



Alınış tarihi (Received): 30.10.2017
Kabul tarihi (Accepted): 07.12.2017

Baş editor/Editors-in-Chief: Ebubekir ALTUNTAŞ
Alan editörü/Area Editor: İzzet KADIOĞLU

Asma Ur Hastalığı Etmeni *Rhizobium vitis*'in Tokat İli Bağlarında Bulunma Oranı ve Tanılanması

Hacı DURAK^a Sabriye BELGÜZAR^{b*} Rüstem CANGİ^a Yusuf YANAR^{b,c}

^a Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, TOKAT

^b Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, TOKAT

^c Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi, Bişkek, Kırgızistan

*Sorumlu yazar-sabriye.yazici@gop.edu.tr

ÖZET: Bu çalışma, Tokat ili bağlarında asma ur hastalığının bulunma oranının belirlenmesi ve hastalık etmeni *Rhizobium vitis*'in tanılanması amacıyla yapılmıştır. 2015 yılında Haziran-Eylül aylarında Tokat ili Merkez, Pazar, Turhal, Zile, Erbaa ve Niksar ilçelerinde bulunan bağlarda süvey çalışmaları yapılmıştır. Toplanan hastalıklı bitki örneklerinden elde edilen izolatlar Gram reaksiyon, Oksidaz, PDA+CaCO₃ ve %2 NaCl besiyerinde gelişme, Demir amonyum sitrat kullanımı gibi klasik bakteriyolojik tanılama testleri ve moleküler (PCR) analizler ile tanılanmışlardır. Yapılan süvey çalışmalarında 2015 yılında 6 ilçede, 49 köydeki 238 bağda tarama yapılmış ve 23 köyde 42 bağdan toplam 297 adet örnek toplanmıştır. Hastalıklı omcaldaki urlu dokulardan toplam 150 adet bakteri izole edilmiştir. Klasik bakteriyolojik tanılama ve PCR analizi testlerine göre 44 adet izolat *Rhizobium* spp. olarak, 34 tane izolat ise *Rhizobium vitis* olarak tanılanmıştır. İlçeler bazında hastalığın bulunma oranına bakıldığında %30 oran ile en yüksek bulaşıklık Turhal ilçesinde belirlenmiştir. Bunu sırasıyla %14,81 oranı ile Zile, %12,34 ile Erbaa, %11,26 bulaşıklık oranı ile Niksar takip etmiştir. Tokat Merkez'de %7,24'lük bir bulaşıklık tespit edilirken, Pazar ilçesinden toplanan örneklerde hastalık etmenine rastlanılmamıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, Tokat ilinde asmalarda *Rhizobium vitis* ile bulaşıklığın %75,65'lik bir bulunma oranı ile büyük bir öneme sahip olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler – *Vitis vinifera*, *Rhizobium vitis*, asma ur, TOKAT, yaygınlık.

Prevalence and Characterization of Crown Gall Disease Agent *Rhizobium vitis* in Vineyards of Tokat Province

ABSTRACT: This study was carried out to determine the prevalence of grape crown gall disease in Tokat province and to identify the causal agent *Rhizobium vitis*. Survey was conducted in the vine yards, located at Merkez, Pazar, Turhal, Zile, Erbaa and Niksar districts of Tokat province in June-September, 2015. The isolates obtained from diseased plant samples were identified by classical bacteriological diagnostic tests (Gram reaction, Oxidase, growth on PDA + CaCO₃ and 2% NaCl nutrient media, and Iron ammonium citrate use) and molecular (PCR) analyses. In 2015 growing period, surveys were conducted in 238 vineyards located in 49 villages in 6 districts and 297 samples were collected from 42 vineyards in 23 villages. A total of 150 bacteria were isolated from the gall tissues of diseased samples. Based on the classical bacteriological diagnosis and PCR analysis tests results, 44 isolates were identified as *Rhizobium* spp. 34 out of 44 isolates were identified as *Rhizobium vitis*. When the districts were taken into account, the highest infection rate was determined in Turhal with a rate of 30% and followed by Zile, Erbaa and Niksar with 14,81%, 12,34% and 11,26% infection rates respectively. While there was a 7,24% infection in the Central district of Tokat, no cases of disease were found in the samples collected from Pazar district. Based on the results of the study, it was observed that *Rhizobium vitis* has great importance with 75,65% prevalence rate.

Key words: *Vitis vinifera*, *Rhizobium vitis*, grape vine, gall, TOKAT, prevalence

1. Giriş

Üzüm Dünya’da, 7 155 211 ha alanda, 77 181 122 ton üretim miktarı ile en fazla üretilen meyvelerin başında gelmektedir (FAO, 2015). Kültür asmasının (*Vitis vinifera* L.) anavatanları içerisinde yer alan Anadolu’da, bağcılığın geçmişi M.Ö. 3500 yıllarına kadar dayanmakta olup, Türkiye bağcılık tarımı açısından Dünya’da önemli ülkelerden birisidir. Türkiye 2015 yılı verilerine göre, Dünya’da 467 092 ha bağ alanı ile beşinci, üzüm üretim miktarı bakımından ise 3 650 000 ton ile altıncı sırada yer almaktadır (Anonim, 2016).

Ülkemizin önemli bağcılık bölgelerinden birisi de Tokat’tır. Tokat ilinde 6 218 hektarlık alandan yaklaşık 35 902 ton üzüm üretilmekte olup, bölgede yaklaşık 8 000-10 000 ton civarında salamuralık yaprak toplanmaktadır (Anonim, 2015). Bölgede yaş üzüm; sofralık, sıralık (pekmez, köme, tarhana, sirke vb.) olarak ve alkollü içki üretiminde değerlendirilmektedir. Bölgede yapılan çalışmalarda 44 üzüm çeşidinin yetiştiği saptanmış olsa da, yoğun olarak yetiştirilen üzüm çeşidi Narince’dir (Cangi ve ark., 2005; Kılıç ve ark., 2007; Çelik ve ark., 2010). Bölgede bağlar 230 m ile 1100 m rakımları arasında yer almakta olup, bu durum iklimden kaynaklanabilecek zararların oluşmasına ve hastalıkların yayılmasına neden olabilmektedir.

