izolatın bu testte negatif reaksiyon verdiğini gösterir.



Şekil 4.3. KOH testinde izolatlarda yapışkanimsı sünme oluşumu.



Şekil 4.4. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının tütünde oluşturduğu aşırı duyarlılık reaksiyonu.

4.3. Patojenite Testleri

Havuç dilimlerinde patojenite testi: Patojenite testinde havuç dilimlerinde ur oluşumu, inokulasyondan 10 gün sonra gözlemlenmiştir. 20 gün sonra ise ur, maksimum büyüklüğe ulaşmıştır. Tüm patojen izolatlar havuç dilimlerinde ur oluşturmuşlardır. Ur büyüklükleri istatistiksel olarak gruplandırıldığında 0.8 ve 0.7 gr ur oluşturan YKB1-1 ve ZFO1-6 kodlu izolatlar en büyük ur oluşturan en virulent izolatlar olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4). ZFO1-3, ZAE2-1, YKB2-1 ve YKB2-4 kodlu izolatlar 0.5 ve 0.4 gr ağırlığında ur oluşturan diğer virulent izolatlar olarak belirlenmiştir. Ayrıca 10 adet izolat (YKB4-4, YKB3-1, YKB4-1, ZFO1-7, ZFO1-5, YKB3-3, YKB1-2, ZAE1, YKB4-3 ve ZFO1-4) 0.3 gr, sekiz adet izolat (YKB1-3, YKB3-2, YKB2-2, YKB1-4, YKB4-2, ZAE3, YKB3-4 ve YKB2-3) ise 0.2 gr ağırlığında ur oluştururken iki izolat (ZFO1-1 ve ZFO1-2) 0.1 gr ağırlığında ur oluşturmuştur (Çizelge 4.2). Virülensliği en yüksek olarak tespit edilen altı izolat (YKB1-1, ZFO1-6, ZFO1-3, ZAE2-1, YKB2-1 ve YKB2-4) zeytin fidanlarında patojenite yapmak üzere seçilmiştir.

Çizelge 4.2. Havuç dilimlerinde sonucu oluşan urların ağırlıkları.

İzolat Kodu	Ort.UrAğırlığı (Gr)	İzolat Kodu	Ort. Ur Ağırlığı (Gr)
YKB1-1	0.8 a	ZAE1	0.3 cde
ZFO1-6	0.7 ab	YKB4-3	0.3 cde
ZFO1-3	0.5 bc	ZFO1-4	0.3 cde
ZAE2-1	0.4 bcd	YKB1-3	0.2 cde
YKB2-1	0.4 bcd	YKB3-2	0.2 cde
YKB2-4	0.4 bcd	YKB2-2	0.2 cde
YKB4-4	0.3 cde	YKB1-4	0.2 cde
YKB3-1	0.3 cde	YKB4-2	0.2 cde
YKB4-1	0.3 cde	ZAE3	0.2 cde
ZFO1-7	0.3 cde	YKB3-4	0.2 cde
ZFO1-5	0.3 cde	YKB2-3	0.2 cde
YKB3-3	0.3 cde	ZFO1-1	0.1 de
YKB1-2	0.3 cde	ZFO1-2	0.1 e

*: LSD çoklu testine göre aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark $P \leq 0.05$ 'e göre önemsizdir.

Doksöz ve Bozkurt (2020), Yapmış olduğu çalışmasında 14 zeytin izolatının havuç dilimlerindeki patojenitesini ur ağırlıklarına göre belirlemiş ve urların 0.14 gr ila 1.76 gr arasında değişen ağırlıkta olduğunu tespit etmişlerdir. Bazı durumlarda bitki patojenleri için patojenite testleri, hastalık etmeninin doğal konukçu bitkiyle yapıldığı gibi alternatif konukçularla da gerçekleştirilebilmektedir. Sebzeler gibi tek yıllık bitkilerde, patojenite testlerinin orijinal konukçuda yapılmasından daha kolay olup

sonuçlar hızla elde edilebilir. Son dönemlerde, özellikle havuç dilimleri, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin patojenitesi üzerine çalışmada kullanılmıştır (Doksöz ve Bozkurt, 2022a).



şekil 4.5. Havuç dilimlerinde patojenite sonucu oluşan urlar.

Zeytin fidanlarında patojenite testi: Havuç dilimlerinde patojenite sonuçlarına göre ur ağırlığı en yüksek olan altı izolatın (YKB1-1, ZFO1-6, ZFO1-3, ZAE2-1, YKB2-1 ve YKB2-4) 10^8 hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan süspansiyonları bir yaşındaki zeytin fidanlarının taze sürgünlerine inokulasyonları yapıldığında izolatların virülenslik seviyeleri, uygulamanın 4. ayında pozitif kontrol bitkilerinde ur belirtileri oluştuktan sonra, urların ağırlıkları tartılarak belirlenmiştir. İzolatların zeytin fidanlarında oluşturduğu ur ağırlıkları 0.2 - 0.9 gr. arasında değişmiştir (izelge 4.2). Ur ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde YKB1-1 kodlu izolat 0.9 gr. ur ağırlığı ile en virülent izolat olarak belirlenmiştir. ZFO1-6 ve ZFO1-3 izolatlar 0.6 ve 0.5 gr. ağırlığında ur oluşturan diğer virülent izolatlar olarak belirlenmiştir. YKB2-4 ve YKB2-1 kodlu izolatlar 0.3 gr. ağırlığında ur oluştururken ZAE2-1 kodlu izolat 0.2 gr. ağırlığında ur oluşturmuştur. YKB1-1 izolatu oluşturduğu 0.9 gr. ağırlığındaki urla patojenitesi en yüksek izolat olarak belirlenmiş ve bir sonraki çalışmada kullanılmıştır (şekil 4.5).

Çizelge 4.3. Zeytin fidanlarında patojenite sonucu oluşan urların ağırlıkları.

İzolat Kodu	Ur Ağırlığı (Gr)
YKB1-1	0.9 a
ZFO1-6	0.6 ab
ZFO1-3	0.5 ab
YKB2-4	0.3 b
YKB2-1	0.3 b
ZAE2-1	0.2 b

*: LSD çoklu testine göre aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark $P \leq 0.05$ 'e göre önemsizdir.

Bizim çalışmamızda olduğu gibi Mirik ve ark. (2008a), zeytin fidanlarında patojenitelerini test ettikleri 33 izolatın tamamının urlar oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacıların yapmış olduğu farklı bir çalışmada urlu dallardan elde ettikleri 208 adet bakteri izolatın 88 tanesi zeytin fidanlarında ur oluşturduğunu belirtmişlerdir (Mirik ve Aysan, 2012). Doksöz ve Bozkurt (2020), testlediği 14 izolatın 0.28 gr. ile 0.98 gr. arasında farklı ağırlıklarda ur oluşumuna neden olduğunu belirtmiştir. Bitgen ve Mirik (2021), yaptıkları bir çalışmada 52 adet hastalık etmeni patojen izolat elde edilmiş ve tanılanmıştır. Elde edilen ve *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olaraktan tanılanan tüm patojen bakteri izolatları, patojenite testi yapılan zeytin fidanlarında ur oluşumuna sebep olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da zeytin fidanlarında patojenite testi yapılan tüm izolatlar (YKB1-1, ZFO1-6, ZFO1-3, ZAE2-1, YKB2-1 ve YKB2-4) ur oluşturarak patovar düzeyinde *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olarak tanılanmışlardır.



