



Tekirdağ ilinde yetişen zeytin ağaçlarında dal kanseri hastalığı etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin tanısı ve antagonist bakteriyel izolatlar ile biyolojik mücadelesi

Identification of bacterial knot disease agent *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in Tekirdag province and their biological control by using antagonistic bacterial isolates

Ece BİTGEN¹ , Mustafa MİRİK² 

¹Süleymanpaşa Ziraat Odası, 100. Yıl Mah. Şenkal Sk. No:1, 59100, Tekirdağ.

²Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Tekirdağ.

MAKALE BİLGİSİ / ARTICLE INFO

Makale tarihçesi / Article history:


DOI: [10.37908/mkutbd.881977](https://doi.org/10.37908/mkutbd.881977)

Geliş tarihi /Received:17.02.2021

Kabul tarihi/Accepted:27.04.2021

Keywords:

Olive knot disease, olive, LOPAT, identification, biocontrol.

 Corresponding author: Mustafa MİRİK

 mmirik@nku.edu.tr

Ö Z E T / A B S T R A C T

Aims: Olive knot disease on olives (*Olea europaea*) trees is caused by the bacterium *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Causal disease agent typical causes knot (known as tumor or galls) on branches of infected olive trees. This study was conducted to investigate the identification, prevalence and biological control possibilities of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in several orchards in provinces of Tekirdag in Trakya region during 2016-2017 growing seasons.

Methods and Results: Total of 78 infected knot samples collected from several olive cultivars growing in province and 52 bacterial isolates were obtained and identified. All of the isolates were gram negative and were found to be in the LOPAT 1b group with oxidase, pectolytic activity, levan and arginine dihydrolase negative, caused hypersensitive reactions in tobacco leaves. According to results of biochemical and morphological studies, all isolates were identified as *P. savastanoi* pv. *savastanoi*. According to survey results, the prevalence of olive knot disease is 86.6% in Tekirdağ province. Total of 110 putative antagonist bacterial isolates were obtained from healthy olive trees and soils where they grow. As a result of dual culture test with pathogen *in vitro* conditions, among the 110 putative antagonist bacterial isolates, 23 antagonist bacterial isolates suppressed bacterial growth on nutrient media by producing an inhibition zone index values of 3.5-28.00.

Conclusions: This study revealed that knot disease on olives is an important disease and it should be considered for disease management in the Tekirdağ province.

Significance and Impact of the Study: This study clearly revealed the current status of olive knot diseases in olive growing areas in Tekirdağ province. Revealing the current situation of the disease and their possible biological control by antagonist bacterial agents is also important for the other studies aiming at disease management.

Atif / Citation: Bitgen E, Mirik M (2021) Tekirdağ ilinde yetişen zeytin ağaçlarında dal kanseri hastalığı etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*'nin tanısı ve antagonist bakteriyel izolatlar ile biyolojik mücadelesi. *MKU. Tar. Bil. Derg.* 26(2) : 326-336. DOI: [10.37908/mkutbd.881977](https://doi.org/10.37908/mkutbd.881977)

GİRİŞ

Zeytin (*Olea europaea*), zeytingiller (*Oleaceae*) familyasından meyvesi yenilen Akdeniz iklimine özgü bir ağaç türüdür. Zeytin meyvesi yağlık ve sofralık olarak

işlenebilen tarımsal bir ürün olmasının yanı sıra, zeytinyağına ve salamuraya işlenmesi nedeniyle de tarıma dayalı sanayi ve ihracatta vazgeçilmez ürünler arasında yer almaktadır. Zeytin, dünya üzerinde Türkiye'nin de içinde bulunduğu orta kuşakta ve Akdeniz ikliminin etkili olduğu yerlerde doğal olarak yetişir (Gemaz ve ark., 2004).

Dünya zeytin üretim alanları yaklaşık 10 milyon hektar düzeyindedir. 2019 yılı verilerine göre Dünya zeytin üretimi 19.464.495 ton olarak açıklanmıştır. İspanya 5.965.080 ton ile zeytin üretiminde 1. sırada yer alırken bu ülkeyi İtalya 2.194.110 ton, Fas 1.912.238 ton, Türkiye 1.525.000 ton zeytin üretimi ile takip etmektedir (FAO, 2019). Türkiye zeytin üretimi özellikle Ege ve Akdeniz bölgesinde bulunan illerde yoğunlaşmıştır. Türkiye genelinde zeytin yetiştiriciliğinin yapıldığı en önemli iller Aydın, Manisa, Muğla, İzmir, Balıkesir ve Hatay'dır.

Türkiye'de çok geniş alanlarda üretimi yapılan, iç tüketim ve ihracatımız için önemli bir yere sahip olan zeytin ağaçlarında ekonomik kayıplara neden olan birçok hastalık ve zararlı bulunmaktadır. Bu etmenlerden dolayı gerek zeytinyağı ve gerekse sofralık zeytin üretim miktarının azalmasına neden olmaktadır. Zeytin ağaçlarında fungal hastalıklardan *Verticillium solgunluğu* (*Verticillium dahliae* Kleb.), zeytin halkalı leke hastalığı (*Spilocaea oleaginae* (Cast) Hughes (= *Cycloconium oleaginum* Cast) ile bakteriyel hastalıklardan *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (*P.s.* pv. *savastanoi*) (Smith, 1908) Janse (1982)'nin neden olduğu zeytin uru veya zeytin dal kanseri hastalığı epidemiyaptığı yıllarda üründe ciddi verim ve kalite kayıplarına neden olmaktadır. Bakteriyel hastalık etmeni *P. s.* pv. *savastanoi* dünya genelinde zeytin yetiştirilen hemen hemen her ülkede görülmektedir (Janse, 2006).

Ülkemizde bu hastalığın, zeytinlerde varlığı uzun zamandır bilinmesine rağmen ilk çalışmalar Ege bölgesinde Azeri (1993), Aydın ve Muğla illerinde Tatlı ve Benlioğlu (2004), Batı Akdeniz Bölgesinde Basım ve Ersoy (2000), Doğu Akdeniz Bölgesinde (Mirik ve ark., 2004), Marmara Bölgesinde (Mirik ve ark., 2007) yapılan sörvey çalışmaları ile ortaya konulmuştur. Zeytin dal kanseri hastalığının etmeni Oleaceae ve Apocynaceae familyasına ait farklı bitkilerde yaprak, sürgün ve gövdede urlara oluşumuna neden olur. Yapılan hastalık sörveyleri ve tanılama çalışmalarında, başta zeytin (*Olea europea* L.) (Smith, 1908; Young ve ark., 1978) olmak üzere, Zakkum (*Nerium oleander* L.) (Wilson, 1965), Yasemin (*Jasminium officinale* L.) (Janse, 1981), Dişbudak (*Fraxinus excelsior* L.) (Janse, 1981) ve Forzitya çalısı (*Forsythia* sp.) (Iacobellis ve ark., 1998), Mersin çalısı (Mirik ve ark., 2006), Cılbırtı çalısı (*Fontanesia phillyreoides*) (Mirik ve ark., 2011), Çin ardıcı

(*Loropetalum chinense*) (Conner ve ark., 2013) ve nar ağaçları (Bozkurt ve ark., 2014) hastalık etmenin konukçuları olarak bildirilmiştir.