Günümüzde bağcılığın gelişmesini tehdit eden önemli hastalıklardan birisi de *Rhizobium vitis*’in neden olduğu asma ur hastalığıdır. İlk kez Cavara (1897) tarafından bildirilen hastalık etmeni *Bacillus ampelopsarae* olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra, *Agrobacterium tumefaciens* olarak isimlendirilen etmen taksonomik çalışmalar sonucunda *Agrobacterium vitis* olarak isimlendirilmiştir (Ophel ve Kerr, 1990). Günümüzde ise *Rhizobium vitis* olarak adlandırılmaktadır (Young ve ark., 2001; Saygılı ve ark., 2014). Asma ur hastalığı, asmanın toprak üstü kısmında meydana gelir. Etmen iletim demetlerinde ilerleyerek hızlı bir şekilde ur oluşumuna devam eder ve toprağa yakın bölgelerde oluşur. Urlu bitkiler genellikle zayıf sürgün gelişimi gösterir ve ileriki aşamalarda sürgün kuruması ve ölüm gerçekleşir. Özellikle don olayları ur oluşumunu oldukça etkilemekte ve önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Etmen toprakta birkaç yıl canlılığını sürdürebilir. Bitki öz suyu, toprak, sulama suyu, yağmur damlaları, böcekler, budama makasları gibi yollarla çok kolaylıkla diğer sağlıklı bitkilere de bulaşabilir (Küsek ve Aysan, 2008).

Ülkemizde İç Anadolu Bölgesi’nde Argun ve ark. (2002), Mersin, Gaziantep, Kahramanmaraş ve Hatay illerinde Küsek (2007), Konya Hadim, Bozkır ve Güneysınır ilçelerinde Eşitken ve ark. (2012), Trakya, Ege, İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerini kapsayan 9 ilde Canik-Orel ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmalarla asma ur hastalığı ortaya konulmuştur.

Tokat ilinde ise 2014 yılından itibaren bölgede fidancılık sektöründe yaşanan gelişmeler ve değişik kaynaklardan sağlanan destekler bölgede bağcılığın hızlı bir şekilde gelişmesine imkân sağlamaktadır. Tokat ili iklim verileri incelendiğinde düşük sıcaklıkların sıkça yaşandığı, Tokat ili iklim verileri incelendiğinde düşük sıcaklıkların sıkça yaşandığı, bu nedenle de yaklaşık 10 yılda bir, asmalar önemli derecede zarar görmektedir (Topçu ve ark., 2015). Bu da hastalığın bölge bağlarında yayılma potansiyelini artırıcı bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca Tokat bölgesi bağlarında tarafımızca yapılan gözlemlerde, asma ur hastalığına sıkça rastlanılmaktadır.

Bu çalışma ile, 2015 yılında Tokat ili bağ alanlarında asma ur hastalığının bölgede ve bağ alanlarındaki bulunma oranı ortaya konulmuş, hasta bitki örneklerinden elde

edilen izolatların klasik bakteriyolojik testler ve moleküler (PCR) analiz ile tanınması yapılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışmanın ana materyalini Tokat ili Merkez, Niksar, Erbaa, Turhal, Zile ve Pazar ilçelerinde 238 adet bağ alanından toplanan, hastalık şüphesi olan 297 adet ur örneği oluşturmuştur.

İzolasyon çalışmalarında King B, Nutrient Glikoz Agar (NGA), Potato Dextrose Agar (PDA)+CaCO₃, demir amonyum sitrat, Nutrient Broth besi yerleri, çeşitli kimyasallar ve tanılama testlerinde PCR (Iontek, Fermantes, Thermo marka) malzemeleri kullanılmıştır.

Sürvey Çalışmaları ve Etmenin İzolasyonu

Asma ur hastalığının bölgedeki bulunma oranının belirlenmesi için 2015 yılında Tokat ili Merkez, Niksar, Erbaa, Turhal, Zile ve Pazar ilçelerinde bağ alanlarında sürveyler yapılmıştır. Sürvey çalışmaları Haziran–Eylül ayları arasında gerçekleştirilmiştir. Tokat ilinde 6 ilçeden 49 köyde 238 adet bağ alanı gezilerek incelemeler yapılmıştır. Güdümlü örnekleme ile (Argun, 2001) 42 adet bağdan toplam 297 adet örnek toplanmıştır.

Laboratuara getirilen örnekler ilk olarak çeşme suyu ile yıkanmıştır. Daha sonra %70'lik alkolle yüzey dezenfeksiyonuna tabii tutulan örnekler 3 kez steril saf su ile yıkanmıştır. Bir bistüri ile urun üst tarafı hafifçe soyulmuş ve alttaki taze canlı dokudan küçük parçalar alınmıştır. Daha sonra alınan parçalar steril porselen havan içerisinde ezilerek steril fizyolojik tuzlu su (salinebuffer-%0,85 NaCl) içerisinde homojenize edilmiştir. Bir saat bekletildikten sonra bu süspansiyondan bir öze dolusu alınarak King B besi yerine ekim yapılmıştır. Petriler 26°C'de 48 saat süre inkübasyona bırakılmıştır (Küsek, 2007). İnkübasyon süresi sonunda petrilerde gelişen koloniler incelenmiş ve krem renkli kısmen şeffaf, etrafı düz, yuvarlak ve konveks koloni morfolojisine sahip olan koloniler saflaştırılmıştır. Saflaştırılan izolatlar Gliserol ve Nutrient Broth içerisinde -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Asma Ur Hastalık Etmeninin (*Rhizobium vitis*) Tanınması

Gram Reaksiyon Testi

Gram reaksiyon testinde %3'lük Potasyum Hidroksit solüsyonu kullanılmıştır. Lam üzerine bir damla solüsyondan damlatılmış, 48 saatlik *Rhizobium vitis* izolatları bir plastik öze ile alınarak solüsyonla karıştırılmıştır. Öze yukarı doğru kaldırıldığında lam üzerinde viskoz, yapışkanimsi bir uzamanın oluşması ile sonuç Gram negatif, uzamanın oluşmaması ile Gram pozitif olarak değerlendirilmiştir (Sands, 1990).

Oksidaz Testi

Oksidaz testinde, %1'lik N;N;N;N'-Tetramethyl-1,4-phenylenediammonium diclorid eriyiği kullanılmıştır. Hazırlanan eriyik steril filtre kağıdına bir damla damlatılmıştır. King B besi yerinde 48 saat geliştirilen bakteri izolatları steril bir kürdan ile alınarak eriyik damlatılmış kurutma kağıdına çizilmiş ve mor renk oluşumuna göre pozitif olarak değerlendirilmiştir. 10 saniye içinde oluşan koyu mor renk pozitif, 10 ile 60 saniye arasında koyu mor olanlar zayıf pozitif ve mor oluşturmayanlar negatif olarak değerlendirilmiştir (Kovacs, 1956).

