



Research /Araştırma

İğdir’da Domates (*Solanum Lycopersicon* L.)’te Hastalığa Neden Olan Bakterilerin İzolasyonu ve Tanısı

Buşran SUNYAR¹, Mesude Figen DÖNMEZ^{1*}, İrfan ÇORUH²

ÖZET

Bu çalışmada, 2017 yılında İğdir ilinde domateste verim ve kalite kaybına neden olan bakteriyel hastalık etmenleri araştırılmıştır. Bu amaçla üretiminin yoğun olarak yapıldığı Aralık, Karakoyun, Tuzluca, Kasımcın, Oba ve Melekli ilçelerinde sürvey yapılarak hastalıklı bitki örnekleri toplanmıştır. İzolasyon çalışması sonucunda 98 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlerin King B besiyerinde floresant pigment üretimi, levan koloni oluşumu, gram reaksiyon, pektolitik aktivite, oksidaz, amilaz, arginine dehidrolaz, katalaz ve tütün bitkisinde hipersensitif reaksiyon özellikleri test edilmiştir. Süper 5656 domates çeşitinde 11 strainin patojenisite testi pozitif bulunmuştur. Yağ asit metil ester analizi (FAME) ve BIOLOG Gen III ile 8 strain *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, 2 strain *Pseudomonas viridiflava* ve 1 strain *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* olarak tanılanmıştır. İğdir ilinde belirtilen patojenlerin varlığı ilk defa bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: İğdir, Biyolog, FAME, Domates, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*

Isolation and Identification of Bacteria Causes Diseases on the Tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) in İğdir

ABSTRACT

In this study, bacterial disease agents that cause yield and quality loss in tomatoes in İğdir province in 2017 were investigated. For this purpose, diseased plant samples were collected by conducting surveys in the Aralık, Karakoyun, Tuzluca, Kasımcın, Oba and Melekli, where production is intense. 98 bacterial strains were obtained in the isolation study. Fluorescent pigment production in King B medium, levan colony formation, gram reaction, pectolytic activity, oxidase, amylase, arginine dehydrolyase, catalase and hypersensitivity reaction properties in tobacco plant were tested in King B medium of strains. Pathogenicity test was found positive for 11 strains on super 5656 tomato cultivar. Strain were identified by using fatty acid methyl ester analysis (FAME) and Biolog Gen III system. According to identification results 11 strain were determined, of which 8 were *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, 2 were *Pseudomonas viridiflava* and 1 was *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. The presence of pathogens in İğdir province was proved for the first time by this study.

Keywords: İğdir, Biolog, FAME, Tomato, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*

¹Buşran SUNYAR (Orcid ID: 0000-0001-8524-3308), Mesude Figen DÖNMEZ (Orcid ID: 0000-0002-7992-8252) İğdir University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, , Turkey

²İrfan CORUH (Orcid ID: 0000-0002-6569-6163) Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Turkey

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mesude Figen DÖNMEZ, e-mail: mesude.figen.donmez@igdir.edu.tr

GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicon* L.); Solanaceae familyası içerisinde yer alan ılıman iklimlerde yıllık, tropikal bölgelerde ise çok yıllık olarak yetiştirilen önemli bir bitkidir (Wang *et al.*, 2010). İnsan beslenmesinde vazgeçilmez ürünlerden olması ve gıda sanayinde turşu, salça, dondurulmuş ürün, ketçap, püre, konserve gibi çok çeşitli kullanım alanlarına sahip olması nedeniyle dünyada en çok üretilen, tüketilen ve ticarete konu olan tarım ürünlerinin başında gelmektedir. 2018 yılında 61 631 581 ton üretim değeriyle dünyada en fazla domates üreten ülke Çin’dir ve dünya domates üretiminin % 33.82’sini karşılamaktadır. Türkiye ise 12 150 000 ton üretim değeriyle dünya domates üretiminde % 6.67’lik paya sahiptir (FAO 2020). Doğu Anadolu Bölgesi’nin en verimli ovalarından birisine sahip olan ve tarım potansiyeli yüksek olan İğdır İli’nde ise 56.083 ton domates üretimi yapıldığı belirlenmiştir (TUİK 2016).

Ülkemiz için büyük önemi olan domates yetiştiriciliğinde karşılaşılan temel sorunların başında hastalık ve zararlılardan kaynaklanan verim ve kalite kayıpları gelmektedir. Domates bitkisinin ekimini ve verimini sınırlandıran en önemli patolojik sorunlardan birisi bakteriyel etmenlerin neden olduğu hastalıklardır. Bu bakteriyel hastalıklar arasında bakteriyel benek [*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Young *et al.*, 1978)], bakteriyel kanser ve solgunluk [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Davis *et al.*, 1984)], bakteriyel yaprak lekesi [*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Gardner and Kendrick, 1923)], bakteriyel solgunluk [*Ralstonia solanacearum* (Yabuuchi *et al.*, 1995)], bakteriyel gövde ve meyve çürüklüğü [*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Bergey *et al.*, 1923)] ve domates öz nekrozu [*Pseudomonas corrugata* (Scarlet *et al.*, 1978), *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas viridiflava* (Wielke and Dye, 1974)] hastalıkları oldukça büyük önem taşımaktadır (Wielke *et al.*, 1973). Türkiye’de Çetinkaya ve Aysan (2008) tarafından Adana, Mersin, Antalya, Artvin, Bursa ve İzmir illerinde domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda domates bakteriyel solgunluk hastalığına neden olan *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, Aksoy (2002) tarafından Samsun ilinde domates ekim alanlarında *P. corrugata*, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. syringae* pv. *tomato*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ve *Erwinia caratovora*, İmriz ve Çınar (2015) tarafından Mersin ve Adana illerinde sera üretim alanlarında domates öz nekrozu etmenlerinden *P. cichorii* ve *P. corrugata*, Ünlü ve ark. (2016) tarafından örtüaltı yetiştiriciliği yapılan domates alanlarında *P. syringae* pv. *tomato*, Şahin (2016) tarafından Kahramanmaraş ve çevresinde biber bitkisinde *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada; İğdır ilinde ekonomik öneme sahip olan domates bitkisinde hastalığa neden olan bu patojenlerin varlığı 2017 yılında yapılan survey çalışması ile araştırılmış ve elde edilen strainlerin morfolojik, biyokimyasal ve patolojik özellikleri belirlenmiş, yağ asit metil ester analizi ve Biolog Gen III sistem ile tanıları yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması ve İzolasyonu

2017 yılında İğdır’ın Aralık, Tuzluca ve Karakoyunlu ilçelerinde ve İğdır merkeze bağlı Kasımcın, Oba ve Melekli köylerinde domates yetiştiriciliği yapılan tarlalara gidilmiş, ilçe ve her köyden 3’ er tarla seçilerek, basit tesadüfi örnekleme metoduna göre hastalıklı bitki örnekleri alınmıştır. Süreyleyler bitkilerin fide ve meyve verim dönemleri olmak üzere 2 kez

yapılmıştır. Alınan örneklerden bakteri izolasyonu yapılmış ve gelişen bakterilerden sarı ve krem renkli koloniler saflaştırılarak stok kültürler 500 µl Lauryl Broth (10 g pepton, 10 g NaCl, 5 g yeast extract/1 L dH₂O) ve 500 µl % 30 gliserol içeren ortamda hazırlanmış ve -80 °C’ de muhafaza edilmiştir.

Mikroorganizmaların Yağ Asit Metil Ester Analizi İle Tanısı

Saf kültür olarak –80 °C’ de muhafaza edilen bakteri strainlerinden yağ asit metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırılması ve analizi yapılmıştır. Bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sistemi olan Mikrobiyal Identifikasyon Sistem (MIDI, Inc., Newark, DE) kullanılarak kültüre alınan strainlerin tür ve alt tür seviyesinde tanısı yapılmıştır (Sasser, 1990).

Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Reaction=HR) Testi

Elde edilen bütün bakteri strainleri Nutrient Agar (28 g NA/1 L dH₂O) besi yerine ekilerek, 24-48 sa 27 °C’ ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen kültürlerden sdH₂O ile konsantrasyonu 10⁸ hücre/ml olan solüsyonlar hazırlanmıştır. Solüsyonlar 3 ml’ lik plastik enjektörlerle tütün yapraklarının alt kısmında damar aralarına enjekte edilmiştir. İnokule edilen bitkiler en az 48 saat ışıklı bir ortamda muhafaza edilerek inokulasyonun yapıldığı kısımda nekroz oluşup oluşmadığı gözlemlenmiştir. Ölü doku oluşumu HR pozitif, oluşmaması ise HR negatif olarak değerlendirilmiştir (Klement *et. al.*, 1966). Karşılaştırma kültürü olarak GG-3 *E. amylovora* straini kullanılmıştır.

Patojenisite Testi

Bakteriler strainleri NA besi yerine ekilerek 27 °C’ de 24 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Türbidimetre ile gelişen bakteri kültürlerinden konsantrasyonu 10⁸ hücre/ml olarak hazırlanan inokulum bitkilere (süper 5656 domates çeşidi) inokule edilmiştir. İnokulasyon *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ve *P. syringae* pv. *tomato* için bitki yapraklarına sprej şeklinde, *P. viridiflava* için bitki gövdelerine kürdan yardımıyla açılan yaralara kolonilerin uygulanması yoluyla yapılmıştır. Negatif kontrol grubundaki bitkilere ise sdH₂O uygulanmıştır. İnokulasyon sonrası bitkiler üzerine polietilen torbalar geçirilerek oda sıcaklığında 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda torbalar çıkartılarak, 7-14 gün boyunca hastalık simptomlarının oluşumu gözlenmiştir (Lelliot and Stead, 1987; Saygılı, 1995).

