

Doğu Anadolu Bölgesinde Yumuşak Çekirdekli Meyvelerden İzole Edilen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* Strainlerinin Streptomisin Sülfata Karşı Duyarlılıkları ile Yağ Asidi Metil Esterleri Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi

Recep KOTAN* Kenan KARAGÖZ

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

*Yazışma yazarı: rkotan@atauni.edu.tr

Özet: Bu çalışmada; yumuşak çekirdekli meyvelerden izole edilen toplam 20 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* straininin streptomisin sülfata karşı duyarlılıkları test edilmiş, strainlerin yağ asidi metil ester (FAME) grupları da belirlenerek patojenin yağ asitleri ve streptomisin sülfata duyarlılıkları arasındaki ilişki araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre sadece 1 strainde (% 5.0) dayanıklılık tespit edilmiştir. MIS (Mikrobiyal Tanı Sistemi) kullanılarak belirlenen yağ asidi metil esterleri bakımından ise bu patojenin 4 farklı FAME grubunun olduğu belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılığın % 16 ile % 60 arasında değiştiği, dayanıklılık oranının ise 2. grupta en yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. 12:0 2OH (% 6.60), 12:0 3OH (% 5.59) ve 17:0 cyclo (% 11.43) yağ asitleri 2. grupta diğer gruplara oranla daha yüksek oranda belirlenmiştir. Sonuç olarak; yağ asidi metil esterlerinin bakterilerde antibiyotiklere duyarlılığın da bir göstergesi olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Ancak, daha fazla *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strainlerinde ve farklı tür patojenlerde de benzer çalışmaların yapıp sonuçların değerlendirilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik, FAME, yağ asidi, MIS, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, streptomisin sülfat

Determination of Relationship between Streptomycin Sulfate Susceptibility and Their Fatty Acid Methyl Esters Profiles of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* Strains Isolated from Pome Fruits in East Anatolian Region

Abstract: In this study; a total of 20 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains, isolated from pome fruits, were tested for their susceptibilities to streptomycin sulfate. In addition; the relationship between streptomycin susceptibility of strains and their fatty acid methyl ester (FAME) profiles was determined. According to these results, only one strain was determined to be resistant to streptomycin (5.0%). Four different FAMEs groups of tested strains were determined by using MIS system (Microbial Identification System). Difference between groups was changed from 16% to 60%. The highest rate of resistance (5%) was in second group. Difference of this group from the others was that 12:0 2OH (% 6.60), 12:0 3OH (% 5.59) and 17:0 cyclo (% 11.43) fatty acids were higher than the others. Consequently, we think that fatty acid methyl esters of bacterial strains can be used as an indicator of antibiotic resistance. But, this relationship should be also tested for more *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains and different pathogen species.

Key words: Antibiotic, FAME, fatty acid, MIS, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, streptomycin sulfate

Giriş

Pseudomonas syringae pv. *syringae* van Hall.'nin yumuşak ve sert çekirdekli meyvelerde tomurcuk yanıklığı hastalığına sebep olduğu; ayrıca birçok sebze ve tarla

bitkisinde de patojen olarak bulunduğu ve geniş bir konukçu dizisine sahip olduğu belirtilmektedir (Jones ve Aldwinckle, 1981, Canfield ve ark. 1986, Romantschuk

ve Bamford 1986). Bu hastalık ülkemizde ilk olarak 2002 yılında kayısılarda şiddetli epidemilere sebep olmuş (Kotan ve Sahin, 2002) ve daha sonraki yıllarda yumuşak çekirdekli meyvelerde de tespit edilmiştir (Kotan 2002, Kotan ve ark. 2006).