PDA+CaCO₃ Besi Yerinde Asit Temizleme

İzolasyonlar sonucu elde edilen bakteri izolatları Potato Dekstrose Agar (PDA) içerisine CaCO₃ eklenerek hazırlanan PDA+CaCO₃ besiyerine ekilmiş ve petrilere 26°C'de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. 2 günlük inkübasyon süresi sonucunda koloniler etrafında besiyerinde saydamlaşma görülen izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Moore ve ark., 2001; Küsek, 2007).

%2 NaCl İçeren Besi Yerinde Gelişme

Elde edilen bakteri izolatları %2 NaCl ilave edilmiş Nutrient Glikoz Agar (NGA) besiyerine ekilmiş ve petrilere 26°C'de inkübatörde inkübe edilmiştir. 2 günlük inkübasyon süresi sonucunda besiyerinde koloni gelişimi gösteren izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Moore ve ark., 2001; Küsek, 2007).

Demir Amonyum Sitrata Kullanımı

King B besiyerinde 48 saat geliştirilen bakteri izolatlarının demir amonyum sitrat besiyeri içeren tüplere ekimi yapılmıştır. İnokule yapılan tüpler 26°C'de inkübatörde inkübe edilmiştir. 2 günlük inkübasyon süresi sonucunda, tüplerde oluşan kiremit renginde bir tabaka pozitif olarak değerlendirilmiştir (Moore ve ark., 2001).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile *Rhizobium vitis* İzolatlarının Tanınması

Hastalıklı dokulardan izole edilen ve klasik tanı ile tanınan 120 adet *Rhizobium* spp. izolatı ile tanıyı destekleyici PCR çalışması yapılmıştır. PCR çalışması, bakteri kültürleri ile doğrudan yapılmıştır (Abolmaaty ve ark., 2000). *Rhizobium* spp.'ye spesifik olan Prim A (5'-ATG CCC GAT CGA GCT CAA GT-3') ve Prim C (5'-TCG TCT GGC TGA CTT TCG TCA TAA-3') primer dizilimleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında %1'lik agaroz jel üzerinde Hass ve ark. (1995)'nin bildirdiği gibi 224 bp büyüklüğünde bant oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir. Yapılan PCR çalışması sonucu, *Rhizobium* spp. olarak belirlenen 34 izolat ile *Rhizobium vitis*'e spesifik olan virA (5' TTCAGTCGCGCAAGCAGTT 3' ile 5' CGGCAATTCGTATCACGGA 3') primer dizilimleri kullanılarak yapılan PCR çalışmasında ise %1'lik agaroz jel üzerinde Eastwell ve ark. (1995)'nin bildirdiğine göre 480 bp büyüklüğünde bant oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir.

İl Genelinde Etmenin Bulunma Oranının Belirlenmesi

Arazi surveyleri sonucu elde edilen izolatlar ile yapılan klasik ve moleküler tanılama testlerinden sonra Tokat Merkez ve ilçelerinde hastalık etmeninin bulunma oranının belirlenmesi için aşağıda belirtilen formül kullanılmıştır (Altınparmak ve Baştaş, 2011).

$$IB (\%) = \frac{\sum ibt}{\sum its} \times 100$$

IB= Etmenin bulunma oranı

$\sum ibt$ = ildeki etmenle bulaşık örnek sayısı

$\sum ibs$ = ilden toplanan toplam örnek sayısı

3. Bulgular ve Tartışma

2015 yılında Haziran-Eylül ayları arasında Tokat ili bağ alanlarında yapılan surveyler sonucu, araştırma döneminde altı ilçede 49 köyde 238 bağda tarama yapılmış olup, 23 köyden toplam 42 adet bağdan toplam 297 adet örnek alınmıştır. Araştırmada survey döneminde bazı bağlarda yapılan morfolojik gözlemlerde hastalıklı asmalara rastlanırken bazı bağlarda rastlanmamıştır.

İzolasyon işlemleri ur örneği alınan hastalıklı dokulardan yapılmıştır. Taze urlu dokulardan King B besi yerinde yapılan izolasyonlarda krem renkli, fluoressan olmayan, kısmen şeffaf, etrafı düz ve konveks koloniler seçilmiş ve saf kültürleri elde edilmiştir.

Sürvey çalışmaları sonucu elde edilen izolatlarda yapılan klasik bakteriyolojik testler ve PCR çalışmalarına ait sonuçlar Çizelge 1.'de verilmiştir. Çizelge 1'de görüldüğü üzere, örneklerden elde edilen 150 izolat ile yapılan Gram reaksiyon testine göre, 149 izolat (%99) Gram negatif olarak değerlendirilmiştir. Yapılan Oksidaz testinde ise, bölge izolatları N;N;N;N'- Tetramethyl- 1,4-phenylenediammonium diclorid eriyiği emdirilmiş filtre kağıdına bir kürdan yardımıyla sürülmüş ve 10 saniye içerisinde 150 izolatın 141 tanesinin (%94) pozitif sonuç verdiği gözlemlenmiştir. 148 izolat ile PDA+CaCO₃ besi yerinde asit temizleme testinde ise, 55 izolatın (%37) pozitif sonuç verdiği saydamlaşma oluşturduğu gözlemlenmiştir. 150 izolattan 148 tanesinin ise %2 NaCl içeren besi yerinde gelişme gösterdiği belirlenmiştir. 123 izolat ile yapılan Demir amonyum sitrat testinde ise 93 örnekte (%76) tüpler üzerinde koyu kiremit renginde kaymak tabakasının oluştuğu görülmüştür (Çizelge 1).

Urlardan elde edilen ve klasik bakteriyolojik testler ile değerlendirmesi yapılan 120 izolat ile *Rhizobium* spp.'ye spesifik olan Prim A (5'-ATG CCC GAT CGA GCT CAA GT-3') ve Prim C (5'-TCG TCT GGC TGA CTT TCG TCA TAA-3') primer dizilimleri kullanılarak PCR çalışması yapılmıştır. Çalışma sonucunda 120 izolattan 44'ünün (%37) %1'lik agaroz jel üzerinde 224 bp büyüklüğünde spesifik bantlar oluşturduğu saptanmıştır (Çizelge 1). Çalışmanın devamı olarak *Rhizobium* spp. olarak belirlenen 44 tane izolat içerisinde seçilen 34 izolat ile yapılan PCR çalışmasında ise, *Rhizobium vitis*'e spesifik olan virA (5'TTCAGTCGCGCAAGCAGTT 3' ile 5' CGGCAATTCGTATCACGGA 3') primer dizilimleri kullanılmıştır. PCR çalışması sonucu testlemesi yapılan 34 izolatın 34'ü %1'lik agaroz jel üzerinde 480 bp büyüklüğünde spesifik bant oluşturmuştur (Çizelge 2).