Morfolojik ve Biyokimyasal Testler

Elde edilen fitopatojen bakterilerin morfolojik (koloni morfolojisi ve rengi hareketlilik testi) ve biyokimyasal (gram reaksiyon testi, pektinaz, flüresant pigment üretimi, katalaz, oksidaz, nişasta hidrolizi, arginine dihidrolaz ve levan koloni özellikleri belirlenmiştir. Her bir test aynı şartlarda 3 kez tekrarlanmıştır.

Morfolojik Testler

Koloni Morfolojisi

Bakteri strainleri NA üzerine çizgi ekim şeklinde kontamine edilmiştir. Bakteriler 48-72 sa 27 °C ‘ de inkübe edildikten sonra kolonilerin gelişimi ve rengi tespit edilmiştir (Saygılı, 1995).

Hareketlilik Testi

Bir litre dH₂O içerisine 10 g tryptone, 5 g NaCl ve 5 g agar ilave edilmiştir. Karışımın pH’sı 7.2’ ye ayarlanmış ve bu karışımdan tüplere 5’ er ml konularak otoklavda 121 °C ‘de 15 dakika steril edilmiştir. Hazırlanan besi yerine bakteri strainleri inokule edilmiş ve gelişmeleri için 25 °C’ de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 8., 24., ve 48. saatinde bakteri gelişimi kontrol edilmiştir. Besi yerinde inokulasyon noktasından çevreye doğru ilerleyen koloni gelişimi pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir (Schaad *et al.*, 2001). Karşılaştırma kültürü olarak GG-8 *E. amylovora* straini kullanılmıştır.

Biyokimyasal Testler

Gram Reaksiyon Testi

Bakteri strainlerinin hücre duvarlarındaki farklılığı belirleyebilmek için bir lam üzerine, %3’ lük KOH çözeltisinden bir iki damla damlatılmıştır. Ardından NA üzerinde gelişen 24-48 sa’lik bakteri kültüründen özeyle alınarak KOH çözeltisi ile 5-10 s karıştırıldıktan sonra öze yukarıya doğru kaldırılmıştır. Bunun sonucunda viskoz bir uzama gözlenmesi gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Saygılı, 1995). Karşılaştırma kültürü olarak GG-25 *E. amylovora* (gram negatif) ve MFD-460 *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* (gram pozitif) kullanılmıştır.

Katalaz Testi

Bakteri strainleri NA ortamında 24-48 saat geliştirilmiştir. Gelişen bakteri kültüründen bir öze alınmış ve üzerine 1 damla H₂O₂ ilave edilmiştir. Kabarcık oluşumu katalaz pozitif, oluşmaması ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.*, 1990). Pozitif kontrol olarak MFD-119 *X. campestris* pv. *phaseoli* kullanılmıştır.

Oksidaz Testi

Oksidaz test için % 1 tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride içeren diskler (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Bu diskler 1 damla sdH₂O ile doyurulmuş ve sonra üzerleri 24-48 sa’lik bakteri kolonileri ile kaplanmıştır. Diskte gözlemlenen mavimsi-mor renk pozitif olarak değerlendirilmiştir (Narayanasamy, 1997).

Nişasta Hidrolizi

Nutrien Starch Agar (NA+%1’lik nişasta/1 L dH₂O) besiyerine bakteriler nokta ekimle kontamine edilmiştir. 2-7 günlük bir inkübasyon sonrasında bakteri kolonisinin etrafında görülen renk açıklığı veya hale amilaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. Sonuç çıplak gözle fark edilemediğinde lugol solüsyonundan 5 ml petrilere dökülmüş, mavi renk verenler negatif, mavi renk vermeyip bakteri gelişimi etrafında açık renk hale verenler pozitif olarak tespit edilmiştir (Narayanasamy, 1997). Pozitif kontrol olarak MFD-490 *X. c. phaseoli fuscans*, negatif kontrol olarak MFD-227 *P. s. pv. phaseolicola* kullanılmıştır.

Arginine Dehidrolaz Testi

Mikroorganizmaların bu özelliğini belirlemek için tapılan testte Thornley 2A besi yeri (1 g pepton, 5 g NaCl, 3 g K₂HPO₄, 3 g agar, 0,01 g fenol kırmızısı, 10 g arginine-HCl/ 1 L dH₂O) kullanılmıştır. Bakteri strainleri öze ile ortama ekilmiş ve üzerlerine 50 °C’ye kadar

soğutulan % 3' lük su agarından (1 ml) aktarılarak tüpler parafilm ile kaplanmıştır. Kültürler 27 °C'de 7-15 gün süre ile inkübe edilmiştir. Bakterinin arginin kullanması sonucu meydana gelen pembemsi kırmızı renk pozitif, açık pembe renk ise negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Schaad, 1994; Saygılı, 1995).

Levan Testi

Test için Nutrient Sukroz Agar (NAS) besi yeri (23 g NA, 50 sukroz/1 L dH₂O) kullanılmıştır. Kültürler çizgi ekim şeklinde besi yerine ekilerek gelişmeleri için 27°C' de 5 gün inkübe edilmiştir. İnokulasyon sonucunda oluşan konveks, mukoid yapıda koloniler levan pozitif olarak belirlenmiştir (Klement *et al.* 1990, Lelliot and Stead, 1987). Pozitif kontrol olarak GG-3 *E. amylovora*, negatif kontrol olarak MFD-602 *C. m. subsp. insidiosum* kullanılmıştır.

Fluorescent Pigment Üretim Testi

Fluorescent pigment üreten strainlerin tespiti amacıyla King B besi yeri (20 g protease peptone (Difco No:3),1.5 g K₂HPO₄.3H₂O, 1.5 g MgSO₄.7H₂O,15 g agar/1 L dH₂O) hazırlanmıştır. Her bir strain besi yerine çizgi ekimle kontamine edildikten sonra, 25 °C sıcaklığa sahip inkübatörde 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen bakteriler UV lamba altında gözlemlenmiş, yeşil floresant renkte ışığa gösterenler pozitif, diğerleri negatif sonuç olarak tespit edilmiştir (Lelliot and Stead, 1987).

Pektinaz Testi

Bakteri strainlerinin pektolitik aktivitesini belirlemek için patates yumruları kullanılmıştır. Patates yumrularının yüzeysel dezenfeksiyonu için yumrular önce deterjanlı su ile fırçalanmış ve daha sonra % 1' lik NaOCl'de 3 dk bekletilmiştir. Patates yumruları NaOCl'ün uzaklaştırılması için 3 kez sdH₂O ile yıkanmıştır. Ardından steril bir bistüri ile patatesler soyulmuş ve yaklaşık bir cm kalınlığında dilimlenerek içerisinde steril ıslak filtre kağıdı bulunan petrilere yerleştirilmiştir. 48 sa'lik bakteri kolonileri öze ile patates dilimi üzerine çizgi şeklinde yayılmıştır. 25°C' de iki günlük inkübasyon sonrası bakteri bulaştırılan patates dilimleri değerlendirilmiş ve patates diliminde meydana gelen yumuşak çürüklük şeklindeki belirti pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir (Lelliot and Stead, 1987). Karşılaştırma kültürü olarak MFD-310 *Erwinia caratovora subsp. caratovora* kullanılmıştır.

Bakteri Strainlerini Biolog Gen III Sistem İle Tanısı

Elde edilen bakteri strainlerinin metabolik profillerinin belirlenmesi için BUG agar (Hayward, USA) besi yeri kullanılmıştır. Patojen olarak seçilen bakteri strainleri BUG agar besiyerine ekilmiş ve 27 °C' de 24 saat inkübe edilmiştir.

Çizelge 1 Biolog Gen III plate’ini oluşturan kuyucuklarda yer alan karbon kaynakları ve kimyasallar (Stancu and Rodi, 2020)

