

Armut ağaçlarında Ateş Yanıklığı etmeni *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al.'ya karşı bakteri uygulamaları ile biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması¹

Yılmaz KARABIÇAK²

Recep KOTAN³

SUMMARY

The investigation of biological control facilities against fire blight on pear trees caused by *Erwinia amylovora* by using bacteria

In this study, the effect of some antagonist bacterial strains was investigated for biological control of fire blight caused by *Erwinia amylovora* that causing serious loss of product and drying on pome trees, especially on pear trees, in laboratory and field conditions. As alternative the chemical control, 3 different antagonistic bacteria *Pantoea agglomerans* RK-79, *Pantoea agglomerans* RK-84 and *Pseudomonas putida* RK-142 strains were used against *E. amylovora* on detached pear flower in laboratory and pear shoots in field conditions.

As the result of the experiments conducted on flowers bunch in laboratory condition, *P. putida* RK-142 *P. agglomerans* RK-84 and *P. agglomerans* RK-79 isolates reduced the disease severity by the rate of 57,2%, 48,9%, and 14,4% respectively. Experiments in field was conducted between 2010 and 2011 in orchard of Erzincan Horticultural Research Station. In the experiments conducted on exile of the plant in the field condition, it was observed that the effects of the biological control agents prevented the development of the disease, but this effect disappeared after a while, depending on the number of applications. It was observed that the protective applications to do with biological control agents against the fire blight had the effect of preventing the development of disease on shoot during the vegetation period.

Keywords: Pear, fire blight, biological control, *Erwinia amylovora*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas putida*, *Pyrus communis*.

ÖZET

Bu çalışmada; yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında ve özellikle armutlarda ciddi verim kayıpları ve kurumalara neden olan ateş yanıklığı hastalığının etmeni *Erwinia amylovora*'nın biyolojik kontrolüne olanak sağlayabilecek potansiyel bakterilerin laboratuvar ve arazi şartlarında etkinlikleri araştırılmıştır. Kimyasal mücadeleye alternatif

¹Bu makale Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Bölümü'nde master tezi olarak yürütülmüş ve Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü tarafından desteklenmiştir.

²Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, 24060, Erzincan

³Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 25240, Erzurum

Sorumlu Yazar (Corresponding author) e-mail:yilmazkarabicak@hotmail.com

Yazının Yayın Kuruluna Geliş Tarihi (Received): 24.03.2014

olabilecek 3 farklı bakteri, *Pantoea agglomerans* RK-79, *Pantoea agglomerans* RK-84 ve *Pseudomonas putida* RK-142 izolatları, laboratuvar koşullarında armut çiçek demetlerinde ve arazi koşullarında armut sürgünlerinde *E. amylovora*'ya karşı etkililik açısından denenmiştir.

Çalışma sonucunda; laboratuvar koşullarında çiçek demetleri üzerinde yapılan uygulamalarda Ateş Yanıklığına *P. putida* RK-142 %57,2, *P. agglomerans* RK-84 %48,9 ve *P. agglomerans* RK-79 izolatı %14,4 oranında azaltmıştır. Arazi koşullarında denemeler 2010 ve 2011 yıllarında Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyon Müdürlüğü arazisinde yürütülmüştür. Arazi koşullarında sürgünlere yapılan uygulamalarda ise; biyolojik mücadele etmenlerinin hastalığın gelişiminin engellenmesi üzerine etkisinin olduğu, fakat bu etkinin uygulama sayısına bağlı olarak bir süre sonra kaybolduğu tespit edilmiştir. Ateş Yanıklığına karşı, biyolojik mücadele etmenleri ile yapılacak koruyucu uygulamaların, yeşil aksamda vejetasyon süresince hastalık gelişimini önlemede etkisinin olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Armut, Ateş Yanıklığı, biyolojik mücadele, *Erwinia amylovora*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas putida*, *Pyrus communis*

GİRİŞ

Ülkemiz, sahip olduğu iklim ve toprak yapısı ile pek çok meyve türünün yetiştiriciliği için oldukça uygundur. Yumuşak çekirdekli meyveler taze tüketiminin yanında sanayide hammadde (meyve suyu, konserve, reçel, marmelat, pekmez ve kurutmalık) olarak da kullanılmaktadır.

Dünyada yumuşak çekirdekli meyve üretimi 94.250.437 ton olup, bunun 3.280.087 tonu Türkiye'de üretilmektedir. Türkiye'de yumuşak çekirdekli meyve üretiminin dağılımı incelendiğinde 2.782.370 tonunu elma, 384.244 tonunu armut, 96.282 tonunu ayva, 12.986 tonunu yenedünya, 4205 tonunu muşmula oluşturmaktadır (Anonymous 2009). Çalışmanın yürütüldüğü Erzincan'ın, 21.268 ton yumuşak çekirdekli meyve üretimi bulunmaktadır (Anonim 2009).

Hızla artan dünya nüfusuna paralel olarak tarımsal üretimin artırılması bir zorunluluk haline gelmiştir. Hastalık etmeni ve zararlılarla mücadelede tüm ekosistemdeki kate alarak canlılar arasındaki doğal dengenin korunması, çevre kirliliği, kalıntı ve tarımsal üretim maliyetleri göz önüne alınarak yeni mücadele yöntemlerinin uygulanmasıyla ancak sürdürülebilir bir tarımsal üretim sağlanabilir. Bu şekilde gelecek nesillere sağlıklı yaşayabilecekleri bir çevre, güvenli ve yeteri miktarda gıda bulabildikleri bir dünyanın kapısı aralanabilir.

Yumuşak çekirdekli meyvelerin üretiminde birçok sınırlayıcı faktör (uygunsuz çevre koşulları, böcekler ve patojen mikroorganizmalar) bulunmaktadır. Bu faktörlerin içerisinde bakteriyel hastalıklardan özellikle Ateş Yanıklığı önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Ateş Yanıklığı hastalığı tüm dünyada karantinaya tabi olup yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarının en tahripkâr hastalığıdır. Sadece o yılın ürününü etkilemekle kalmayıp, ağaçlarda sürgün, ana dal ve gövdeyi

hastalandırarak gelecek yıllardaki ürüne de etki edip ağacı kurutabilmektedir (Anonim 2008). *E. amylovora*'nın enzim ve toksin üreterek bitkilerde kloroz, nekroz ve geriye doğru ölümlere sebep olduğu bildirilmektedir (Crosse et al. 1972). Ateş Yanıklığı hastalığı ilk olarak Türkiye'de 1985 yılında Afyon ili Sultandağ ilçesinde belirlenmiş ve daha sonra 1986'da Isparta ve Burdur'da da görülmüştür. Ateş Yanıklığı hastalığı 1985'ten sonra Türkiye'de Karadeniz, Ege, Doğu Akdeniz ve Orta Anadolu Bölgesi'nde önemli epidemiler oluşturmuştur (Momol 1990). Ateş Yanıklığı hastalığının ülkemizde başta armut olmak üzere ayva ve elmada problem oluşturduğu belirlenmiştir (Demir ve Gündoğdu 1993).