Çizelge 1. Urlu dokulardan elde edilen izolatlar ile yapılan klasik bakteriyolojik testler ve *Rhizobium* spp. ile spesifik primerler ile yapılan PCR çalışması sonuçları

Table 1. Classical bacteriological tests with isolates obtained from cancerous tissues and *Rhizobium* spp. PCR results with specific primers

Bağın Kodu*	Mevki	İzolat Kodu	Gram Reaksiyonu	Oksidaz Testi	Demir Amonyum Sitrat Kullanımı	%2'lik NaCl'de Gelişme	PDA+CaCO ₃ Besi Yerinde Asit Temizleme	PCR
E1	Ballıbağ	E-1-2-c	-	+		+	-	
E1	Ballıbağ	E-1-5-a	-	+	ZY	+	-	
E1	Ballıbağ	E-1-5-b	-	+	O	+	-	+
E1	Ballıbağ	E-1-2-b	-	+	K	+	+	
E1	Ballıbağ	E-1-2-a	-	+	O	+	-	
E2	Üzümlü	E-2-1-d	-	+	ZY	+	+	
E2	Üzümlü	E-2-1-c	-	+	ZY	+	+	
E2	Üzümlü	E-2-1-b						
E2	Üzümlü	E-2-1-b						
E3	Üzümlü	E-3-1-c	-	+	O	+	+	
E3	Üzümlü	E-3-2-a	-	+		+	-	
E3	Üzümlü	E-3-1-a	-	+		+	-	
E3	Üzümlü	E-3-1-b	-	+		+	-	
E4	Belpınarı	E-4-2-a	-	+	ZY	+	+	
E4	Belpınarı	E-4-2-b	-	+	ZY	+	-	
E4	Belpınarı	E-4-1-b	-	+	O	+	+	
E4	Belpınarı	E-4-8-a	-	+	O	+	+	

E4	Belpınarı	E-4-8-b	-	+	O	+	+	
E4	Belpınarı	E-4-8-c	-	+	O	+	-	
E5	Bağpınar	E-5-2-a	-	+	O	+	-	+
E5	Bağpınar	E-5-1-a	-	+	O	+	-	
E6	Bağpınar	E-6-1-a	-	+		+	-	
E6	Bağpınar	E-6-2-a	-	+	ZY	+	-	+
E6	Bağpınar	E-6-2-b	-	+		+	-	
E6	Bağpınar	E-6-5-a	-	+	O	-	-	
E6	Bağpınar	E-6-5-b	-	+	ZY	+	-	
E7	Uluyolaltı	E-7-1-a	-	+	ZY	+	-	+
E8	Doğanyurt	E-8-2-a	-	+	O	+	+	+
E8	Doğanyurt	E-8-2-b	-	+		+	+	
E8	Doğanyurt	E-8-2-c	-	+	ZY	+	+	
E8	Doğanyurt	E-8-1-a	-	+	O	+	+	+
E8	Doğanyurt	E-8-1-b	-	+		+	+	
E9	Doğanyurt	E-9-4-d						
E9	Doğanyurt	E-9-6-a	-	+	K	+	-	
E9	Doğanyurt	E-9-6-b	-	+	ZY	+	-	
E9	Doğanyurt	E-9-6-c	-	+	K	+	-	
E9	Doğanyurt	E-9-2-d	-	+	K	+	+	
E9	Doğanyurt	E-9-4-c	-	+	K	+	+	
E9	Doğanyurt	E-9-2-b	-	+	K	+	+	
E9	Doğanyurt	E-9-4-a	-	+	K	+	+	
E9	Doğanyurt	E-9-4-b	-	+	K	+	+	
E10	Karabulak	E-2-1-9-a	-	-	K	+	+	
E10	Karabulak	E-2-1-9-b	-	-	O	+	+	
E10	Karabulak	E-2-1-6-a	-	+	K	+	+	
E10	Karabulak	E-2-1-6-b	-	+	K	+	+	
E10	Karabulak	E-2-1-7-b		+	ZY	+	-	
E10	Karabulak	E-2-1-7-a	-	+	O	+	+	
E11	Salkımören	E-2-2-9-a	+	+	O	+	+	
E11	Salkımören	E-2-2-9-b	-	+		+	-	
E11	Salkımören	E-2-7-2						
E11	Salkımören	E-2-7-2						
E12	Taşlıyatak	E-2-3-9-a						
E12	Taşlıyatak	E-2-3-3	-	+		+	-	+
E12	Taşlıyatak	E-2-3-2-b	-	+	O	+	-	
E12	Taşlıyatak	E-2-3-4-a	-	+	ZY	+	-	+
E12	Taşlıyatak	E-2-3-4-b	-	+	ZY	+	-	
E12	Taşlıyatak	E-2-3-4-c	-	+	ZY	+	-	+
E12	Taşlıyatak	E-2-3-4-d	-	+	ZY	+	-	
E14	Ağcaalan	E-2-5-1-a	-	+	ZY	+	+	+
E14	Ağcaalan	E-2-5-1-b	-	-	O	+	+	+
E14	Ağcaalan	E-2-5-1-c	-	+	K	+	+	+
M1	Büyükyıldız	M-1-6-b						+
M2	Güryıldız	M-2-4-a	-	+	K	+	-	
M3	Küçükbağlar	M-2-1-2-b	-	+	O	+	-	
M3	Küçükbağlar	M-2-1-2-c	-	+	O	+	-	+
M3	Küçükbağlar	M-2-1-2-a	-	+	O	+	-	+
M4	Küçükbağlar	M-2-2-9-a	-	+	O	+	-	
M4	Küçükbağlar	M-2-2-9-b	-	+	K	+	-	
M4	Küçükbağlar	M-2-2-9-c	-	+	O	+	-	
M4	Küçükbağlar	M-2-2-10-a	-	+	O	+	-	+
M4	Küçükbağlar	M-2-2-10-b	-	+	K	+	-	+
M4	Küçükbağlar	M-2-2-7-b	-	-	K	+	+	
M4	Küçükbağlar	M-2-2-7-c	-	+		+	-	
M5	Emirsevit	M-2-3-6-b	-	+	K	+	+	