A1 Negative Control	A2 Dextrin	A3 D-Maltose	A4 D-Trehalose	A5 D-Cellobiose	A6 Gentiobiose	A7 Sucrose	A8 D-Turanose	A9 Stachyose	A10 Positive Control	A11 pH 6	A12 pH 5
B1 D-Raffinose	B2 α-D-Lactose	B3 D-Melibiose	B4 β-Methyl-D- Glucoside	B5 D-Salicin	B6 N-Acetyl-D- Glucosamine	B7 N-Acetyl-β-D- Mannosamine	B8 N-Acetyl-D- Galactosamine	B9 N-Acetyl Neuraminic Acid	B10 1% NaCl	B11 4% NaCl	B12 8% NaCl
C1 α-D-Glucose	C2 D-Mannose	C3 D-Fructose	C4 D-Galactose	C5 3-Methyl Glucose	C6 D-Fucose	C7 L-Fucose	C8 L-Rhamnose	C9 Inosine	C10 1% Sodium Lactate	C11 Fusidic Acid	C12 D-Serine
D1 D-Sorbitol	D2 D-Mannitol	D3 D-Arabitol	D4 myo-Inositol	D5 Glycerol	D6 D-Glucose- 6-PO4	D7 D-Fructose- 6-PO4	D8 D-Aspartic Acid	D9 D-Serine	D10 Troleandomycin	D11 Rifamycin SV	D12 Minocycline
E1 Gelatin	E2 Glycyl-L- Proline	E3 L-Alanine	E4 L-Arginine	E5 L-Aspartic Acid	E6 L-Glutamic Acid	E7 L-Histidine	E8 L- Pyroglutamic Acid	E9 L-Serine	E10 Lincomycin	E11 Guanidine HCl	E12 Niaproof4
F1 Pectin	F2 D- Galacturonic Acid	F3 L-Galactonic Acid Lactone	F4 D-Gluconic Acid	F5 D-Glucuronic Acid	F6 Glucuronamid e	F7 Mucic Acid	F8 Quinic Acid	F9 D-Saccharic Acid	F10 Vancomycin	F11 Tetrazolium Violet	F12 Tetrazolium Blue
G1 p-Hydroxy- Phenylacetic Acid	G2 Methyl Pyruvate	G3 D-Lactic Acid Methyl Ester	G4 L-Lactic Acid	G5 Citric Acid	G6 α-Keto- Glutaric Acid	G7 D-Malic Acid	G8 L-Malic Acid	G9 Bromo- Succinic Acid	G10 Nalidixic Acid	G11 Lithium Chloride	G12 Potassium Tellurite
H1 Tween 40	H2 γ-Amino- Butyric Acid	H3 α-Hydroxy- Butyric Acid	H4 β-Hydroxy- D,L- Butyric Acid	H5 α-Keto-Butyric Acid	H6 Acetoacetic Acid	H7 Propionic Acid	H8 Acetic Acid	H9 Formic Acid	H10 Aztreonam	H11 Sodium Butyrate	H12 Sodium Bromate

Gelişen bakteri kültürleri IF-A tampon çözeltisinde süspansiyon edilmiş ve tüplerdeki bakteri konsantrasyonu turbidimetre ile transmittans değeri %92-98 olacak şekilde ayarlanmıştır. Yoğunlukları ayarlanan bakteri süspansiyonlarından mikropelatelerdeki her bir çukurcuğa 100 µl ilave edilmiş ve 32 °C’ de 4-22 saat inkübe edilmiştir (Stancu and Rodi, 2020). Daha sonra mikropelate okuyucuda (Microlog™ 3, Micro station™ system, version 5.2.2) okutulmuş ve sistemin veri bankası (Biolog Gen III database, version 2.6.1, AN Database Version 6.01) ile karşılaştırılarak bakteri teşhisi yapılmıştır. Biolog Gen III Microplate sisteminde yer alan 71 farklı karbon kaynağı ve 23 kimyasal çizelge 1’de sunulmuştur.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Survey Sonuçları

Hastalıklı domates bitkilerinin yaprak ve meyvelerinden yapılan izolasyon sonucunda 98 adet bakteri straini elde edilmiştir. Elde edilen bakteri strainlerinin ilçe ve köylere göre dağılımı Çizelge 4.2’ de verilmiştir.

Çizelge 2. Çalışmada elde edilen bakteri strainlerine ilişkin bilgiler

	Yaprak	Meyve	Gövde	Toplam
Aralık	11	1	-	12
Karakoyunlu	6	-	-	6
Tuzluca	29	-	1	30
Kasımcan	11	-	-	11
Oba	19	2	-	21
Melekli	15	2	1	18
Toplam	91	5	2	98

Bakteri Strainlerinin Yağ Asit Profillerine Göre Tanısı

Bakteri strainlerinin yağ asit metil ester analizi ile tanısı MIS kullanılarak yapılmış ve elde edilen yağ asit profillerine göre çalışmada *Stenotrophomonas maltophilia* (18), *Enterobacter hormaechei* (10), *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (8), *Pseudomonas putida* (7), *Salmonella enterica* (5), *Sphingobacterium spiritivorum* (5), *Pantoea agglomerans* (4), *Kluyvera cryocrescens* (3), *Variovorax paradoxus* (3), *Ochrobactrum anthropi* (3), *Aeromonas ichthiosmia* (3), *P. viridiflava* (2), *Escherichia coli* (2), *Kocuria rosea* (2), *Bacillus cereus* (1), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (1), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (1), *Pectobacterium carotovorum* (1), *Enterobacter asburiae* (1), *Micrococcus luteus* (1), *Paenibacillus alginolyticus* (1), *Klebsiella pneumoniae* (1), *Photobacterium luminescens* (1), *Sphingobacterium faecium* (1), *Kingella kigae* (1), *Acinetobacter calcoaceticus* (1), *Klebsiella oxytoca* (1), *Myroides odoratus* (1), *Achromobacter xylosoxidans*

denitrificans (1), *Kocuria rhizophila* (1), *Paucimonas lcoignei* (1), *Kocuria rosea* (1), *Bacillus subtilis* (1), *Arthobacter globiformis* (1), *Kluyvera intermedia* (1), *Pasteurella pneumotropica* (1) ve *Bacillus thurigiensis israelensis* (1) olmak üzere 36 farklı tür tanılanmıştır. Patojen olarak belirlenen *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* strainlerinden BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232’nin sırasıyla 45, 46, 72, 70, 59, 70, 56 ve 52 benzerlik indekslerine (%) sahip olduğu görülmüştür. *Pseudomonas* cinsinde yer alan patojen strainlerinden BS-168 *P. viridiflava* % 54, BS-237 *P. viridiflava* % 59 ve BS-231 *P. syringae* pv. *tomato* % 45 benzerlik indeksi ile tanılanmıştır.

Patojenlere ait yağ asit profilleri incelendiğinde *Xav* strainlerinin hepsinde 21 farklı yağ asitinin (17:0 iso 3OH, 11:0 iso, 11:0 3OH, 13:0 iso, 17:1 w6c, 13:0 iso 3OH, 15:1 w6c, 10:0 3OH, 14:0, 11:0 anteiso, 14:0 iso, 15:1 iso F, 13:0 iso 2OH, 16:0, 17:0, 15:1, 17:0 iso, 16:0 iso, 17:0 anteiso, 10:0, 17:1 w8c) ortak olduğu tespit edilmiştir. Strainler arasında bazı yağ asitlerinin mevcudiyetlerinin ve yüzde oranlarının ise farklılık gösterdiği saptanmıştır. *Xav* strainleri arasında 20:4 w6,9,12,15c yağ asitinin varlığı sadece BS-156 straininde saptanmıştır. Bununla birlikte 12:0 3OH, 10:0 2OH, 13:0 anteiso ve 12:0 iso 3OH, 16:1 w5c ve 12:1 3OH yağ asitleri sırasıyla BS-38, BS-75, BS-120 ve BS-156 strainleri hariç diğer *Xanthomonas* strainlerinin hepsinde tespit edilmiştir. 15:0 iso 3OH ve 15:0 2OH yağ asitlerinin ise sadece BS-38, BS-75, BS-156 ve BS-232 strainlerinde bulunduğu belirlenmiştir. Yağ asit metil ester analizleri sonuçlarına göre *Pseudomonas* cinsi bakteriler değerlendirildiğinde ise hepsinde ortak olan 13 farklı yağ asiti (10:0, 12:0, 12:0 3OH, 17:0, 13:0, 14:0, 16:0, 17:0 iso, 17:1 w8c, 12:0 2OH, 10:0 3OH, 18:0, 18:1 w7c 11 methyl) saptanmıştır. Bazı yağ asitlerinin varlığı ise belirli strainlerde tespit edilmiştir. Örneğin 18:1 w9c yağ asitinin sadece BS-231’ de bulunduğu görülmüştür. Yedi farklı yağ asitinin ise (11:0 iso 3OH, 10:0 2OH, 13:0 anteiso, 15:1 w5c, 16:1 w5c, 16:0 Nalcohol, 19:0) sadece BS-237 straininde bulunduğu görülmüştür 17:0, 10:0, 14:0, 16:0, 17:0 iso, 10:0 3OH ve 17:1 w8c yağ asitlerinin ise hem *Xanthomonas* hemde *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerde ortak olduğu belirlenmiştir. Ancak bu yağ asitleri içerisinde 10:0 3OH ve 16:0’ın *Pseudomonas* cinsi bakterilerde daha yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Patojen bakterilerinin içerdiği yağ asitleri ve yüzde bulunma oranları

YAĞ ASİDİ	BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-168	BS-169	BS-178	BS-231	BS-232	BS-237
10:0	0.56	0.53	1.53	0.75	0.70	0.10	0.53	0.68	0.15	0.66	0.14
11:0 iso	4.17	4.21	5.31	4.32	4.56	-	4.09	5.14	-	4.50	-
11:0 anteiso	0.22	0.23	0.20	0.15	0.21	-	0.17	0.19	-	0.31	-
11:0	-	0.05	-	0.05	-	-	-	-	-	0.12	-
10:0 2OH	0.12	-	0.17	0.18	0.16	-	0.15	0.12	-	0.17	0.05
10:0 3OH	0.17	0.16	0.45	0.44	0.37	2.97	0.33	0.31	3.15	0.21	2.87
11:0 iso 3OH	2.24	2.31	2.22	1.82	1.78	-	1.71	1.19	-	2.42	0.04
11:0 2OH	0.06	-	-	0.05	-	-	0.06	0.05	-	0.07	-
12:0	-	-	-	-	-	4.77	-	-	5.46	-	4.91
13:0	-	0.35	-	-	-	0.10	-	-	0.12	0.06	0.10
11:0 3OH	0.42	0.40	0.30	0.40	0.28	-	0.24	0.27	-	0.50	-
13:0 iso	0.33	0.35	0.18	0.24	0.14	-	0.13	0.17	-	0.32	-
13:0 anteiso	0.09	0.09	-	0.06	0.08	-	0.07	0.07	-	0.11	0.03
12:1 3OH	-	0.08	0.16	0.14	0.13	-	0.10	0.11	-	0.07	-
12:0 iso 3OH	-	0.25	0.20	2.59	0.19	-	0.19	0.19	-	0.25	-