Şekil 4.6. Zeytin fidanlarına yapay inokülasyonlar sonucu oluşan urlar.

4.4. Patojen Bakteriyel İzolatların MALFITOF MS ile Tanısı

Zeytin izolatlarının MALDI TOF MS ile yapılan tanısında benzerlik indeks değerleri Çizelge 4.4'teki gibi belirlenerek *Pseudomonas savastanoi* olarak tür düzeyinde eşleşme sağlanmıştır (Ek1). Son yıllarda yapılan birçok çalışmada MALDI-TOF tanılama sisteminin bakteriyel etmenlerin tür tanısında yeni nesil bir sistem olduğu bildirilmiştir (Duman ve Soylu, 2019; Soylu ve ark., 2020; Soylu ve ark., 2021; Kara ve Soylu, 2022; Soylu ve ark., 2022; Uysal ve ark., 2022). Koscak ve ark. (2023), Hırvatistan, Slovenya ve Portekiz'deki enfekteli zeytin ağaçlarından izole ettikleri *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* izolatların koloni morfolojisi, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre karakterize ettikleri çalışmada *Pseudomonas savastanoi* pv *savastanoi* moleküler tanımlaması için, gerçek zamanlı PCR'nin yanı sıra, ek olarak proteomik analizi ile tür tanımlaması için kullanılan MALDI-TOF kullanılarak izolatların %46.6'sının *Pseudomonas savastanoi* olduğunu tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.4. Bakteriyel izolatların benzerlik indeksleri.

İzolat Kodu	Bakteri Türü	Benzerlik İndeksi
ZAE2-1	<i>Pseudomonassavastanoi</i>	2.43
ZFO1-3	<i>Pseudomonassavastanoi</i>	2.35
ZFO1-6	<i>Pseudomonassavastanoi</i>	2.32
YKB2-4	<i>Pseudomonassavastanoi</i>	2.23
YKB1-1	<i>Pseudomonassavastanoi</i>	2.21
YKB2-1	<i>Pseudomonassavastanoi</i>	2.14

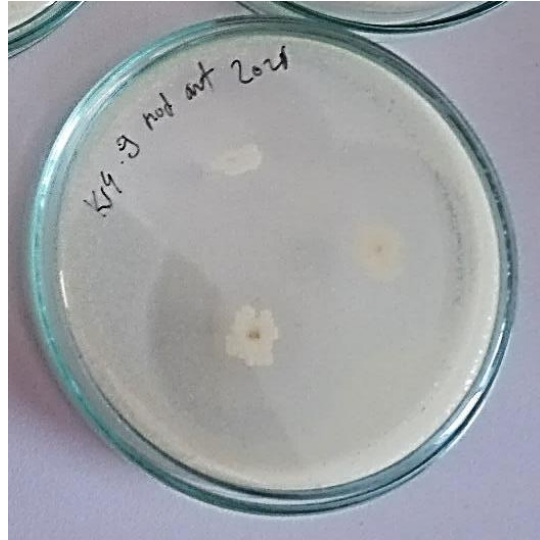
4.5. Aday Antagonist İzolatların *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'ye Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi

İn vitro şartlarda gerçekleştirilen ikili kültür testleri, farklı kültür bitkilerinden elde edilen 19 aday antagonist bakteri izolatının antagonistik etkinliğini belirlemek amacıyla 3 nokta ekim yöntemi kullanılarak yürütülmüş ve Çizelge 4.4'te belirtildiği gibi, ikili kültür testlerinin sonuçlarına göre, tüm antagonistler patojenin gelişimini baskılamış ve 2.00 mm-9.33 mm arasında inhibisyon zonu oluşturmuşlardır. İkili kültür testinde aynı istatistiki grupta yer alan beş antagonist (KSY9, ABK-FY-2-5, MTHM3, FT2.1, MTHM2 kodlu izolatlar) patojen gelişimini engellemede en başarılı izolatlar olarak belirlenmiştir. KSY9 kodlu izolat ortalama 9.33 mm engelleme zonu oluşturarak en başarılı antagonistik izolat olarak belirlenmiştir (Şekil 4.5). ABK-FY-2-5 kodlu izolat 9.00 mm engelleme zonu oluşturan bir diğer başarılı izolat olarak değerlendirilmiştir. MTHM3, FT2.1, MTHM2 kodlu antagonistik izolatlar ise sırasıyla 8.67, 7.33 ve 7.00 mm oranlarında inhibisyon zonu oluşturarak başarılı antagonistler arasında yer almışlardır. Etkili antagonistler olarak değerlendirilen 14 izolat ortalama 2.00-6.67 mm arasında engelleme zonu oluşturarak istatistiki analiz sonucunda sekiz farklı grupta yer almış ve patojeni baskılama yeteneğinde oldukları tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5. Antagonistik izolatların *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* 'ye karşı *in vitro* engelleyici etkisi.

İzolat kodu	Engelleme zonu (mm)			Ort.
	1	2	3	
KSY9	10	10	8	9.33±1.51 a*
ABK.FY.2-5	9	9	9	9,00±1,39 ab
MTHM3	9	9	8	8.67±1,36 abc
FT2.1	7	7	8	7.33±1,15 a-d
MTHM2	8	6	7	7.00±1.14 a-e
TOROS6-1	7	6	7	6.67±1,05 b-f
ABK.FK.2-6	3	11	5	6.33±2.08 c-f
ABK.FT.2-5	5	6	5	5,33±0.85 d-g
ABK.FY.2-4	6	4	6	5.33±0.93 d-g
ABK.FY.2-6	6	2	6	4,67±1,28 e-h
ABK.FK.2-5	2	7	5	4.67±1,20 e-h
ABK.FT.1-5	2	6	5	4.33±1,09 f-i
ABK.FK.1-5	4	3	4	3.67±0,61 ghi
ABK.FT.2-4	3	3	4	3.33±0.56 ghi
ABK.FY.1-5	4	3	2	3.00±0,61 ghi
ABK.FT.1-6	3	2	3	2.67±0,47 hi
ABK.FY.1-6	1	4	2	2,33±0,76 hi
ABK.FK.1-6	5	1	1	2.33±1,22 hi
ABK.FK.2-4	3	1	2	2.00±0.52 i

*: LSD çoklu testine göre aynı sütunda aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark $P \leq 0.05$ 'e göre önemsizdir.



Şekil 4.7. En etkili antagonist KSY9'un *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatına oluşturduğu inhibisyon zonu.

