

# KÖK URU ETMENİ (*Agrobacterium tumefaciens* (Smith and Townsend) Conn.)'NİN TOPRAKTAN İZOLASYONU VE İNDİKATÖR BİTKİLER YARDIMIYLA TEŞHİSİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Y. Emin ÖKTEM<sup>1</sup>

## G İ R İ Ő

Kök uru etmeni (*Agrobacterium tumefaciens* Smith and Townsend) Conn.) memleketimizde yaygın durumdadır. Bağlarda, meyveliklerde ve fidanlıklarda zararlar yapmaktadır. Yurdumuzun hemen her bölgesinde tesbit edilmiştir. İyriboz (1938) hastalığın Ege Bölgesinde, İstanbul ve Ankara'da zararlar yaptığını bildirmektedir. Kuntay (1942) patojenin bağlarda kökboğazı ve aşı yerlerinde, meyve ağaçlarının köklerinde urlar meydana getirdiğine işaret etmektedir. Bremer (1948) hastalığın bağlarda zararlar yaptığını, Elliot (1951) patojenin konukçu topluluğunun geniş olduğunu, Göksel (1953) hastalığın yurdumuzda yaygın bulunduğunu, Bremer (1954) meyve ağaçlarının büyük bir kısmında zararlar yaptığını, Karaca (1956) hastalığın İç Anadolu'da bir çok il ve ilçede tesbit edildiğini bildirmektedir.

Yurdumuzda hastalık etmeni patojenin bulaşık toprak ve urlardan izolasyonu ile teşhis metodları konusunda herhangi bir yayına rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı patojenin izolasyonu ve indikatör bitkiler yardımıyla teşhis metodlarını ortaya koymaktır.

Adı geçen patojen toprakta uzun seneler yaşamaktadır. Riker (1922) *A. tumefaciens*'in steril toprakta bir seneden fazla yaşadığını tesbit etmiştir.

Bakterinin urlardan ve topraktan izolasyonu oldukça güç olduğundan özel selektif ortamlar kullanılmaktadır.

Patel (1926) Glikoz - Kristal Viyole - Tauracholate agar ile patojenin izole edildiğini bildirmektedir. Schroth et al. (1965) toprak izolasyonlarında, bir çok antibiyotik ihtiva eden selektif ortamlar kullanarak etmeni topraktan izole etmişlerdir. Patojenite testleri için ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fideleri kullanarak ur teşkilini incelemişlerdir.

Lehoczky (1968) de patojenite testleri için ayçiçeği fidelerinin kullanıldığını bildirmektedir.

Clark (1969), Moustofa et al. (1970), New ve Kerr (1971) toprak ve urlardan, değişik maddeler ihtiva eden selektif ortamlar kullanarak etmeni izole ettiklerini bildirmektedirler. Riker (1923) ve Bown (1927) test bitkisi olarak

<sup>1</sup> Bölge Ziraat Mücadele Araştırma Enstitüsü, Meyve ve Bağ Hastalıkları Laboratuvarı Başasistanı — ANKARA

stis bezelyesi (*Lathyrus odoratus*)'ni kullanmışlardır. Hildebrand (1942) ise Bonny Best domates varyetesinin indikatör bitki olarak kullanılması sonucunda urların gövde üzerinde kolaylıkla geliştiğine, McKeen (1954) de bakla (*Vicia fabae*) ile şeker pancarı (*Beta vulgaris* var. rapa)'nın ur teşkili için uygun bitkiler olduğuna işaret etmektedirler.

Ark. ve Schroth (1958) ise havuç (*Daucus carota* L.) ile turp (*Raphanus sativus* Pers.) dilimlerine adı geçen bakteri suspansiyonunun inokule edilmesiyle urların meydana geldiğini bildirmektedirler.

Kök uru etmeninin topraktan izolasyonu ve indikatör bitkiler yardımıyla teşhisi ile ilgili çalışmalar Ankara Bölge Ziraat Mücadele Araştırma Enstitüsü Meyva ve Bağ Hastalıkları Laboratuvarında yapılmıştır.

## M A T E R Y A L V E M E T O D

### A — M A T E R Y A L

Bu çalışmada kullanılan (1651) (NCPPE)'ve 396 (NCPPE) numaralı *A. tumefaciens* kültürleri National Collection Plant Pathogenic Bacteria, Harpenden - England'dan temin edilmiştir. Diğer 542 numaralı kültür ise Göttingen - Almanya orijinelidir. İndikatör bitki olarak kullanılmış olan ayçiçeği tohumu (VNILMK. 1646), Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Endüstri ve Yem Bitkileri Kürsüsünden, domates tohumu Ankara Bölge Ziraat Mücadele Araştırma Enstitüsünden, havuç ve turplar ise pazardan temin edilmiştir.