Çizelge 3. Devamı

YAĞ ASİDİ	BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-168	BS-169	BS-178	BS-231	BS-232	BS-237
12:0 2OH	-	-	-	-	-	2.92	-	-	3.32	-	2.96
12:0 3OH	0.24	1.44	2.98	-	2.30	3.96	2.12	2.31	4.29	1.84	3.35
14:0 anteiso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04
14:0 iso	0.81	0.76	0.39	0.67	0.28	-	0.30	0.33	-	0.78	-
14:1 w5c	0.25	0.24	0.19	0.06	-	-	-	-	-	0.12	-
14:0	1.05	1.06	1.31	1.02	1.01	0.20	0.86	0.98	0.31	1.20	0.84
13:0 iso 3OH	3.52	3.22	4.48	3.91	4.00	-	4.27	4.60	-	3.60	-
13:0 2OH	0.61	0.48	0.46	0.38	0.56	-	0.54	0.61	-	0.64	-
15:1 iso F	1.17	1.06	0.20	0.20	0.17	-	0.21	0.20	-	1.29	-
15:0 iso	29.24	30.33	27.67	27.89	25.36	-	27.25	27.75	0.50	27.22	0.14
15:0 anteiso	14.70	14.60	10.03	11.58	14.28	-	14.00	14.52	0.40	16.98	0.10
15:1 w8c	0.20	0.19	-	0.04	0.05	-	-	0.05	-	0.23	-
15:1 w6c	1.25	1.22	0.59	0.63	0.38	-	0.39	0.50	-	1.09	-
15:1 w5c	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.18
16:0 iso	2.12	2.15	1.93	2.29	1.82	-	1.94	1.55	-	1.97	-

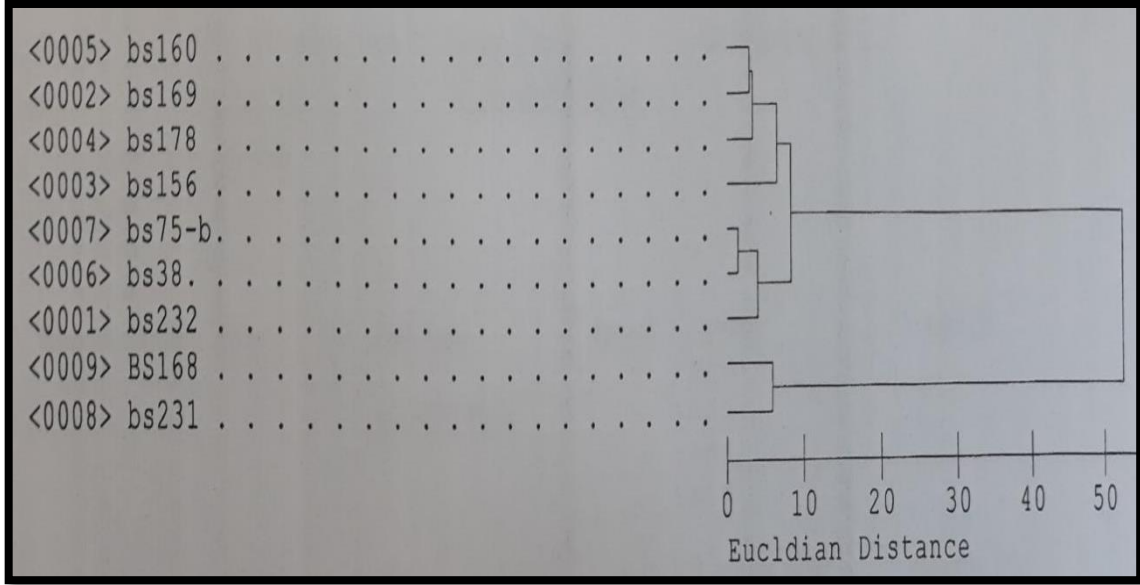
Çizelge 3. Devamı

YAĞ ASİDİ	BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-168	BS-169	BS-178	BS-231	BS-232	BS-237
16:0 N alcohol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04
16:1 iso H	-	0.04		0.05	-	-	-	-	-	-	-
16:1 w9c	1.41	1.30	1.30	1.42	-	-	-	-	-	1.60	-
16:1 w5c	0.08	0.12	-	0.07	0.09	-	0.09	0.10	-	0.09	0.07
16:0	2.46	2.59	4.51	3.94	2.75	23.40	2.42	1.92	20.01	2.84	21.6
15:0 iso 3OH	0.06	0.10	-	0.04	-	-	-	-	-	0.05	-
15:0 2OH	0.09	0.16	-	0.03	-	-	-	-	-	0.13	-
17:1 iso w5c	0.35	0.30	-	-	0.50	-	0.55	-	-	0.17	-
17:1 anteiso w9c	0.16	-	-	-	-	-	-	-	-	0.07	-
17:0 iso	4.06	4.11	5.48	5.47	5.23	0.09	5.49	3.63	0.10	3.22	0.10
17:0 anteiso	0.57	0.51	0.13	0.73	0.83	-	1.03	0.59	-	0.45	-
17:1 w8c	1.86-	1.70	1.07	1.44	1.14	0.14	0.91	0.93	0.19	1.75	0.17
17:1 w6c	0.53	0.37	0.34	0.46	0.37	-	0.40	0.34	-	0.36	-
17:0 cyclo	-	-	-	-	-	-	-	-	0.22	-	0.29
17:0	0.25	0.18	0.61	0.25	0.07	0.24	0.06	0.04	0.25	0.13	0.29

Çizelge 3. Devamı

YAĞ ASİDİ	BS-38	BS-75	BS-120	BS-156	BS-160	BS-168	BS-169	BS-178	BS-231	BS-232	BS-237
16:0 3OH	0.09	0.10	-	0.08	-	0.06	-	0.03	-	0.12	0.06
18:1 w5c	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	0.06
18:1 w9c	0.53	0.48	0.61	0.60	0.63	-	0.68	0.39	0.34	0.53	-
18:0	-	0.10	-	0.05	-	0.89	-	-	0.66	-	1.00
18:1 w7c 11-methyl	-	-	-	-	-	0.73	-	-	0.27	-	0.51
17:0 iso 3OH	0.44	0.49	0.30	0.30	0.08	-	0.18	0.16	-	0.49	-
19:0 cyclo w8c	-	0.11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.04
18:1 2OH	-	-	-	0.05	-	-	0.08	0.06	-	-	-
20:4 w6, 9, 12, 15c	-	-	-	0.04	-	0.08	-	-	0.09	-	-
20:1 w7c	-	-	-	-	-	0.06	-	-	-	-	0.06

Patojen strainlerin içerdiği yağ asidi çeşitleri ve hücrelerinde bulunma oranlarına bağlı olarak elde edilen dendogram Şekil 1'de verilmiştir. Dendogram Sherlock MIDI analiz programı (version 6.1) ile oluşturulmuştur



Şekil 1. Patojen bakterilerin yağ asit metil ester analizi sonucunda elde edilen dendogram

Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Reaction=HR) Testi

Referans kültür GG-3 *E. amylovora* gibi patojen olarak tanılanan bakteri strainlerinin hepsinin (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-178, BS-231, BS-232 ve BS-237) tütün yaprağının damar aralarına izolasyonundan 24-48 sa sonra inokule edilen alanda tipik aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olduğu görülmüştür (Çizelge 4).

Patojenisite Test Sonuçları

Domates süper 5656 fidelerine *Pst* (BS-231) ve *Xav* (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232) strainleri sprey şeklinde bulaştırılmıştır. *P. viridiflava* strainleri ise (BS-168 ve BS-237) kürdanla bitkinin gövdesine açılmış yaralardan inokule edilmiştir. İnokulasyondan 7-15 gün sonra BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178, BS-231 ve BS-232 strainlerinin domates yapraklarında dairesel etrafı sarı hale ile çevrili küçük lekeler oluşturduğu, BS-168 ve BS-237 strainlerinin ise gövdede kahverengileşme ve bitkide solgunluk şeklinde simptomlara neden olduğu görülmüştür (Çizelge 4).

Morfolojik Testler

Koloni morfolojisi

NA besiyerine bakteri strainlerinin ekiminden 48 sa sonra *Pseudomonas* cinsine ait strainlerin (BS-168, BS-231 ve BS-237) krem renkli, *Xanthomonas* cinsine ait strainlerin ise (BS-38, BS-75, BS-120, BS156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232) mukoid sarı renkli koloniler oluşturduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Hareketlilik testi

Yarı katı besiyerine inokule edilen referans kültür GG-8 *E. amylovora* ve izole edilen bakteri strainlerinin (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232) çevreye doğru koloni geliştirdikleri gözlenmiş ve sonuç pozitif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4).