Bitki hastalıklarına bağlı olarak tarım ürünlerindeki nicelik ve nitelikteki azalmayı ortadan kaldırmak için, etkili zirai mücadele metotlarının uygulanması zorunludur. Kimyasal pestisitler kullanılarak kısa vadeli uygulamalarda bazı bitki hastalıklarına karşı etkili ve başarılı sonuçlar alınabilmesine rağmen; virüs, viroid ve bakteri gibi bitki patojenlerine karşı sürekli olarak kullanılan kimyasallara karşı patojenlerin direnç kazanması söz konusudur (Sobieczewski ve ark. 1991). *P. s. pv. syringae* ile kimyasal mücadelede; patojenin dormant halde bulunduğu dönemde ağaçların bakırlı ilaçlarla ilaçlanması önerilmekte ancak, son yıllarda patojenin bu tür ilaçlara karşı dayanıklılık oluşturduğu belirtilmektedir (Mansvelt ve Hattingh 1986). Streptomisin bitki bakteriyel hastalıklarının kontrolünde uzun yıllardır kullanılmaktadır. Ancak, yapılan birçok çalışmada *P. syringae* patovarylarının streptomisine karşı dayanıklılık oluşturduğu tespit edilmiştir (Demir ve Gündoğdu 1994; Silva ve Lopes 1995; Spotts ve Cervantes 1995; Scheck ve ark. 1996; Sundin ve Bender 1996; Scheck ve Pscheidt 1998; Huang ve Burr 1999; Ellis ve Madden 2000; Cazorla ve ark. 2002; Sukumar ve ark. 2003; Vanneste ve ark. 2005).

Yağ asidi metil esterlerindeki (FAME) farklılıklar aynı zamanda genetiksel akrabalıkların da dolaylı bir göstergesi olup; bu profiller kullanılarak bakterilerin tanımlanmasına yönelik çalışmalar 40 yılı aşkın bir süredir yürütülmektedir (Miller ve Berger 1985; Stead 1992; Paisley 1995). Ancak, ilk defa 1980'li yıllarda MIDI firması tarafından ABD'de geliştirilerek hizmete sunulan bilgisayar kontrollü bir gaz kromatografi sistemi yardımı ile kültüre alınabilen her türlü mikroorganizmanın tanısında kullanılabilen Mikrobiyal Tanı Sistemi (Microbial Identification System, MIDI Sherlock, USA) geliştirilmiştir. Yağ asidi profillerine göre *P. syringae* patovaryları birbirlerinden ayırt

edilebilmektedir (Roy 1988). Dallanmış ya da düz zincir asitleri, cyclopropane ve hydroxy asitlerin bulunup bulunmaması ya da bulunuyorsa miktarları, *Pseudomonas* türlerinin birbirlerinden ayırt edilmesinde kullanılabilir (Wayne ve ark. 1972, Wayne ve ark. 1973). Yağların bakterilerde kapsülde, hücre zarı ve zarlı organellerin yapısında yer aldığı ve hücre zarının selektivitesine etki ederek antibiyotiklerin aktivitesi üzerine etki ettikleri bilinmektedir (Dunnick ve O'Leary 1970).

MIS sisteminin mikrobiyal tanıda rutin çalışmalar için gerek zaman açısından gerekse de ekonomik olması bakımından çok uygun tanı yöntemi olduğu bilinmektedir. Son yıllarda aynı tür bakterilerin farklı strainlerindeki yağ asidi farklılıklarının konukçu dizisine (Duran ve ark. 2006) ve antibiyotik duyarlılığına (Nischwitz ve ark. 2007) bağlı olarak değiştiğini gösteren çalışmalar yapılmaktadır. Bu sonuçlar MIS sisteminde elde edilen FAME profillerinin tanıya ilave olarak farklı amaçlar için de kullanılabilirliğini göstermektedir.

Ancak tarafımızdan yapılan araştırmalarda; *P. s. pv. syringae*'de yağ asidi metil esterleri içeriklerine bağlı olarak oluşturulacak FAME grupları ile antibiyotiklere duyarlılık arasında bir ilişkinin olup olmadığına yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. *P. s. pv. syringae*'nin Doğu Anadolu Bölgesinde ilk olarak 2002 yılında kayısılarda epidemi yaptığı belirlenmiş (Kotan 2002), daha sonrada yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında da tespit edilmiştir (Kotan ve ark. 2006). Bu bölgede geniş çaplı bir meyvecilik yapılmadığı için yoğun bir ilaçlama da söz konusu değildir. Hastalığın bu bölgeye girişinin, kontrolsüz bir şekilde yapılan hastalıklı fidan satışı ile olduğu sanılmaktadır. Ancak, bu patojenin strainlerinin streptomisin sülfata karşı duyarlılığı ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Yapılan bu çalışmada; farklı konukçu ve coğrafik alanlardan izole edilen *P. s. pv. syringae* strainlerinin tanısının yanı sıra FAME gruplarının belirlenmesi, streptomisin sülfat duyarlılıklarının test edilmesi ve yağ asidi metil esterleri ile

streptomisin duyarlılığı arasında bir ilişkinin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Kullanılan patojen bakteriler