Bakterinin yetiştirilmesi için kullanılan besin ortamı :

Nsa (Nutrient Sucrose Agar)

% w/v : Nutrient broth (Difco) 0.8, sukroz 5.0, agar (Difco) 2.0 dir. Ortamın pH. sı 6.8 - 7.00 arasındadır.

Bakterinin topraktan izolasyonu için kullanılan besin ortamları :

Moustofa (1966) selektif ortamı,

% w/v : Laktoz % 0.5,  $K_2HPO_4$  % 0.008,  $KH_2PO_4$  % 0.002,  $MgSO_4$  % 0.02,  $NH_4H_2PO_4$  % 0.5, agar (Difco) % 1.5 dir. Ortama ayrıca  $MnSO_4$  ilâve edilmiştir (30 m. g.e/L  $Mn^{++}$ ). Ortamın pH. sı 8.00 dir.

Kado ve Heskett (1970) selektif ortamı :

Mannitol 15 gr.,  $NaNO_3$  5 gr.,  $LiCl$  6 gr.,  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  20 mg.,  $K_2HPO_4$  2 gr.,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2 gr., Bromthymol blue 0.1 gr., agar 15 gr. dir. Ortamın pH. sı 7.2 dir.

Bakterinin urlardan izolasyonu için kullanılan besin ortamı :

Clark (1969) Selektif ortamı :

Laktoz 0.5 gr.,  $KNO_3$  0.1 gr.,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.01 gr.,  $NaHPO_4$  (anhyd.) 0.018 gr., agar (Difco) 1.2 gr. Destile su 100 ml., Fe EDTA (Fe Etilen Diamin Tetra Asetik Asit) (0.25 % w/v) 1.0 ml.,  $MnSO_4 \cdot H_2O$  (% w/v 33.5) 1.0 ml. dir. pH. sı 6.8'e ayarlanmıştır.

3 — Keto Laktoz teşkili : Benaerts ve De Ley (1963)'e göre, Laktoz - Maya - Agar besin ortamı :

1 National Collection Plant Pathogenic Bacteria, Harpenden England'ın kısaltılmış şeklidir.

Laktoz 10 gr., Yeast ext. 1 gr., agar (Difco) 15 gr., Destile su 1000 ml. dir.

Benedicts' qualitative ayracı : Cowan ve Steel (1970)'e göre : Sodyum sitrat 17.3 gr., Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (anhyd.) 10 gr., CuSO<sub>4</sub> 5 H<sub>2</sub>O 1.73 gr., Destile su 100 ml. şeklinde hazırlanmıştır.

## B — M E T O D

### 1 — İzolasyon Metodları

NSA ortamında 27 °C de 72 saat müddetle yetiştirilmiş olan kültürler steril suyla süspansiyon haline getirilerek 9 x 11 cm ebadındaki saksılar içerisinde bulunan toprağa inokule edilmiş ve toprak karıştırılmıştır. Kontrol olarak bırakılmış olan saksılardaki toprağa da steril su inokule edilmiş ve diğer saksılarla birlikte 10 gün müddetle oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Moustafa (1966)'ya göre bulaşık ve kontrol olarak hazırlanmış topraklardan 1 gr tartılarak 9 ml steril su içerisine konmuş ve 1 saat müddetle çalkalayıcıda tutulmuştur. Elde edilen süspansiyondan 1/100, 1/1000, 1/10.000 ve 100.000 lik seriler hazırlanmıştır. 1/10.000 lik ve 1/100.000 lik serilerden 0.5 ml kadar alınarak Petri kaplarındaki yüzeyleri kurutulmuş olan Moustafa (1966) ile Kado ve Heskett (1970) selektif ortamlarına ilâve edilmiştir. L şeklindeki steril cam bağıtle ortam yüzeyine yayılarak 27 °C de 7 gün müddetle inkubatörde tutulmuştur.

### 2 — Enfeksiyon Çalışmaları :

#### a) Ayçiçeği ve Domates fideleri üzerinde

Moustafa (1966) selektif ortamında gelişen kirli beyaz, yuvarlak konveks koloniler ile Kado ve Heskett (1970) selektif ortamında gelişen zeytin yeşili renginde, küçük, yuvarlak ve konveks bakteri kolonileri seçilip NSA ortamına ekilerek saf kültürleri elde edilmiştir.