Biyokimyasal Testler

Gram reaksiyon testi

Gram reaksiyon testinde referans kültür olarak kullanılan GG-25 *E. amylovora* gibi BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-178, BS-231, BS-232 ve BS-237 strainlerinin öze yapışarak vizkoz bir uzama oluşturduğu, bu nedenle gram negatif özelliğe sahip oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Katalaz testi

Katalaz enziminin varlığını belirlemek için yapılan test sonucunda BS-75, BS-231 ve BS-237 strainleri ve referans kültür MFD-119 *Xcp* kısa sürede kabarcık oluşturduğundan kuvvetli pozitif olarak değerlendirilmiştir. BS-38, BS120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-168, BS-178ve BS-232 strainlerinin ise pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Oksidaz testi

Oksidaz enzimini üreten bakterileri ayırt etmek için yapılan bu testte BS-120, BS-156, BS-160, BS-168, BS-169, BS-178 ve BS-231 strainleri % 1 tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride kodlu diskte mor renk oluşturmamış ve sonuç negatif olarak değerlendirilmiştir. Diğer bakteriler ise pozitif kontrolde olduğu gibi diskte yaklaşık 2 dk içerisinde mor renk oluşturmuş ve sonuç oksidaz pozitif olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4).

Nişasta hidrolizi

Nutrient agar ve nişasta içeren besiyerinde geliştirilen bakterilere lügol solüsyonu ilave edilmiş, BS-168, BS-231 ve BS-237 strainlerinin ve pozitif kontrolün (MFD-227 *Psp*) gelişen kolonileri etrafında şeffaf hale oluşumu gözlenmemiş ve sonuç amilaz negatif olarak değerlendirilmiştir. BS38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232 strainleri ve referans kültür MFD-490 *Xcpf* ‘ın gelişen kolonilerinin etrafında oluşan şeffaf zon amilaz pozitif olarak belirlenmiştir (Çizelge 4).

Arginine dehidrolaz testi

Bakterilerin arginin dehidrolaz’ı kullanması sonucu besi yerinde meydana gelen pembemsi kırmızı renk *Xanthomonas* strainlerinin (BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS169, BS-178, BS-232) pozitif özellikte olduğu göstermiştir. *Pseudomonas* strainleri (BS-168, BS-231, BS-237) ise arginin dihidrolaz negatif olarak belirlenmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Patojen bakteri strainlerinin morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları

MIS SONUÇLARI	TANI	L	O	P	AR	T	KA	GR	F	N	KR	H
BS-38	- <i>Xav</i>	+	Z ⁺	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-75	- <i>Xav</i>	+	Z ⁺	-	+	+	K ⁺	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-120	- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-156	- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-160	- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-168	- <i>Pv</i>	-	-	+	-	+	+	-	+	-	Krem	Hareketli
BS-169	- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-178	- <i>Xav</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-231	- <i>Pst</i>	+	-	-	-	+	K ⁺	-	+	-	Krem	Hareketli
BS-232	- <i>Xav</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	+	Sarı mukoid	Hareketli
BS-237	- <i>Pv</i>	-	-	+	-	+	K ⁺	-	+	-	Krem	Hareketli

L: Levan testi, O: Oksidaz testi, P: Pektinaz testi, Ar: Arginine dehidrolaz testi, T: Tütünde, hipersentetif reaksiyon testi, N: Nişasta hidrolizi, Ka: Katalaz testi, GR: Gram reaksiyon testi, F: Fluorescent pigment üretim testi, Kr: Koloni rengi, +: Pozitif sonuç, -: Negatif sonuç, K⁺: kuvvetli pozitif, *Xav*: *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Pv*: *Pseudomonas viridiflava*, *Pst*: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, Z⁺: Zayıf pozitif sonucu, H: Hareket özelliği

Levan testi

Test edilen BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178, BS-231, BS-232 ve BS-237 strainlerinin referans kültür GG -3 *E. amylovora* gibi NAS besi yerinde mukoid koloni oluşturduğuna görülmüş, sonuç pozitif olarak kaydedilmiştir. BS-168 straininin ise levan tipte koloni oluşturmadığı ve negatif sonuç verdiği belirlenmiştir (Çizelge 4).

Fluorescent pigment üretim testi

KB besi yerinde geliştirilen bakteri strainleri UV ışık altında gözlenmiştir. BS-168, BS-231 ve BS-237 strainlerinin yeşil fluorescent pigment üreterek pozitif sonuç verdiği, BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232 strainlerinin ise fluorescens pigment üretmeyerek negatif özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Pektinaz testi

Pektolitik aktive testi için patates dilimlerine inokule edilen BS-38, BS-75, BS-120, BS-156, BS-160, BS-169, BS-178 ve BS-232 strainleri patatete yumuşamaya neden olmamış ve sonuç negatif olarak değerlendirilmiştir. Referans kültür olarak kullanılan MFD-310 *E. caratovora* subsp. *caratovora* straini ise patates diliminde yumuşamaya neden olmuş ve pis koku oluşturmuştur (Çizelge 4).

Bakteri strainlerinin Biolog Gen III Sistem ile tanısı

Patojen bakteri strainlerinin kullandıkları karbon kaynakları ve kimyasallar Biolog Gen III Mikroplate sisteminde değerlendirilmiştir. Elde edilen profillere göre bakteri strainlerinin 8 tanesi *Xav*, 2 tanesi *P. viridiflava* ve 1 tanesi *Pst* olarak tanılanmıştır.

Sonuçlar değerlendirildiğinde *Xav* strainlerinin Dextrin, D-Maltose, D-Trloseeh, D-Cellobiose, Gentibiose, Sucrose, Ph 6, Ph 5, D-Melibiose, N-Acetyl-D-Glucosamine, %1 NaCl, %4 NaCl, A-D-Glukose, D-Mannose, D-Fruktose, D-Galaktose, L-Fucose, %1 Sodium Lactate, Myo- İnositol, Glycerol, D-Glucose-6 Phosphate, Rifamycin Sv, Gelatin, Glycyl-L-Proline, L-Alanine, L-Aspartic Acid, L-Glutamic Acid, L-Serine, Lincomycin, Guanidine HCl, Niaproof 4, Pectin, Tetrazolium Violet, Tetrazolium Blue, Mehyl Pyruvate, L-Lactic Acid, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, D-Malic Acid, Bromosuccinic Acid, Potassium Tellurite, Tween 40, A-Keto Butyric Acid, Acetoacetic Acid, Propionic Acid, Formic Acid, Aztreonam, Sodium Butyrate ve Sodium Bromate olmak üzere 51, *Pseudomonas* strainlerinin ise Gentibiose, Sucrose, Ph 6, Ph 5, N-Acetyl-D-Glucosamine, %1 NaCl, %4 NaCl, A-D-Glukose, A-D-Glukose, D-Mannose, D-Fruktose, D-Galaktose, Inosine, %1 Sodium Lactate, Fusidic Acid, D-Sorbital, D-Mannital, L-Arabitol, Myo- İnositol, Glycerol, D-Serine, Rifamycin Sv, Gelatin, Glycyl-L-Proline, L-Alanine, L-Arginine, L-Aspartic Acid, L-Glutamic Acid, L-Histidine, L-Pyroglutamic Acid, L-Serine, Lincomycin, Guanidine HCl, Niaproof 4, Pectin, D-Gluconic Acid, D-Glucoronic Acid, Glucoron Amide, Mucid Acid, Quinic Acid, D-Saccharic Acid, Vancomycin, Tetrazolium Violet, Tetrazolium Blue, Mehyl Pyruvate, L-Lactic Acid, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, D-Malic Acid, Bromosuccinic Acid, Lithium Chloride, Potassium Tellurite, Tween 40, 9-Amino-N-Butyric Acid, B-Hydroxy Butyric Acid, A-Keto Butyric Acid, Acetoacetic Acid, Propionic Acid, Acetic Acid, Formic

Acid, Aztreonam, Sodium Butyrate ve Sodium Bromate olmak üzere toplam 63 kuyucukta reaksiyonlarının pozitif olduğu tespit edilmiştir. Bazı karbon kaynaklarının ve kimyasalların kullanımı *Xanthomonas* ve *Pseudomonas* strainlerinde değişkenlik göstermekle beraber geri kalan karbon kaynaklarını ve kimyasalları kullanmadıkları saptanmıştır. Hem *Xanthomonas* hem de *Pseudomonas* strainlerinin Ph 5 (A12), Ph 6 (A11)’da, %1 NaCl (B10), %4 NaCl (B11)’de geliştikleri belirlenmiştir. Yine her iki cinste yer alan strainlerin Rifamycin Sv (D11) ve Lincomycin (E10) antibiyotiklerine karşı dayanıklı olduğu bulunmuştur. Ayrıca *Xanthomonas* strainlerinin Vancomycin (F10) antibiyotiğine karşı da dayanıklı olduğu saptanmıştır.