Bu çalışmada; 1999-2001 yılları arasında Kuzey Doğu Anadolu Bölgesi'nde (Erzurum, Kars, Artvin, Erzincan ve Iğdır) meyvecilik yapılan alanlardaki meyve bahçelerinden yumuşak çekirdekli meyvelerden (elma, armut ve ahlat) izole edilen toplam 20 *P. s. pv. syringae* straini kullanılmıştır. Bu strainlerin 16'sı armuttan, 3'ü ahlatan, 1'i ise ayvadan izole edilmiştir. Mikrobial Tanı Sisteminde (MIS) (MIDI, Inc., Newark, DE) strainlerin tanısına ilave olarak tütünde HR ve elmada patojenite testleri de yapılmıştır (Kotan 2002). Tamamı patojen olarak belirlenen bu bakteriler daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere 1/1 oranında %30'luk glycerol ve LB Broth ihtiva eden eppendorf tüpler içerisinde -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Bakteriyel strainlerin yağ asidi metil esterlerinin belirlenmesi

Muhafaza edilen bakteri strainlerinden yağ asidi metil esterlerinin elde edilmesi ve analizi MIS sisteminin standart protokolüne göre yapılmıştır (Paisley 1995). Steril platin bir öze ile test edilecek bakterilerin taze kültürlerinin tek bir kolonisinden, Tryptic Soy Agar (TSA) katı besiyerine 4 fazlı çizgi ekim yapılarak 25 °C 'de 24 sa süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Takiben gelişen bakteri strainlerinin 3. ve 4. fazlarından canlı bakteri hücreleri steril bir öze ile toplanarak ağızları teflon kapaklı steril cam test tüplerine aktarılmış, test tüpleri etiketlenerek ağızları kapatılmıştır. Mikroorganizmaların yağ asitlerini saf olarak izole etmek için 4 farklı çözelti kullanılmıştır. Sırasıyla bakteri hücrelerinin parçalanması (saponification), metilleştirme (methylation), saflaştırma (extraction) ve bazik yıkamayı (base wash) takiben üst fazda toplanan ve yağ asit metil esterleri içeren faz pastör pipeti ile alınarak 2 ml'lik gaz kromatografi tüplerine transfer edilmiş ve ağızları sıkıca kapatılmıştır. Örnekler

MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirildikten sonra, cihaz çalıştırılarak sistem kılavuzunda belirtildiği gibi analiz edilmiş ve tanı sonuçları alınmıştır. Bu testler bütün örnekler için 3 kez tekrar edilmiş ve yüzde olarak en yüksek tanı sonucu kesin sonuç olarak değerlendirilmiştir. Ancak yağ asidi analizleri bu üç raporun ortalamaları üzerinden yürütülmüştür.

Streptomisin sülfat duyarlılık testleri

Bu testler için Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck 1.05458) besiyeri kullanılmıştır (Lelliot ve Stead 1987). Bu amaçla önce bakteriyel strainlerin her birisi ayrı ayrı Nutrient Agara (NA) ekilerek 25°C' de 24 saat geliştirilmiştir. Gelişen kültürlerin 10⁸ hücre/mililitre konsantrasyondaki solüsyonları hazırlanmıştır. Steril eküviyonla daldırılarak her bir strainden 3 TSA içeren petriye yayma ekim yapılmıştır. Her bir petrinin tam ortasına ise sdH₂O ile 100 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan streptomisin sülfatın (Sigma) 15 µL'lik hacimlerde boş disklere (Oxoid) emdirilerek hazırlanmış numuneler yerleştirilmiştir. Kültürler 25°C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda değerlendirme yapılmış ve disk etrafında kültürlerin gelişimlerinin engellendiği bölgenin çapı inhibasyon zonu (mm) olarak ölçülerek, elde edilen değer o bakteri straininin antibiyotiğe duyarlılığının belirlenmesinde kullanılmıştır. Testler 3 tekerrürlü olarak aynı şartlarda 3 kez tekrar edilmiştir. İnhibasyon zonu ≤9 mm olanlar çok dayanıklı (+); 9<19 mm olanlar dayanıklı (++); 19≤29 mm olanlar orta derecede hassas (+++); 29<39 mm olanlar hassas (++++) ve ≥39 mm olanlar ise çok hassas (+++++) olarak değerlendirilmiştir.