Serada 9 x 9 ebadındaki saksılarda yetiştirilmiş olan ayçiçeği indikatör bitki olarak kullanılmıştır. Eğik NSA ortamında 27 °C de 72 saat müddetle yetiştirilmiş olan kültürler üzerine 2 - 3 ml kadar steril su ilâve edilip inokulum hazırlanmıştır. Lehoczky (1968)'e göre ayçiçeği fidelerinin hipokotil kısmında yara açılıp, inokulum Pastör - pipetiyle açılmış olan yara içerisine inokule edilmiştir. Hipokotilde açılmış olan yaralı kısımların üzeri steril pamukla sarılıp steril suyla nemlendirilmiştir. İnokule edilmiş olan ayçiçeği fideleri 20 °C de % 80 - 90 rutubette inkubatörde 7 gün müddetle bekletilmiştir. Kontrol olarak steril su inokule edilmiş olan ayçiçeği fideleri de aynı şartlarda inkube edilmiştir. 7 nci gün sonunda ur teşekkülleri incelenmiş ve değerlendirme 2 nci hafta sonunda yapılmıştır.

Hildebrand (1942)'ye göre 10 - 15 cm kadar boylanmış olan domates fidelelerinin kök boğazının 4 - 5 cm kadar üzerindeki kısımlar bakteri süspansiyonuna batırılmış steril toplu iğnelerle yara açılmıştır. Kontrol domates fidelelerine ise steril su inokule edilmiştir. Domates fideleri, ayçiçeği fideleriyle birlikte aynı şartlarda inkube edilmiştir. Domates fidelelerindeki gelişmelerin 10. gün sonunda değerlendirilmesi yapılmıştır.

Kontrol olarak bırakılmış ve steril su inokule edilmiş olan topraklardan da aynı metodlarla izolasyonlar yapılmış ve elde edilen bakterilerle inokulum

hazırlanmış ve aynı metodlarla ayçiçeği ve domates fidelerine inokulasyonlar yapılmış, diğerleriyle birlikte inkube edilmiştir.

b) Havuç ve Turp dilimleri üzerinde :

Domates ve ayçiçeği fidelerinin gövdelerinde ur meydana getirmiş olan bakteriler NSA ortamında geliştirilmiştir. Havuç ve turplar yüzeysel olarak % 70 lik etanolle yıkanıp 1-1.5 cm kalınlığında dilimler halinde kesilerek tekrar etanole batırılmıştır. Ark ve Schroth (1958)'e göre havuç ve turp dilimleri yüzeylerine bakteri süspansiyonu sürülerek toplu iğneyle yaralanmıştır. Bu dilimler, içerisinde steril kurutma kâğıtları konarak steril su ilâve edilmiş olan büyük Petri kapları içerisine yerleştirilmiştir. Kontrollere ise sadece steril su inoküle edilmiş olup diğer petri kaplarıyla birlikte oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Kıymetlendirme 3. hafta sonunda yapılmıştır.

3 — 3 Keto Laktoz Teşkili :

Bernaert's ve De Ley (1963)'e göre hazırlanmış olan laktoz - maya - agar ortamına, ayçiçeği ve domates fidelerinde, havuç ve turp dilimlerinde ur meydana getirmiş olan kültürlerin ekimi yapılmış olup, 28 °C de 48 saat müddetle inkubatorde bekletilmiştir. Bu süre sonunda, Cowan ve Steel (1970)'e göre hazırlanmış olan Benedict's qualitative ayraçından 10 ml kadar alınıp ortamda yetişmiş olan bakteri kolonileri üzerine ilâve edilmiştir. Ayraç, ortamın yüzeyine iyice yayılmış, 1 saat içerisinde, bakteri kolonileri etrafındaki sarı rengin teşekkülü pozitif olarak kıymetlendirilmiştir.