Bouaichi ve arkadaşları da (2019) Fas'ta zeytin ağaçlarından izole ettikleri bakteriyel izolatlarının biyolojik mücadelesinde *in vitro* denemelerde kullandıkları 18 antagonistin 8-23 mm arısında inhibisyon zonu oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Bitgen ve Mirik (2021), zeytin ağaçlarının yeşil aksamından ve toprağından elde ettikleri 110 antagonistik bakteriyel izolatın *in vitro* testlerinde, 23 antagonistik izolatın 3.5-28.00 mm arasında inhibisyon zonları oluşturarak patojen gelişimini baskıladığını tespit etmişlerdir. Araştırmacıların bildirdiğine göre Zadeh ve ark. (2018) farklı bitkilerden elde ettikleri antagonistik *Pseudomonas* izolatlarının, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin gelişimi üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada antagonist izolatların ikili kültür petrilerinde 5-20 mm arasında değişen oranlarda inhibisyon alanları oluşturarak patojenin gelişimini baskılayıcı bir etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Doksöz ve Bozkurt (2022b), sağlıklı zeytin ağaçlarının kök ve sürgünlerinden izole edilen epifitik ve endofitik bakterileri kullanarak *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* ile biyolojik mücadele olanaklarını araştırmışlardır. Antagonistik etkinin belirlenmesinde 81 epifit ve endofit bakteri izolatı patojen gelişimini farklı ölçülerde gelişimini engellediğini bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda *Bacillus subtilis* HZEN1 (%78.72), *Bacillus megaterium* HZEP7 (%60.87), *Pseudomonas koreensis* HZEN27 (%46.09) ve *Bacillus pumilus* HZEP29 (%44.87) izolatlarının Zeytin Dal Kanseri Hastalığı ile mücadelede biyolojik mücadele elemanı olarak değerlendirilebileceğini vurgulamışlardır.

4.6. Antagonist İzolatların MALDI-TOF MS ile Tanısı

En etkili izolatların MALDITOF MS ile yapılan tanı testlerinde tümünün *Bacillus* cinsine ait izolatlar olduğu saptanmıştır (Ek2). MALDI TOF MS ile yapılan tanı sonucunda, KSY9 kodlu izolat 1.761 indeks değeri ile *Bacillus subtilis*, ABK.FY.2-5 kodlu izolat 1.768 indeks değeri ile *Bacillus subtilis*, MTHM3 kodlu izolat 1.753 indeks değeri ile *Bacillus amyloliquefaciens_ssp_plantarum*, MTHM2 kodlu izolat 1.722 indeks değeri ile *Bacillus amyloliquefaciens_ssp_plantarum* olarak tanılanmıştır.

Daha önce yapılan farklı çalışmalarda da, *Bacillus subtilis* izolatlarının patojen *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu etkinin, *Bacillus subtilis*'in antimikrobiyal aktivitesi, metabolit üretimi ve sistemik direnç gibi mekanizmalarının devreye sokularak patojenin gelişimini baskılamasıyla ilişkilendirildiği belirlenmiştir (Shoda, 2000; Whipps, 2001). Bouaichi ve ark.

(2018)'nın yaptıkları çalışmada Bölgesel Tarımsal Araştırma Merkezi koleksiyonundan seçilen *Rahnella aquatilis*, *Enterobacter ludwigii*, *Paenibacillus brasiliensis* ve *Bacillus subtilis* gibi bir dizi bakteri izolatlarının *in vitro* koşullarda *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarına karşı etkili olduğunu saptamışlardır. İnhibisyon bölgeleri 8 ila 23 mm arasında değişim göstermiş olup, özellikle *Bacillus subtilis* izolatlarının daha geniş inhibisyon zonu oluşturduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Al-Khatib ve ark. (2010), farklı bakteriyel (hava ve sudan) izolatların (*Basillus subtilis*, *Basillus megaterium*, *Basillus cereus*) *Venturia Oleaginea*'ya karşı antifungal aktivite sergilediğini göstermişlerdir. *Bacillus* türleri bitki büyümesini tetikleyen ve bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere karşı toleransını artıran antimikrobiyal maddeler, enzimler, pigmentler ve toksinler gibi çeşitli hücre dışı metabolitler salgılamaktadırlar. Bu türlerin bazıları fito stimulanlar, biyopestisitler ve biyogübreler olarak ticari olarak bulunmaktadır. Bu işlevsel yönüyle *Bacillus* spp. tarımsal biyoteknoloji endüstrisinde en yaygın kullanılan türlerden biridir (Etesami ve ark., 2023).

Bacillus türlerinin farklı patojenik bakterilere karşı da antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu kanıtlayan çalışmalar da mevcuttur. Aktepe ve Aysan (2023), *Erwinia amylovora*'nın sebep olduğu Ateş Yanıklığı Hastalığının biyolojik mücadelesinde, Güldoğan ve ark. (2022), farklı *Bacillus* türlerini *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun sebep olduğu Bakteriyel Benek Hastalığının biyolojik mücadelesinde, Tümen ve ark., (2022) ve Mirik ve ark., (2008b) Biberde Bakteriyel Leke Hastalığının biyolojik mücadelesinde *Bacillus* türlerini kullanmışlardır. Soylu ve ark., (2020)'nın solucan gübresinden izole ettikleri bakteriyel izolatların *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Botrytis cinerea*, *Verticilium dahliae*'ye karşı antimikrobiyal etkililiklerini *in vitro* koşullarda araştırdıkları çalışmada antagonistik etki gösteren bakteriyel izolatların çoğunun *Bacillus* cinsine ait izolatlar olduğu belirtmişlerdir.

Bacillus spp. gram-pozitif bir bakteri türüdür ve genellikle toprakta bulunmaktadır. Bu cinse ait bakterinin birkaç farklı biyolojik mücadele mekanizması bulunmaktadır. Bu bakteriler, stres koşulları altında spor oluşturabilen endosporlar oluşturabilirler. Böylece bakterinin zorlu çevresel koşullarda hayatta kalma yeteneği artmaktadır. Bir diğer özelliği, çeşitli antibiyotikler üreterek çevresindeki diğer mikroorganizmaları inhibe ederek rekabet avantajı sağlamaktadır. Bunların yanında mikroorganizmaların bir yüzeye yapışarak ekstraselüler matriks içinde yaşadığı ince bir tabaka olan biyofilm de

üretebilmektedirler. Bu yapı, bakteri hücrelerinin bir araya gelip çevresel koşullara karşı korunaklı bir yapı oluşturmaları anlamına gelmektedir. Ayrıca, çeşitli enzimleri üreterek çevresindeki organik maddeleri parçalayabilir ve bu sayede besin kaynaklarını kullanabilmektedirler. Son olarak *Basillus* cinsine ait türler, patojen mikroorganizmalara karşı yer ve besin rekabeti gibi çeşitli antagonistik etkiler göstererek çevresindeki diğer zararlı organizmaları inhibe edebilirler. *Basillus* türleri, bu mekanizmaları sayesinde çeşitli ekosistemlerde varlığını sürdürebilirler ve zararlı organizmalara karşı doğal bir koruma sağlarlar (Soylu ve ark., 2016).