İstatistiksel değerlendirmeler

Test edilen strainlerin içerdikleri yağ asidi türleri ve yüzde oranları ve antibiyotik inhibasyon zonları kaydedilerek SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Version 9.0)'de analiz edilmiş, aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Ayrıca strainlerin yağ asidi profillerine göre dendogramları oluşturularak GC grupları belirlenmiştir.

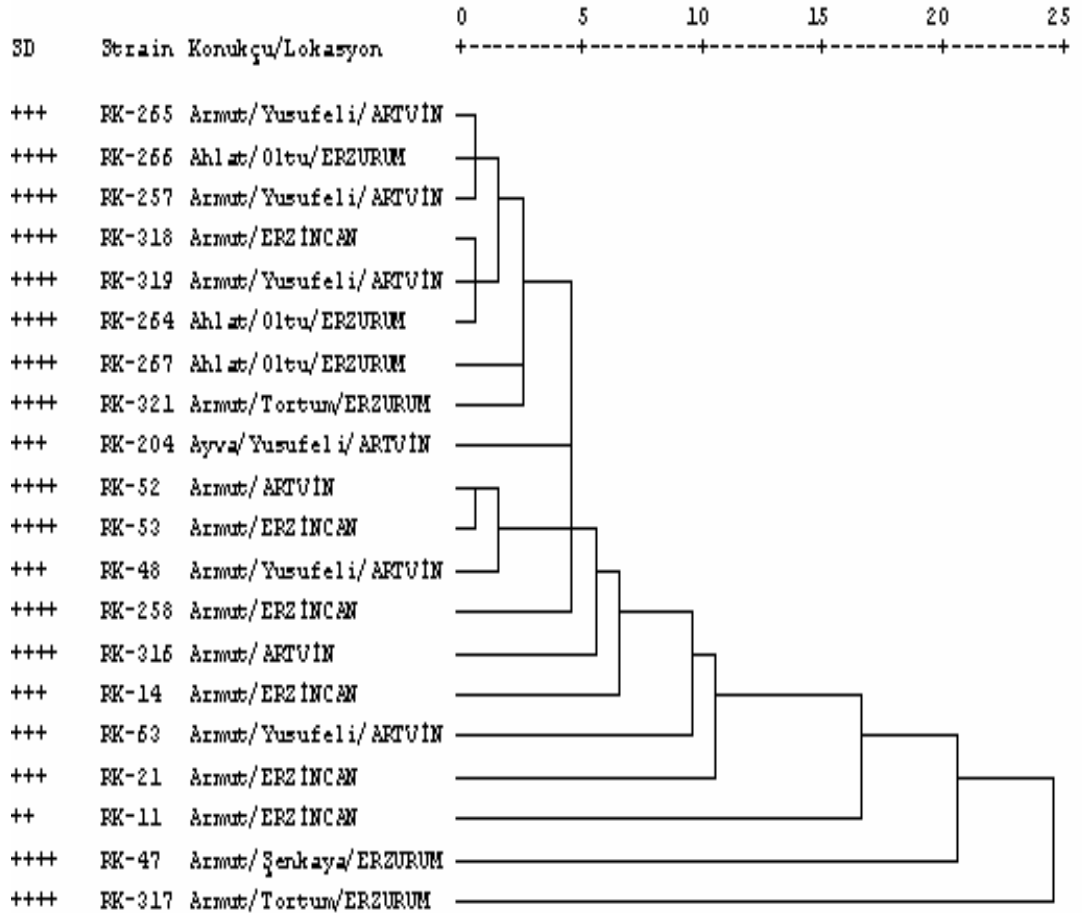
Grupların içerdikleri yağ asidi oranlarının gruplar arasındaki farklılığının önem derecesini belirlemek için Duncan testi yapılmıştır.