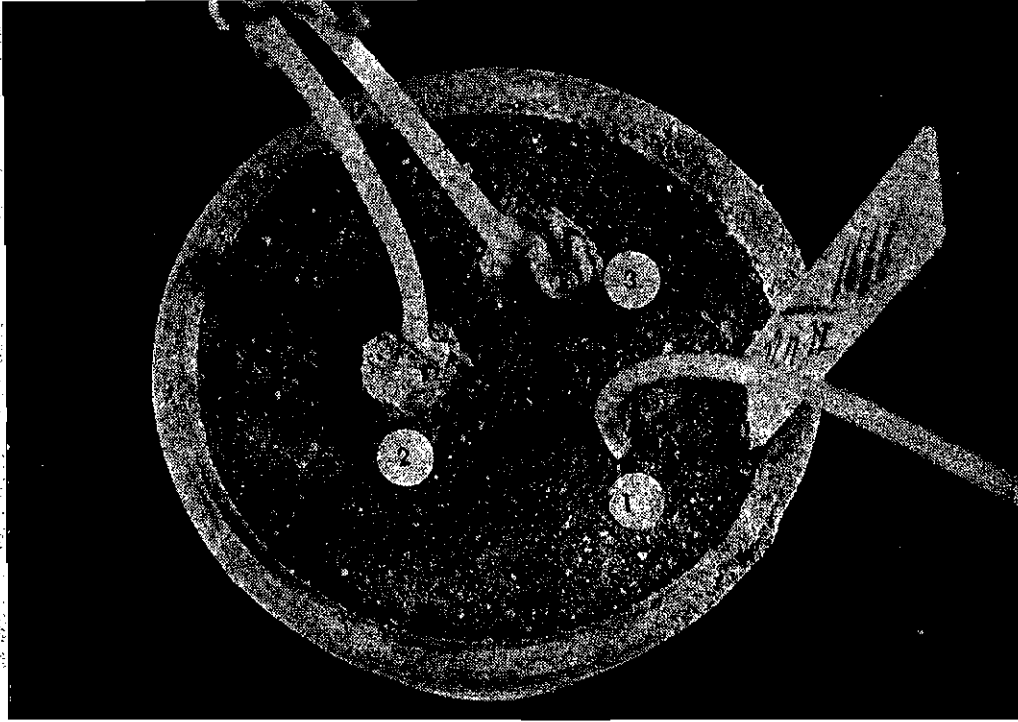
## S O N U Ç L A R

Moustofa (1966) metoduyla yapılmış olan izolasyonlarda kirli beyaz, yuvarlak, konveks ve küçük koloniler Moustofa (1966) selektif ortamında bariz bir gelişme göstermiştir. Bu koloniler diğer bakteri gruplarından kolaylıkla ayırtedilmiştir.

Kado ve Heskett (1970) selektif ortamında 7. gün sonunda yapılan kontrollerde zeytin yeşili renginde, yuvarlak, konveks ve küçük kolonilerin teşekkül ettiği görülmüştür. Bu özellikleri taşıyan *A. tumefaciens* kolonileri diğer kolonilerden farklı olduğundan seçilmeleri kolay olmuştur.

Ayçiçeği fideleri üzerinde yapılan enfeksiyon çalışmalarında bir hafta içerisinde ur teşekkülü tesbit edilmiştir. Kontrol olarak steril su ilâve edilmiş topraklardan yapılan izolasyonlarda elde edilmiş olan bakteriler domates ve ayçiçeği fidelerinde ur meydana getirmemişlerdir. Enfeksiyon çalışmalarında steril su inoküle edilmiş olan ayçiçeği ve domates fidelerinde herhangi bir değişme görülmemiştir. Ayçiçeği fidelerinin hipokotil kısmındaki ur teşekkülünün 35-40 günlük gelişme sonunda küçük ceviz büyüklüğüne yakın olduğu tesbit edilmiştir (Şekil 1, 2).

Domates fideleri üzerinde yapılan enfeksiyon çalışmaları sonucunda urlar 10. günde çok küçük olarak teşekkül etmiştir. Şekil 3 de 30 günlük gelişme sonucunda meydana gelmiş olan urlar görülmektedir.



Şekil 1. *A. tumefaciens*'in ayçiçeği fidelerinde meydana getirdiği urlar

(1) Kontrol bitki (2-3) Enfekteli bitki

Domates fidelerinde teşekkül etmiş olan 10 günlük urlardan Clark (1969) selektif ortamı yardımıyla re - izolasyonlar yapılarak adı geçen patojen bakteri elde edilmiştir. Bu ortamda bakteri gelişmesi çok yavaş olmuştur.