M5	Emirseyyit	M-2-3-9-a	-	-	ZY	+	+	
M5	Emirseyyit	M-2-3-9-b	-	+	O	+	-	
M5	Emirseyyit	M-2-3-9-c	-	+	O	+	+	+
M5	Emirseyyit	M-2-3-6-a	-	+		+	-	
N1	Gözpınar	N-1-9-a	-	+	K	+	-	
N1	Gözpınar	N-1-9-b	-	+	K	+	-	
N1	Gözpınar	N-1-6-b	-	+	O	+	-	
N1	Gözpınar	N-1-6-a	-	+		+	-	
N1	Gözpınar	N-1-5	-	+		+	-	
N1	Gözpınar	N-1-1-a	-	+	O	+	-	
N1	Gözpınar	N-1-1-b	-	+	O	+	+	
N1	Gözpınar	N-1-1-c	-	+	O	+	+	
N1	Gözpınar	N-1-6-a	-	+		+	-	+
N1	Gözpınar	N-1-6-b	-	+		+	-	+
N2	Yanıktepe	N-2-1-a	-	+		+	+	
N2	Yanıktepe	N-2-1-b	-	+	K	+	+	
N2	Yanıktepe	N-2-1-c	-	+		+	-	
N2	Yanıktepe	N-2-3-a	-	+	O	+	-	
N2	Yanıktepe	N-2-3-b	-	+	O	+	-	+
N2	Yanıktepe	N-2-5-a	-	+	O	+	-	+
N2	Yanıktepe	N-2-5-b	-	+	K	+	-	+
N3	Sarıgüllük	N-3-6-a	-	-	O	+	+	
N3	Sarıgüllük	N-3-6-b	-	-	O	+	+	
N3	Sarıgüllük	N-3-4	-	+	O	+	-	+
N3	Sarıgüllük	N-3-2-a	-	+	O	+	+	
N3	Sarıgüllük	N-3-2-d	-	+	ZY	+	+	
N3	Sarıgüllük	N-3-2-b	-	+	ZY	+	-	+
N3	Sarıgüllük	N-3-2-c	-	+	ZY	+	+	
N4	Gökçeli	N-4-2-a	-	+	O	+	-	
N4	Gökçeli	N-4-2-b	-	+	K	+	-	+
N4	Gökçeli	N-4-4-a	-	+	ZY	+	-	
N4	Gökçeli	N-4-4-b	-	+	ZY	+	-	+
N4	Gökçeli	N-4-3-b	-	+	O	+	+	+
N4	Gökçeli	N-4-3-a	-	+	K	+	-	+
N4	Gökçeli	N-4-3-c	-	+	O	+	-	
N6	Yakınca	N-2-2-9	-	+	K	+	+	
P1	Üzümören	P-1-5-a	-	+		+	-	
P1	Üzümören	P-1-5-b	-	+	K	+	-	
P1	Üzümören	P-1-5-c	-	+	O	+	-	
T1	Çarıksız	T-1-2-a	-	+		+	-	
T1	Çarıksız	T-1-2-b	-	+	O	+	+	
T1	Çarıksız	T-1-1-a	-	+	O	+	-	+
T1	Çarıksız	T-1-1-b	-	+		+	-	
T1	Çarıksız	T-1-1-c	-	+	O	-	-	
T2	Kızıltepe	T-2-1-a	-	+	K	+	-	+
T2	Kızıltepe	T-2-1-b	-	+	O	+	-	+
Z1	Kireçli	Z-1-1-d	-	+		+	-	
Z1	Kireçli	Z-1-1-a	-	+	ZY	+	-	
Z1	Kireçli	Z-1-1-b	-	+		+	-	
Z1	Kireçli	Z-1-1-c	-	+		+	-	+
Z1	Kireçli	Z-1-2-a	-	+	ZY	+	-	
Z1	Kireçli	Z-1-2-b	-	+		+	-	+
Z2	Kumocağıyolu	Z-2-5-a	-	+	K	+		
Z2	Kumocağıyolu	Z-2-2-b	-	+	ZY	+		
Z2	Kumocağıyolu	Z-2-2-c	-	+	ZY	+	-	
Z2	Kumocağıyolu	Z-2-2-a	-	+	K	+	-	+
Z2	Kumocağıyolu	Z-2-2-d	-	+	K	+	-	
Z2	Kumocağıyolu	Z-2-5-b	-	+	ZY	+	-	+

Z2	Kumocacıyolu	Z-2-3-a	-	+	O	+	-	+
Z2	Kumocacıyolu	Z-2-3-b	-	+	O	+	-	+
Z2	Kumocacıyolu	Z-2-4-a	-	+	O	+	-	
Z2	Kumocacıyolu	Z-2-4-b	-	+	O	+	-	+
Z3	Kumocacıyolu	Z-3-2-a	-	+	K	+	-	
Z3	Kumocacıyolu	Z-3-2-b	-	+	K	+	+	
Z3	Kumocacıyolu	Z-3-2-c	-	+	K	+	+	
Z3	Kumocacıyolu	Z-3-1-a	-	+	O	+	+	
Z3	Kumocacıyolu	Z-3-1-b	-	-	O	+	+	
Z3	Kumocacıyolu	Z-3-1-c	-	+	K	+	+	
Z3	Kumocacıyolu	Z-3-1-d	-	-	K	+	+	
Z3	Kumocacıyolu	Z-3-3-a	-	+	K	+	-	
Z3	Kumocacıyolu	Z-3-3-b	-	+	O	+	+	+
Z4	Olukman	Z-4-1-a	-	+		+	-	
Z4	Olukman	Z-4-1-b	-	+		+	+	+
Z4	Olukman	Z-4-1-c	-	+	K	+	+	+
Z5	Güzelbeyli	Z-5-5-a	-	+		+	-	
Z5	Güzelbeyli	Z-5-5-b	-	+		+	-	
Z5	Güzelbeyli	Z-5-3-a			O	+	+	
Z6	Güzelbeyli	Z-2-2-1-b	-	+		+	-	
Z6	Güzelbeyli	Z-2-2-2-b			ZY	+	-	
Z9	Arapbağları	Z-2-5-2-a	-	+	K	+	-	
Z9	Arapbağları	Z-2-5-2-b	-	+	K	+	+	
Z12	Olukman	Z-2-8-5-a	-	+	O	+	-	+
Z12	Olukman	Z-2-8-5-b	-	+	K	+	-	
Z12	Olukman	Z-2-8-5-c	-	+	O	+	-	