Birçok ülkede ve Türkiye’ nin farklı bölgelerinde domates hastalıklarını belirlemek için çeşitli araştırmalar yürütülmüş, *Xav*, *Pst* ve *P. viridiflava* türlerine ait strainlerin domates bitkisinde ekonomik kayıplara neden olan önemli patojenler oldukları rapor edilmiştir (Sijam *et al.*, 1992; Bouzar *et al.*, 1994; Şahin ve Kotan, 1999; Black *et al.*, 2001; Şahin 2001; Üstün ve Saygılı, 2001; Şahin ve ark., 2003; Basım, 2004; Aysan ve ark., 2005; Shenge and Mabagala, 2007; Cruz *et al.*, 2010; Lamichhane *et al.*, 2010; Popović and Ivanović, 2015; Mensi *et al.*, 2018). Dadaşoğlu (2013), tarafından yapılan bir çalışmada *P. viridiflava*’nın varlığı İğdir iline ait tek bir strain ile biber bitkisinde tespit edilmiştir. Son yıllarda patojenlerin tanısında moleküler yöntemlerin kullanılması hızlı bir şekilde yaygınlaşsa da klasik tanı yöntemlerinin uygulanması patojen gruplarının belirlenmesi ve daha sonra yapılacak moleküler çalışmalara ön tanı şeklinde kolaylık sağlaması ile birçok araştırmacı için önemini korumaktadır. Bu nedenle bu çalışmada izole edilen bakteri strainlerin morfolojik ve biyokimyasal karakterleri belirlenmiştir. *Xav* strainlerinin YDC besiyerinde sarı mukoid, *Pst* ve *P. viridiflava* strainlerinin krem renkte koloni oluşturdukları gözlenmiştir. Elde edilen bakteri strainlerin tamamının hareketli olduğu tespit edilmiştir. Mikroorganizmalara ait biyokimyasal karakterlerden gram reaksiyon, amilaz, katalaz, oksidaz, pektinaz, levan üretimi, floresant pigment üretimi ve arginin dehidrolaz üretimi değerlendirilmiştir. Gram reaksiyon testi sonucunda bakteri strainlerinin hepsinin gram negatif özellikte olduğu belirlenmiştir. Patojen strainlerden sadece *P. viridiflava* türlerinin pektinaz aktivitesi pozitif bulunmuştur. *Pseudomonas* strainlerinin oksidaz, amilaz ve arginin dehidrolaz üretim testleri negatif, katalaz ve floresant pigment üretim testleri pozitif olarak tespit edilmiştir. Levan koloni oluşumu testi *Pst*’nun pozitif, *P. viridiflava* strainlerinin ise negatif bulunmuştur. *Xanthomonas* strainlerinin floresant pigment üretimi ve oksidaz testi negatif, diğer biyokimyasal test sonuçları ise pozitif olarak saptanmıştır. Amilaz testinin *Xanthomonas* ve *P. syringae* patovarylarının ayırımında, arginin dehidrolaz üretiminin *P. syringae* patovaryları ile *P. fluorescens*’ın ayırımında, floresant pigment üretiminin ise *Pseudomonas* ve *Xanthomonas* cinslerinin ayırımında önemli olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (Narayanasamy, 1997; Gonzales *et al.*, 2003; Gasic *et al.*, 2012). Bu çalışmada elde edilen morfolojik ve biyokimyasal test sonuçları daha önce saptanan bulguları destekler bulunmuştur (Goumans and Chatzaki, 1998; Aysan ve ark., 2004; Wreikat *et al.*, 2006; Milijasevic *et al.*, 2009; Ibrahim and Al-Saleh, 2012; Sarris *et al.*, 2012).

Günümüzde yağ asit metil ester analizi (FAME) ve metabolik profillerin eldesi (Biolog Microplate Assay) bakteriyel mikroorganizmaların tanısında en fazla tercih edilen yöntemler arasında yer almaktadır (Walcott *et al.*, 2000; Dönmez, 2004; Bathily *et al.*, 2010; Tripathi *et*

al., 2011; Gök, 2016). Bu çalışmada da hastalıklı domates bitkilerinden izole edilen bakteri strainlerin tamamı MIS ile yağ asit metil ester analizlerine göre tanılanmış ve fenotipik farklılıkları belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar MIS kullanımı ile bakteri strainlerinin tür altı kategorilerinin belirlenebileceğini göstermiştir. Doymuş, doymamış, hydroxy, cyclopropane, iso ve ante-iso yağ asitlerini içeren 200 den fazla yağ asiti çeşitinin bakteriyel strainlerin tanısında ayırt edici özellik olduğu belirlenmiştir (Roy, 1988). MIS sonuçlarına göre *Xav* strainlerinin hepsinin hücre duvarında 17:0 iso 3OH, 11:0 3OH, 11:0 iso, 11:0 anteiso, 13:0 iso, 10:0 3OH, 13:0 iso 3OH, 16:0 iso, 13:0 iso 2OH, 14:0, 14:0 iso, 15:1 iso F, 17:0 anteiso, 15:1 w6c, 17:0, 10:0, 17:0 iso, 16:0, 17:1 w6c, 17:1 w8c, *Pseudomonas* strainlerinin hepsinde 17:1 w8c, 10:0, 14:0, 10:0 3OH, 12:0 2OH, 18:0, 12:0 3OH, 13:0, 16:0, 17:0, 12:0, 17:0 iso, 18:1 w7c 11 methyl yağ asitleri tespit edilmiştir. 10:0, 10:0 3OH, 14:0, 16:0, 17:0, 17:0 iso ve 17:1 w8c yağ asitlerinin ise hem *Xanthomonas* hem de *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerde ortak olduğu belirlenmiştir. Ancak bu yağ asitleri içerisinde 10:0 3OH ve 16:0’ın *Pseudomonas* cinsi bakterilerde daha yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar gerek içerdikleri yağ asiti çeşitleri gerekse yüzde olarak oranları bakımından *Xanthomonas* ve *Pseudomonas* pathovarlarının ayırt edilebileceğini göstermektedir.

Farklı kaynaklardan izole edilen bakteri strainlerinin tanısında en önemli kriterlerden birisi de strainlerin kullandıkları karbon kaynakları ve kimyasalların tespiti ve bu özellikleri bağlı olarak metabolik profillerinin elde edilmesidir. Bu çalışmada domates patojeni olan bakterilerin metabolik profillerinin belirlenmesinde Biolog Gen III MicroPlate kullanılmıştır. D-Maltose, D-Trloseeh, D-Cellobiose, Gentibiose, Sucrose, Ph 6, Ph 5, D-Melibiose, N-Acetyl-D-Glucosamine, %1 NaCl, %4 Nacl, L-Alanine, A-D-Glukose, D-Mannose, D-Galaktose, L-Fucose, Dextrin, %1 Sodium Lactate, Glycerol, Tetrazolium Blue, Rifamycin Sv, Gelatin, D-Fruktose, Glycyl-L-Proline, Aztreonam, L-Serine, Tween 40, Lincomycin, Niaproof 4, Pectin, Tetrazolium Violet, L-Glutamic Acid, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, Bromosuccinic Acid, A-Keto Butyric Acid, Mehyl Pyruvate, L-Malic Acid, Acetoacetic Acid, Propionic Acid, Sodium Butyrate, Acetic Acid, Formic Acid olmak üzere 43 karbon kaynağını ve kimyasalları *Xav* strainlerinin hepsinin kullandığı tespit edilmiştir. *Pseudomonas* strainlerinin ise 46 karbon kaynağını ve kimyasalları (A-D-Glukose, Glycerol, D-Mannose, D-Fruktose, D-Galaktose, Fusidic Acid, D-Sorbital, Ph 6, %1 NaCl, L-Histidine, D-Mannital, Inosine, %1 Sodium Lactate, L-Arabitol, Rifamycin Sv, L-Alanine, Myo- İnositol, L-Pyroglutamic Acid, L-Arginine, L-Aspartic Acid, L-Glutamic Acid, L-Serine, Lincomycin, Niaproof 4, D-Gluconic Acid, D-Glucoronic Acid, Mucid Acid, Quinic Acid, D-Saccharic Acid, Vancomycin, Tetrazolium Violet, Glucoron Amide, Citric Acid, A-Keto Glutaric Acid, D-Malic Acid, L-Malic Acid, Potassium Tellurite, Tween 40, 9-Amino-N-Butryc Acid, B-Hydroxy Butyric Acid, Bromosuccinic Acid, A-Keto Butyric Acid, Acetic Acid, Aztreonam, Propionic Acid, Formic Asit) kullandığı belirlenmiştir. Biolog sistemin bakteriyel organizmaların tanı ve karakterizasyonunda başarıyla kullanılabileceğine dair çeşitli çalışmalar mevcuttur (Tripathi *et al.*, 2011; Karagöz, 2013). *Lue at. al.*, (2010) tarafından yapılan çalışmada Taiwan’da domates ve biber bitkilerinden elde edilen 53 *Xanthomonas* straini biyokimyasal özelliklerin analizi ve multiplex PCR ile karakterize edilmiştir. Strainlerden 13 tanesinin amilaz ve pektinaz özelliği pozitif bulunmuştur. 40 strainin ise nişastayı hidroliz etmediği, pektolitik aktivite göstermediği

