

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**VAN GÖLÜ HAVZASINDA YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN ELMALARDA
Erwinia amylovora 'nın NEDEN OLDUĞU ATEŞ YANIKLIĞI HASTALIĞININ
TESPİTİ ve HASTALIK ORANININ BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Cevdet KIPÇAK
DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ

VAN-2016

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**VAN GÖLÜ HAVZASINDA YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN ELMALARDA
Erwinia amylovora 'nın NEDEN OLDUĞU ATEŞ YANIKLIĞI HASTALIĞININ
TESPİTİ ve HASTALIK ORANININ BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Cevdet KIPÇAK

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından **2015-FBE-YL226** No'lu
proje olarak desteklenmiştir

VAN-2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Yrd. Doç. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ danışmanlığında, Cevdet KIPÇAK tarafından sunulan “Van Gölü Havzasında yetiştiriciliği yapılan Elmalar’da *Erwinia amylovora* ’nın neden olduğu ateş yanıklığı hastalığının tespiti ve hastalık oranının belirlenmesi” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili hükümleri gereğince / / tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan:.....

İmza:

.

Üye:.....

İmza:

Üye:.....

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun / / tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

.....Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Cevdet KIPÇAK

ÖZET

VAN GÖLÜ HAVZASINDA YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN ELMALARDA *Erwinia amylovora*'nın NEDEN OLDUĞU ATEŞ YANIKLIĞI HASTALIĞININ TESPİTİ ve HASTALIK ORANININ BELİRLENMESİ

KIPÇAK, Cevdet
Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ
Kasım 2016, 52 sayfa

Elma Van Gölü havzası için önemli bir ekonomik üründür. Bu çalışmanın amacı Van Gölü havzasında elma ağaçlarında *Erwinia amylovora*'nın saptanması ve Ateş yanıklığı hastalığının yayılım oranı ve hastalık oranının belirlenmesidir. Gözlem ve örnekleme 2015 yılında Haziran-Temmuz aylarında havzada ki iki ile bağlı 9 bölgeden (Van ili; Merkez, Edremit, Gevaş, Erciş ve Muradiye ve Bitlis ili; Merkez, Tatvan, Adilcevaz ve Ahlat) 41 bahçede gerçekleştirilmiştir. Bu bölgelerde yaygın olarak Golden Delicious, Starking Delicious ve lokal çeşitlerin üretimi yapılmaktadır. Ateş yanıklığı semptomuna sahip bitkilerden örnekler *E. amylovora*'nın tanınması için toplanmıştır. Elde edilen izolatların tanınması biyokimyasal testler, G1-F/G2-R primerleri ile moleküler ve duyarlı Deveci armut çeşidi fideleri ile patojenite testleri ile gerçekleştirilmiştir. Havzadaki en yüksek ateş yanıklığı hastalık oranı % 6,006 ile Edremit'te ve en düşük oran % 0,0077 ile Ahlat ilçelerinde belirlenmiştir. Van gölü havzasının ortalama hastalık oranı ise % 0.23 tespit edilmiştir. Havzadaki ortalama hastalık yayılım oranı % 36 olarak belirlenir iken, maksimum yayılım oranı Erciş ilçesinde % 66.6 olarak tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Ateş Yanıklığı, Elma, *Erwinia amylovora*, Van Gölü Havzası

ABSTRACT

DETECTION OF FIRE BLIGHT DISEASE CAUSED by *Erwinia amylovora* and THE DISEASE INCIDENCE IN APPLE TREES IN LAKE VAN BASIN

KIPÇAK, Cevdet

M. Sc. Thesis, Plant Protection Department

Supervisor: Yrd. Doç. Dr.Ahmet AKKÖPRÜ

November 2016, 52 pages

Apple is an economically important product in Lake Van Basin. The aim of the study was to determine *Erwinia amylovora*, and incidence and prevalence of fire blight on apple trees in Lake Van basin. Observations and samplings were carried out in 41 apple orchards, which generally consist of Golden delicious, Starking and local varieties of apple, from 9 district (Van, Bitlis, Edremit, Gevaş, Tatvan, Adilcevaz, Ahlati, Erciş and Muradiye) in Lake Van basin in June-July 2015. The samples from apple trees having the fire blight symptoms were collected for identification of *E. amylovora*. Identification of obtained isolates was done by the phenotypic tests, molecular detection by G1-F/G2-R primer pair and pathogenicity on susceptible pear sapling (Deveci cv). The incidence of fire blight on apple orchards was detected in the range of 0.000077 and 0.06006 in Ahlat and Edremit districts, respectively, and the incidence of disease in all over the basin was detected as 0.23 percent. The disease prevalence on apple in the basin was 0.36 and maximum prevalence was in Erciş district with 0.666

Keywords: Apple, *Erwinia amylovora*, Fire Blight, Van Lake Basin

ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasında, her aşamada yardımlarını esirgemeyen sabırla benimle ilgilenen danışmanım,değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Hayatım boyunca hep yanımda yer alan kıymetli aileme teşekkürü borç bilirim. Yüksek lisans tez çalışmamda projemi destekleyen YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na ayrıca teşekkür ederim.