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Ülkemizde yoğun yetiştiriciliği yapılan Zeytin (*Olea europaea* L) ticari açıdan önemli meyve ağaç türü olarak, Zeytin Dal Kanseri Hastalığından etkilenmektedir. Bu hastalığın mücadelesi esas olarak önleyici tedbirlere dayanmaktadır. Bu önleyici tedbirler çoğunlukla bakır uygulamalarını içermektedir (Trapero-Casasve ark., 2009; Viruegave ark., 2013). Bakırın kapsamlı ve yoğun kullanımıyla, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* popülasyonlarında bakır direnci oluşmaktadır (Nguyen, 2017). Bakteriyel hastalıkların mücadelesinde yaygın olarak kullanılan bakırlı preparatlar, sistemik olmayan enfeksiyonlarda başarılı olabilirken, bitkinin iletim demetleri veya iç kısımlarında bulunan bakterilere karşı yeterli etki gösterememektedir. Bu sebeple, son yıllarda özellikle *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* gibi ur oluşturan bakteriyel hastalıklarla mücadelede, kimyasal mücadele yöntemlerine alternatif olarak, antagonist bakteri izolatları veya bitki gelişimini destekleyen bakterilerin kullanıldığı biyolojik mücadele yöntemleri üzerine odaklanan çalışmalar artmıştır. Zeytin Dal Kanseri Hastalığının biyolojik mücadelesinde bakteriyel izolatların antagonistik etkilerinin belirlenmesini amaçlayan bu yüksek lisans çalışmasında elde edilen veri sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

1. Mersin ve Osmaniye illerindeki zeytin üretim alanları ve fidanlıklarında yapılan incelemeler sonucunda 18 adet zeytin üretim alanının altı tanesinde Zeytin Dal Kanseri Hastalığı tespit edilmiştir. Mersin'in Erdemli ilçesinde bir ev bahçesindeki dört zeytin ağacının bir tanesinde ki dallarda ur tespit edilmiştir. Osmaniye'nin Merkez ilçesindeki fidanlık incelendiğinde sadece bir fidanda ur hastalığı tespit edilmiştir. Bu durum hastalığın üretim alanlarına yayılmasında büyük bir tehlike arz etmektedir. Osmaniye'nin Kadirli ilçesinde yapılan incelemelerde İlbistanlı Köyünde dört bahçenin bir tanesinde, Yukarubozkuyu Köyünde ise 12 zeytin bahçesinin üç tanesinde ur belirtileri tespit edilmiştir. Zeytin bahçelerinde ur hastalığı yönünden yapılan incelemeler neticesinde toplam 9 adet urlu dal izolasyonları yapılmak üzere laboratuvara getirilmiştir.

2. Hastalıklı örneklerden yapılan izolasyonlar neticesinde toplam olarak 26 adet patojenik bakteriyel izolatlar elde edilmiştir.

3. Bakteri izolatlarına yapılan KOH testinde izolatlarda viskoz, yapışkanimsı bir sünme meydana gelmiş ve tamamı gram negatif olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen

tüm bakteri izolatları tipik *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* LOPAT (--- +) karakterizasyonu sergilemişlerdir.

4. Zeytin fidanlarında ur oluşturan izolatların MALDI TOF MS ile yapılan tanılama sonucunda benzerlik indeks değerleri yüksek oranda *Pseudomonas savastanoi* olarak tür düzeyinde tam eşleşme sağlanmıştır.

5. *In vitro* ikili kültür testler sonucunda tüm aday antagonist izolatları hastalık etmenine karşı farklı çap büyüklüklerinde (2.00mm-9.33mm) engelleme zonu oluşturmuştur. KSY9, ABK-FY-2-5, MTHM3, FT2.1 ve MTHM2 kodlu izolat sırasıyla 9.33, 9.00, 8.67, 7.33, 7.00 mm engelleme zonu oluşturarak en başarılı antagonistik izolatlar olarak belirlenmiştir. En etkili izolatların MALDITOF MS ile yapılan tanı testlerinde tümünün *Bacillus* cinsine ait izolatlar olduğu saptanmıştır. Bu izolatlar Zeytin Dal Kanseri Hastalık etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'ye karşı umut vaat eden biyolojik mücadele elemanları olarak öne çıkmaktadır. Gelecekteki çalışmalar, bu izolatların etki mekanizmaları incelenerek *in vivo* koşullarda etkinliğini değerlendirmek amacıyla Zeytin Dal Kanseri Hastalığı ile doğal olarak bulaşık bir fidanlık alanına entegre edilmesine odaklanılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abuamsha, R., Kluepfel, D., Mc Clean, A., Salman, M., Evaluation of Commercial Olive Accessions for Resistance to the Olive Knot Disease Caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Arabian Journal for Science and Engineering, 1-9, 2023.
- Aktepe, B.P., Aysan, Y., Biological control of fire blight disease caused by *Erwinia amylovora* on apple. Erwerbs-Obstbau, 65(4), 645-654, 2023.
- Al-Khatib, M., Alhussaen, K., El-Banna, N., Zyadeh, M., Biogicalcontrol of olive leaf spot (peacock spot disease) caused by *Cycloconium oleaginum* (Spilocea oleaginea), Journal of Microbiology and Antimicrobials, 2(6), 64-67, 2010.
- Alvarez, E., Garcia de los Rios, J.E., Jimenez, A., Rojas, A., Reche, P., Troya, M.T., Phenotipic variability in different strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *Savastanoi* isolated from different hosts. European Journal of Plant Patholog, 104, 603-6, 1998.
- Anonim, Erişim adresi: <https://dosyahaber.com/post/zeytinlikler-ve-zeytin-agaclari-doga-acisindan-neden-onemli-1691234925>, Erişim Tarihi: 26.12.2023.
- Anonim, Zeytin Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele. Erişim adresi: https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/Uretici_Bilgi_Kosesi/Dokumanlar/zeytin.pdf, Erişim Tarihi: 27.01.2024.
- Anonymous, Bitki Koruma El Kitabı, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, İzmir İl Müdürlüğü, Yayın No, 352, 460s, 1997.
- Azeri, T., Research on olive leaf spot, olive knot and verticillium wilt of olive in Turkey. EPPO Bulletin, 23, 437-440, 1993.
- Basim, H., Ersoy, A., Batı Akdeniz Bölgesinde Zeytin Ağaçlarında *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* Tarafından Oluşturulan Bakteriyel Dal Kanseri Hastalığının Yayılışı Ve Hastalık Etmeninin Tanısı. Türkiye 1. Zeytincilik Sempozyumu, 310-315, 6-9, 2000.