Bakteriyel hastalıklara karşı genelde bakırlı kimyasal ilaçlar kullanılmakta olup, hastalıkla mücadelede dayanıklı çeşitlerin kullanımı ile kültürel yöntemlerde önemlidir (Ramos ve ark., 2012). Bakteriyel hastalıklarla mücadelede kullanılan bakırlı preparatlar sistemik olmayan enfeksiyonlarda başarı gösterirken bitkinin iletim demetlerinde veya iç kısmında bulunan bakterileri engellemede yeterli olamamaktadır. Bu nedenle son yıllarda başta *P. savastanoi* pv. *savastanoi* olmak üzere ur oluşturan bakteriyel hastalıklarla mücadelede kimyasallara alternatif olarak antagonist veya bitki gelişimini teşvik eden bakteri izolatlarının kullanıldığı biyolojik mücadele, çeşitli bitki ekstratları ve uçucu yağların kullanımı gibi alternatif yöntemlere yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Krid ve ark., 2011; Oksel ve Mirik 2015; Soylu ve ark., 2016; Mina ve ark., 2017; Bozkurt ve Soylu, 2019; Bozkurt ve ark., 2020).

Bu çalışma ülkemiz zeytinciliğinde yeri olan Tekirdağ ilindeki zeytin bahçelerinde dal kanseri hastalığı etmeni *P. s.* pv. *savastanoi* açısından incelemek, etmeni tanılamak, hastalığın Tekirdağ ilinde zeytin bahçelerindeki yaygınlık oranını saptamak, etmene karşı *in vitro* koşullarda bakteriyel antagonistler ile biyolojik mücadele olanaklarını ortaya koymak amacıyla ele alınmıştır.

MATERYAL ve METOD

Hastalıklı ve sağlıklı bitki örneklerinin toplanması

Sörvey çalışmalarında, inceleme yapılan bahçelerde hastalık etmeninin yaygınlığı Lazarow (1961) metoduna göre belirlenmiştir. Sörvey çalışmaları, 2016 ve 2017 yıllarında zeytin yetiştiriciliğinin yoğun yapıldığı Şarköy ilçesi ile Mürefte, Güzelköy, Hoşköy köylerinde (mahallelerinde) bulunan zeytin bahçelerinde yapılmıştır. Her incelemede, bahçede bulunan ağaçlar zeytin dal kanseri etmeni *P. s.* pv. *savastanoi* belirtileri açısından görsel olarak incelenmiş ve tipik zeytin dal kanseri belirtisi olan, ur oluşumu gösteren dallardan örnekler alınarak laboratuvara getirilmiştir. Ayrıca hastalık etmenine karşı biyolojik mücadele kapsamında kullanılacak aday antagonist bakterilerin izolasyonu için hastalıklı bitki örneklerinin toplanıldığı zeytin bahçelerinden, hastalık belirtisi göstermeyen zeytin ağaçlarından çiçek, dal ve sürgün uç yaprakları ayrıca toprak örnekleri toplanmıştır. Laboratuvara getirilen örneklerden 24-48 saat içerisinde bakteriyel etmen ve antagonist bakteri izolasyonları yapılmıştır. Çalışma kapsamında, 2016 üretim yılında 11 ve 2017 üretim

yılında 4 zeytin bahçesi olmak üzere toplam 15 zeytin bahçesi incelenmiştir.

***Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatların izolasyonu**

Laboratuvara getirilen ve zeytin dal kanseri etmeni *P. s. pv. savastanoi* ile enfekteli olduğu düşünülen örneklerin urlu kısımlarından küçük parçalar alınmış, bu parçalar %2'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 2 dakika ve daha sonra 3 kez steril saf su içerisinde 2 şer dakika bekletilerek yüzey dezenfeksiyonu yapılmış, daha sonra steril kurutma kağıtları ile kurulanmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu yapılan bu parçalar saline buffer ile steril havanlarda ezildikten sonra örnekler 20-30 dk steril kabinde bekletilmiştir. King B besi ortamı içeren petrilere bakteri süspansiyonundan bir öze dolusu alınarak üç çizgi yöntemiyle ekim yapılmıştır (Janse, 2006). Mirik ve ark. (2008) belirttiği gibi petri yüzeyinde sarı renkli saprofit bakteri gelişimini engellemek amacıyla Petrilere 48 saat 25 °C' de inkübe edildikten sonra +4 °C' de 24 saat süresince buzdolabında bekletilmiştir. Bu aşamadan sonra King B besi yerinde zayıf floresan tipte, küçük yuvarlak ve kabarık olmayan tipte gelişen koloniler saflaştırılmıştır. Saflaştırılan koloniler, 24 °C'de 24- 48 saat süre ile inkübatörde gelişim gösterdikten sonra, içerisinde Yeast Dekstroze Chalk Agar (YDCA) besi ortamı bulunan tüplere aktarılmıştır. Krem renkli floresan koloni gelişimleri gösteren izolatlar seçilerek aşağıda detaylı bir şekilde açıklanan tütün bitkisinin genç yapraklarında aşırı duyarlılık (HR, hypersensitive testi), biyokimyasal ve LOPAT testleri için kullanılmıştır (Lelliott ve Stead,1987).

***Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatların tanılanması**

King B besi yerinde gelişen kolonilerden saflaştırılan Bakteriyel izolatların biyokimyasal ve morfolojik tanılanması amacıyla aşağıda belirtilen biyokimyasal ve morfolojik testlemeler yapılmıştır.

Gram reaksiyon testi

Testleri Taze hazırlanan %3'lük potasyum hidroksit solüsyonundan lam üzerine bir damla damlatıldıktan sonra *P. s. pv. savastanoi* izolatlarının 24 saatlik kültürlerinden steril kürdanla alınarak solüsyona karıştırılmıştır. Bunu takip eden 20-30 saniye içerisinde kürdan yukarı kaldırıldığında viskoz, yapışkanimsi sünmenin oluşması gram negatif olarak değerlendirilmiştir. Gram reaksiyon testinde kontrol olarak Prof. Dr. Yeşim AYSAN' dan alınan gram pozitif özelliğe sahip Cmm 3a-r kodlu *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* kültürü kullanılmıştır.

Levan oluşumu

Levan oluşumunu gözlemek için besi ortamı olarak %5 oranında sakkoroz içeren NA kullanılmıştır. NA besi ortamına üç çizgi yöntemi ile ekim yapılmıştır. 3-5 günlük inkubasyondan sonra pozitif reaksiyon verenler beyaz mukoid, tümsek şeklinde koloni oluşumuna göre değerlendirilmiştir. Levan oluşumunda pozitif kontrol olarak *Erwinia amylovora* 57 izolatı kullanılmıştır.