Bulgular

Test edilen bakteriyel strainlerin streptomisine karşı duyarlılıkları,

konukçuları, lokasyonları ve FAME grupları aynı tablo üzerinde gösterilmiştir (Tablo 1). Yağ asidi metil esterleri bakımından *P. s. pv. syringae*'nin 4 farklı FAME grubunun olduğu ve gruplar arasındaki farklılığın % 16 ile % 60 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Tablo 1. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strainlerinin streptomisin sülfata duyarlılıkları (SD), strain numaraları (SD), konukçu ve lokasyonları ve FAME grupları



Streptomisine farklı duyarlılıktaki strain sayılarının FAME gruplarına göre dağılımını gösteren sonuçlar Tablo 2'de özetlenmiş ve strain sayıları ile birlikte yüzde oranları (%) da verilmiştir. Bu sonuçlara göre; toplam 20 *P. s. pv. syringae* straininin 1'i (% 5.0) dayanıklı, 6'sı (% 30.0) orta derecede hassas ve 13'ü (% 65.0) hassas olarak belirlenmiştir. Çok dayanıklı ya da çok hassas olarak değerlendirilebilecek bir strain

rastlanmamıştır. Dayanıklılık oranı çok düşük oranda (% 5.5) olup; 2. grupta yer alan tek bir strainde dayanıklılık tespit edilmiş ve geri kalan strainler ve grupların hiç birisinde dayanıklılık görülmemiştir. Dayanıklı bulunan strain armuttan izole edilmiştir.

FAME gruplarının ihtiva ettikleri yağ asitleri yüzde oranları ve istatistikî önem dereceleri Tablo 3'de verilmiştir. Birinci grupta yer alan strainlerde 16:0 yağ asidi

oranının diğer gruplara göre yüksek (% 27.11) olması bu grubun en önemli farklılığı olarak görülmektedir. İkinci grubun en ayırt edici özelliği ise; 12:0 2OH (% 6.60), 12:0 3OH (% 5.59) ve 17:0 cyclo (% 11.43) yağ asitlerinin diğer gruplara oranla bu grupta yüksek bulunmasıdır. Üçüncü grubun en ayırt edici özelliği 18:0 yağ asidinin bu grupta bulunup (% 4.56) diğer gruplarda çok az ya da hiç

bulunmamasıdır. Dördüncü grupta ise; 12:0 3OH (% 1.2), 16:0 (% 20.49) yağ asitleri diğer gruplara göre en düşük düzeyde bulunurken; 11:0 iso 3OH (% 2.59), 12:0 (% 9.46), 16:0 3OH (% 0.92) ve Summed futurun (% 41.89) diğer gruplardan daha yüksek düzeyde görülmüş ve bu da istatistikî olarak diğer her üç gruptakinden farklı bulunmuştur.

Tablo 2. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin dört farklı FAME grubunda streptomisine (100 µg/ml) karşı farklı duyarlılıktaki strain sayıları ve toplam strainler içerisindeki yüzde (%) oranları

Streptomisine duyarlılık*	Streptomisine duyarlı strain sayıları ve % oranları				Toplam strain sayısı ve % oranı
	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	
Çok dayanıklı (+)	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)
Dayanıklı (++)	0 (% 0.0)	1 (% 100)	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)	1 (% 5.0)
Orta derecede hassas (++++)	6 (% 30.0)	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)	6 (% 30.0)
Hassas (++++)	11 (% 55.0)	0 (% 0.0)	1 (% 100)	1 (% 100)	13 (% 65.0)
Çok hassas (+++++)	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)	0 (% 0.0)
Toplam strain sayıları	17	1	1	1	20

* İnhibasyon zonu ≤9 mm olanlar çok dayanıklı (+); 9<19 mm olanlar dayanıklı (++); 19≤29 mm olanlar orta derecede hassas (+++); 29<39 mm olanlar hassas (++++) ve ≥39 mm olanlar çok hassas (+++++) olarak değerlendirilmiştir

Tablo 3. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin dört farklı FAME grubundaki istatistikî olarak önemli bulunan yağ asidi oranları

FAME türleri	FAME oranları (%)*			
	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup
10:0 3OH	3.42 a	3.58 a	2.76 b	8.56 b
11:0 ISO 3OH	0.42 a	0.0 a	0.0 a	2.59 b
12:0	5.30 b	3.66 a	4.27 ab	9.46 c
12:0 2OH	2.68 a	6.60 c	2.60 a	3.91 b
12:0 3OH	3.69 b	5.59 c	3.58b a	1.2 a
16:0	27.11 c	23.83 b	22.91 b	20.49 a
16:0 3OH	0.31 a	0.0 a	0.0 a	0.92 b
17:0 cyclo	1.99 b	11.43 c	0.0 a	0.0 a
18:1 w7c	18.21 b	10.88 a	16.90 b	10.05 a
18:0	0.67 b	0.30 ab	4.56 c	0.0 a
Summed Future	34.17 a	33.09 a	34.40 a	41.89 b
Diğer yağ asitleri**	2.03	1.04	8.02	0.93