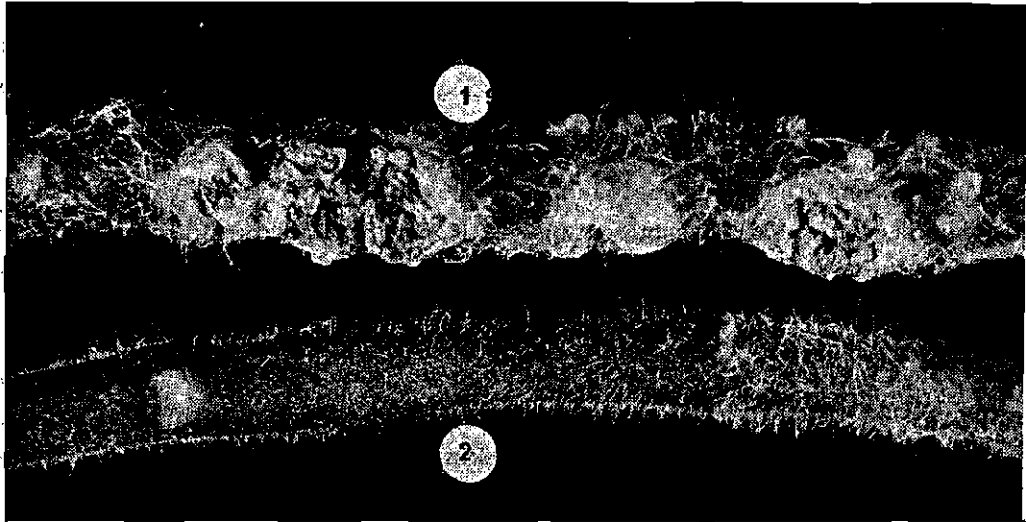
Ank ve Schroth (1958) metoduna göre havuç ve turp dilimlerinde 3 ncü hafta sonunda ur teşekküllü tesbit edilmiştir. Kontrol olarak bırakılmış olan havuç ve turp dilimlerinde hiç bir gelişme kaydedilmemiştir. Bu durum Şekil 4, 5 ve 6 da görülmektedir.

Ayçiçeği ve domates fideleri ile havuç ve turp dilimlerinde ur meydana getirmiş olan bakterilerin hepsinde 3 keto laktoz teşkil pozitif olarak bulunmuştur. Kontrol olarak bırakılmış topraklardan yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen bakteriler ise 3 keto laktoz teşkil etmemişlerdir.



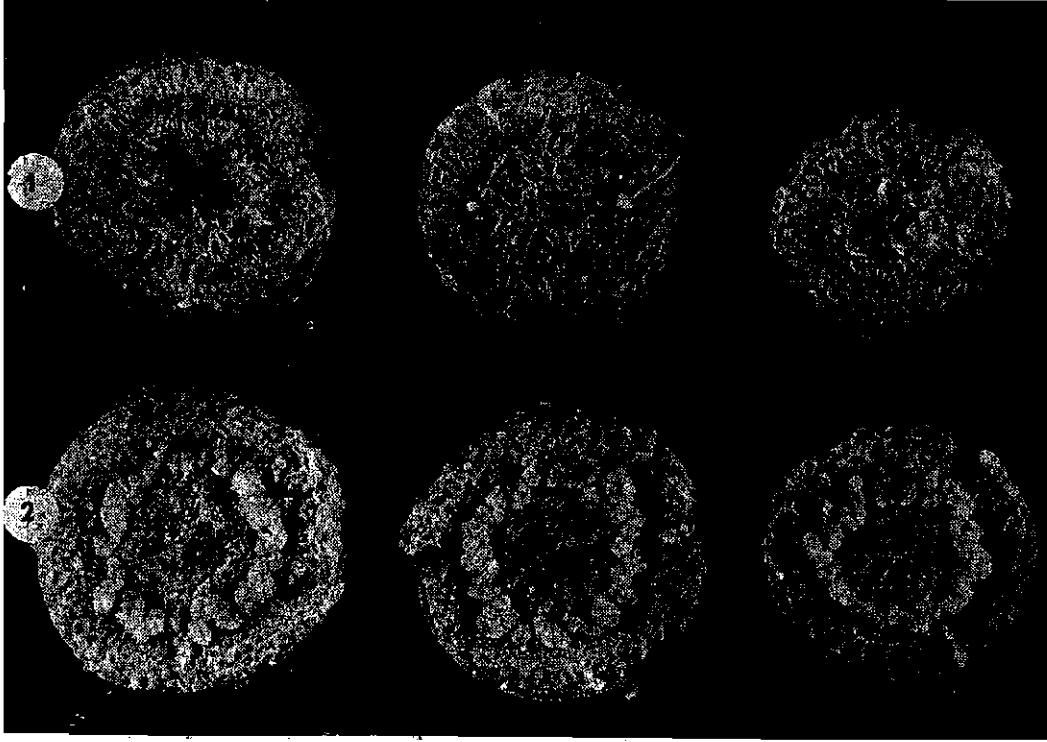
Şekli 2. *A. tumefaciens*'in ayçiçeği fidelerinde meydana getirdiği urlar.