Oksidaz testi

Oksidaz testi için, %1'lik taze olarak N;N;N;N; Tetramethyl-p-phenylenediamine dhydrochloride solüsyonu hazırlanmış ve steril filtre kağıdına damlatılmıştır. *P. s. pv. savastanoi* izolatları ve referans izolatın 24 saatlik kültüründen steril kürdanla alınarak ıslak kurutma kağıdına yayılmıştır. Yayılmadan 10 saniye sonra maviye dönerse pozitif, 15- 60 saniye sonra maviye dönüşürse geç pozitif, 60 saniye sonrası mavi renk oluşumu gözlenmez ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Kovacs, 1956).

Pektolitik aktivite testi

Patates yumrularının yüzeysel dezenfeksiyonunu sağlamak için önce yıkanmış ve daha sonra %1 NaOCl' da 3 dakika bekletilmiştir. Yumruların NaOCl' den arındırılması için 3 kez steril saf su ile durulanmıştır. Her bir petriye, petri çapına göre steril kurutma kağıtları kesilerek yerleştirilmiş ve steril damıtık su ile nemlendirilmiştir. Patates yumruları soyulduktan sonra 7-8 mm kalınlığında dilimlenip petrilere yerleştirilmiştir. Her bir patates dilimi üzerinde bakteri kültürleri öze ile sürülmüştür. 24 saatlik inkübasyondan sonra inokulasyon noktasında yumuşama varsa pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Arginin dihidrolase testi

Arginin dihidrolase testi için 1.0 g Peptone, 5.0 g NaCl, 0.3 g K₂HPO₄, 0.01 g Phenolred, 10 g L (+) Arginin HCL, 3 g Agar 1000 ml saf su içerisinde ısıtılarak hazırlanan besi ortamı 45 °C' ye kadar soğutulduktan sonra pH:7.2 olacak şekilde ayarlanmıştır. 3 ml lik tüplere konulduktan sonra 121 °C 15 dakika otoklavda sterilizasyon sağlanmıştır. *P. s. pv. savastanoi* izolatları ve referans izolatın 24 saatlik kültüründen yarma aşılama yapılmıştır. Üzeri 2 ml steril vaspar ile örtülmüştür. Kontrol olarak 3 tüp aşılama yapılmıştır 10-12 günlük bir inkübasyondan sonra kırmızı renkteki besi ortamı vişne rengini veren kültürler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987).

Tütün yapraklarında aşırı duyarlılık testi (HR, hypersensitif reaksiyon)

Tütün 3-4 yapraklı duruma geldiğinde 10^8 hücre/ml' lik bakteri süspansiyonunun ince uçlu enjektör kullanılarak yaprağın alt yüzeyinden iki damar arasına hücreler arasındaki alana enjekte edilmiştir. İnokule edilen kısımların 24-48 saat sonra nekroz şeklinde belirti vermesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Klement ve Goodman, 1967).

LOPAT testinde ve tütün bitkisinde (*Nicotiana tabacum*) hipersensitif reaksiyon (HR) pozitif sonucunu veren izolatlar eğik olarak hazırlanmış YDCA besi ortamına ekim yapılarak daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere $+4$ °C' deki buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Hastalık etmenin patojenisite testi

Patojenisite testi etmenin tanısında kullanılan önemli bir yöntemdir. İzolasyonu yapılan NA besi ortamında geliştirilen 24 saatlik *P. s. pv. savastanoi* izolatları zeytin fidanlarında yaralar oluşturularak inokule edilmiştir. İnokule edilen bölgeler nemlendirilmiştir. Yaklaşık 60 gün sonra fidanlar değerlendirmeye alınmıştır. Yara dokusu etrafına açık yeşil renkte ur belirtisi izolatın potansiyel hastalık etmeni olduğunu göstermiştir. Negatif kontrolde steril saf su kullanılmıştır (Janse, 1981)

Aday antagonist bakteri izolatların izolasyonu

Hastalığın gözlemlendiği bahçelerdeki sağlıklı Zeytin ağaçlarının dal, çiçek ve sürgün ucu yaprakları ile topraklardan aday antagonist ve bitki gelişimini teşvik eden aday bakteri izolatlarının izolasyonlarını yapmak için, toplanan örneklerden 10'ar g tartılarak, 90 ml steril Nutrient Broth (NB) içerisine konulmuş ve orbital çalkalayıcı üzerinde 60 dk karıştırılmaya bırakılmıştır. Daha sonra süspansiyondan 1 ml alınarak içerisinde 9 ml steril salin buffer bulunan tüplere aktararak sulandırma serileri hazırlanmıştır. Seyreltme serilerinde 100 µl alınarak içerisinde NA besi ortamı bulunan petrilere yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan petriler 25 °C' de inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda morfolojik olarak farklı kolonilerden rastgele aday bakteri izolatları seçilmiş ve saflaştırılmaları yapılmıştır.

Sağlıklı zeytin ağaçlarının yetiştiği topraktan alınan örneklerden 10'ar g tartılarak, üzerlerine 90 ml steril NB eklenecek süspansiyonları ilave edilmiş, daha sonra tüpler orbital çalkalayıcı üzerinde 60 dk karıştırılmaya bırakılmıştır. Daha sonra süspansiyondan 1 ml alınarak içerisinde 9 ml steril salin buffer bulunan tüplere aktararak sulandırma serileri hazırlanmıştır. Seyreltme

serilerinde 100 µl alınarak içerisinde NA besi ortamı bulunan petrilere yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır, 25°C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda Petri yüzeyinde farklı kolonilerden saflaştırılmaları yapılmıştır.

Aday antagonist bakteri izolatları ile denemeler yapılmadan önce tütün HR testi yapılarak negatif sonuç veren izolatlar aday antagonist olarak değerlendirilmiş, eğik olarak hazırlanmış YDCA besi ortamına ekimleri yapılarak biyolojik etkinlik çalışmalarında kullanılmak üzere $+4$ °C' deki buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Aday antagonist bakteri izolatların antagonistik etkinliğinin belirlenmesi

İzolasyonlar sonucu zeytin yaprak ve toprağından elde edilen aday antagonist bakteri izolatlarının biyokontrol etkinlikleri *in vitro* koşullarda KB besi yerinde ikili karşılaştırma testi yapılarak belirlenmiştir. Antagonistik etkinliği belirlenecek aday izolatların 24 saatlik kültüründen KB besiyeri içeren petrilere (9 cm) birbirinden eşit uzaklıkta olacak şekilde 3 noktaya ekimleri yapılarak, 24 ± 2 °C' de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. KB besi yerinde gelişen antagonist bakteri izolatları üzerine 24 saatlik patojen süspansiyonu (10^8 hücre/ml) pülverize edilmiştir (Aysan ve ark., 2003; Bozkurt ve Soylu, 2019). Kontrol olarak antagonist bakteri yerine bitki patojeni *P. syringae* pv. *syringae* Naip-1 nolu izolat kullanılmıştır. İkili kültürlerin bulunduğu petriler 24 ± 2 °C' de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve 48 saat sonunda besiyerinde patojen gelişiminin engellenmesi sonucu oluşan engelleme zonları ile antagonist bakteri izolatlarının koloni çapları ölçülerek belirlenmiştir. Her bir bakteri izolatı için 3 petri kullanılmış ve deneme 3 kez tekrar edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması

Tekirdağ ilinde zeytin üretimi yapılan önemli ilçe ve mahallelerde yer alan bahçelerdeki zeytin ağaçlarından toplanan 78 adet hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda toplam 52 adet patojen *P. s. pv. savastanoi* izolatı elde edilmiştir. Arazi çalışmaları sonucu 15 zeytin bahçesi gezilmiş ve bu bahçelerden 13 tanesinde hastalık tespit edilmiştir. Tekirdağ ilinde hastalığın yaygınlığı %86.6 iken bulunma oranı %4.11 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 1.).