* Gruplar arasında istatistikî olarak önemli bulunan yağ asitlerinin benzerliği Duncan testine göre belirlenmiş olup, aynı satırdaki değişik harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemli bulunmuştur (p=0.05)

** Gruplar arasında istatistikî olarak önemsiz bulunan yağ asitlerinin toplamı olarak verilmiştir

Tartışma

P. s. pv. syringae'nin streptomisine karşı dayanıklı strainlerinin bulunduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (Demir ve Gündoğdu 1994, Spotts ve Cervantes 1995, Scheck ve ark. 1996, Sundin ve

Bender 1996, Scheck ve Pscheidt 1998, Cazorla ve ark. 2002, Vanneste ve ark. 2005). Bu çalışmanın sonucunda; çok düşük oranda da olsa (% 5.0) bu patojenin

strainlerinde streptomisine karşı bir dayanıklılığın geliştiği görülmektedir.

Yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlarda; genel olarak aynı gruptaki *P. s. pv. syringae* strainleri arasında yağ asitleri metil ester tür ve oranları bakımından büyük bir benzerliğin olduğu; ancak gruplar arasında ise istatistikî olarak da önemli bulunan farklılıkların olduğu görülmektedir. Bu değişkenlik konukçu ya da izole edildikleri coğrafik alan farklılığından kaynaklanmamaktadır. Streptomisine duyarlılığın ise konukçuya ya da lokasyona bağlı olmadığı; ancak yağ asidi profillerine bağlı olarak bazı yağ asitlerinin önem arz ettiği görülmektedir. Bu grubun diğer gruplardan yağ asitleri açısından en önemli farklılığı; 12:0 2OH, 12:0 3OH ve 17:0 cyclo yağ asitlerinin diğer gruplara göre daha yüksek düzeyde olmasıdır. Yağ asitlerinin antibiyotiklere karşı oluşan dayanıklılık mekanizmasında rollerinin olduğu; ancak yağ asitlerinin etkinliğinin antibiyotik türüne ve bakteri türüne bağlı olarak değiştiği belirtilmektedir (Dunnick ve O'Leary 1970). Yapılan bir çalışmada; *Pantoea ananatis* türünün farklı strainlerindeki 12:0 yağ asidinin bakıra hassas ve dayanıklı strainlerde farklılık arz ettiği belirtilmektedir (Nischwitz ve ark. 2007). Ancak bizim bilgimize göre; streptomisin sülfata dayanıklı *P. s. pv. syringae* strainleri ile bu strainlerin yağ asiti profilleri arasındaki ilişkiyi gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Tarafımızdan yapılan bir çalışmada ise; farklı konukçu ve lokasyondan izole edilen toplam 41 *Erwinia amylovora* straininin streptomisin sülfata karşı duyarlılıkları test edilmiş, strainlerin yağ asidi metil ester (FAME) grupları da belirlenerek patojenin yağ asitleri ve streptomisin sülfata duyarlılıkları arasındaki ilişki araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre strainlerin % 31,7'sinde dayanıklılık tespit edilmiştir. Yağ asidi metil esterleri bakımından ise bu patojenin 4 farklı FAME grubunun olduğu belirlenmiştir. Dayanıklılık oranının 2. grupta en yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. (Kotan ve ark. 2009). Bu çalışmanın sonucunda da; sadece 1 *P. s. pv. syringae* straininde (% 5.0) dayanıklılık tespit edilmiş ve bu patojenin 4 farklı FAME grubunun olduğu