- Basım, H., Basım, E., & Ersoy, A., Phenotypic and genotypic characterization of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* causing olive knot disease in Turkey. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(6), 2019.
- Bitgen, E., MİRİK, M., Tekirdağ ilinde yetişen zeytin ağaçlarında dal kanseri hastalığı etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin tanısı ve antagonist bakteriyel izolatlar ile biyolojik mücadelesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 26(2), 326-336, 2021.
- Bouaichi, A., Benkirane, R., El-kinany, S., Habbadi, K., Lougraimzi, H., Sadik, S., Benbouazza, A., Achbani, E.H., Potential effect of antagonistic bacteria in the management of olive knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 8(4), 1035-1040, 2019.
- Bozkurt, I.A., Soylu, S., Mirik, M., Ulubas Serce, C., Baysal, Ö., Characterization of bacterial knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* on pomegranate (*Punicagranatum* L.) trees: a new host of the pathogen. *Letters In Applied Microbiology*, 59(5), 520-527, 2014.
- Buonauro, R., Moretti, C., da Silva, D.P., Cortese, C., Ramos, C., Venturi, V., The olive knot disease as a model to study the role of interspecies bacterial communities in plant disease. *Frontiers in plant science*, 6, 434, 2015.
- Cinelli, T., Marchi, G., Cimmino, A., Marongiu, R., Evidente, A., Fiori, M., Heterogeneity of *Pseudomonas savastanoi* Populations Infecting *Myrtus communis* in Plant Pathology, Sardinia -Italy, 63, 277-289, 2014.
- Cook, R.J., Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol*, 31: 53-80, (1993). Di Francesco, A., Martini, C., Mari, M., Biological control of post harvest diseases by microbial antagonists: how many mechanisms of action? *Eur J Plant Pathol*, 145 711–717, 2016.
- Conner, K.N., Zhang, L., Jacobi, J., Putnam, M.L., First report of bacterial gall on *Loropetalum chinense* caused by *Pseudomonas savastanoi* in the United States. *Disease Notes*, 97(6), 835, 2013.

- Çetinkaya Yıldız, R., & Aysan, Y., Domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al)'in izolasyonu, geleneksel, serolojik ve moleküler yöntemlerle tanımlanması. Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 19 (1), 114-122, 2008.
- Doksöz, S., Bozkurt, İ.A., Hatay ili zeytin üretim alanlarında zeytin dal kanseri (*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*) hastalığının belirlenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 7, 96-103, 2020.
- Doksöz, SF., Bozkurt, İ.A., A new and simple pathogenicity test using carrot slices for *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, causal disease agent of olive knot. Journal of Plant Pathology, 102(4), 1173-1177, 2022a.
- Doksöz, SF., Bozkurt, İ.A., Biological control of *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* causing the olive knot disease with epiphytic and endophytic bacteria. Journal of Plant Pathology, 104(1), 65-78, 2022b.
- Duman, K., Soylu, S., Characterization of plant growth-promoting traits and antagonistic potentials of endo phytic bacteria from bean plants against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. Bitki Koruma Bülteni, 59, 59-69, 2019.
- Eltlbany, N., Prokscha, Z.Z., Castaneda-Ojeda, M.P., Kröger recklen fort, E., Heuer, H., Wohanka, W., Ramos, C., Smalla, K.A., new bacterial disease on Mandevilla sanderi, caused by *Pseudomonas savastanoi*: Lessons learned for bacterial diversity studies. Appl Environ Microbiol 78, 8492–8497, 2012.
- EPPO, 2022. PM 4/17 (3) Certification scheme for olive tree sandrootstocks. Erişim adresi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/epp.12883>, Erişim tarihi: 27.01.2024.
- EPPO, 2024. Erişim adresi: <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMSF>, Ercolani, G. L., 1978. *Pseudomonas savastanoi* and other bacteria colonizing the surface of olive leaves in the field. Microbiology, 109(2), 245-257. Erişim tarihi: 27.01.2024.
- Etesami, H., Jeong, B.R., Glick, B.R., Potential use of *Bacillus* spp. as an effective biostimulant against abiotic stresses in crops-A review. Current Research in Biotechnology, 100128, 2023.

- FAO, 2021. Dünya zeytin üretim alanları. Erişim adresi: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>, Erişim tarihi: 27.12.2023.
- Fürnkranz, M., Müller, H., Berg, G., Characterization of plant growth promoting bacteria from crops in Bolivia. Journal of Plant Diseases and Protection, 116(4), 149-154, 2009.
- Garcia, De Los Rios JE., *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss, a new host of *Pseudomonas savastanoi*. Phytopathologia Mediterranea, 38, 54–60, 1999.
- Gardan, L.C., David, M., Marel, E., Glickmann, M., Abu-Ghorrahand, Y., Dessaux, Evidence for a correlation auxin production and host plant species among strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*. Applied and Environmental Microbiology, 1992.
- Geetha, K., Venkatesham, E., Hindumathi, A., Bhadraiah, B., Isolation, screening and characterization of plant growth promoting bacteria and the effect on *Vigna radiata* (L.) R.Wilczek. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci., 3(6), 799-809, 2014.
- Geylani, Yüzbaşıoğlu, E., Aysan, Y., Farklı konukçu bitkilerden izole edilen *Agrobacterium tumefaciens* izolatlarının fenotipik ve genotipik karakterizasyonu. Journal of Tekirdag Agricultural Faculty, 18(2), 247-259, 2021.
- Güldoğan, Ö., Aktepe, B.P., Aysan, Y., Domates Bakteriyel Benek Hastalığının Biyolojik Mücadelesinde Farklı *Bacillus* Türlerinin Kullanımı. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 19(4), 829-839, 2022.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Rodriguez-Kabana, R., Kloepper, J., W. Interactions between *Meloidogyne incognita* and endophytic bacteria in cotton and cucumber. Soil Biology and Biochemistry, 30(7), 925-937, 1998.
- Hayretçi, E., Küresel Rekabet Ortamında Türkiye'nin Zeytin Sektörü: Gemlik Zeytin Üreticileri Üzerinde Bir Analiz. Yüksek Lisans Tezi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Bursa Uludağ Üniversitesi, 2022.

- Iacobellis, NS., Caponero, A., Evidente, A., Characterization of *Pseudomonas syringae* ssp. *Savastanoi* Strain isolated from ash. Plant Pathology, 47(1), 73-83, 1998.
- Janse, J.D., The bacterial disease of ash (*Fraxinus Excelsior*) caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *Savastanoi* pv. *fraxini*. II. Etiology And Taxonomic Considerations. Eur. J. For. Pathol, 11, 425-438, 1981.
- Janse, J.D., *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* (Ex Smith) Subsp. Nov., Nom. Rev., The Bacterium Causing Excrescences on oleaceae and *Nerium oleander* L. International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology, 32(2), 166-169, 1982.
- Kara, M., Soyulu, S., Isolation of endophytic bacterial isolates from healthy banana trees and determination of their *in vitro* antagonistic activities against crown rot disease agent *Fusarium verticillioides*. Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 27(1), 36-46, 2022.
- Krid, S., Rhouma, A., Mogou, I., Quesada, J.M., Nesme, X., Gargouri, A., *Pseudomonas savastanoi* endophytic bacteria in olivetree knots and antagonistic potential of strains of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. J Plant Pathol, 92, 335–341, 2010.
- Krid, S., Triki, M., Gargori, A., Rhouma, A., Biocontrol of olive knot disease by *subtilis* isolated from olive leaves. Annals Microbiol, 62(1), 149-154, 2012.
- Košćak, L., Lamovšek, J., Đermić, E., Tegli, S., Gruntar, I., Godena, S., Identification and characterisation of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* as the causal agent of olive knot disease in Croatian, Slovenian and Portuguese olive (*Olea europaea* L.) orchards. Plants, 12(2), 307, 2023.
- Kotan, R., Doğu Anadolu Bölgesi'nde Yetiştirilen Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarından İzole Edilen Patojenik ve Saprofitik Bakteriyel Organizmaların Klasik ve Moleküler Metodlar ile Tanısı ve Biyolojik Mücadele İmkânlarının Araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 217s, 2002.