Ateş Yanıklığı hastalığına karşı uygulanan kimyasal mücadeleden beklenen yarar sağlanamamaktadır. Ayrıca kimyasal mücadele de, doğal dengenin bozulması, dayanıklılık ve kalıntı gibi insan ve çevre sağlığı açısından birçok olumsuz sonuçlar oluşabilmektedir. Hastalığın kimyasal mücadelesinin zor ve etkin olmayışı nedeniyle, son yıllarda hastalıkla mücadelede biyolojik yöntemlerin kullanılabilmesi için yoğun olarak araştırmalar yapılmaktadır.

Bu çalışmada biyolojik mücadele etmenlerinden,2002 yılında yapılan bir çalışmada *E.amylovora*'ya karşı laboratuvar koşullarında petri ve sürgün denemelerinde etkinliği belirlenen, *P.agglomerans* RK-79, *P.agglomerans* RK-84 ve *P.putida* RK-142 izolatları kullanılmıştır. Çalışmada bu izolatların, laboratuvar koşullarında çiçekler üzerinde ve arazi koşullarında ise sürgünler üzerinde *E. amylovora*'ya karşı biyolojik mücadele de kullanım imkânlarının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğü arazisinde, 2010-2011 yıllarında yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmanın materyalini; Ateş Yanıklığı etmeni patojen bakteri (*E. amylovora* RK-128), patojene karşı kullanılan biyolojik mücadele etmeni bakteriler (*P. agglomerans* RK- 79, *P. agglomerans* RK-84ve *P. putida* RK-142), çeşitli laboratuvar araç gereçleri, Santa Maria armut çeşidinden elde edilmiş çiçek demetleri ve 3 yaşlı fidanları oluşturmuştur. Patojen ve biyolojik mücadele etmeni bakteriler Atatürk Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü, Mikroorganizma Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir.

1. Laboratuvar Çalışmaları

Biyolojik mücadele etmenlerinin koparılmış çiçeklerde Erwinia amylovora'ya karşı etkisinin test edilmesi

Çalışmada, SantaMaria armut çeşidinin henüz tam açmamış çiçek demetlerini içeren sağlıklı sürgünleri, 20–25 cm den kesilerek laboratuvara getirilmiştir. Bu sürgünler, sap kısımları %1.5 Benomyl + çeşme suyu + steril perlit ortamının içinde olacak şekilde, 24°C lik iklim odasında bekletilerek, çiçek taç yapraklarının %80'nin açılması sağlanmıştır. Bu dönemdeki çiçek demetlerinin üzerine

10^9 hücre/ml konsantrasyondaki biyolojik mücadele etmenleri püskürtülmüştür. Uygulamayı takiben 48 saat sonra da, 10^6 hücre/ml konsantrasyondaki *E.amylovora*, çiçek demetleri üzerine püskürtülmüştür. Denemede pozitif kontrol olarak, patojen bakteri uygulaması kullanılmıştır. Karşılaştırma ilacı olarak ise, hastalığın mücadelesinde önerilen %50 bakıroksiklorür kullanılmıştır. Deneme; laboratuvar ortamında, tesadüf parselleri deneme deseninde 5 uygulama ve 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Her tekerrür 3 çiçek sürgünü olacak şekilde düzenlenmiştir. Patojen bakteri inokulasyonundan 4 gün sonra her tekerrürde yer alan çiçek demetleri, tek tek hastalık açısından gözlenerek, her tekerrürdeki ortalama % hastalık şiddeti ve % etkinlik değerleri saptanmıştır (Özaktan ve Türküsay 1996).

Hastalık şiddeti aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Hastalık şiddeti} = (\text{Hastalıklı çiçek sayısı} / \text{Toplam çiçek sayısı}) \times 100$$

Biyolojik mücadele etmenlerinin çiçek uygulamaları yoluyla Ateş Yanıklığına etkisi aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\text{Uygulamanın } \% \text{ etkisi} = 100 - [\text{Uygulamadaki } \% \text{ hastalık şiddeti} / \text{Pozitif kontroldeki } \% \text{ hastalık şiddeti}] \times 100$$

Elde edilen bu veriler JUMP 5.0.1 istatistik programında analize tabi tutulmuştur.

Biyolojik mücadele etmenlerinin koparılmış armut çiçeklerinde fitotoksik etkisinin test edilmesi

Biyolojik mücadele etmenlerinin laboratuvarında çiçekler üzerindeki fitotoksik etkisinin test edilmesi amacı ile 10^9 hücre/ml konsantrasyondaki biyolojik mücadele etmenleri, çiçek demetlerine püskürtülmüştür. Bu uygulama, üzerlerine sadece steril su püskürtülen kontrol ile mukayese edilerek değerlendirilmiştir. Çiçekler üzerinde herhangi bir sararma deformasyon ya da nekrotik doku oluşumu fitotoksik açıdan pozitif olarak değerlendirilmiştir. Skala tarafımızca yapılan çalışmalar sonucunda oluşturulmuştur. Değerlendirmede 1-5 skalası kullanılmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Biyolojik mücadele etmenlerinin armut çiçeklerinde fitotoksik etkisini değerlendirme skalası

Skala değeri	Fitotoksik etkinin tanımı
1	Çiçekler üzerinde herhangi bir solgunluk, leke, deformasyon yok
2	Çiçekler üzerinde ortalama %25 solgunluk, leke, deformasyon var
3	Çiçekler üzerinde ortalama %50 solgunluk, leke, deformasyon var
4	Çiçekler üzerinde ortalama %75 solgunluk, leke, deformasyon var
5	Çiçekler üzerinde ortalama%100 solgunluk, leke, deformasyon var

Deneme; laboratuvar ortamında, tesadüf parselleri deneme deseninde 4 uygulama ve 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Her tekerrür 3 çiçek sürgünü olacak şekilde düzenlenmiştir.