Çizelge 1. Tekirdağ ilinde sörvey yapılan zeytin bahçeleri ve toplanan hastalıklı örnek sayısı

Table 1. Olive orchards surveyed for disease in Tekirdag province and number of collected diseased sample

Bahçe	İlçe	Mevki	Alan (dekar)	Ağaç sayısı	Toplanan örnek sayısı
1	Şarköy	Mürefte Yolu	3.5	130	6
2	Şarköy	Kokarsu	28.5	750	4
3	Şarköy	Merkez	4	150	10
4	Mürefte	Mürefte	7.5	200	8
5	Mürefte	Mürefte	3	100	6
6	Mürefte	Mürefte yolu	4.5	140	5
7	Mürefte	Meselye	1.5	50	4
8	Mürefte	Meselye	2	70	5
9	Mürefte	Kalamış	3	110	7
10	Mürefte	Kalamış	2	60	5
11	Güzelköy	Güzelköy	1	35	-
12	Güzelköy	Güzelköy	1	30	-
13	Hoşköy	Ayazma	1.5	50	5
14	Hoşköy	Dere	2	70	7
15	Hoşköy	Su seddi	1.5	50	6

Tekirdağ ili zeytin üretimi yapılan Şarköy, Mürefte ve Hoşköy üretim alanlarında hastalığın yaygınlığı %100 olarak belirlenirken Güzelköy de ise hastalığa rastlanılmamıştır. Bu alanlarda hastalığın bulunma oranı Şarköy de %1.94, Mürefte de %6.34 ve Hoşköy de %10.58 olarak hesaplanmıştır.

***Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolasyonu ve tanılanması**

Şüpheli hastalık belirtisi gösteren bitkilerden izolasyonlar sonucu, King B besi ortamında zayıf floresan tipte, küçük yuvarlak ve kabarıklık olmayan tipte gelişen koloniler saflaştırılmıştır. Krem renkli floresan koloni gelişimleri gösteren izolatlar seçilerek morfolojik, biyokimyasal ve LOPAT testleri için kullanılmıştır (Lelliot ve Stead 1987).

Yapılan tanılama çalışmaları sonucunda elde edilen 52 izolatın Gram negatif özellikte olup, LOPAT testlerinde --++ özellik göstererek *Pseudomonas* LOPAT 1b grubu içerisinde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). LOPAT testinde kullanılan 52 izolatın tamamı tütün bitkisinde (*Nicotiana tabacum*) hipersensitif reaksiyon (HR) pozitif sonucunu vermiştir. Gerek morfolojik, gerek biyokimyasal ve LOPAT test sonuçlarına göre test edilen 52 izolatın tamamı *P. s. pv. savastanoi* olarak tanılanmıştır (Janse, 1992). İzolatların tamamı patojenite testi ve biyoetkinlik çalışmalarında kullanılmak üzere cam tüplerde eğik olarak hazırlanmış (YDCA) besi ortamına ekim yapılmıştır ve +4 °C' deki buzdolabında saklanmıştır.

Çizelge 2. *P. s. pv. savastanoi* izolatların tanı test sonuçlarıTable 2. Identification test results of *P. s. pv. savastanoi* isolates

İzolat no	İzolat adı	İzole edildiği yer	Gram Reak.	L	O	P	A	T
1	Ş1	Şarköy	-	-	-	-	-	+
2	Ş2	Şarköy	-	-	-	-	-	+
3	Ş3	Şarköy	-	-	-	-	-	+
4	Ş4	Şarköy	-	-	-	-	-	+
5	Ş5	Şarköy	-	-	-	-	-	+
6	Ş6	Şarköy	-	-	-	-	-	+
7	Ş7	Şarköy	-	-	-	-	-	+
8	Ş8	Şarköy	-	-	-	-	-	+
9	Ş9	Şarköy	-	-	-	-	-	+
10	Ş10	Şarköy	-	-	-	-	-	+
11	Ş11	Şarköy	-	-	-	-	-	+

12	Ş12	Şarköy	-	-	-	-	-	+
13	Ş13	Şarköy	-	-	-	-	-	+

Çizelge 2. (Devamı) *P. s. pv. savastanoi* izolatların tanı test sonuçlarıTablo 2. (Continued) Identification test results of *P. s. pv. savastanoi* isolates

14	Ş14	Şarköy	-	-	-	-	-	+
15	M15	Mürefte	-	-	-	-	-	+
16	M16	Mürefte	-	-	-	-	-	+
17	M17	Mürefte	-	-	-	-	-	+
18	M18	Mürefte	-	-	-	-	-	+
19	M19	Mürefte	-	-	-	-	-	+
20	Ş20	Şarköy	-	-	-	-	-	+
21	Ş21	Şarköy	-	-	-	-	-	+
22	Ş22	Şarköy	-	-	-	-	-	+
23	Ş23	Şarköy	-	-	-	-	-	+
24	Ş24	Şarköy	-	-	-	-	-	+
25	Ş25	Şarköy	-	-	-	-	-	+
26	Ş26	Şarköy	-	-	-	-	-	+
27	Ş27	Şarköy	-	-	-	-	-	+
28	Ş28	Şarköy	-	-	-	-	-	+
29	Ş29	Şarköy	-	-	-	-	-	+
30	Ş30	Şarköy	-	-	-	-	-	+
31	Ş31	Şarköy	-	-	-	-	-	+
32	Ş32	Şarköy	-	-	-	-	-	+
33	Ş33	Şarköy	-	-	-	-	-	+
34	H34	Hoşköy	-	-	-	-	-	+
35	H35	Hoşköy	-	-	-	-	-	+
36	H36	Hoşköy	-	-	-	-	-	+
37	H37	Hoşköy	-	-	-	-	-	+
38	H38	Hoşköy	-	-	-	-	-	+
39	H39	Hoşköy	-	-	-	-	-	+
40	H40	Hoşköy	-	-	-	-	-	+
41	Ş41	Şarköy	-	-	-	-	-	+
42	Ş42	Şarköy	-	-	-	-	-	+
43	Ş43	Şarköy	-	-	-	-	-	+
44	Ş44	Şarköy	-	-	-	-	-	+
45	Ş45	Şarköy	-	-	-	-	-	+
46	Ş46	Şarköy	-	-	-	-	-	+
47	Ş47	Şarköy	-	-	-	-	-	+
48	Ş48	Şarköy	-	-	-	-	-	+
49	Ş49	Şarköy	-	-	-	-	-	+
50	Ş50	Şarköy	-	-	-	-	-	+
51	Ş51	Şarköy	-	-	-	-	-	+
52	Ş52	Şarköy	-	-	-	-	-	+