- Küsek, M., Asmada (*Vitisvinifera* l.) ura neden olan *Agrobacterium vitis*'in tanılanması ve mücadele olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ad 103s, 2007.
- Lavermicocca, P., Lonigro, S.L., Valerio, F., Evidente, A., Visconti, A., Reduction of olive knot disease by a bacteriocin from *Pseudomonas syringae* pv. *ciccaronei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(3), 1403-1407, 2002.
- Lelliot, R.A., and Stead, D.E., *Methods for The Diagnosis of Bacterial Diseases Plants*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. 216 PP, 1987.
- Iacobellis, NS., Caponero, A., Evidente, A., Characterization of *Pseudomonas syringae* ssp. *Savastanoi* Strains isolated from ash. *Plant Pathology*, 47(1), 73-83, 1998.
- Lodewyckx, C., Vangronsveld, J., Porteous, F., Moore, E., Taghavi, S., Mezgeay, M., van der Lelie, D., Endophytic Bacteria and the irpotential applications. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21, 583-606, 2002.
- Loumou, A., and Giourga, C., Olive groves: "The life and identify of the Mediterranean". *Agriculture and Human Spread of levan-positive populations of Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, the causal agent of olive knot, in central Italy. *European J Plant Patho*, 112(2), 101-112, 2005.
- Marchi, G., Mori, B., Pollacci, P., Mencuccini, M., Surico, G., Systemic spread of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive explants. *Plant Pathology*, 58(1), 152-158, 2009.
- Mirik, M., Aysan, Y., Cinar, O., Sahin, F., Türkiye'de çeşitli bitkilerden izole edilen *Pseudomonas savastanoi* izolatlarının fenotipik karakterizasyonu. Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi, Samsun-Türkiye, 139, 2004.
- Mirik, M., Aysan, Y., Doğu Akdeniz Bölgesinde zakkum, yasemin, mersin ve cılbırtı çalılarında *Pseudomonas savastanoi*'nin neden olduğu bakteriyel ur hastalığı üzerine araştırmalar. III. Ulusal Süs Bitkileri Kongresi, İzmir-Türkiye, 311-317, 2006.

- Mirik, M., Aysan, Y., Büyükyılmaz, M., Türkiye'nin marmara bölgesi zeytin üretim alanlarında *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının elde edilmesi ve yaygınlığı üzerine araştırmalar. II. Bitki Koruma Kongresi, Isparta-Türkiye, 2007.
- Mirik, M., Aysan, Y., Büyükyılmaz, M., Tekirdağ ve Çevresinde Zeytin Üretim Alanlarından *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* İzolatlarının Elde Edilmesi, İzolatlarının Karakterizasyonları ve farklı bitkilerden izole edilen izolatlarla fenotipik ve genotipik olarak karşılaştırılması. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Tarım, Ormancılık ve Veterinerlik Araştırma Grubu Proje No: 106 O 196 68 s, 2008a.
- Mirik, M., Aysan, Y., Cinar, O., Biological control of bacterial spot disease of pepper with *Bacillus* strains. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32(5), 381-390, (2008b).
- Mirik, M., Aysan, Y., şahin, F., Characterization of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* strains isolated from several host plants in Turkey and report of fontanesia as a new host. Journal of plant Pathology, 263-270, 2011.
- Mirik, M., Aysan, Y., Marmara bölgesinde zeytin dal kanseri hastalığının yaygınlığı ve *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının fenotipik ve genotipik karakterizasyonu. Journal of Agricultural Sciences, 17(2011), 279-290, 2012.
- Morris, C.E., Lamichhane, J.R., Nikolić, I., Stanković, S., Moury, B., The overlapping continuum of host range among strains in the *Pseudomonas syringae* complex. Phytopathology Research, 1(1), 1-16, 2019.
- Mourad, K., Fadhila, K., Chahinez, M., Meriem, R., Philippe, D. L., & Abdelkader, B., Antimicrobial activities of *Rhizobium* sp. Strains against *Pseudomonas savastanoi*, the agent responsible for the olive knot disease in Algeria. Grasas y aceites, 60(2), 139-146, 2009.
- Nguyen, K. Epidemiology and Management of Olive Knot Caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in California Olive Production. Doctoral thesis, Plant Pathology, University of California Riverside. Pro Quest ID: Nguyen_ucr_0032D_13174. Merritt ID: ark:/13030/m5sb92p5. Retrieved from <https://escholarship.org/uc/item/8g25c868>, 2017.

- Obanor, FO., Walter, M., Jones, EE., Jaspers, MV. Green house and field evaluation of fungicides for control of olive leaf spot in New Zealand. *Crop Prot*, 27, 1335–1342, 2008.
- Quesada, JM., Penyalver, R., Pérez-Panadés, J., Salcedo, CI., Carbonell, EA., López, M.M., Dissemination of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* populations and subsequent appearance of olive knot disease. *Plant Pathol*, 59, 262–269, 2010.
- Quesada, CA., Phillips, OL., Schwarz, M., Czimczik, CI., Baker, TR., Patiño, S., Fyllas, N.M., Hodnett, MG., Herrera, R., Almeida, S., Basin-wide variations in Amazon for eststructure and function are mediated by both soils and climate. *Biogeosciences*, 9, 2203–2246, 2012.
- Özcan, M., Zeytin Yetiştiriciliği. Subtropik Meyveler Ders Notu, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ziraat Fakültesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 2020. Erişim Adresi: <https://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/huscelik/68798/BAH%C3%87E%20B%C4%B0TK%C4%B0LER%C4%B0%20DERS%20NOTU%202020.pdf> Erişim Tarihi: 26.12.2023.
- Panagopoulos, C.G., Olive knots in Greeee. *Bulletin OEPP/ EPPO Bulletin*, 23, 417-422, 1993.
- Pavlovic, M., Kondrad, R., Iwobi, A.N., Sing, A., Bush, U., And Huber, I.A dual approach employing MALDI-TOF MS andreal-time PCR for fast species identification within the Entero bacter cloacae complex. *FEMS Microbiolo gy Letters*, (328), 46-53, 2012.
- Penyalver, R., García, A., Ferrer, A., Bertolini, E., Quesada, J.M., Salcedo, C.I., Piquer, J., Pérez-Panadés, J., Carbonell, E.A., del Río, C., Caballero, J. M., López, M.M., Factors affecting *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* plant inoculations and their use for evaluation of olive cultivar susceptibility. *Phytopathology*, 96(3), 313-319, 2006.
- Ramos, C., Matas, I.M., Bardajı, L., Aragon, I.M., Murillo, J., *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*: somelike it knot. *Molecular Plant Pathology*, 13(9): 998-1009, 2012.