2. Arazi Çalışmaları

Doğal inokulasyon uygulaması

Doğal inokulasyon çalışmaları, fidanlar üzerine sadece biyolojik mücadele etmenleri püskürtülüp hastalıkla bulaşık deneme alanında inkübasyona bırakılmış ve hastalık etmeni *E. amylovora*'ya karşı reaksiyonu incelenmiştir.

Çalışmalara ilkbaharda fidanların tam olarak yapraklandığı dönemde başlanmıştır. Bu dönemde, biyolojik mücadele etmenlerinin 10^9 hücre/ml konsantrasyonunda hazırlanan solüsyonları, fidanların toprak üstü aksamının tamamına püskürtülmüştür. Uygulama 10 gün sonra tekrar edilmiş ve hastalık etmeniyle bulaşık deneme alanında inkübasyona bırakılmıştır. Bu uygulama, üzerlerine sadece steril su püskürtülen kontrol parseli ile mukayese edilerek değerlendirilmiştir. Deneme tesadüf blokları deneme deseninde 5 uygulama ve 3 tekerrürlü; her tekerrürde de 2 fidan olacak şekilde, 1,5 m x 2,5 m olarak kurulmuştur. Çalışma Santa Maria armut çeşidinde, 3 yaşlı fidanlar üzerinde yapılmıştır.

Deneme alanında 2010 yılı sonunda hastalıklı dallar ana gövdeden kesilerek uzaklaştırılmıştır. Doğal inokulasyonlar fidanlar üzerinde Ateş Yanıklığının tipik belirtisi olan sürgün ucundan geriye doğru kurumaların görüldüğü fidanlarda hastalığın varlığı pozitif olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmede Çizelge 2'de verilen 1-5 skalası kullanılmıştır (Şahin 1997).

Çizelge 2. Doğal inokulasyonlarda fidanlar üzerinde Ateş Yanıklığı değerlendirme skalası

Skala Değeri	Fidanlardaki belirtilerin tanımı
1	Bitkide hastalığın herhangi bir belirtisi yok
2	Bitkide bir iki yaprakta birkaç leke var
3	Yapraktaki lekeler bir araya gelerek ölü alanlar oluşturmuştur.
4	Çok sayıda lekenin bir yaprakta bulunması sonucu yaprak ölmüştür.
5	Bitki tamamıyla ölmüştür.

Yapay inokulasyon uygulamaları

Yapay inokulasyon çalışmalarında ise önce biyolojik mücadele etmenleri fidanlara püskürtülmüş akabinde belli bir inkübasyon süresi sonunda sürgün uç dokusunda açılan yaradan Ateş Yanıklığı etmeni *E. amylovora* bakterisinin bitki dokusuna yapay olarak enjekte edilmesiyle meydana gelen reaksiyon incelenmiştir.

Çalışmada kullanılan fidanlar tamamen sağlıklı fidanlar olup Ateş Yanıklığı hastalığına dair hiçbir hastalık belirtisi göstermemektedir. Çalışmalara ilkbaharda fidanların tam olarak yapraklandığı dönemde başlanmıştır. Bu dönemde, biyolojik mücadele etmenlerinin 10^9 hücre/ml konsantrasyonunda hazırlanan solüsyonları, fidanların toprak üstü aksamının tamamına püskürtülmüştür. Biyolojik mücadele etmenleri 2010 yılında 10 gün ara ile 2 kez uygulanmıştır. Çalışmada 2010 yılı rapor dönemi sonunda biyolojik mücadele etmenlerindeki uygulama sayısının artırılması ile etkinliğinin daha da artırılabilceği kanısı oluşmuş, bunun üzerine 2011 yılında biyolojik mücadele etmenleri 10 gün ara ile 3 kez uygulanmıştır. Uygulamalar plastik püskürtme aletleri ile tüm aksamı kapsayacak şekilde yapılmıştır. Biyolojik mücadele etmenlerinin uygulamasını takiben 48 saat sonra, fidanların dört farklı yönünden seçilen dört sürgünün tepe noktasına steril iğne ile açılan yaralardan, 10^6 hücre/ml konsantrasyonundaki 100 µl patojen bakteri inokulumu enjekte edilmiştir. Patojen bakteri inokule edilen sürgünlerde 3 günde bir lezyon uzunluğu ölçülerek kaydedilmiş bu işlemlere 8 hafta devam edilmiştir ve son ölçümde (20. ölçüm) sürgün uzunlukları alınmış ve her ölçümdeki lezyon uzunlukları toplam sürgün boyuna oranlanarak her ölçüm için sürgünlerdeki % kuruma oranları bulunmuştur (Fleck 2001).

Deneme tesadüf blokları deneme deseninde 5 uygulama ve 3 tekerrürlü; her tekerrürde de 2 fidan olacak şekilde, 1,5 m x 2,5 m olarak kurulmuştur. Çalışma Santa-Maria armut çeşidinde, 3 yaşlı fidanlar üzerinde yapılmıştır.

Ölçümler kendi arasında istatistikî analize tabi tutulmuştur. İstatistikî analizlerde JUMP 5.0.1 programı kullanılmıştır.

SONUÇLAR

1. Laboratuvar Çalışmaları

Biyolojik mücadele etmenlerinin koparılmış çiçeklerde Erwinia amylovora'ya karşı etkisinin test edilmesi

E. amylovora'ya karşı laboratuvar koşullarında, 3 adet biyolojik mücadele etmeni bakteri izolatu kullanılarak yürütülen çalışmalarda armut çiçeklerindeki hastalık şiddeti Çizelge 3'de ve uygulamaların etkinliği ise Çizelge 4'de verilmiştir. En yüksek hastalık şiddeti sadece patojen uygulaması yapılan pozitif kontrolde %76,25 olurken, en düşük hastalık şiddeti %11,79'la %50 Bakıroksiklorür'de görülmüştür. Uygulamalarda kullanılan biyolojik mücadele etmenlerinde hastalık şiddeti *P. putida* RK-142'da %32,63, *P. agglomerans* RK-84' de %38,90 olmuştur. *P. agglomerans* RK-79' da hastalık şiddeti %67,51 olmuş ve pozitif kontrolle aynı grupta yer almıştır.