L: levan tipte koloni oluşumu, O: oksidaz testi, P: pektolitik aktivite, A: arginin dehidrolaz, T: tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu

Hastalık etmeni izolatların patojenisite testi

P. s. pv. savastanoi olarak tanımlanmış olan 52 izolatın King B besi ortamında geliştirilmiş 24 saatlik kültürleri zeytin fidanlarında yara açılarak inokule edilmek suretiyle patojenisite testleri yapılmıştır. İnokulasyondan yaklaşık

60 gün sonra yapılan değerlendirmelerde, yara dokusunun etrafında açık yeşil veya açık kahverengi, yumuşak ur belirtileri oluşturduğu görülmüştür. Ur belirtileri gösteren 52 izolatın patojenisite pozitif olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak steril saf su

inokule edilen bitkilerde herhangi bir ur belirtisine rastlanmamıştır. Uurlu dokulardan yapılan re-izolasyonlarda 52 adet re-izolat yeniden elde edilmiştir. İzolasyonlarda, petrilere 25 °C' de 2 gün inkübasyonu takiben +4 °C'deki buzdolabında 24 saat bekletilmesi Mirik ve ark. (2008)'nin da belirttiği gibi izolasyon petrisindeki sarı renkli saprofit bakteri gelişimini baskılayarak yavaş gelişen patojenin gelişimine müsaade etmiştir. Böylelikle patojen bakteri re-izolatları kolaylıkla izole edilmiştir. Elde edilen re-izolatlarına yeniden tanı çalışmalarında kullanılan testler yapılmış ve hastalık etmenleri eğik besi yerinde +4 °C' de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Zeytin dal kanseri hastalığının ülkemizde yetiştirilen zeytin ağaçlarında varlığı uzun zamandır bilinmesine rağmen ilk çalışmalar Ege bölgesinde Azeri (1993) tarafından yapılan çalışmayla bildirilmiş olup, daha sonra yapılan rutin sörvey çalışmalarıyla, Aydın ve Muğla illerinde Tatlı ve Benlioğlu (2004), Batı Akdeniz Bölgesinde Basım ve Ersoy (2000), Doğu Akdeniz Bölgesinde Adana, Hatay, Mersin, Osmaniye illerinde Mirik ve ark. (2004) ve Doksöz ve Bozkurt, (2020), Marmara Bölgesinde ise Mirik ve ark. (2007) tarafından hastalık etmeninin bulunuş oranı ve yaygınlıkları ortaya konulmuştur.

Aday antagonist bakteri izolatların izolasyonu

Sağlıklı zeytin ağacı ve topraktan NA besi ortamı bulunan petrilere yayma yöntemi ile yapılan izolasyonlar sonucu

petri yüzeyinde gelişen farklı morfolojik yapıdaki kolonilerden aday antagonist bakteri izolatları elde edilmiştir. Safılaştırılmalar yapılmış antagonist bakteri izolatları ile biyoetkinlik testlerinden önce tütünde HR testi yapılarak negatif sonuç veren zeytin ağacından 50, topraktan 60 adet olmak üzere toplam 110 adet bakteri izolatının *P. s. pv. savastanoi*' ye karşı antagonistik etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla ikili kültür denemelerinde kullanılmak için seçilmiştir

Aday antagonistlerin hastalık etmenine karşı antagonistik etkinliklerinin belirlenmesi

Sağlıklı zeytin ağaçları ile topraktan izole edilen 110 aday antagonist bakteri izolatının antagonistik etkinliği *in vitro* koşullarda 3 nokta ekim deseni kullanılarak yapılan ikili kültür testleri ile belirlenmiştir. Bakteri kolonisi etrafında oluşan zon çapının bakteri koloni çapına bölünmesi suretiyle her izolat için etkinlik değerleri hesaplanmıştır. Her bakteri izolatı için ölçümler 3 farklı petri kabında yapılmış, deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. İkili kültür testleri sonucunda Çizelge 3'de görüldüğü gibi 110 aday antagonist izolatı arasında sadece 23 izolatın ikili kültür petrilere besisi yerlerinde hastalık etmenine karşı farklı çap büyüklüğünde engelleme (inhibisyon) zonları oluşturmuştur. Etkili olan 23 antagonist bakteri izolatın 9 tanesi zeytin ağacının çiçeklerinden, 3 tanesi yapraktan ve 11 tanesi ise zeytin ağacının yetiştirildiği kök bölgesi etrafındaki topraktan elde edilmiştir.

Çizelge 3. Aday antagonist bakteri izolatların ikili kültür testlerinde antagonistik potansiyellerinin belirlenmesi

Tablo 3. *Determination the antagonistic potentials of putative antagonist bacterial isolates in dual culture tests*

İzolat adı	Etkinlik değeri	İzolat adı	Etkinlik değeri	İzolat adı	Etkinlik değeri
ES BAÇ 1	7.50	ES BAY 8	22.00	T68	22.00
ES BAÇ 2	5.00	ES BAY 9	-	T69	-
ES BAÇ 3	-	ES BAY 10	-	T70	3.5
ES BAÇ 4	-	ES BAY 11	-	T71	-
ES BAÇ 5	-	ES BAY 12	-	T72	-
ES BAÇ 6	-	ES BAY 13	-	T73	10.00
ES BAÇ 7	13.50	ES BAY 14	-	T74	-
ES BAÇ 8	9.75	ES BAY 15	-	T75	-
ES BAÇ 9	-	ES BAY 16	-	T76	-
ES BAÇ 10	12.75	ES BAY 17	-	T77	-
ES BAÇ 11	-	ES BAY 18	-	T78	-
ES BAÇ 12	10.5	ES BAY 19	-	T79	-
ES BAÇ 13	-	ES BAY 20	-	T80	-
ES BAÇ 14	-	T45	-	T81	-
ES BAÇ 15	-	T46	-	T82	19.25
ES BAÇ 16	-	T47	-	T83	-
ES BAÇ 17	-	T48	-	T84	-
ES BAÇ 18	-	T49	-	T85	-

ES BAÇ 19	-	T50	-	T86	-
ES BAÇ 20	13.50	T51	9.25	T87	-
ES BAÇ 21	-	T52	-	T88	-

Çizelge 3. (Devamı) Aday antagonist bakteri izolatların ikili kültür testlerinde antagonistik potansiyellerinin belirlenmesi
Tablo 3. (Continued) Determination the antagonistic potentials of putative antagonist bacterial isolates in dual culture tests

ES BAÇ 22	12.0	T53	-	T89	-
ES BAÇ 23	-	T54	-	T90	-
ES BAÇ 24	-	T55	-	T91	5.75
ES BAÇ 25	9.75	T56	-	T92	20.00
ES BAÇ 26	-	T57	-	T93	-
ES BAÇ 27	-	T58	-	T94	-
ES BAÇ 28	-	T59	28.00	T95	-
ES BAÇ 29	-	T60	9.25	T96	-
ES BAÇ 30	-	T61	-	T97	-
ES BAY 1	-	T62	9.25	T98	-
ES BAY 2	13.50	T63	-	T99	4.00
ES BAY 3	10.10	T64	-	T100	-
ES BAY 4	-	T65	-	T101	-
ES BAY 5	-	T66	-	T102	-
ES BAY 6	-	T67	-	T103	-
ES BAY 7	-			T104	-

-: Antagonistik (engelleme) etkinliğinin olmadığını gösterir.