- Rodríguez-Moreno, L., Jiménez, A.J., and Ramos, C., Endo pathogenic lifestyle of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive knots. Microb Biotechnol, 2, 476–488, 2009.
- Saad, A.T., Hanna, L., Two new hosts of *Pseudomonas savastanoi* and variability in strains isolated from different host. Phytopathology, 92, S71, 2002.
- Salman, M., Hawamda, A., Amarni, A.A., Rahil, M., Hajjeh, H., Natsheh, B., Abuamsha, R., Evaluation of the Incidence and Severity of Olive Leaf Spot Caused by *Spilocaea oleagina* on Olive Trees in Palestine. Am J Plant Sci, 2, 457-460, 2011.
- Sancar, E., Mirik, M., Tekirdağ'da Zeytin Dalı Kanseri Hastalığı Etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin Tanısı ve Bakteriyel Antagonistlerle Biyolojik Mücadelesi Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, 2018.
- Sands, D.C., Physiological criteria-determinate tests. In Methods in Phytobacteriology, ed: Klement, Z., Rhudolp, K., Sands, D.C., Academia Kiado, Budapest, Hungary, 1990.
- Saygılı, H., Şahin, F., Aysan, Y., Fitobakteriyoloji. Meta Basım Matbaacılık, İzmir-Türkiye, 530s, 2006.
- Servi, D., Baştaş, K.K., Aydın İli'nde Zeytin Bakteriyel Dal Kanseri Hastalığı (*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*)'nın Tespiti ve Tanılanması. Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 26(3), 1-8, 2012.
- Schulz, B., Boyle, C., What are endopytes? (Schulz, B., Boyle, C., & N., T., Editör). In: Microbial Root Endophytes. Springer-Verlang, Berlin, No: 1-13, 2006.
- Shoda, M., Bacterial control of plant diseases. Journal of bioscience and bioengineering, 89(6), 515-521, 2000.
- Sivri, N., Kahramanmaraş, Gaziantep ve Kilis İllerindeki Zeytin Üretim alanlarında Görülen Zeytin Dal Kanseri Hastalığı Etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv.

savastanoi Tanılanması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 89s, 2012.

Smith, E.F., Recent studies on the olive-tubercle organism. U.S. Dept. Agr. Bur. Plant Indust. Bull. No. 131 Part, IV, 1908.

Soylu, S., Sülü, S.M., Bozkurt, İ.A., Bitki büyüme düzenleyici ve biyolojik mücadele etmeni olarak bakteriyel endofitler. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21(1), 2016.

Soylu, E.M., Soylu, S., Kara, M., Kurt, Ş., Sebzelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. KSU Tarım ve Doğa Dergisi, 23, 7-18, 2020.

Soylu, S., Kara, M., Uysal, A., Kurt, Ş., Soylu, E.M., Determination of antagonistic potential of endophytic bacteria isolated from lettuce against lettuce white mould disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. Zemdirbyste-Agriculture, 108, 303-312, 2021.

Soylu, S., Kara, M., Uysal, A., Kurt, Ş., Soylu, E.M., Üremiş, İ., Sertkaya, E., Bozkurt, İ.A., Öztürk. Amik ovası havuç ekim alanlarında sorun olan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerin belirlenmesi. KSU Tarım ve Doğa Dergisi, 25, 1326-1340, 2022.

Tatlı, B., Benlioğlu, K., Study on olive knot disease (*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*) occurring olive areas of Aydın and Muğla provinces. – Proceed. 1st Plant Protect. Congr., Samsun-Turkey, 2004.

Trapero-Casas, A., Roca, L.F., Moral, J., López, E., Blanco, F.J., López, M.A., Enfermedades del olivo. Phytoma España, 209, 18-28, 2009.

TÜİK, 2022. Zeytin üretim istatistik tablosu. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr> Erişim tarihi: 26.12.2023.

Tümen, İ.B., Aktepe, B.P., Aysan, Y., Tohuma Uygulanan Bakteriyel Antagonistlerin Biberde Bakteriyel Leke Hastalığına Etkisi. Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 37(2), 198-210, 2022.

- Uysal, A., Kurt, Ş., Soylu, S., Soylu, E.M., Kara, M., Yapağı Yenen Sebzelerdeki Mikroorganizma Türlerinin MALDI-TOF MS (Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi) Tekniği Kullanılarak Tanılanması. Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences, 29(4), 595-603, 2019.
- Uysal, A., Kurt, Ş., Soylu, S., Kara, M., Soylu, E.M., Hatay ilinde yer alan turunçgil paketleme tesislerinde meyve ve hava kökenli mikrobiyaya içerisindeki fungal ve bakteriyel türler ile yoğunluklarının belirlenmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 27(2), 340-351, 2022.
- Viruega, J., Moral, Juan, Roca, Luis, Navarro, N., Trapero-Casas, Antonio. *Spilocaea oleagina* in Olive Groves of Southern Spain: Survival, Inoculum Production, and Dispersal. Plant Disease. 97. 1556. 10.1094/PDIS-12-12-1206-RE. 2013
- Whipps, J.M., Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. Journal of experimental Botany, 52(suppl_1), 487-511, 2001.
- Yılmaz, S., Duyan, S., Artuk, C., Diktaş, H., Mikrobiyolojik Tanımlamada MALDI-TOF MS Uygulamaları. TAF Preventive Medicine Bulletin, 13(5), 421-426, 2014.
- Yolageldi, L., Tunç, C., Onoğur, E., Yıldırım, I. Batı Anadolu’da Zeytin verticillium Solgunluğunun Yaygınlığı, Yakalanma Oranı, Hastalık Şiddeti ve Hastalık Çıkışında Etkili Bazı Faktörler Üzerinde Araştırmalar. In IX. Th. Turkish Phytopathology Congress, (Pp. 299-305), 2001.
- Young, J.M., Dye, D. W., Bradbury, J.F., Panagopoulos, C.G., and Robbs, C.F.A., Proposed and Classification for Plant Pathogenic Bacteria. New Zealand Journal of Agricultural Research, 21, 153-177, 1978.
- Zadeh, H.R., Khavazi, K., Asgharzadeh, M., Hosseini-Mazinani, M., De Mot R Biocontrol of *Pseudomonas savastanoi*, causative agent of olive knot disease: antagonistic potential of non-pathogenic rhizosphere isolates of fluorescent *Pseudomonas*. Comm. Appl. Biol. Sci. 73(1), 199-203, 2008.