Çizelge 3. Çiçek uygulamalarında görülen % hastalık şiddeti ve istatistik grupları

Uygulamalar	Hastalık şiddeti (%)*
Pozitif Kontrol(<i>E. amylovora</i> RK-128)	76,25 a
<i>P. agglomerans</i> RK79+ <i>E. amylovora</i> RK-128	67,51 ab
<i>P. agglomerans</i> RK84+ <i>E. amylovora</i> RK-128	38,90 bc
<i>P. putida</i> RK142+ <i>E. amylovora</i> RK-128	32,63 c
Negatif Kontrol (%50 Bakır oksiklorür + <i>E. amylovora</i> RK-128)	11,79 d
LSD	22,55

*: P<0,01 düzeyinde önemli

Çizelge 4. Biyolojik mücadele etmenlerininçiçek uygulamalarında Ateş Yanıklığına % etkisi

Uygulamalar	(%) Etki *
Kontrol (%50 Bakır oksiklorür + <i>E. amylovora</i> RK-128)	84,5a
<i>P. putida</i> RK142+ <i>E. amylovora</i> RK-128	57,2ab
<i>P. agglomerans</i> RK-84+ <i>E. amylovora</i> RK-128	48,9b
<i>P. agglomerans</i> RK-79+ <i>E. amylovora</i> RK-128	14,4c
LSD	35,51

* P<0,01 düzeyinde önemli

Çalışmada en yüksek etki %57,2 ile *P. putida* RK-142 izolatında olmuş, bunu %48,9 ile *P. agglomerans* RK-84 izolatı takip etmiştir. En düşük etki ise %14,4 ile *P. agglomerans* RK-79 izolatında görülmüştür.

Biyolojik mücadele etmenlerinin koparılmış armut çiçeklerinde fitotoksik etkisinin test edilmesi

Biyolojik mücadele etmenlerinin, laboratuvarında çiçekler üzerine olumsuz bir etkisinin olup olmadığını izlemek amacıyla, 3 farklı biyolojik mücadele etmeni 10^9 hücre/ml konsantrasyonda ayrı ayrı tamamen açmış çiçek demetleri üzerine püskürtülmüş ve 4 gün inkübasyona bırakılmıştır. Fitotoksik etkinin değerlendirmesinde 1-5 skalası kullanılmıştır. Yapılan istatistiki değerlendirmede biyolojik mücadele etmenlerinin fidanlar üzerindeki fitotoksik etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Yapılan değerlendirmede 4 günlük inkübasyon periyodu sonunda biyolojik mücadele etmenlerinin çiçekler üzerinde olumsuz bir etkisi görülmemiştir.

2. Arazi Çalışmaları

Doğal inokulasyon çalışmaları

Biyolojik mücadele amaçlı kullanılan bakterilerin sürgünler üzerinde koruyucu etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada 2010 yılında sadece saf su uygulaması yapılan şahit üzerinde (negatif kontrol) hastalık belirtileri meydana gelmiştir.

Çizelge 5. Doğal inokulasyonlarda fidanlarda meydana gelen hastalık skala değerleri ve istatistik grupları (2010 yılı).

Uygulamalar	Hastalık şiddeti skala değeri (1-5) *
Kontrol (saf su uygulaması)	2,16a
<i>P. agglomerans</i> RK-79	1,00b
<i>P. agglomerans</i> RK-84	1,00b
<i>P. putida</i> RK-142	1,00b
LSD	0,81

*: $P < 0,01$ düzeyinde önemli

Çalışmada 2010 yılında kontrol üzerinde meydana gelen hastalık belirtileri, biyolojik mücadele etmenleri ile istatistiki olarak karşılaştırıldığında önemli bulunmuştur (Çizelge 5). Fakat sadece biyolojik mücadele etmenlerinin (*P. agglomerans* RK-79, *P. agglomerans* RK-84 ve *P. putida* RK-142) uygulandığı fidanlarda hastalık belirtilerinin oluşmadığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada biyolojik mücadele etmenlerinin koruyucu uygulamalarının, doğal inokulasyonlara karşı çalışma yılı süresince fidanlarda %100 koruma sağladığı gözlenmiştir.

Çalışmada 2011 yılında ise hem saf su uygulaması yapılan şahit (negatif kontrol) fidanlarda, hem de biyolojik mücadele etmenlerinin koruyucu olarak uygulandığı fidanlarda hastalık oluşmadığı gözlenmiştir.

Yapılan istatistiki değerlendirmelerde uygulamalar arasında herhangi fark bulunmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 6).

Çizelge 6. Doğal inokulasyonlarda fidanlarda meydana gelen hastalık skala değerleri ve istatistik grupları (2011 yılı)

Uygulamalar	Hastalık şiddeti skala değeri ^{ns}
Kontrol (saf su uygulaması)	1
<i>P. agglomerans</i> RK-79	1
<i>P.agglomerans</i> RK-84	1
<i>P. putida</i> RK-142	1

^{ns}: P<0,01 düzeyinde önemsiz

Yapay inokulasyon çalışmaları

Biyolojik mücadele etmenlerinin arazi koşullarında sürgün denemeleriyle patojene karşı etkilerinin izlenmesi amacı ile yapılan çalışmalarda; 2010 ve 2011 yıllarında 3 biyolojik mücadele etmeni bakteri izolatu kullanılmıştır. Bu uygulamaya ait elde edilen 2 yıllık sonuçlar Çizelge 7 ve Çizelge 8' de verilmiştir.