belirlenmiştir. Dayanıklılık oranının 2. grupta en yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. 12:0 2OH (% 6.60), 12:0 3OH (% 5.59) ve 17:0 cyclo (% 11.43) yağ asitleri 2. grupta diğer gruplara oranla daha yüksek oranda belirlenmiştir. Nischwitz ve ark. (2007) yapmış oldukları bir çalışmada *Pantoea ananatis* strainlerinin bakıra duyarlılıkları ile yağ asidi metil esterleri arasında bir ilişkinin olduğunu ve bazı yağ asitlerinin bakıra dayanıklı strainlerin belirlenmesinde ip ucu olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Streptomisin kullanımı bir çok ülkede yasak olmasına rağmen ülkemizde zaman zaman kullanıldığına dair bilgiler mevcuttur. Bu çalışmada dayanıklı strainlere rastlanması da bunu kanıtlamaktadır. Streptomisin duyarlılığı ile yağ asidi metil esterleri arasındaki ilişkinin varlığı bu çalışma ile belirlenmiş olup benzer ilişkilerin farklı antibiyotik duyarlılıkları içinde var olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç

Özetle bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; Doğu Anadolu Bölgesinde *P. s. pv. syringae* strainlerinde çok az bir oranda da olsa streptomisin sülfata karşı dayanıklılığın olduğu belirlenmiştir. Bu patojenin strainlerinin yağ asidi metil ester profilleri ile streptomisin sülfata duyarlılıkları arasında yakın bir ilişkinin olduğu belirlenmiştir. MIS sisteminin bu patojenin tanısında başarılı bir şekilde kullanılabilmesinin yanı sıra, elde edilen FAME profillerinin streptomisin sülfata duyarlılığın da dolaylı olarak bir göstergesi olduğu ve bu sistemin laboratuvar şartlarında antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde yeni bir yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Ancak, farklı tür patojenlerde ve çok sayıda strainde benzer çalışmaların yapılıp sonuçların çok daha ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

Canfield, M.L., S. Baca and L.W. Moore. 1986. Isolation of *Pseudomonas syringae* from 40 Cultivars of

- Diseased Woody Plants with Tip Dieback in Pacific Northwest Nurseries. *Plant Disease* 70: 647-650.
- Cazorla, F.M., E. Arrebola, A. Sesma, A. Perez-Garcia, J.C. Codina, J. Murillo and A. Vicente. 2002. Copper Resistance in *Pseudomonas syringae* Strains Isolated from Mango is Encoded Mainly by Plasmid. *Phytopathology* 92(8): 909-916.
- Demir, G. and M. Gündoğdu. 1994. Bacterial Disease of Food Legumes in the Aegean region of Turkey and Effectivity of Some Seed Treatments Against Bean Halo Blight. *Journal of Turkish Phytopathology* 23(2): 57-66.
- Dunnick, J.K. and W.M. O'Leary. 1970. Correlation of Bacterial Lipid Composition with Antibiotic Resistance. *Journal of Bacteriology* 101(3): 892-900.
- Duran, M., B.Z. Haznedaroglu and D.H. Zitomer. 2006. Microbial Source Tracking Using Host Specific FAME Profiles of Fecal Coliforms. *Water Research* 40: 67-74.
- Ellis, M.A. and L.V. Madden. 2000. Effectiveness of Fosetyl-Aluminum and Streptomycin Alone and in Combination for Control of Blister Spot on 'Mutsu' Apples in Ohio and New York. *Plant Health Progress*, DOI:10.1094/PHP-2000-1204-01-RS.
- Huang, T.C. and T.J. Burr. 1999. Characterization of Plasmids that Encode Streptomycin-Resistance in Bacterial Epiphytes of Apple. *Journal of Applied Microbiology* 86(5): 741-751.
- Jones, A.L. and H.S. Aldwinckle. 1991. Compendium of Apple and Pear Diseases. APS PRESS, The American Phytopathological Society 61-66.
- Kotan, R. 2002. Doğu Anadolu Bölgesi'nde Yetiştirilen Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarından İzole Edilen Patojen ve Saprotik Bakteriye Organizmaların Klasik ve Moleküler Metodlar ile Tanısı ve Biyolojik Mücadele İmkânlarının Araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma. Doktora Tezi. 217.
- Kotan, R. and F. Sahin. 2002. First Record of Bacterial Canker by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, on Apricot Trees in Turkey. *Plant Pathology* 51: 798
- Kotan, R., F. Sahin and A. Ala. 2006. Identification and Pathogenicity of Bacteria Isolated from Pome Fruits Trees in Eastern Anatolia Region of Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection* 113 (1): 8-13.
- Kotan, R., K. Karagöz ve F. Şahin. 2009. Yumuşak Çekirdekli Meyvelerden İzole Edilen *Erwinia amylovora* Strainlerin Streptomisin Sülfata Karşı Duyarlılıkları ve Yağ Asidi Metil Esterleri Profilleri Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi (Baskıda).
- Lelliot, R.A. and D.E. Stead. 1987. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. Black Well Scientific Publication, 157, Oxford.
- Mansvelt, E.L. and M.J. Hattigh. 1986. Pear Blossom Blast in South Africa Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Pathology* 35: 337-343.
- Miller, I. and T. Berger. 1985. Bacteria Identification by Gas Chromatography of Whole Cell Fatty Acids. Hewlett-Packard Gas Chromatography Application Note, Hewlett-Packard Co., Alto, CA. 228-238.
- Nischwitz, C., R. Gitaitis, H. Sanders, D. Langston, B. Mullinix, R. Torrance, G. Boyhan and L. Zolobowska. 2007. Use of Fatty Acid Methyl Ester Profiles to Compare Copper-Tolerant and Copper-Sensitive Strains of *Pantoea ananatis*. *Phytopathology* 97 (10): 1298-1304.
- Paisley, R. 1995. MIS Whole Cell Fatty Acid Analysis by Gas Chromatography. MIDI, Inc., Newark DE 5.
- Romantschuk, M. and D.H. Bamford. 1986. The Causal Agent of Halo Blight in