Hastalık ile kimyasal mücadelede yetersiz kalınmasından kimyasal mücadeleye alternatif olarak Oksel ve Mirik (2015)'in yaptığı üç farklı yöntemde, *P. s. pv. savastanoi*'nin farklı dozlarda bitki uçucu yağları kullanılarak patojen popülasyonuna olan antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Çalışmada 21 bitki uçucu yağı kullanılmış ve altı tane uçucu yağ (Bergamut Karabaş, Karanfil, Kekik, Okaliptus, Sarımsak) etkili sonuç vermesi bitki uçucu yağların etkili olduğunu göstermiştir. Aynı şekilde Bendaoud ve ark. (2009) okaliptüs (*Eucalytus radiata*)'tan elde ettikleri uçucu yağı zeytin dal kanseri etmeni *P. s. pv. savastanoi*'ye karşı etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında okaliptüsten elde edilen ekstraktların antibakteriyel etkilerinin bulunduğunu belirlemişlerdir. Bozkurt ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada, *Thymbra spicata* var. *spicata*, *Thymus serpyllum*, *Thymus sipyleus*, *Origanum syriacum*, *Origanum majorana*, *Ocimum basilicum*, *Mentha spicata*, *Melissa officinalis*, *Lavandula stoechas* var. *stoechas*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Laurus nobilis* ve *Foeniculum vulgare* uçucu yağlarının kimyasal bileşenleri ve gal (ur) oluşturan bitki patojenik bakteriyel hastalık etmeni *Rhizobium radiobacter*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* ve *P. savastanoi* pv. *nerii*'ye karşı antibakteriyel etkilerini belirledikleri çalışmalarında uçucu yağların *P. savastanoi* pv. *savastanoi* (7.0-44.67 mm), ardından *R. radiobacter* (9.6-37.67 mm) ve *P. savastanoi* pv. *nerii* (6.33-18.33

mm) ye karşı oldukça güçlü antibakteriyel etkinlik gösterdiğini, Lamiaceae familyasına ait bitkilerin uçucu yağlarının genellikle Lauraceae ve Apiaceae familyalarına göre daha etkili olduğu, test edilen tüm bakteri türlerine karşı en yüksek antibakteriyel aktiviteleri *O. syriacum*, *T. serpyllum* ve *T. spicata* var. *spicata* uçucu yağların gösterdiğini belirlenmiştir. Krid ve ark. (2011) zeytin alt suyu ve bundan elde edilen fenolik ekstraktların *P. s. pv. savastanoi*'ye karşı *in vitro* ve bitki üzerinde etkinliğini araştırmışlardır. *In vitro* koşullarda hastalık etmeninin gelişimini tamamen durdurduğunu saptamışlardır. Bitki denemelerinde kullandıkları 100, 500 ve 1000 mg L⁻¹ dozlarının sürgünlerde ur oluşumunu engellediğini belirtmişlerdir. Zadeh ve ark. (2008), farklı kültür bitkilerinden izole ettikleri patojen olmayan *Pseudomonas* izolatlarının patojen *P. savastanoi*'nin gelişimi üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Çalışmada, antagonist izolatların ikili kültür petrilerinde 5-20 mm engelleme alanı oluşturarak patojen bakterinin gelişimini baskıladığını ortaya koymuşlardır. Mina ve ark. (2017), *Frondehabitans* sp. ve *Paenibacillus* sp. antagonist izolatlarının *P. s. pv. savastanoi* üzerine olan etkisini sera koşullarında gözlemlemişlerdir. Denemede 2 yaşındaki zeytin fidanlarına antagonist bakteri ve patojen *P. s. pv. savastanoi* uygulaması yapılmıştır. Uygulamadan 120 gün sonra yapılan değerlendirmede antagonist bakterilerin, *P. s. pv. savastanoi* popülasyonu üzerinde

etkili olduğu belirlenmiştir. Bozkurt ve Soylu (2019), elma ağaçlarının kök ve kök boğazı bölgelerinden 85 aday epifitik ve endofitik bakteri izolatın antagonist etkinliğini kök ur hastalık etmeni *R. radiobacter*'i baskılama yeteneğini *in vitro* ikili kültür ve *in vivo* testleri ile belirledikleri çalışma sonuçlarına göre *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Serratia* and *Bacillus* cinslerine dahil farklı türlere ait 12 izolatın besi ortamı üzerinde patojene karşı ortalama 5.0-27.3 mm çapında arasında değişen engelleme zonları oluşturduğunu, *Pseudomonas putida* 1-4en izolatının diğer izolatlara kıyasla havuç dilimi üzerinde ur oluşumunu önemli düzeyde baskıladığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, zeytin ağaçlarının *P. s. pv. savastanoi* ile enfekteli olması, dal ve sürgünlerde ender olarak da yaprak ve meyvelerde tümör ve gal oluşumu gibi aşırı büyüme ile sonuçlanmaktadır. *P. s. pv. savastanoi* zeytin dal kanseri hastalığı, dünya genelinde zeytin ağaçlarının en önemli hastalıklarından bir tanesidir. Hastalığın neden olduğu kayıplar büyük ölçüde coğrafik konum ve zeytin çeşitlerine bağlı olduğu için zararı tahmin etmek zor olsa da, enfekte olmuş ağaçlarda büyüme ve verim orta ve ağır derecede etkilenmekte, ayrıca meyvelerin büyüklüğü ve kalitesi azalmaktadır (Schroth ve ark., 1973; Young, 2004, Quesada ve ark., 2010). Hastalık etmeninin zeytin üretim alanlarında, Çanakkale de %100, Balıkesir de %81, Tekirdağ da %66, Bursa da %4, Hatay ili Samandağ, İskenderun ve Arsuz ilçelerinde %90 oranında yaygınlık gösterdiği belirlenmiştir (Mirik ve Aysan, 2011; Doksöz ve Bozkurt, 2020).

Hastalık etmeni ile mücadele, patojenin konukçu aralığının geniş olmasından dolayı oldukça zordur. Mevcut kontrol stratejileri arasında sürekli bakırlı pestisit kullanımının toksisite, dayanıklılık, çevre kirliliği, insan ve hayvan sağlığında tehlikeler gibi istenmeyen etkilere neden olması, alternatif olarak antagonist fungus ve bakteri kullanarak bitki patojenlerinin biyolojik kontrolü bitki hastalıklarının kontrolünde önemli bir yer almaktadır (Lavermicocca ve ark., 2002).