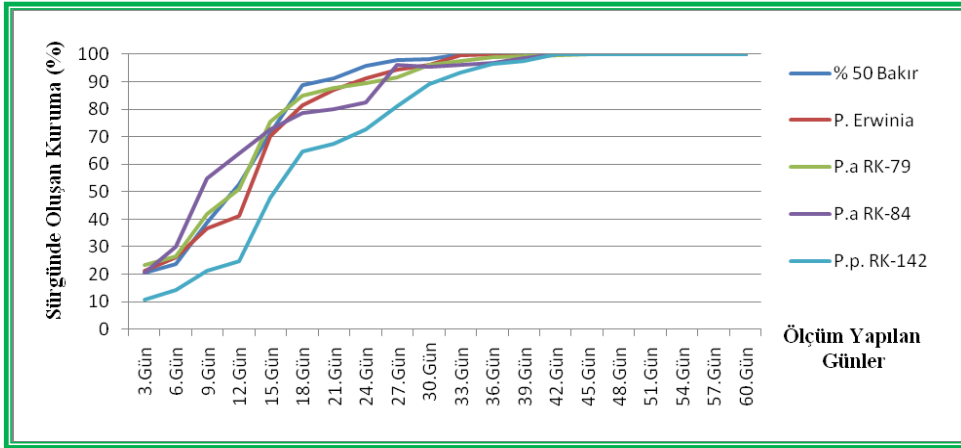
Deneme alanında 2010 yılında yapılan çalışmada kullanılan biyolojik mücadele etmenlerinden *P. putida* RK-142 uygulamasının, patojenin inokulasyonundan sonraki 12.güne kadar diğer uygulamalara göre etkili olduğu, yapılan istatistikî analiz sonucu farklı grupta yer aldığı görülmektedir. Ancak 15. günden sonra yapılan ölçümlerde *P. putida* RK-142 uygulaması ile diğer biyolojik mücadele ve bakıroksiklorür uygulamalarının hastalığın gelişimi üzerine istatistikî olarak bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Çalışmada 3. 6. ve 9. günlerdeki ölçümlere yapılan istatistiki analiz sonucu; *P. putida* RK-142 uygulamasının, diğer uygulamalara göre farklı grupta yer aldığı tespit edilmiştir. Yapılan istatistiki analiz sonucunda 12. gündeki ölçümlerde ise yine *P. putida* RK-142 uygulaması ilk grupta yer alırken, kontrol ile %50 bakıroksiklorür uygulaması 2.grupta ve *P.agglomerans* RK-79 ile *P.agglomerans* RK-84'ün 3. grupta yer aldığı görülmüştür(Çizelge 7).

Çizelge 7. 2010 yılında yapılan uygulamaların, periyodik ölçüm, sürgünlerde oluşan hastalık lezyonları ve istatistik grupları

Uygulamalar	Ölçüm yapılan günlerdeki meydana gelen lezyon uzunluk değerleri (cm)									
	3. gün*	6. gün*	9. gün*	12. gün*	15. gün ^{ns}	18. gün ^{ns}	24. gün ^{ns}	36. gün ^{ns}	48. gün ^{ns}	60. gün ^{ns}
Kontrol (Ea)	7,1b	8,3b	12,4ab	13,9ab	27,0	33,3	34,0	34,4	34,7	34,7
Ea+%50bakır	6,8b	7,6ab	11,7ab	16,9b	23,4	29,7	36,1	36,4	36,9	36,9
Ea+RK-79	6,7b	7,8ab	15,0ab	19,3bc	25,4	30,8	35,2	37,9	38,3	38,3
Ea+RK-84	6,7b	10,2b	20,3b	23,8c	28,2	32,0	33,3	37,6	39,6	39,7
Ea+RK-142	4,1a	4,9a	8,1a	9,71a	20,5	27,7	32,0	44,3	46,9	46,9
LSD	2,14	2,40	5,63	6,38						

*: P<0,01 düzeyinde çok önemli, ^{ns}: önemsiz

Deneme alanında 2010 yılında *E. amylovora*'nın inokule edildiği bütün uygulamalarda (Kontrol, Bakıroksiklorür (%50), *P. agglomerans* RK-79, *P. agglomerans* RK-84, *P. putida* RK-142) sürgünler inokulasyondan sonraki 36 gün içerisinde kurumıştır. 2010 yılında uygulamalardaki sürgün kuruma oranları Şekil 1'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre kurumanın en yavaş seyrettiği uygulama *P. putida* RK-142 uygulaması olmuştur.



Şekil 1. 2010 yılında biyolojik mücadele etmenlerinin uygulandığı sürgünlerde meydana gelen hastalık gelişiminin seyri

2011 yılında yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar Çizelge 8'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre; 3. günde sürgünlerde yapılan ölçümler sonucu tüm uygulamalarda hastalığın görülmediği, 24. günden sonra ise tüm uygulamaların hastalığın gelişimi üzerine etkisinin istatistik olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir (Çizelge 8).Yapılan

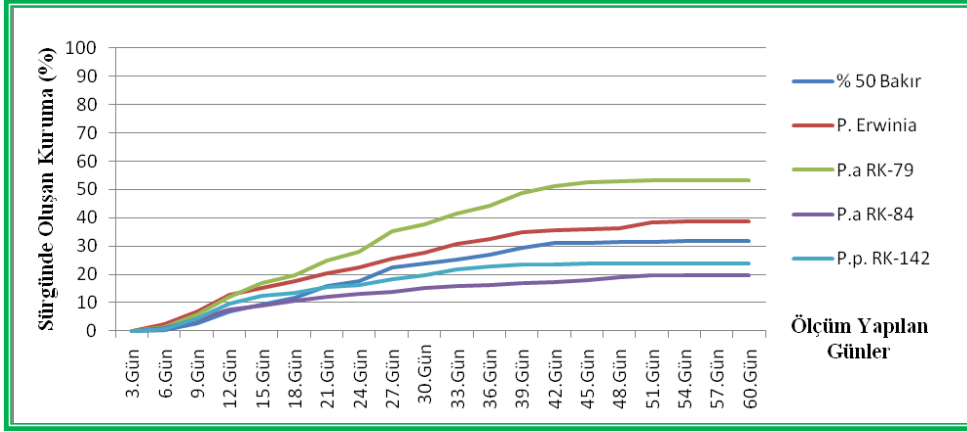
istatistikî analiz sonucunda; 6. ve 9. günde %50 bakıroksiklorür uygulaması diğer uygulamalardan farklı grupta yer almıştır. 12. ve 15. günde yapılan ölçümlerde %50 bakıroksiklorür ve *P.agglomerans* RK-84 uygulaması ilk grupta yer alırken, 18. gün ölçümlerinde sadece *P.agglomerans* RK-84 uygulaması yapılan istatistikî analiz sonucu ilk grupta yer aldığı belirlenmiştir. Çalışmanın 6.ve 9. gün ölçümlerinde sürgünlerdeki kurumalara bakıldığında, kontrole göre, *P. agglomerans* RK-79, *P.agglomerans* RK-84 ve *P. putida* RK-142 uygulamalarında düşüş olmasına rağmen yapılan istatistikî analiz sonucu bu düşüşün önemli olmadığı ve bu yüzden aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir. 15. ve 18. gün ölçümlerinde sürgünlerdeki kuruma oranlarında, kontrole göre,*P. agglomerans* RK-79 uygulamasında artış olmasına rağmen yapılan istatistikî analiz sonucu bu artışın önemli olmadığı ve bu yüzden aynı grupta yer aldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 8. 2011 yılında yapılan uygulamaların, periyodik ölçüm, sürgünlerde oluşan hastalık lezyonları ve istatistik grupları