EKLER

EK-1. *PSEUDOMONAS SAVASTANOI* İZOLATLARININ MALDI TOF-MS SONUÇLARI

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
C2 (+++)(C)	PS 7	HNP4- Pseudomonas	2.326	CFBP-3658_Pseudomonas savastanoi	2.327
C3 (+++)(C)	PS 6	HNP4- Pseudomonas	2.331	CFBP-3641_Pseudomonas savastanoi	2.339
C4 (++)(A)	PS 5	Acinetobacter johnsonii	2.123	Acinetobacter johnsonii	2.041
C5 (+++)(C)	PS 4	HNP4- Pseudomonas	2.442	CFBP-3649_Pseudomonas savastanoi	2.438
C6 (++)(C)	PS 3	HNP4- Pseudomonas	2.262	Pseudomonas savastanoi	2.222
C7 (++)(C)	PS 2	HNP4- Pseudomonas	2.267	CFBP-3641_Pseudomonas savastanoi	2.214
C8 (++)(C)	PS 1	Pseudomonas savastanoi	2.218	HNP4- Pseudomonas	2.214

EK-2. ANTAGONİST İZOLATLARININ MALDI TOF-MS SONUÇLARI

Project Name: Benian Pinar Aktepe 3 adet bakteri teshis_09112023
Project Description:
Project Owner: Admin@FLEX-PC
Project Creation Date/Time: 2023-11-09T04:38:02.873
Project Analyte Count: 3
Project Type: Development
Validation: not present
Validation Position:

Result Overview

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
B8 (+)(B)	Kayseri 9	Bacillus subtilis	1.761	Bacillus amyloliquefaciens ssp. plantarum	1.72
B9 (-)(C)	ABK F.Y 1.5	not reliable identification	1.532	not reliable identification	1.422
B10 (+)(B)	ABK F.Y 2.5	Bacillus subtilis	1.768	Bacillus subtilis	1.74

Project Name: Benian Pinar Aktepe 3det bakteri ornegi 09062023
Project Description:
Project Owner: Admin@FLEX-PC
Project Creation Date/Time: 2023-06-09T05:54:17.924
Project Analyte Count: 3
Project Type: Development
Validation: not present
Validation Position:

Result Overview

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
E1 (+)(B)	MAY YPR 3	Bacillus mojavensis	1.878	Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum	1.841
E2 (+)(B)	MAY THM 3	Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum	1.753	not reliable identification	1.664

Project Name: Benian Pinar Aktepe 5 adet bakteri ornek_08062023
Project Description:
Project Owner: Admin@FLEX-PC
Project Creation Date/Time: 2023-06-08T06:13:33.878
Project Analyte Count: 5
Project Type: Development
Validation: not present
Validation Position:

Result Overview

Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second best match)	Score Value
D1 (-)(C)	may ypr 3	no peaks found	≤0	no peaks found	≤0
D2 (++)(B)	mis yap 7	Bacillus subtilis	2.217	Bacillus subtilis	2.206
D3 (+)(B)	may thm 2	Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum	1.722	Bacillus amyloliquefaciens	1.722

EK-3. ANTAGONİST İZOLATLARIN *PSEUDOMONAS SAVASTANOİ*'YE ANTAGONİSTİK ETKİLERİNİN VARYANS ANALİZİ

HOMOGENEITY OF VARIANCES - RAW DATA

Rows of data with missing values removed: 0

Rows which remain: 57

Source	df	Type I SS	MS	F	P
--------	----	-----------	----	---	---

Main Effects

C1	18	299.5789474	16.643275	6.4535147	.0000 ***
Error	38	98.25789474			

Total	56	397.5789474			
-------	----	-------------	--	--	--

Model	18	299.5789474	16.643275	6.4535147	.0000 ***
-------	----	-------------	-----------	-----------	-----------

$R^2 = SS_{\text{model}} / SS_{\text{total}} = 0.75350807519$

Root MSError = $\sqrt{MS_{\text{error}}} = 1.60591013709$

Mean Y = 5.15789473684

Coefficient of Variation = $(\text{Root MSError}) / \text{abs}(\text{Mean Y}) * 100\% = 31.134992\%$

Compare Means

Factor: 1) C1

Test: LSD

Significance Level: 0.05

Variance: 2.57894736842

Degrees of Freedom: 38

nMeans = 19

LSD 0.05 = 2.65442639136

Rank	Mean Name	Mean	n	Non-significant ranges
------	-----------	------	---	------------------------

1	KSY9	9.3333333333333	3	a
2	ABK.FY.2-5	9	3	ab
3	MTHM3	8.6666666666667	3	abc
4	FT2.1	7.3333333333333	3	abcd
5	MTHM2	7	3	abcde
6	TOROS6-1	6.6666666666667	3	bcdef
7	ABK.FK.2-6	6.3333333333333	3	cdef
8	ABK.FT.2-5	5.3333333333333	3	defg
9	ABK.FY.2-4	5.3333333333333	3	defg
10	ABK.FY.2-6	4.6666666666667	3	efgh
11	ABK.FK.2-5	4.6666666666667	3	efgh
12	ABK.FT.1-5	4.3333333333333	3	fghi
13	ABK.FK.1-5	3.6666666666667	3	ghi
14	ABK.FT.2-4	3.3333333333333	3	ghi
15	ABK.FY.1-5	3	3	ghi
16	ABK.FT.1-6	2.6666666666667	3	hi
17	ABK.FY.1-6	2.3333333333333	3	hi
18	ABK.FK.1-6	2.3333333333333	3	hi
19	ABK.FK.2-4	2	3	i

ÖZGEÇMİŞ

1. Adı Soyadı : Ogün KÜÇÜKTAMER

2. Doğum Tarihi :

3. Öğrenim Durumu : Yüksek Lisans

Derece		Üniversite	Bitirme Yılı
Lisans	ORGANİK TARIM İŞETMECİLİĞİ	KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ	2021
Yüksek Lisans	ORGANİK TARIM İŞETMECİLİĞİ	KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ	2024



T.C.
OSMANİYE KORKUT ATA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TEZ ÇALIŞMASI BENZERLİK RAPORU FORMU
(SAVUNMA SONRASI)

FORM
TEZLİ YL-24

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ

Adı ve Soyadı	Ogün KÜÇÜKTAMER
Öğrenci Numarası	2212903101
Ana Bilim/ Ana Sanat Dalı	Organik Tarım İşletmeciliği
Programı (Varsa)	Organik Tarım İşletmeciliği
Danışman Unvanı, Adı-Soyadı	Dr. Öğr. Üyesi Benian Pınar AKTEPE
Tez Başlığı (Türkçe)	

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Özet ve Abstract c) Giriş, d) Ana bölümler, e) Sonuç ve f) Kaynakça kısımlarından oluşan toplam 50 sayfalık kısmına ilişkin, 07 /03 /2024 tarihinde Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 15 'tür.

Filtreleme Tip 1 (maksimum %30) ☒

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç,
- 3- Alıntılar dâhil.

Filtreleme Tip 2 (maksimum %10) ☐

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç,
- 3- Alıntılar hariç,
- 4- 5 Kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç.

Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Tarih ve İmza
Öğrenci

Danışman Onayı
UYGUNDUR

Unvanı, Adı Soyadı
(İmzası)

Enstitü Onayı
UYGUNDUR

Adı Soyadı
(İmzası)

AÇIKLAMALAR

- Lisansüstü tezler, savunma öncesinde intihal program raporu ile birlikte Enstitüye teslim edilir.
- İntihal raporu ile ilgili olarak etik kurallar dâhilindeki benzerlik oranları ilgili Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenir. (Enstitü Yönetim Kurulu tarafından tezin, intihal kapsamı dışında değerlendirilmesi için TURNITIN'den alınan raporda "benzerlik oranı"nın, "alıntılar dahil" en fazla %10, "alıntılar dahil" % 30'u geçmemesi şeklinde kabul edilmiştir).