Çalışmamızda zeytin dal kanseri hastalık etmenine karşı antagonistik etkinliğin araştırıldığı, zeytin yaprak ve toprak örneklerinden elde edilen 110 adet izolat arasında engelleme etkinliği gösteren izolatlar ikili kültür denemeleri ile belirlenmiştir. Yapılan önceki çalışmalarda, *Bacillus subtilis* F1 ve F4 izolatlarının patojen *P. s. pv. savastanoi* üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. *Bacillus subtilis*' in antimikrobiyal aktivite, metabolit üretimi ve sistemik direnç gibi mekanizmaları aktif hale getirilerek patojen *P. s. pv. savastanoi*' nin gelişimini baskıladığı belirlenmiştir (Shoda, 2000; Whipps, 2001). *P. s. pv. savastanoi* ile mücadele *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerinin yaygın olarak kullanımının

yanı sıra, bazı *Rhizobium* türlerinde ürettikleri bakteriyosinler ile patojen gelişiminde etkili olduğu belirlenmiştir (Rokni Zadeh ve ark., 2008; Kacem ve ark., 2009)

Sonuç olarak bu çalışmada zeytin üretim alanlarında bakteriyel dal kanserine sebep olan *P. s. pv. savastanoi*' nin klasik testler ile tanısı; yaygınlığı ve zeytin üretim alanlarından hastalık belirtisi göstermeyen zeytin yaprak çiçek ve toprak örneklerinden elde edilen izolatların antagonistik aktiviteleri ortaya konulmuştur. Tekirdağ ili Şarköy ilçesine bağlı Mürefte, Güzelköy ve Hoşköy yerleşkesi zeytin üretim alanlarında patojenin varlığı tanılanarak %86.6 oranında yaygın olduğu belirlenmiştir. Aday antagonist bakteri izolatlarının patojen gelişimini baskılaması üzerine yapılan çalışmada, zeytin çiçeğinden elde edilen 9, zeytin yaprağından 3, topraktan elde edilen 11 olmak üzere toplam 23 tanesi 4.0-28.00 etki değeri arasında inhibisyon zonları oluşturarak patojenin gelişimini baskıladığı tespit edilmiştir. Bu gözlemler sonucu patojen bakterinin biyolojik mücadelesi ile umut var sonuçlar olabileceği ortaya konulmuştur.

ÖZET

Amaç: Zeytin (*Olea europaea*) ağaçlarında dal kanseri hastalığı bakteriyel hastalık etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* tarafından neden olur. Hastalık etmeni zeytin dallarında hastalığa özgü tipik gal (ur) oluşumuna neden olur. Bu çalışmada 2016-2017 yılları arasında Tekirdağ ilinde zeytin bahçelerinde dal kanseri etmeni *P. savastanoi* pv. *savastanoi*' nin tanısı ve il genelinde yaygınlığı ile biyolojik mücadele olanaklarını araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem ve Bulgular: İl genelinde yetişen zeytin çeşitlerinden 78 adet hastalıklı bitki örneği toplanmış ve 52 adet hastalık etmeni izolatı elde edilmiş ve tanılanmıştır. Elde edilen ve *P. savastanoi* pv. *savastanoi* olarak tanılanan tüm bakteri izolatları, patojenite testi yapılan zeytin fidanlarında ur oluşumuna neden olmuş ve King's B besi ortamında zayıf floresan pigment üretmiştir. Tütün yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturan izolatların tamamı Gram, oksidaz, pektolitik aktivite, levan ve arginin dehidrolaz negatif olup, LOPAT 1b grubunda yer aldığı belirlenmiştir. Biyokimyasal ve morfolojik sonuçlara göre izolatların tamamı *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* olarak tanılanmıştır. Yapılan çalışmalarla zeytin dal kanseri hastalığının Tekirdağ ilinde yaygınlığı %86.6 oranında olduğu belirlenmiştir. Sağlıklı zeytin ağaçlarından ve yetiştiği topraktan elde edilen toplam 110 antagonist bakteri izolatları ile *in vitro* koşullarında yapılan ikili

kültür denemeleri sonucunda, 23 antagonist izolatın besi yeri üzerinde hastalık etmeninin gelişimini 3.5-28.00 etki değeri arasında inhibisyon zonları oluşturarak baskıladığı tespit edilmiştir.

Genel Yorum: Zeytin dal kanseri hastalığının Tekirdağ ili için dikkate alınması gereken bir hastalık olduğu ortaya çıkmıştır.

Çalışmanın Önemi ve Etkisi: Bu çalışma Tekirdağ ili zeytin alanlarında dal kanseri hastalığının mevcut durumunu ortaya koymuştur. Hastalığın güncel durumunun ortaya çıkarılması ve antagonist bakteri izolatlarının patojen gelişimini baskılaması üzerine yapılan çalışmalar hastalıkla mücadele amacı güden diğer çalışmalara için de önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Zeytin dal kanseri, zeytin, LOPAT, tanı, biyokontrol.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma NKÜBAP tarafından NKUBAP.03.YL.17.112 numaralı proje ile desteklenmiştir. Makale yazımında desteklerinden dolayı Araş.Gör.Dr. Cansu ÖKSEL'e teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMA BEYANI

Yazar(lar) çalışma konusunda çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

ARAŞTIRMACILARIN KATKI ORANI BEYANI

Yazarlar çalışmaya eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Anonim (2020) Tarım üretim piyasaları. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr> (Erişim Tarihi: 15 Şubat 2021).
- Azeri T (1993) Research on olive leaf spot, olive knot and Verticillium wilt of olive in Turkey. EPPO Bulletin, 23: 437-440.
- Aysan Y, Şahin F, Mirik M, Dönmez MF, Tekman H (2003) First report of crown gall of apricot (*Prunus armeniaca*) caused by *Agrobacterium tumefaciens* in Turkey. Plant Pathology 52: 793.
- Basim H, Ersoy A (2000) Batı Akdeniz Bölgesinde zeytin ağaçlarında *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* tarafından oluşturulan bakteriyel dal kanseri hastalığının yayılışı ve hastalık etmeninin tanısı. Türkiye 1. Zeytincilik Sempozyumu 6-9 Haziran 2000, Bursa, sayfa: 310-315.
- Bendaoud H, Bouajila J, Rhouma A, Savagnac A, Romdhane M (2009) GC/MS analysis and

antimicrobial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus radiata*. Society of Chemical Industry 2.