(1) Kontrol bitki (2-3) Enfekteli bitki

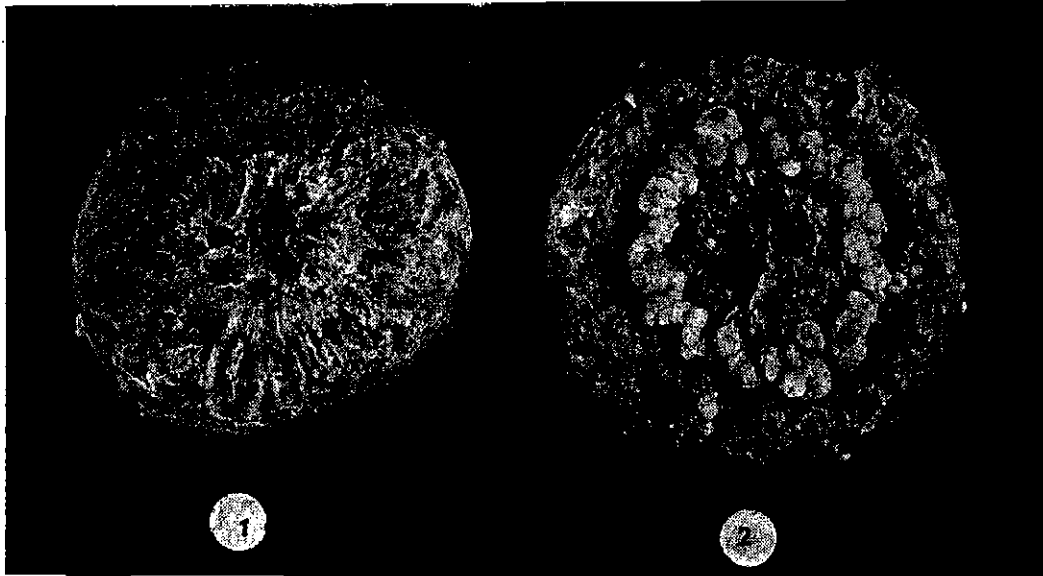


Şekil 3. *A. tumefaciens*'in domates fidelerinde meydana getirdiği urlar

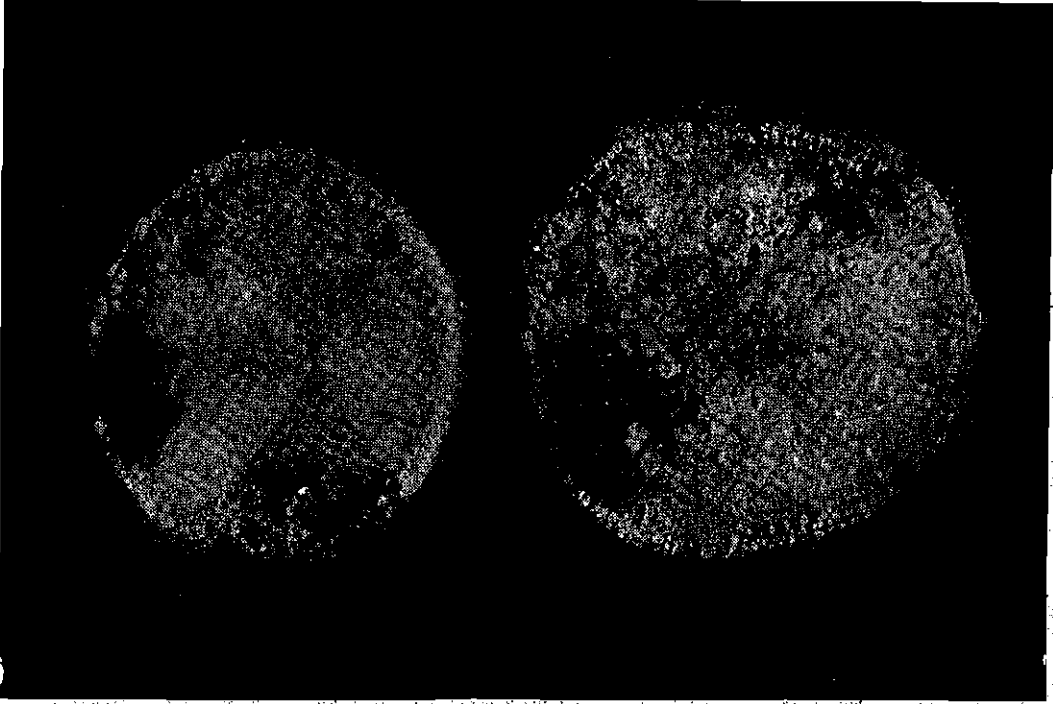
(1) Enfekte edilmiş bitki (2) Kontrol bitki