Uygulamalar	Ölçüm yapılan günlerdeki meydana gelen lezyon uzunluk değerleri (cm)									
	3. gün*	6. gün*	9. gün*	12. gün*	15. gün ^{ns}	18. gün ^{ns}	24. gün ^{ns}	36. gün ^{ns}	48. gün ^{ns}	60. gün ^{ns}
Kontrol (Ea)	0	2,2b	6,8b	12,8b	15,2b	17,6ab	22,5	32,6	36,4	38,8
Ea+%50 bakır	0	0,3a	2,8a	6,8a	9,3a	11,7ab	17,7	27,1	31,3	31,8
Ea+RK-79	0	1,7ab	6,3ab	12,2b	16,3b	18,9b	25,6	41,9	52,3	52,8
Ea+RK-84	0	0,9ab	4,2ab	7,7a	8,6a	10,3a	12,9	16,2	18,7	19,6
Ea+RK-142	0	0,7ab	4,3ab	9,7ab	12,2ab	13,6ab	16,3	22,8	23,9	24,0
LSD		0,45	0,56	1,84	2,92	3,44				

* P<0,01 düzeyinde çok önemli, ^{ns}: önemsiz

Deneme alanında 2011 yılında *E. amylovora*'nın inokule edildiği sürgünlerdeki en fazla kuruma oranı inokulasyondan sonraki 60. günde (en son ölçüm) en fazla *P.agglomerans* RK-79'da%52,8 oranında olmuştur (Şekil2). *P.agglomerans* RK-84 ve *P.putida* RK-142 uygulamalarında ise sürgünlerdeki kuruma oranı sırasıyla %19,6 ve %24 olmuştur.



Şekil 2. 2011 yılında biyolojik mücadele etmenlerinin uygulandığı sürgünlerde meydana gelen hastalık gelişiminin seyri

2010 yılında *E. amylovora*'nın inokule edildiği sürgünlerde kuruma 36.günde %100 olurken (Şekil 1), 2011 yılında 60. günde en fazla %52,8 olmuştur (Şekil 2).

Hava muhalefeti nedeniyle 2011 yılı uygulamalarına (1. uygulama 29.05.2011 tarihinde, 2. uygulama 09.06.2011 ve 3. uygulama 20.06.2014 tarihinde yapılmıştır), 2010 yılı uygulamalarından (06.05.2010 ve 16.05.2010 tarihlerinde) daha geç başlanılmıştır. Geçen bu sürede sürgünler daha odunsu yapıya dönüşmüş (pişkinleşmiş) ve yapılan uygulamalardan sonra, hastalık gelişimi için yeterli sıcaklık ve nem değerleri oluşmamıştır. Bu durumun da 2010 ve 2011 yıllarında sürgünlerde kuruma farklılıklarının oluşmasına yol açtığı düşünülmektedir.

Çalışmanın 2010 yılı uygulamalarında *E. amylovora*'ya karşı biyolojik mücadele etmenlerinden *P. agglomerans* RK-84 ve *P. putida* RK-142'nin 2 kez uygulanması ile hastalık, patojenin inokulasyonundan sonraki 12. güne kadar baskı altına alınmıştır (Çizelge 7). 2011 yılı çalışmalarında *P. agglomerans* RK-84 ve *P. putida* RK-142'nin uygulama sayılarının 3'e çıkarılması ile hastalığın baskı altına alınması inokulasyondan sonraki 18. güne kadar uzamıştır (Çizelge 8). Böylece biyolojik mücadele etmenlerinin 2011 yılında uygulama sayısının bir artırılması ile hastalık şiddetinin seyri, 2010 yılı uygulamalarına göre ilave 6 günlük bir hastalık baskılama süresi avantajı sağlanmıştır. Böylece *E. amylovora*'ya karşı kullanılan *P. agglomerans* RK-84 ve *P. putida* RK-142'nin uygulama sayılarının artırılmasının hastalığın gelişimine olumsuz etkisinin olduğu görülmektedir.

TARTIŞMA VE KANI

Bu çalışmada hem çiçeklenme döneminde, hem de çiçeklenme sonrasında sürgünler üzerinde uygulamalar yapılmıştır. Böylece biyolojik mücadele etmenlerinin vejetasyon periyodu boyunca hastalığın gelişimine olan etkileri incelenmiştir.

Laboratuvar koşullarında çiçek demetleri üzerinde yapılan uygulamalarda *P. putida* RK-142 izolatının Ateş Yanıklığı hastalığının etkisini kontrole göre %57,2 oranında azalttığı, bunu %48,9 luk bir etki ile *P. agglomerans* RK-84 izolatının takip ettiği saptanmıştır. Çalışmada kullanılan *P. agglomerans* RK-79'un ise %14,4'le düşük bir etki gösterdiği belirlenmiştir.

Dikili ve Bucak'ta 1999 yılında yapılan biyoformulasyon çalışmalarında; uygulamalarda kullanılan biyolojik mücadele etmenlerinin deneme alanında armut çiçeklerinde hastalık şiddetini kontrole göre %34,26 - %76,25 oranında engellediği tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan Eh-24 nolu *P. agglomerans* biyoformulasyonunun sırasıyla, çiçek enfeksiyonunu %63,16 ve %76,25 oranında engellemeyi başaran en etkili uygulama olduğu bildirilmiştir (Özaktan ve ark. 2001).