tespit edilmiştir. Biolog GN2 Mikroplate kullanılarak strainlerin karbon kaynaklarını kullanım özellikleri belirlenmiş ve bu değerlendirmeye bağlı olarak strainler 3 gruba ayrılmıştır. Strainlerden 40 tanesinin *X. euvesicatoria* (önceden *X. a. pv. vesicatoria*) tanısı ile birinci grubu, 5 tanesinin *X. vesicatoria* tanısı ile ikinci grubu ve 8 tanesinin *X. perforans* tanısı ile üçüncü grubu oluşturduğu tespit edilmiştir. Çalışmada *X. gardneri* saptanmamıştır. Amilaz ve pektinaz özelliği pozitif olan 13 strainin 13 farklı karbon kaynağını ve kimyasalı kullanarak bir grupta yer aldığı görülmüştür. Dextrin, glycogen, N-acetyl-D-glucosamine, D-galactose, gentibiose, α -D-lactose lactulose, acetic acid, cis-aconitic acid, malonic acid, D-alanine ve L-threonine karbon kaynaklarını ve kimyasalları kullanan 8 strain *X. perforans* olarak tanılanmıştır. *X. vesicatoria* olarak tanılanan 5 strainin ise dextrin ve gentibiose’ u kullandığı, N-acetyl-D-glucosamine, acetic acid, cis-aconitic acid, malonic acid ve D-alanine’i kullanmadığı belirlenmiştir. Yapılan bir başka araştırmada Biolog GN mikroplate sistem ile 39 *X. c. pv. vitians* straininin karbon kaynaklarını kullanımını test edilmiş, strainlerin hepsi tür (*X. campestris*) seviyesinde, % 41’i ise pathovar seviyesinde tanılanmıştır. Şahin (2016), tarafından yapılan bir araştırmada Kahramanmaraş bölgesinden biberden izole edilen patojen bakteri strainleri morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlerin yanında Biolog Gen III Sistem ile de tanılanmıştır. Sonuçlara göre 13 strainin 4 tanesinin *Xcv* (% 66-71), 7 tanesinin *Xcp* (% 68-74), 2 tanesinin *X. c. pv. dieffenbachiae* (% 64- 72) olduğu belirlenmiştir. Dönmez (2004), tarafından yapılan çalışmada Biolog GN plate sonuçlarına göre *Pseudomonas* cinsi strainlerin hepsinin Glycogen, L-Arabinose, D-Fructose, α -D- Glucose, D-Mannose, D-Psicose, Sucrose, Methyl Pyruvate, Mono-Methyl-Succinate, Acetic Acid, cis-Aconitic Acid, L-Proline, Citric Acid, Formic Acid, D-Galactonic Acid Lactone, L-Asparagine, D-Gluconic Acid, Malonic Acid, Propionic Acid, Quinic Acid, D-Saccharic Acid, Succinic Acid, L-Serine, Bromo Succinic Acid, Tween 40, Succinamic Acid, L-Alaninamide, D-Alanine, L-Alanyl-Glycine, L-Alanine, Glycyl-L-Glutamic Acid, L-Aspartic Acid, L-Glutamic Acid, γ -Amino Butyric Acid, Uridine ve Glycerol’den oluşan 36 karbon kaynağını kullandığı tespit edilmiştir. *Xanthomonas* cinsine ait bakterilerin kullandığı karbon kaynakları ise; Dextrin, Glycogen, Tween 40, D-Cellobiose, D-Fructose, L-Fucose, D-Galactose, Succinamic Acid, cis-Aconitic Acid, α -D-Glucose, D-Mannose, D-Melibiose, D-Psicose, Gentibiose, Sucrose, Turanose, Methyl Pyruvate, Mono-Methyl-Succinate, D-Trehalose, Formic Acid, L-Alanyl-Glycine, Glycyl-L-Glutamic Acid, Succinic Acid, Itaconic Acid, α -Keto Glutaric Acid, Bromo Succinic Acid, L-Alaninamide, D-Alanine, L-Alanine, L-Aspartic Acid, L-Serine ve D,L- α -Glycerol Phosphate olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada aynı cins içerisinde yer alan bakteri strainlerinin kullandıkları karbon kaynaklarının benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak tespit edilen metabolik enzim profillerinin pathovar seviyesinde farklılıklar taşıdığı da görülmüştür.

MIS ve BIOLOG sistemle elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde fenotipik farklılıkların göstergesi olan metabolik enzim profillerinin ve yağ asit kompozisyonuna ve miktarına bağlı olarak elde edilen yağ asit profillerinin tanı sonuçlarının benzer olduğu görülmüştür. Her iki sistemin de bakteri strainlerinin tanısında alt tür seviyesinde başarı ile kullanılabilmesi saptanmıştır. Birden fazla yöntemin bir arada kullanılmasının sonuçların güvenilirliğini arttırdığı açıktır. Ayrıca kullanılan her bir yöntem mikroorganizmalara ait farklı

özelliklerin ortaya konulmasını sağlayacaktır. Bununla birlikte sonuçlar her iki sisteminde tek başına *Xav*, *Pst* ve *P. viridiflava* türlerinin tanısında yeterli olduğunu göstermektedir.

SONUÇ

İğdır ilinde domates yetiştiriciliği yapılan alanlar bakteriyel hastalıklar açısından incelenmiş, Aralık, Tuzluca, Karakoyunlu ilçelerinden ve İğdır merkeze bağlı Kasımcan, Oba, Melekli köylerinden hastalıklı örnekler alınmıştır. Yapılan izolasyonlar sonrasında yağ asit metil ester analiz sonuçlarına göre 36 farklı türe ait toplam 98 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlere ait yağ asit profilleri incelendiğinde 98 strain içerisinde 11 tanesinin patojen türler (8 tanesi *Xav*, 2 tanesi *P. viridiflava* ve 1 tanesi *Pst*) olduğu görülmüştür. Bu türlerle domates fidelerinde yapılan patojenite testi ve tütünde yapılan HR testi sonucu da strainlerin patojenik karakterde olduğunu göstermiştir. Strainlerin morfolojik ve biyokimyasal test sonuçlarının patojenite testi sonuçları ile uyum içinde olduğu belirlenmiştir. Patojen bakteri strainlerinin kullandıkları karbon kaynakları ve kimyasallar Biolog Gen III Mikroplate sisteminde değerlendirilmiştir. Elde edilen metabolik profillerine bağlı olarak strainlerin 8 tanesi *Xav*, 2 tanesi *P. viridiflava* ve 1 tanesi *Pst* olarak tanılanmış ve *Xav* strainlerinin 43, *Pseudomonas* strainlerinin 46 farklı karbon kaynaklarını ve kimyasalları kullandıkları tespit edilmiştir. Ayrıca İğdır ilinde *Xav* ve *Pst* patojenlerinin domateste hastalığa neden olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

TEŞEKKÜR

2017-FBE-A21 numaralı projenin desteklenmesinde verdikleri katkıdan dolayı İğdır Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Aksoy, H. M., 2002.Samsun ilinde Domates Bakteriyel Hastalıkları ve Yaygınlıkları. Ankara Üniversitesi/ Fen Bilimleri Enstitüsü/Bitki Koruma Ana Bilim Dalı.. Doktora Tezi, 118s.
- Aysan, Y., Yıldız, N., Yucel, F., 2004. Identification of *Pseudomonas viridiflava* on Tomato by Traditional Methods and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Phytopathology/Mycology*, 32 (2), 146-153.
- Aysan, Y., Mırık, M., Çetinkaya, Yıldız, R., Küsek, M., 2005. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun Yayılmasında Tohum Kökenli İnokulumun Rolü. *Türkiye II. Tohumculuk Kongresi*. 353 (9-11) ,Adana.
- Basım, H., 2004. Bacterial Spot of Tomato and Pepper Caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* in the Western Mediterranean Region of Turkey. *Plant Disease*, (1), 85.
- Bathily, H., Babana, A.H., Samake, F., 2010. *Bacillus Pumilus*, A New Pathogen on Potato Tubers in Storage in Mali. *African Journal of Microbiology Research*, 4(20), 2067-2071.
- Bergey, D.H., Harrison, F.C., Breed, R.S., Hammer, B.W., Huntoon, F. M., 1923. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 116 P.
- Black, R., Seal, S., Abubakar, Z., Nono-Womdim, R., Swai, I., 2001. Bacterial Spot (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) of Tomato and Sweet Pepper in Tanzania. *Plant Pathology*, 50,810.
- Bouzar, H., Jones, J.B., Stall, R.E., Hodge, N.C., Minsavage, G.V., Benedict, A.A. Alvarez, A.M., 1994. Physiological, Chemical, Serological and Pathogenic Analyses of A Worldwide Collection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology*, 84,663-671.
- Cruz, L., Cruz, J., Eloy, M., Oliveira, H., Vaz, H., Tenreiro, R., 2010. First Report of Bacterial Speck of Tomato Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Race 1 in Portugal. *Journal Article. Plant Disease*. 94(12), 1504-1504
- Çetinkaya Yıldız R. ve Aysan Y., 2008. Domates Bakteriyel solgunluk Hastalığı etmeni (*C. michiganensis* subsp. *Michiganensi*)'nin İzolasyonu, G elenekselsel, Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Tanısı. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 173s.