*E: Erbaa, P: Pazar, N: Niksar, T: Turhal, Z: Zile, K:Kuvvetli, O: Orta kuvvetli, ZY: Zayıf

Çizelge 2. *Rhizobium vitis*'e spesifik primerler ile yapılan PCR çalışması sonuçları

Table 2. Results of PCR studies with *Rhizobium vitis*-specific primers

Sıra No	İzolot Kodu	İzolotın Elde Edildiği Yer	PCR
1	N-2-5/b	Gözpınar-Yanıktepe/Niksar	+
2	M-2-2-10/b	Güryıldız-Dalgındibi/Merkez	+
3	M-2-1-2/a	Güryıldız-Dalgındibi/Merkez	+
4	E-7-1/a	Bağpınar /Erbaa	+
5	N-3-4	Gökçeli-Sarıgüllük/Niksar	+
6	N-4-3/a	Gökçeli/Niksar	+
7	N-4-3/b	Gökçeli /Niksar	+
8	Z-2-8-5/a	Kireçli/Zile	+
9	N-3-2/b	Gökçeli-Sarıgüllük/Niksar	+
10	E-8-1/a	Doğanyurt/Erbaa	+
11	M-1-6/a	Büyükyıldız-Kızılyer/Merkez	+
12	Z-2-3/a	Kireçli/Zile	+
13	E-6-2/a	Bağpınar /Erbaa	+
14	Z-2-5/b	Kireçli/Zile	+
15	T-2-1/b	Çarıksız-Kızıltepe/Turhal	+
16	Z-1-1/c	Kireçli-Sakallı/Zile	+
17	E-2-3-4/a	Üzümlü/Erbaa	+
18	Z-2-2/a	Kireçli/Zile	+
19	E-2-5-1/b	Üzümlü/Erbaa	+
20	Z-4-1/b	Olukman/Zile	+
21	T-2-1/a	Çarıksız-Kızıltepe/Turhal	+
22	N-1-6/a	Gözpınar/Niksar	+
23	E-1-5/b	Ballıbağ/Erbaa	+
24	E-8-2/a	Doğanyurt/Erbaa	+
25	E-5-2/a	Bağpınar-Uzunpara/Erbaa	+
26	Z-2-3/b	Kireçli/Zile	+
27	E-2-6/a	Üzümlü/Erbaa	+
28	M-2-1-2/c	Güryıldız-Dalgındibi/Merkez	+
29	N-2-5/a	Gözpınar-Yanıktepe/Niksar	+

30	E-2-5-1/a	Üzümlü/Erbaa	+
31	M-2-2-10/a	Güryıldız-Dalgındibi/Merkez	+
32	N-4-2/b	Gökçeli /Niksar	+
33	Z-2-4/b	Kireçli/Zile	+
34	T-1-1/a	Çarıkısız-Oduncuoğlu/Turhal	+

Rhizobium vitis izolatlarının tanılanmasında kullanılan testlerin sonuçları, birçok araştırmacı tarafından yapılan test sonuçları ile paralellik göstermektedir. Küsek (2007) tarafından yapılan çalışmada, Mersin, Gaziantep, Hatay, Adıyaman ve Kahramanmaraş illerinde hastalıklı asma bitkilerindeki urlu dokulardan toplam 47 adet bakteri elde etmişlerdir. PDA+CaCO₃ besi yerinde asit temizleme, Laktozdan 3-Ketolaktöz üretimi, Demir amonyum sitrat kullanımı, %2 NaCl içeren besi yerinde gelişme, Sakkaroz ve Eritritol'den asit üretimi, Oksidaz testi, Sitrat kullanımı, Litmus Milk'de reaksiyon, Malonik asitten alkali oluşturma, Mucic ve L-tartarik asitten alkali oluşturma, 35°C'de gelişme gibi klasik bakteriyolojik tanılama teknikleri, patojenite testleri ve PCR, Yağ asit analizleri ile *Rhizobium vitis* izolatlarını tanılamışlardır.

Benzer sonuçlar, Altınparmak ve Baştaş (2011) tarafından yürütülen çalışmada da elde edilmiştir. Konya ili bağ alanlarından elde ettikleri 280 adet *Rhizobium vitis* izolatının tanılanmasında Roy ve Sarrer, King B, PDA besi yerlerinde gelişim, 37°C'de gelişim, 3-ketolaktöz oluşumu, %2'lik NaCl'de gelişim, L-tartarik asitten ve melonik asitten alkali oluşumu, sitrat kullanımı, pH=4,5'da pektolitik aktivite, pH=7'de hareketlilik, litmus milk testi, erytritrol ve melezitöz'dan asit oluşumu, demir amonyum sitrat, PDA+CaCO₃'de asit temizleme, patojenite testleri ve PCR analizi yapmışlardır. Ignatov ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada da, asmalardan alınan ur örneklerini PCR analizleri ile *virD2* genindeki *virD2A/2C* ile teyit etmişlerdir. PGF/PGR primerleri *Rhizobium vitis* ve *Rhizobium radiobacter* izolatlarını ayırt etmekte kullanılmıştır. PCR çalışması sonucu 69 adet izolatın 18 tanesi *Rhizobium vitis* olarak tanılanmıştır.

Yapılan klasik bakteriyolojik testler ve PCR analizi sonucunda il genelinde hastalığın bulunma oranı %75,65 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). İlçeler bazında incelendiğinde %30 oran ile en yüksek bulaşıklık Turhal ilçesinde belirlenmiştir. Bunu sırasıyla %14,81 oranı ile Zile ilçesi, %12,34 oranı ile Erbaa, %11,26 bulaşıklık oranı ile Niksar takip etmiştir. Tokat Merkez'de %7,24'lük bir bulaşıklık tespit edilirken, Pazar ilçesinden toplanan örneklerde hastalık etmenine rastlanılmamıştır.