Şekil 4. Havuç dilimlerinde meydana gelmiş olan  
A. t u m e f a c i e n s urları  
(1) Kontrol dilimler (2) Enfekte edilmiş dilimler



Şekil 5. A. t u m e f a c i e n s in havuç dilimlerinde meydana getirdiği  
urların yakından görünüşü  
(1) Kontrol dilim (2) Enfekte edilmiş dilim



Şekil 6. *A. tumefaciens*'in turp dilimlerinde meydana getirmiş olduğu küçük urlar

#### M Ü N A K A Ş A V E K A N A A T

Toprak izolasyonlarında kullanılmış olan Moustofa (1969) Selektif ortamıyla yapılan izolasyonlarda *A. tumefaciens* kolonileri tipik bir gelişme göstermişlerdir. Ortama ilâve edilen 30 m.g.e/L  $Mn^{++}$  ortamın seçiciliğini adı geçen patojen'in lehine olarak artırmaktadır. Ancak 40 m.g.e/L  $Mn^{++}$ lık miktar ise patojenin gelişmesini engellemektedir.

Kado ve Heskett (1970) selektif ortamıyla yapılan toprak izolasyonlarında patojenin bu ortamda zeytin yeşili renginde geliştiğini, fakat gelişmenin yavaş, kolonilerin küçük kaldığı tesbit edilmiştir. Ancak adı geçen patojenin tipik bir renkte gelişmesi bu ortamın toprak izolasyonlarında kullanılma şansını artırmış olmaktadır.

Moustofa, Kado ve Heskett selektif ortamlarıyla izole edilen patojenin ayçiçeği ve domates fidelerinde urlar meydana getirmiş olması Hildebrand (1942), Schroth et al. (1965) ve Lehoczky (1968) yi, havuç ve turp dilimlerinde urların teşkili ise Ark ve Schroth (1958)'i teyit etmektedir.

Kullanılmış olan indikatör bitkilerde ur meydana getiren kültürlerin hepsinin 3-keto laktöz teşkilleri pozitif olarak bulunmuştur. Bu sonuçlarda Bernaert's ve De Ley (1963)'yi doğrulamaktadır.

Toprak ve urlardan verilmiş olan besin ortamlarıyla *A. tumefaciens*'in izole edilebileceği ve adı geçen indikatör bitkilerin de patojenin teşhisinde kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.



## Ö Z E T

Kök uru etmeni (*Agrobacterium tumefaciens* (Smith and Townsend) Conn.)'nin topraktan izolasyonu ve indikatör bitkiler yardımıyla teşhisi üzerinde yapılan çalışmalardan müsbet sonuçlar alınmıştır. Kullanılmış olan 1651 (NCPFB) ve 396 (NCPFB) numaralı kültürler İngiltere'den temin edilmiştir. 542 numaralı kültür ise Göttingen - Almanya orijinlidir. İndikatör bitki olarak ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) havuç (*Dacus carota* L.) ve turp (*Raphanus sativus* Pers.) kullanılmıştır. Toprak izolasyonlarında Moustofa (1966), Kado ve Heskett (1970) selektif ortamları ile ur izolasyonlarında Clark (1969) besin ortamı kullanılmıştır. İndikatör bitkiler üzerinde ur meydana getiren izolatların 3-Keto laktöz teşkili pozitif (+) olarak bulunmuştur.

## T E Ş E K K Ü R

Bu çalışmanın yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Kâzım Türkoğlu'na ve National Collection of Plant Pathogenic Bacteria'dan Dr. Sellar'a teşekkürlerimi arz ederim. Ayrıca fotoğrafları geçen Kâni Ünal ile laborant Salih Şenel'e teşekkür ederim.