Ateş Yanıklığının çiçek enfeksiyonlarına karşı, biyolojik mücadele etmenlerinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada C5 izolatı %60,56 ve C7 izolatı ise %51,85 oranında hastalığı önlerken, streptomisin %79,85 etki sağladığı belirlenmiştir (Çınar et al. 1998). *Bacillus subtilis*'in Ateş Yanıklığına karşı etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; 2005 ve 2006 yıllarındaki denemelerde Serenade ilacının (Biyofungisit, litrede 2,5–3,5 g *B. subtilis* içeren) hastalığı %62-68 oranında azalttığı tespit edilmiştir (Biondi et al. 2007). Çiçekler üzerinde *E. amylovora*'ya karşı antagonist etki gösteren izolatları belirlemek ve Ateş Yanıklığı hastalığında bunların performanslarını ortaya koymak için yapılan bir çalışmada; çiçeklerden izole edilen bakteri strainlerinden bazılarının hastalığın kontrolünde kullanılan biyolojik mücadele etmeni *P. fluorescens* A506'dan daha iyi veya benzer sonuçlar verdiği belirlenmiştir (Mercier and Lindow 2001). Yapılan bir diğer çalışmada meyve bahçelerinde *P. fluorescens* A506 ve Eh C9-1 gibi biyolojik mücadele etmenlerinin birden fazla uygulanması ile çiçek enfeksiyonlarının %60–70 oranında azaldığı bildirilmektedir (Nuclio et al. 1998). 2010-2011 yıllarında Erzincan ilinde yürütülen bu çalışmadan elde edilen sonuçlar diğer çalışmaların sonuçları ile kıyaslandığında benzer oldukları görülmektedir.

Ateş Yanıklığının ilk enfeksiyonları armutlarda çiçeklenme döneminde başlamakta ve bundan dolayı, çiçeklenme döneminde yapılacak biyolojik mücadele uygulamaları çiçek enfeksiyonlarının önlenmesinde önemli olmaktadır (Stockwell et al. 1996, Özaktan ve ark. 2001). Biyolojik mücadelede kullanılan bakteriler çiçeklenme başlangıcında elma ve armut çiçeklerine uygulandığında hızla çoğalarak patojeni enfeksiyon yerinde baskılayabilmektedir (Johnson et al. 1993, Kearns and Hale 1993). Bundan dolayı biyolojik mücadele etmenlerinin, *E. amylovora*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas syringae* gibi patojenlere etkili olabilmesi için bu etmenlerin; epifitik popülasyonunun ve rekabetin düşük olduğu erken çiçeklenme döneminde uygulanması önerilmektedir (Stockwell et al. 1999). Bu çalışmada %50 Bakıroksiklorür uygulamasında %84,5 gibi bir etki görülmesine rağmen; armut ağaçlarına çiçeklenme döneminde uygulanan bakırlı preparatların çiçek ve meyvelere fitotoksik etkisinin yanı sıra, dayanıklılık sorununa da neden

olduğu ve bunlardan dolayı kullanımının kısıtlı olduğu belirtilmektedir (Özaktan ve ark. 2001).

Çalışmada 2010 ve 2011 yıllarında hastalıkla bulaşık alanda, koruyucu amaçlı yapılan doğal inokulasyon uygulamalarındaki fidanlarda iki yıl süresince hastalık oluşmadığı görülmüştür. Böylece biyolojik mücadele etmenlerinin koruyucu uygulamalarının, yeşil aksamda hastalık gelişimini önlemede de etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda patojenden önce uygulama yapılan biyolojik mücadele etmenlerinin streptomisine eşdeğer hatta daha fazla Ateş Yanıklığı hastalığının gelişimini engellediği bildirilmektedir (Hickey and van Der Zwett 1995). Yine konuyla ilgili başka bir çalışmada ABD’de *E.amylovora*’ya karşı uygulanan *P. flourescens* A506 straininden elde edilen Blight Ban’ın erken uyarı sistemi ile enfeksiyon başlamadan kullanıldığında çok etkili olduğu bildirilmiştir (Smith 2001). Ateş Yanıklığı ile bulaşık olan deneme alanımızda hastalık bulaşmadan önce koruyucu amaçlı yaptığımız biyolojik mücadele etmenleri uygulamaları sonucu, fidanlarımızda 2 yıl süresince hastalığın görülmemesi yapılan bu çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Biyolojik mücadele etmenleri, Ateş Yanıklığı hastalığının mücadelesinde, diğer mücadele programlarıyla birlikte uygulandığında daha etkili sonuçlar alınabilir. Biyolojik mücadele etmenlerinin entegre programlarda koruyucu uygulamalar şeklinde kullanılmasıyla, yeşil aksamda ve çiçeklenme döneminde hastalığın bulaşmasında ve yayılmasındaki önleyici etkisinin önemli olacağı düşünülmektedir.

Sürgünler üzerinde yapılan yapay inokulasyon uygulamalarının sonuçları değerlendirildiğinde, biyolojik mücadele etmenlerinden *P. putida* RK-142 ve *P. agglomerans* RK-84 izolatlarının hastalığın şiddetini azaltmada etkili oldukları ve bu etkinin biyolojik mücadele etmenlerinin uygulama sayısına bağlı olarak değiştiği saptanmıştır. Çalışmada 2010 yılında biyolojik mücadele etmenlerinden *P. putida* RK-142 ve *P. agglomerans* RK-84 izolatlarının 2 kez uygulanmasıyla, inokulasyondan sonraki 12. güne kadar hastalık şiddetinde bir azalma meydana gelirken, 2011 yılında yapılan 3 uygulama ile bu sürenin 18 güne çıktığı gözlenmiştir. Böylece biyolojik mücadele etmenlerinin 2011 yılında uygulama sayısının bir artırılması ile hastalık şiddetinin seyrinde, 2010 yılı uygulamalarına göre ilave 6 günlük bir hastalık baskılama süresi avantajı sağlanmıştır. Bu husus patojen uygulamalarının hemen akabinde antagonist populasyon konsantrasyonunun belli bir süre patojenin gelişmesini sınırlayacak yoğunlukta seyrettiğini ve daha sonra ortamdaki rekabet gücünü kaybederek etkisini yitirdiğini göstermektedir. Yapılan araştırmalar *P. agglomerans*’ın epifitik bir bakteri olduğunu, epifitik bakterilerin etki mekanizmasının, *in vitro* koşullarda antibiyotik üretiminden ziyade, bitki dokusunda besinler ve yer açısından rekabet oluşumu şeklinde gerçekleştiğini göstermektedir (Vanneste et al. 1990). Besin kaynakları yönünden rekabette, azotun önemli olduğu; bitkiye verilen organik azot ile

antagonistin etkinliğinde azalma meydana geldiği, bu yüzden özellikle *P. agglomerans* izolatlarının armut dokularındaki azotu kullanarak *E. amylovora*'nın gelişimini engelledikleri öne sürülmüştür (Wodzinski et al. 1990). Yapılan çalışmalar *P. putida* ve *P. fluorescens* izolatlarının biyokontrol etkisinin, ürettikleri sideroforlar ile rizosferdeki Fe⁺³'i tutmakta ve zararlı patojenlerin demir alımını engelleyerek baskı altında tuttukları bildirilmektedir (Bakker et al. 1986).