Çizelge 3. Tokat ilinde hastalık etmenin bulunma oranı

Table 3. The disease incidence rate in Tokat province

İlçeler	Örnek sayısı	<i>Rhizobium</i> spp. ile bulaşıklık oranı (%)	<i>Rhizobium vitis</i> ile bulaşıklık oranı (%)
Turhal	10	30	30
Zile	54	20,37	14,81
Erbaa	81	14,81	12,34
Niksar	71	15,49	11,26
Merkez	69	8,69	7,24
Pazar	12	0	0
Toplam	297	89,36	75,65

Bağ alanlarında asma ur hastalığının varlığı ile ilgili çeşitli araştırmacılar tarafından benzer çalışmalar yürütülmüştür. İran'ın Karaj ve Takesta bölgesindeki bağlarda yapılan arazi sürveylerinde toprak, bitki öz suyu ve taze urlardan *Rhizobium* spp. izolatları elde edilmiştir. Yapılan patojenite ve moleküler tanılamalar sonrasında, *Rhizobium vitis*'in İran izolatlarının tamamının fenotipik olarak heterojen ve fark edilebilir olduğu sonucuna

varılmıştır (Mohammadi ve Fatehi-Peykani, 1999). Küsek (2007) tarafından Mersin, Adana, Osmaniye, Hatay, Gaziantep, Adıyaman ve Kahramanmaraş illerinde bulunan bağ alanlarında yapılan çalışmada ise, hastalıklı asma bitkilerindeki urlu dokulardan toplam 47 adet ur oluşturan patojen bakteri izole etmiştir. Klasik bakteriyolojik tanılama teknikleri, PCR, yağ asit analizi ve patojenite testlerine göre izole edilen tüm izolatlar *Rhizobium vitis* olarak tanılanmıştır.

Benzer bir çalışma Argun (2001) tarafından Ankara, Kırıkkale, Konya, Karaman ve Nevşehir illerinde yapılmış olup, Ankara'dan 6, Nevşehir'den 7, Konya'dan 9, Kırıkkale'den 2 ve Karaman'dan 3 olmak üzere toplam 27 köydeki bağların asma ur hastalığı etmeni *Rhizobium vitis* ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Yapılan izolasyonlar sonucu toplam 57 adet *Rhizobium vitis* izolatu elde edilmiş olup, hepsinin asma dallarında ur, sürgün ve kökte nekroz ve ayrıca tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu (HR) oluşturduğu belirlenmiştir. Çalışmanın devamı olarak yapılan dayanıklılık çalışmalarında da, Hafızali ve Cardinal üzüm çeşitlerinde ur oluşmazken, AlicanteBouschet ve Kadın Parmağı en duyarlı çeşitler olarak bulunmuştur. Anaçların çeşitlere göre daha dayanıklı olduğu, 44-53 M ve 1 103 P'nin ise denenen diğer anaçlara göre daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

Konya ilinde 24 ilçede 2007-2008 yıllarında Altınparmak ve Baştaş (2011) tarafından yürütülen çalışmada da, Konya ili genelinde asmaların etmenle bulaşıklık oranı %90,61 olarak belirlenmiştir. Toplanan 309 örneğin 280'inde *Rhizobium vitis* belirlenmiştir. Arazi sürveyleri sırasında alınan bilgiler doğrultusunda, hastalık etmeninin en fazla Sultani Çekirdeksiz, Cardinal ve Hafızali çeşitlerinde, en az Ekşi Kara çeşidinde görüldüğü belirlenmiştir.

Rusya'nın Karadeniz kıyısında İgnatov ve ark. (2015) tarafından yürütülen çalışmada da, şaraplık üzüm yetiştirilen 15 bağın 9'unda asma ur hastalığına rastlanılmıştır. Elde edilen izolasyonlar ile yapılan PCR çalışması sonuçlarına göre 69 adet izolatuın 18 tanesi *Rhizobium vitis* olarak tanılanmıştır.

4. Sonuç

Tokat ili ekolojisi bağ kanseri için uygun koşullara sahip olup, bağ üreticileri de bağ kanseri konusunda yeterli bir bilgiye sahip değildir. Tokat ilinde özellikle salamura asma yaprak kalitesi ve kaliteli beyaz şaraplık bir üzüm çeşidi olan Narince üzümünden elde edilen gelir, bölge için son derece önemlidir. Bölgede bağcılık son yıllarda hızlı bir şekilde gelişmeye devam etmekte olup, Narince ülkemizde fidanı en fazla üretilen ikinci çeşit konumuna gelmiştir. Bölgede önemli bir sektör olan bağ alanlarında son yıllarda bağ tesisinde kullanılan asma fidanlarında *Rhizobium vitis*'in tanılanması, bölgedeki yoğunluğunun ortaya konulması, sürdürülebilir bir üretim için son derece önemlidir.

Bu çalışma ile 2015 yılında Tokat Merkez, Erbaa, Zile, Niksar, Pazar ve Turhal ilçelerinde bulunan 238 bağda Haziran ve Eylül olmak üzere iki dönemde survey çalışmaları yapılmıştır. 23 köyde 42 bağdan toplam 297 adet örnek toplanmıştır. Yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen 150 izolat ile klasik bakteriyolojik testler ve moleküler analizler sonucu tanılama yapılmıştır. PCR çalışması sonucu 34 tane izolat *Rhizobium vitis* olarak tanılanmıştır. İlçeler bazında asma ur hastalığı en yüksek Turhal ilçesinde, en düşük Pazar ilçesinde belirlenmiş olup, il genelinde hastalığın bulunma oranı %75,65 olarak belirlenmiştir.

Tokat bölgesindeki üzüm/yaprak üreticiler bağlarda budama ve toprak işleme aşamasında kullandıkları alet ekipmanların sanitasyonu konusunda son derece bilinçsiz oldukları tarafımızdan gözlemlenmiştir. Bu durumun, bağlarda kanser ve virüs hastalıklarının yayılmasında en önemli etken olduğu kanaatindeyiz. Bölgede yeni tesis edilen bağlarda TTSM tarafından *Rhizobium vitis* kontrolünden geçen sertifikalı fidanların kullanılması nedeniyle, bu olasılığı güçlendirmektedir.

Elde edilen bu bilgiler doğrultusunda, Tokat ili bağ üreticilerinin öncelikle bağlarda morfolojik olarak hastalık simptomsu gösteren asmaları işaretlemeleri, daha sonra bu asmaları bağdan uzaklaştırarak yok etmeleri sağlanmalıdır. Asmaların budanması aşamasında üreticilerin kullandıkları alet ve ekipmanları çamaşır suyu vb. dezefektanlarla sık sık muamele etmelerinin önemi anlatılmalıdır. Bölgede hastalığa bulaşma riskinin oldukça yüksek risk olması nedeniyle, asmaların dengeli ve düzenli bir şekilde gübrenmesi şarttır. Üreticilere bu konuda verilecek uygulamalı eğitim ve hazırlanacak lifletler hastalığın yayılmasını azaltma/önleme konusunda önemli katkılar sağlayacaktır. Klasik bilgilendirme yöntemlerinden ziyade, bağ üreticileri arasında oluşturulacak internet paylaşım programlarının kullanılmasının benzer konularda hedefe ulaşmada başarı ve farkındalık yaratacağı kanaatindeyiz.