## S U M M A R Y

THE SOIL ISOLATION OF THE CROWN GALL CAUSE (*Agrobacterium tumefaciens* (Smith and Townsend) Conn.) AND STUDIES ON ITS IDENTIFICATION BY MEANS OF TEST PLANTS

Studies that were carried for soil isolation of *Agrobacterium tumefaciens* and identification appliances by means of test plants proved to be thoroughly successful. The cultures whose numbers are 1651 (NCPFB) and 396 (NCPFB) are obtained from England. The culture whose number is 542 is of German origin. These cultures were artificially inoculated in the soil. Sunflower (*Helianthus annuus* L.), tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) carrot (*Dacus carota* L.) and radish (*Raphanus sativus* Pers.) have been used as test plants. For soil isolations Moustofa (1966) and Kado and Heskett (1970) selective media were used and for the gall isolations it was changed to Clark (1969) medium. The 3-Ketolactose production isolates which form galls on test plants were found to be positive.

## L İ T E R A T Ü R

- ARK, P.A., and M.N. SCHROTH, 1958. Use of selices of carrot and other freshy root to detect grown gall bacteria in soil. Pl. Dis. Repr. 42, 1279 - 1281.
- AKALIN, Ş., 1952. Büyük bitkiler kılavuzu. Ankara.
- BERNAERTS, M.J., and J. DE LEY, 1963. A Biochemical test for Crown gall bacteria. Nature, Lond. 197, 406 - 407.
- BREMER, H., 1948. Türkiye Fitopatolojisi. Tarım Bakanlığı Neşriyat Müdürlüğü I, Sayı: 657 Ankara.

- , 1954. Türkiye fitopatolojisi. Bahçe Kültürleri Hastalıkları. Ziraat Vekâleti Neşriyat ve Haberleşme Müdürlüğü. III. Sayı 715 Ankara.
- BROWN, N.A., 1927. Sweet pea fasciation a from of crown gall. *Phytopathology* 17, 29 - 30.
- CLARK, A.G., 1969. A selective medium for the isolation of *Agrobacterium* species. *J. Appl. Bact.* 32, 348 - 351.
- COWAN, S.T., and K.J. STEEL, 1970. Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge University Press.
- ELLIOT, C., 1951. Manual of Bacterial Plant Pathogens. 2. Edition. Chronica Botanica Company, Waltham, Mass.
- GÖKSEL, N., 1953. Kök uru hastalığı ve mücadelesi. Tarım Vekâleti Yayınları, Sayı: 16 Ankara.
- HILDEBRAND, E.M., 1942. A micrurgical study of crown gall infection in tomato. *J. Agr. Research* 65, 45 - 59.
- IYRİBOZ, N., 1938. Bağ hastalıkları. Ziraat Vekâleti Neşriyatı No. 323 Ankara.
- KADO, C.I., and M.G., HESKETT, 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60, 969 - 976.
- KARACA, İ., 1956. Orta Anadolu Orman ve Meyve Ağaçlarında görülen menşei Nebati ve Hayvani Önemli Uurların Amli ve Morfolojileri Hakkında Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No. 84 Ankara.
- KUNTAY, S., 1942. Fitopatoloji Dersleri. Ziraat Vekâleti Neşriyatı. Sayı 530 Ankara.
- LEHOCZKY, J., 1968. Spread of *Agrobacterium tumefaciens* in the Vessels of the Grapevine, after Natural Infection. *Phytopath. Z.* 63, 239 - 246.
- MCKEEN, W.E., 1954. An anatomical study of cane and grown galls. *Can. J. Botany.* 32, 527 - 530.
- MOUSTOFA, F.A., 1966. A Study of the genus *Pseudomonas* with special reference to the species pathogenic to Plants. Ph. D. thesis, Edinburgh University, Scotland.
- , G.A., CLARK and R. WHITTENBURY, 1970. Two partially selective media: One for *Pseudomonas morsprunorum*, *Ps. syringae*, *Ps. phaseolicola* and *Ps. tabaci* and one for *Agrobacteria*. *Phytopath. Z.* 67, 342 - 344.
- NEW, P.B., and A. KERR, 1971. A selective medium for *Agrobacterium radiobacter* biotype 2. *J. Appl. Bact.* 34, 233 - 236.
- PATEL, M.K., 1926. An improved method for isolating *Pseudomonas tumefaciens* SM. and Town. *Phytopathology* 16, 577.
- RIKER, A.J., 1922. Studies of crown gall. *Phytopathology* 12, 55 - 56.
- , 1923. Some morphological respenses of the host tissue to the crown gall organism. *J. Agr. Research.* 26, 425 - 434.
- SCHROTH, M. N., J.P. THOMPSON and D.C. HILDEBRAND, 1965. Isolation of *Agrobacterium tumefaciens*, *A. radiobacter* group from soil. *Phytopathology* 55, 645 - 647.