- Bean, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, Attaches to Stomata via its Pili. *Microbial Pathogenesis* 1: 139-148.
- Roy, M.A. 1988. Use of Fatty Acids for the Identification of Phytopathogenic Bacteria. *Plant Disease*, 72: 460.
- Scheck, H.J. and J.W. Pscheidt. 1998. Effect of Copper Bactericides on Copper-Resistant and Sensitive Strains of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Disease* 82(4): 397-406.
- Scheck, H.J., J.W. Pscheidt and L.W. Moore. 1996. Copper and Streptomycin Resistance in Strains of *Pseudomonas syringae* from Pacific Northwest Nurseries. *Plant Disease* 80(9): 1034-1039.
- Silva, V.L. and C.A. Lopes. 1995. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Resistant to Streptomycin and Oxytetracycline in Tomato Plants Treated or not with Agricultural Antibiotics. *Fitopatologia Brasileira* 20(1): 80-84.
- Sobieczewski, P., C.S. Chiou and A.L. Jones. 1991. Streptomycin-Resistant Epiphytic Bacteria with Homologous DNA for Streptomycin Resistance in Michigan apple Orchards. *Plant Disease* 75: 1110-1113.
- Spotts, R.A. and L.A. Cervantes. 1995. Copper, Oxytetracycline and Streptomycin Resistance of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* Strains from Pear Orchards in Oregon and Washington. *Plant Disease* 79(11): 1132-1135.
- Stead, D.E. 1992. Grouping of Plant Pathogenic and Some Other *Pseudomonas* spp. by Using Cellular Fatty Acid Profiles. *Int. Journal of Systematic Bacteriology* 42: 281-295.
- Sukumar, J., S.D. Padma and U.D. Bongale. 2003. Occurrence of Streptomycin Resistant Pathogenic Strains of *Pseudomonas mori* in Mulberry Gardens of Karnataka. *Agricultural Science Digest* 23(2): 140-142.
- Sundin, G.W. and C.L. Bender. 1996. Molecular Analysis of Closely Related Copper and Streptomycin Resistance Plasmids in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plasmid* 35(2): 98-107.
- Wayne M.C., S.B. Samuels and R.E. Weaver. 1972. Cellular Fatty Acid Composition of Selected *Pseudomonas* Species. *Applied and Environmental Microbiology* 24: 596-598.
- Wayne M.C., S.B. Samuels, J. Liddle and R.M. McKinney. 1973. Occurrence of Branched-Chain Hydroxy Fatty Acid in *Pseudomonas maltophilia*. *Journal of Bacteriology* 12: 1018-1024.
- Vanneste, J.L., G.F. McLaren, J. Yu, D.A. Conzish and R. Boyd. 2005. Copper and Streptomycin Resistance in Bacterial Strains Isolated Stone Fruits Orchards in New Zealand. *New Zealand Plant Protection*