5. Teşekkür

Bu çalışmaya destek veren Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Komisyonu Başkanlığına (BAP proje no:2015/80) teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Abolmaaty, A., Vu, C., Oliver, J., Levin, R.E., 2000. Development of a New Lysis Solution for Releasing Genomic DNA from Bacterial Cells for DNA Amplification by Polymerase Chain Reaction. *Microbios*, 101: 181-189.
- Altınparmak, S., Baştaş, K.K., 2011. Konya İlinde Yaygın Olarak Yetiştirilen Asma Çeşitlerinde Bakteriyel Taç Uru (*Agrobacterium Vitis*)'nun Tanılanması Üzerine Araştırmalar. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 25(1):115-124.
- Anonim, 2015. Tokat İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü Bitkisel Üretim Kayıtları.
- Anonim, 2016. <http://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BUGEM.pdf>, Erişim tarihi: 1 Mayıs 2016
- Argun, N., 2001. Orta Anadolu Bağlarında Taç Uru'na Neden Olan *Agrobacterium vitis* 'in Bölgesel Dağılımı ve Bazı Biyolojik Özellikleri Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 84 s.
- Argun, N., Momol, M.T., Maden, S., Momol, E.A., Reid, C.L., Çelik, H., Burr, T., 2002. Characterization of *Agrobacterium Vitis* Strains Isolated from Turkish Grape Cultivars in the Central Anatolia region. *Plant Disease*, 86, 162-166.
- Cangi, R., Kaya, C., Kılıç, D., Yıldız, M., 2005. Tokat Yöresinde Salamuralık Asma Yaprak Üretimi, Hasad ve İşlemede Karşılaşılan Sorunlar ve Çözüm Önerileri. 6. Ulusal Bağcılık Sempozyumu, Bildiri Kitabı, Cilt:2, 632-640, Tekirdağ, 19-23 Eylül 2005.
- Canik-Orel, D., Karagoz, A., Durmaz, R., Ertunc, F., 2016. Phenotypic and Molecular Characterization of *Rhizobium vitis* Strains from Vineyards in Turkey. *Phytopathologia Mediterranea*, 55 (1), 41-53.
- Cavara, F., 1897. Tuberculosis Della Vite. *Intorno Alla Etiologia De Alcune Malattie Di Pianta Colvivate. Stazioni Sperimentali Agrarie Italiane*, 30,483-487.
- Çelik, H., Kunter, B., Söylemezoğlu, G., Ergül, A., Çelik, H., Karataş, H., Özdemir, G., Atak, A., 2010. Bağcılığın Geliştirilmesi Yöntemleri ve Üretim Hedefleri, Tzm VII. Teknik Kongresi 11-15 Ocak, 2010. Ankara 493-513.S
- Eastwell, K.C., Wills, L.G., Cavileer, T.D., 1995. A Rapid and Sensitive Method to Detect *Agrobacterium Vitis* in Grapevine Cuttings Using the Polymerase Chain Reaction. *Plant Disease*, 79, 822-827.
- Eşitken, A., Pırlak, L., Kara, Z., Bayramoğlu, Z., Sabır, A., 2012. Konya ili Meyvecilik ve Bağcılık Eylem Planı". T.C. Mevlana Kalk. Ajansı Konya, 81s.
- FAO, 2015. www.faostat.org. Erişim tarihi 5 Mayıs 2016

- Haas, J.H., Moore, L.W., Ream, W., Manulis, S., 1995. Universal PCR Primers for Detection of Phytopathogenic *Agrobacterium* Strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 2879-2884.
- Ignatov, A., Khodykina, M.V., Vinogradova, S.V., Polityko, V.A., Kornev, K.P., Mazurin, E. S., 2015. First Report of *Agrobacterium vitis* Causing Crown Galls of Wine Grape in Russia. *Plant Disease*, 100 (4).
- Kılıç, D., Cangi, R., Kaya, C., 2007. Tokat'ta Üzümün Değerlendirilmesi ve Üzümünden Elde Edilen Ürünler, 5. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Kongre Kitabı, Cilt 2: 345-348, Erzurum, 4-7 Eylül 2007.
- Kovacs, N., 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the Oxidase Reaction. *Nature (London)*, 178, 703.
- Küsek, M., 2007. Asmada (*Vitis vinifera* L.) Ura Neden Olan *Agrobacterium vitis*'in Tanınması ve Mücadele Olanaklarının Araştırılması., Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 103 s.
- Küsek, M., Aysan, Y., 2008. Asmada Ur Hastalığı, Crown Gall of Grapevine, *Agrobacterium vitis*. Bitki Bakteri Hastalıkları Kitabı (Saygılı, H., Şahin, F., Aysan, Y.), sayfa 41.
- Mohammadi, M., Fatehi-Peykani, R., 1999. Phenotypical Characterization of Iranian Isolates of *Agrobacterium Vitis*, the Causal Agent of Crown Gall Disease of Grapevine. *Vitis* 38 (3), 115-121.
- Moore, L.W., Bouzar, H., Burr, T.J., 2001. Gram Negative Bacteria, *Agrobacterium*. Laboratory Guide For Identification of Plant Pathogenic Bacteria (Schaad, N.W., Jones, J.B., Chun, W.) APS Pres, 373 p.
- Ophel, K., Kerr, A., 1990. *Agrobacterium vitis* sp. Nov. For Strains of *Agrobacterium* Biovar 3 From Grapevines. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 40, 236-241.
- Sands DC. 1990. Physiological Criteria: Determinative Tests. In: Klement Z, Rudolph K, & Sands DC (eds.). *Methods in Phytobacteriology*. pp. 133– 143. Akademiai Kiado, Budapest
- Saygılı, H., Aysan, Y., Şahin, F., Soylu, S., Mirik, M., Kotan, R., 2014. Fitobakteriyoloji I Kitabı. sayfa 66.
- Topçu, N., Sucu, S., Cangi, R., Yağcı, A., Kılıç, D., 2013. Tokat Bölgesinde Yetiştirilen Narince Üzüm Çeşidinde 2012 Kış Soğuklarının Yol Açtığı Zararlar. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi Cilt :27, 413-419 (Özel sayı)*
- Young, J.M., Kuykendall, L.D., Martinez-Romero, E., Kerr, A., Sawada, H., 2001. A Revision of *Rhizobium* Frank 1889, With an Emended Description of The Genus, and the Inclusion of All Species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie *et al.* 1998 as New Combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola* and *R. vitis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51, 89–103.