- Dadaşoğlu, F., 2013. *Artvin Erzincan Erzurum İğdir İllerinde Bazı Meyve ve Sebzelerde Yumuşak Çürüklüğe Sebep Olan Bakterilerin İzolasyonu Klasik ve Moleküler Yöntemler ile Karakterizasyonu*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, s143.
- Davis, M.J., Gillaspie, A. G., Jr. Vidaver, A. K., Harris, R. W., 1984. *Clavibacter*: A New Genus Containing Some Phytopathogenic Coryneform Bacteria, Including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. Nov., subsp. Nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. Nov., Pathogens That Cause Ratoon Stunting Disease of Sugarcane and Bermudagrass Stunting Disease, *International Journal of Systemic Bacteriology*, 34, 107-17.
- Dönmez, M. F., 2004. Erzurum ve Erzincan İllerinde Fasulye (*Phaseolus Vulgaris L.*) Bitkisinde Görülen Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tanılanması ve *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* ve *Xanthomonas campestris* pv. *phaseolif*'ye Karşı Çeşitli Fasulye Genotip ve Çeşitlerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Bitki Koruma Anabilim Dalı. s305..
- FAO, 2020. Food and Agriculture Organization of The United Nations. Tomatoes Growing in The World. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim Tarihi: 24.02.2020).
- Gardner, M.W., Kendrick, J.B., 1923. Bacterial Spot of Tomato and Pepper, *Phytopathology* 13:307-315.
- Gasic, K., Prokic, A., Ivanovic, M., Kuzmanovic, N., Obradovic, A., 2012. Differentiation of *Pseudomonas syringae* Pathovars Originating From Stone Fruits. *Pesticides. Phytomedicine*, 27(3),201-229.
- Gonzalez, C.F., Ackerley, D.F., Park, C.H., Matin, A., 2003. A Soluble Flavoprotein Contributes To Chromate Reduction and Tolerance by *Pseudomonas putida*. *Acta Biotechnol.* 2(3), 233-239.
- Goumans, D.E., Chatzaki, A.K., 1998. Characterization and Host Range Evaluation of *Pseudomonas viridiflava* From Melon, Blite, Tomato, Chrysanthemum and Eggplant. *European Journal of Plant Pathology*, 104,181-188.
- Gök, G., 2016. İğdir İli Elma Ağaçlarında Ateş Yanıklığı Hastalığına Neden Olan *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et al. Etmeninin Biyokimyasal ve Moleküler (MIS) Yöntemle Tanısı. İğdir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, s72.
- Ibrahim, Y., Al-Saleh, M., 2012. First Report of Bacterial Spot Caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on Sweet Pepper (*Capsicum annuum L.*) in Saudi Arabia. *Plant Disease*, 96(11), 1690-1690.
- İmriz G.ve Çınar Ö., 2015. Domates Öz Nekrozu Etmenlerinden *Pseudomonas cichorii* ve *Pseudomonas corrugata*'nın ELİSA'ya Dayalı ve Geleneksel Tanıtemleri ile Teşhisi. Vol. 3, no 7-13
- Karagöz, K., 2013. *Erzurum İli Patates Tarlalarından İzole Edilen Bitki Patojeni Streptomyces Türlerinin Tanısı ve Karakterizasyonu*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, s129.
- Klement, Z., Farkas, G. L., Lourekovich, L., 1966. Hypersensitive Reaction Induced by Phytopathogenic Bacteria in Tobacco Leaf, *Phytopathology*, 54, 474-477.
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D.C., 1990. *Methods in Phyto bacteriology*, Akademia Kiado, Budapest, XIV+568s.
- Lamichhane J.R., Balestra G.M., Varvaro L., 2010. First report of bacterial spot caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* race 2 on tomato in Nepal. *New Diseases Reports*, 22, p25.
- Lelliott, R.A., Stead, D.E., 1987. Methods For The Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. *Blacwell Scientific Publications*. p216.
- Lue Y. S., Deng W. L., Wu Y. F., Cheng A. S., Hsu S. T.. and Tzeng K. C., 2010. Characterization of *Xanthomonas* Associated with Bacterial Spot of Tomato and Pepper in Taiwan. *Plant Pathology Bulletin* 19: 181-190.
- Mensi, I., Jabnoun-Khiareddine, H., Zarrougui, N.E., Zahra, H., Cesbron, S., Jacques, M. A., Daami-Remadi, M., 2018. First Report of Tomato Bacterial Speck Caused By *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Tunisia. *New Disease Reports*, 38, 21.
- Miljasevic, S., Todorovic, B., Rekanovic, E., Potocnik I., Gavrilovic, V., 2009. Races and Hosts of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Serbia. *Archives of Biological Sciences*, 61 (1), 93-102.
- Narayanasamy, P., 1997. *Plant Pathogen Detection and Disease Diagnosis*, pp. 331.
- Roy, A., 1988. Use of Fatty Acid For The Identification of Phytopathogenic Bacteria. *Plant Disease*, 72, 460.
- Popović, T., Ivanović, Z., 2015. First Report of *Pseudomonas viridiflava* Causing Pith Necrosis of Tomato (*Solanum Lycopersicum*) in Serbia. *Diseases Notes*, 99 (7), 1033.
- Sarris, F.P., Trantas, E. A., Mpalantinaki, E., Ververidis, F., Goumas, D.E., 2012. *Pseudomonas viridiflava*, A Multi Host Plant Pathogen With Significant Genetic Variation At The Molecular Level. *Plasone*, 7, Issue 4,
- Sasser, M., 1990. İdentification of bacteria by gas chromatography of celluler fatty acids. MIDI, Technical Note. 101, 1-6
- Saygılı, H., 1995. *Fitobakteriyoloji*. Doğruluk Matbaası, İzmir, pp. 203.
- Scarlett, C.A., Fletcher, J.T., Roberts P., Lelliott, R.A., 1978, Tomato Pith Necrosis Caused by *Pseudomonas corrugata*, *Annals of Applied Biology*, 88,105-114.
- Schaad, N. W., 1994. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. *APS Press*, pp. 164.

- İğdir' Da Domates (*Solanum Lycopersicon L.*)' Te Hastalığı Neden Olan Bakterilerin İzolasyonu Ve Tanısı, 4(2): 1-5, 2021.
- Schaad, N.W., Jones, J.B., Chun, W., 2001. Laboratory Guide For Identification of Plant Pathogenic Bacteria. *The American Phytopathological Society, St. Paul, MN., USA.*
- Shenge, K.C., Mabagala, R.B., 2007. First Report of Bacterial Speck of Tomato Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Tanzania. *Plant Diseases.* (4), 462.
- Sijam, K., Chang, C.J., Gitaitis, R.D., 1992. A Medium for Differentiating Tomato and Pepper Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Can. *Journal Plant Pathol.* 14,162-164.
- Stancu, M. and Rodi, M., 2020. Identification and Biochemical Characterization of some Strains of *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. University of Craiova, Faculty of Horticulture, A.I. Cuza, Craiova. Romania. no. 13.
- Şahin, F., Kotan, R., 1999. First Observation of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Race T2P7 Isolated From Pepper in The Philippines. *Plant Disease*, 83(6), 590.
- Şahin, F., 2001. Severe Outbreak of Bacterial Speck, Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, on Field-Grown Tomatoes in Eastern Anatolia Region of Turkey, *Plant Pathology*, 50(6), 799.
- Şahin, F., Abbasi P.A., Lewis I.M.L., Zhang, J., Miller, S.A., 2003. Diversity Among Strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* From Lettuce. *Phytopathology*, 93, 64-70.
- Şahin, A., 2016.Kahramanmaraş Biber Üretim Alanlarında Biber Bakteriyel Leke Hastalık Etmenlerinin Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Bitki Koruma Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. 71 s.
- Tripathi, B.M., Kaushik, R., Kumari, P., Saxena, A. K., Arora, D. K., 2011. Genetic and Metabolic Diversity of *Streptomyces* in Pulp and Paper Mill Effluent Treated Crop Fields. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 27, 1603-1613.
- Tuik, 2016. Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı, (Erişim tarihi: 20.11.2018).
- Ünlü A., Baysal Ö., Polat İ., Sülü S. M., İkten H., Deran Z., ve Gümrükçü E., 2016. Batı Akdeniz Bölgesinde Örtüaltı Yetiştiriciliğinde sorun Olan Domateste Bakteriyel Benek *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Hastalık Etmeni İzolatlarını genetik Farklılıklarının Moleküler Yöntemlerle Tespiti. Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsü, Antalya. 34(2):122-130.
- Üstün, N., Saygılı, H., 2001. Pith Necrosis on Greenhouse Tomatoes in Aegean Region of Turkey. *11th Congress of The Mediterranean Phytopathological Union and 3rd Congress of the Sociedade Portuguesa De Fitopatologia Evora-Portugal*, 70-73.
- Walcott, R.R., Langston, D.B., Sanders F.H., Gitaitis, R.D., 2000. Investigating Intraspecific Variation of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* Using DNA Fingerprinting and Whole Cell Fatty Acid Analysis. *Phytopathology*, 90(2),191-196.
- Wang, M., Cao, J., Lin, L., Sun, J., Jiang, W., 2010. Effect Of 1- Methylcyclopropene on Nutritional Quality and Antioxidant Activity of Tomato Kaynaklar Hussien Belal 125 Fruit (*Solanum Lycopersicon L.*) [Sic] During Storage. *Journal of Food Quality*, 33, 150-164.
- Wielke, J.P., Dye, D.W., Watson, D.R.W., 1973. Further Host of *Pseudomonas viridiflava*. *New Zealand Journal Agricultural Research*, 16, 315-323.
- Wielke, J.P., Dye, D.W., 1974. *Pseudomonas cichorii* Causing Tomato and Celery Diseases in New Zealand. *New Zealand Journal Agricultural Research*, 17, 123-130.
- Wrekiat, B.I., Al-Banna, L.S., Khlaif, M.H., 2006. Detection and Identification of Bacterial Speck of Tomato (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) by Polimerase Chain Reaction. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), 45-55.
- Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., Nishiuchi, Y., 1995, Transfer of Two Burkholderia and an Alcaligenes Species To Ralstonia Gen. Nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Douderoff 1973) Comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Comb. Nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) Comb. Nov., *Microbiology and Immunology*, 39, 897-904.
- Young, J.M., Dye, D.W., Bradbury, J.F., Panagopoulos, C.G., Robb, C.F., 1978. A Proposed Nomenclature and Classification for Plant Pathogenic Bacteria.. *Journal of Agricultural, Research*, 21, 153-77.