Yeşil aksam uygulamalarında biyolojik mücadele etmenlerinin hastalığın gelişiminin engellenmesi üzerine etkisinin olduğu, fakat bu etkinin uygulama sayısına bağlı olarak bir süre sonra kaybolduğu görülmüştür. Bu durum yeni yapılacak çalışmalarla vejetasyon boyunca biyolojik mücadele etmeni uygulamalarının daha kısa aralıklarla, periyodik olarak ve tüm sezona yayılacak uygulamalarla hastalığa karşı etkinliğinin artırılabilceğini düşündürmekte, bundan sonra yapılacak biyolojik mücadele çalışmalarının bu yönüyle araştırılmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Anonim 2009. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), 2009 Üretim Yıllığı.
- Anonim 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları, Cilt 4, Sayfa 69-74, Ankara.
- Anonymous 2009. FAOSTAT Statistics Database. <http://www.fao.org> (Erişim tarihi: 15.06.2011)
- Bakker P. A. H. M., Lamers J. G., Bakker A. W., Marrugo J. D., Weisbe E. K. and Schippers B. 1986. The role of siderophores in potato tuber yield increase by *Pseudomonas putida* in a short rotation. Potato Neth. J. Pl. Path., 92, 249-256.
- Biondi E., Brunelli A., Ladurner E., Portillo I., Lancioni P., Benuzzi M., Bazzi C. 2007. Efficacy of *Bacillus subtilis* against Fire Blight in Pears. Informature Agrario. 63 (19), 58-60
- Crosse J. E., Goodman R. N. and Shaffer W. H. 1972. Leaf damage as a predisposing factor in the infection of apple shoots by *Erwinia amylovora*. Phytopathology, 62, 176-182.
- Çınar Ö., Küden A., Aysan Y., Tokgönül S. 1998. Doğu Akdeniz Bölgesinde armutlarda Ateş Yanıklığı hastalığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et al.)'nın entegre mücadelesi üzerine araştırmalar. Tübitak-TOGTAG:1625 ,Adana
- Demir G. and Gündoğdu M. 1993. Fireblight of pome fruit trees in Turkey: Distribution of the disease, chemical control of blossom infections and susceptibility of some cultivars, Acta Horticulture, 338, 67-74.
- Fleck L.M. 2001. Control of fire blight through systemically acquired resistance and intra species characterization on *Erwinia amylovora*. University of Toronto, Graduate Department of Faculty of Forestry, Master of Science in Forestry.
- Hickey K.D. and van Der Zweet T. 1995. Efficacy of antagonistic bacteria for control of fire blight on apple. 7 th. Int. Workshop on Fire Blight. Brock University St. Catharines, Ontario, Canada, 59.

- Johnson K.B., Stockwell V.O., McLaughlin R.J., Sugar D., Loper J.E. and Roberts R.G. 1993. Effect of antagonistic bacteria on establishment of honey bee dispersed *E. amylovora* in pear blossoms and on fire blight.
- Kotan R. 2002. Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından izole edilen patojen ve saprofitik bakteriyel organizmaların klasik ve moleküler metotlar ile tanısı ve biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Kotan R., Sahin F. and Ala A. 2009. Nutritional similarity in carbon source utilization of *Erwinia amylovora* and its potential biocontrol agents. Journal of Turkish Phytopathology, 33, 1-3.
- Lindow S.E., McGourty G. and Elkins R. 1996. Interactions of antibiotics with *Pseudomonas fluorescens* strain A506 in the control of fire blight and frost injury to pear. Phytopathology, 86 (8), 841-848.
- Mercier J. and Lindow S.E. 2001. Field performance of antagonistic bacteria identified in a novel laboratory assay for biological control of fire blight of pear. Department of Plant and Microbial Biology, University of California, Berkeley, California, 94720-3102.
- Momol M.T. 1990. Ateş yanıklığının epidemiyolojisi ve mücadelesi. Ak. Ü. Zir. Fak. Derg., 3(1-2), 25-38.
- Nucló R.L., Johnson K.B., Stockwell V.O. and Sugar D. 1998. Secondary colonization of pear blossom by two bacterial antagonists of fire blight pathogen. Plant Dis., 82, 661-668.
- Özaktan H. ve Türküsay H. 1996. Ateş Yanıklığı hastalığının (*Erwinia amylovora*) biyolojik savaşımında epifitik bakterilerin kullanılma olanakları üzerinde araştırmalar. TÜBİTAK-TOAG/1077 sayılı kesin rapor. 27s.
- Özaktan H., Bora T. and Altın N. 2001. Armutlarda Ateş Yanıklığı hastalığına etkili antagonistik bakterilerin kitle üretimi ve biyopreparatlarının meyve bahçelerinde kullanılması üzerine araştırmalar. TÜBİTAK-TARP/1897 sayılı kesin proje raporu, 32 sayfa.
- Smith T. J. 2001. Principles of fire blight control in the Pacific Northwest USA. <http://www.ncw.wsu.edu/fireblt6.htm> (15.12.2010).
- Stockwell V. O., McLaughlin R. J., Henkels M. D., Loper J. E., Sugar D. and Roberts R. G. 1999. Epiphytic colonization of pear stigmas and hypanthia by bacteria during primary bloom. Phytopathology, 89: 1162-1168.
- Stockwell V.O., Loper J.E. and Johnson K.B. 1996. Establishment of freeze-dried bacteria on pear and apple blossoms. Acta Horticulture, 411, 295-296.
- Vanneste J.L., Smart L.B., Zumoff C.H., Yu J. and Beer S.V. 1990. Control of fire blight by *Erwinia herbicola* Eh 252. Role of antibiotic production. Acta Horticulturae, 273, 393-394.
- Wodzinski V.S., Beer S.V., Zumoff C.H., Clardy J.C. and Coval S.J. 1990. Antibiotics produced by strains of *Erwinia herbicola* that are highly effective in suppressing fire blight. Acta Horticulturae, 273, 411-412.