- Bozkurt IA, Soylu S, Mirik M, Ulubas Serce C, Baysal Ö (2014) Characterization of bacterial knot disease caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* on pomegranate (*Punica granatum* L.) trees: a new host of the pathogen. Letters In Applied Microbiology 59(5): 520-527.
- Bozkurt İA, Soylu S (2019) Elma kök uru hastalığı etmeni *Rhizobium radiobacter*'e karşı epifit ve endofit bakteri izolatlarının antagonistik potansiyellerinin belirlenmesi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi 16: 348-361.
- Bozkurt İA, Soylu S, Kara M, Soylu EM (2020) Chemical composition and antibacterial activity of essential oils isolated from medicinal plants against gall forming plant pathogenic bacterial disease agents. KSU Tarım ve Doğa Derg. 23: 1474-1482.
- Conner KN, Zhang L, Jacobi J, Putnam M L (2013) First report of bacterial gall on *Loropetalum chinense* caused by *Pseudomonas savastanoi* in the United States. Disease Notes 97(6): 835.
- Doksöz S, Bozkurt İA (2020) Hatay ili zeytin üretim alanlarında zeytin dal kanseri (*Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*) hastalığının belirlenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 7: 96-103.
- FAO (2019) Food and Agriculture Organization of The United Nations Statistics Division. Web: <http://bit.ly/26dlhbl> (Erişim Tarihi: 12 Şubat 2021).
- Gemas VJV, Almadanim MC, Tenreiro R, Martins A, Fevereiro P (2004) Genetic diversity in the olive tree (*Olea europaea* L. subsp. *europaea*) cultivated in portugal revealed by RAPD and ISSR Markers. Genetic Resources and Crop Evolution 51(5): 501-511.
- Iacobellis NS, Caponero A, Evidente A (1998) Characterization of *Pseudomonas syringae* ssp. *savastanoi* Strains isolated from ash. Plant Pathology 47(1): 73-83.
- Janse JD (1981) The bacterial disease of ash (*Fraxinus excelsior*) caused by *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* pv. *fraxini*. II. Etiology And Taxonomic Considerations. Eur. J. For. Pathol. 11: 425-438.
- Janse JD (1982) *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* (Ex Smith) subsp. Nov., Nom. Rev., The bacterium causing excrescences on *Oleaceae* and *Nerium oleander* L. International Journal of Systematic And Evolutionary Microbiology 32(2): 166-169.
- Janse JD (2005) Phytobacteriology principles and practice. CABI, 359, USA

- Klement Z, Goodman RN (1967) The hypersensitive reaction to infection by bacterial plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol.* 5: 17-44.
- Klement Z, Rudolph K, Sand DC (1990) Methods in phytobacteriology. Akademia Kiado, Budapest, 568p.
- Krid S, Bouaziz M, Triki MA, Gargouri A, Rhouma A (2011) Inhibition of olive knot disease by polyphenols extracted from olive mill waste water. *Journal of Pathology* 93(3): 561-568.
- Lavermicocca P, Lonigro LS, Valerio F, Evidente A, Visconti A (2002) Reduction of olive knot disease by a bacteriocin from *Pseudomonas syringae* pv. *ciccaronei*. *Applied and Environmental Microbiology* 1403-1407.
- Lelliott RA, Stead DE (1987) Methods for the diagnosis of bacterial diseases plants. Balackwell Scientific Publications, Oxford, UK. 26 pp.
- Mina D, Santos A, Pereira J, Lino-Neto T, Baptista P (2017) Biological control of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* by two bacterial isolated from olive tree phyllosphere. 15th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Cordoba, Spain.
- Mirik M, Aysan Y, Cinar O, Sahin F (2004) Türkiye’de çeşitli bitkilerden izole edilen *Pseudomonas savastanoi* izolatlarının fenotipik karakterizasyonu. Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi, 139, Samsun.
- Mirik M, Aysan Y (2006) Doğu Akdeniz Bölgesinde zakkum, yasemin, mersin ve cılbırtı çalılarında *Pseudomonas savastanoi*’nin neden olduğu bakteriyel ur hastalığı üzerine araştırmalar. III. Ulusal Süs Bitkileri Kongresi, 311-317, İzmir
- Mirik M, Aysan Y, Büyükyılmaz M (2007) Türkiye’nin marmara bölgesi zeytin üretim alanlarında *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının elde edilmesi ve yaygınlığı üzerine araştırmalar. II. Bitki Koruma Kongresi, Isparta
- Mirik M, Aysan Y (2011) Marmara bölgesinde zeytin dal kanseri hastalığının yaygınlığı ve *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatlarının fenotipik ve genotipik karakterizasyonu. *Tarım Bilimleri Dergisi* 17(4).
- Oksel C, Mirik M (2015) Zeytin dal kanseri etmeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*’ ye karşı *in vitro* koşullarda farklı uçucu yağların etkisi. *Bitki Koruma Bülteni* 55(4): 265-275.
- Quesada CA, Lloyd J, Schwarz M, Patiño S, Baker TR, Czimczik CI, Fyllas NM, Martinelli LA, Nardoto GB, Schmerler J (2010) Variations in chemical and physical properties of Amazon forest soils in relation to their genesis. *Biogeosciences* 7: 1515-1541.
- Ramos C, Matas IM, Bardaji L, Aragon IM, Murillo J (2012) *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*: some like it knot. *Molecular Plant Pathology* 13(9): 998-1009.
- Rokni ZH, Khavazi K, Asgharzadeh AM, De Mot HR (2008) Biocontrol of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, causative agent of olive knot disease: antagonistic potential of non-pathogenic rhizosphere isolates of fluorescent *Pseudomonas*. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 73:199-203.
- Schroth MN, Hildebrand DC (1968) A chemotherapeutic treatment for selectively eradicating crown gall and olive knot neoplasms. *Phytopathology* 58(6): 848.
- Shoda M (2000) Bacterial control of plant disease. *J. Biosci. Bioeng.* 89: 515-521.
- Smith EF (1908) Recent studies on the olive-tubercle organism. U.S. Dept. Agr. Bur. Plant Indust. Bull. No. 131 Part, IV.
- Soylu S, Sülü MS, Bozkurt İA (2016) Bitki büyüme düzenleyici ve biyolojik mücadele etmeni olarak bakteriyel endofitler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 21: 103-111.
- Teviotdale BL (1994) Diseases of olive, in olive production manual. (L Ferguson, GS Sibbett, GC Martin, Eds.) P. 107. University of California Publication No. 3353.
- Whipps JM (2001) Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 52: 487-511.
- Wilson EE (1965) Pathological histogenesis in oleander tumors induced by *Pseudomonas savastanoi*. *Phytopathology* 55: 1244-1249.
- Young JM, Dye DW, Bradbury JF, Panagopoulos CG, Robbs CF (1978) A proposed and classification for plant pathogenic bacteria. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 21: 153-177.
- Young, JM (2004). Olive knot and its pathogens. *Australasian Plant Pathology* 33(1): 33-39.
- Zadeh HR, Khavazi K, Asgharzadeh M, Hosseini-Mazinani M, De Mot R (2008) Biocontrol of *Pseudomonas savastanoi*, causative agent of olive knot disease: antagonistic potential of non-pathogenic rhizosphere isolates of fluorescent *Pseudomonas*. *Comm. Appl. Biol. Sci.* 73(1): 199-203.