2016

Cevdet KIPÇAK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ.....	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM	14
3.1. Araştırma Bölgesinin Genel Özellikleri.....	14
3.2. Materyal.	15
3.3. Yöntem.....	17
3.3.1. Sörvey.....	17
3.3.2. Örneklerin Alınması ve Muhafava.....	20
3.3.3. Etmenin İzolasyonu.....	20
3.3.4. Tanılama Çalışmaları.....	21
3.3.4.1. LOPAT Testleri.....	21
3.3.4.2. KOH ile Gram Reaksiyonun Belirlenmesi.....	22
3.3.4.3. Moleküler Tanılama.....	23
3.3.5. Patojenite Testleri.....	24
3.3.5.1. Fidan-Sürgün Testi.....	24
3.3.5.2. Ham Meyve Testi.....	25
4. BULGULAR.....	26
4.1. Sörvey Sonuçları.....	26
4.2. İzolasyon Sonuçları.....	31
4.3. Hastalığın Tanılanması ve Belirtileri.....	32
4.3.1. LOPAT Testleri Sonuçları.....	33
4.3.2. KOH Testi İle Gram Reaksiyonun Belirlenmesi.....	36
4.3.3. Ham Meyve Testi.....	36

	Sayfa
4.3.4. Moleküler Tanılama.....	37
4.3.5. Fidan-Sürgün Testi.....	38
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	41
KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ.....	52

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. 100 gr taze elma meyvesinin içerdiği besin değerleri.....	3
Çizelge 1.2. Elmada görülen önemli bakteriyel, virüs ve fungal hastalıklar.. ..	4
Çizelge 2.1. Van ve Bitlis il ve ilçelerinde bulunan toplam ağaç, gözlem yapılan bahçe ve ağaç sayıları.....	16
Çizelge 2.2. Ateş yanıklığı hastalığı etmeni <i>Erwinia amylovora</i> patojen bakterilerinin tanılamasında kullanılan besi ortamları.....	17
Çizelge 2.3. Van ve Bitlis il ve ilçelerinde bulunan elma ağaçları sayıları ve üretim alanı (TUIK).....	18
Çizelge 2.4. Ateş yanıklığı hastalık şiddetinin belirlenmesinde kullanılan Zwet ve Keil (1979)'un modifiye edilmiş olan 1-10 skalası değerleri.....	19
Çizelge 2.5. Spesifik tanılamada kullanılan PCR master mix içeriği ve termal cycle koşulları.....	24
Çizelge 3.1. Van gölü havzasında bulunan bahçelerin konum, bitki cinsi ve bitkilerin yaşı.....	27
Çizelge 3.2. Van gölü havzasında bulunan ateş yanıklığı hastalığının hastalık şiddeti ve yaygınlık oranı.....	30
Çizelge 3.3. Tanılama çalışmalarında uygulanan testler ve sonuçları.....	40

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Dünya elma üretiminde ilk sırayı alan ülkeler ve üretim miktarları (FAO).....	2
Şekil 1.2. Hastalığın bitkiler üzerindeki belirtileri.....	5
Şekil 2. Araştırma bölgesi olan Van gölü havzasının içinde yer alan Van-Bitlis il ve ilçeleri	15
Şekil 3.1. a. Sörvey çalışmalarının yapıldığı bahçeler.....	29
Şekil 3.1. b. Sörvey çalışmalarının yapıldığı bahçeler.....	30
Şekil 3.2. İzolasyon işlem basamakları	32
Şekil 3.3. Tütün yapraklarında hipersensitiv reaksiyonun görülmesi.....	33
Şekil 3.4. SNA besi yerinde levan oluşumunun gözlenmesi.....	34
Şekil 3.5. Patateste pektolitik enzim aktivitesi sonuçları.....	34
Şekil 3.6. Oksidaz testinde renk değişiminin görülmesi.....	35
Şekil 3.7. Arjinin testinde besi yerlerinin de renk değişiminin gözlenmesi.....	35
Şekil 3.8. KOH testi ile gram reaksiyonun belirlenmesi.....	36
Şekil 3.9. Ham armut meyvelerinde izolatların oluşturduğu yapılar	37
Şekil 3.10 PCR çalışması sonucu izolatların jel görüntüleme cihazındaki Sonuçları.....	38
Şekil 3.11. Hazırlanan süspansiyonların şırınga ile armut fidanlarına inokule edilmesi.....	39
Şekil 4. Van Gölü Havzasına da bulunan Van ve Bitlis il ve ilçelerine ait 2014-2015 yılı Nisan-Ağustos ayları arasındaki sıcaklık ortalaması verileri (MGM).....	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

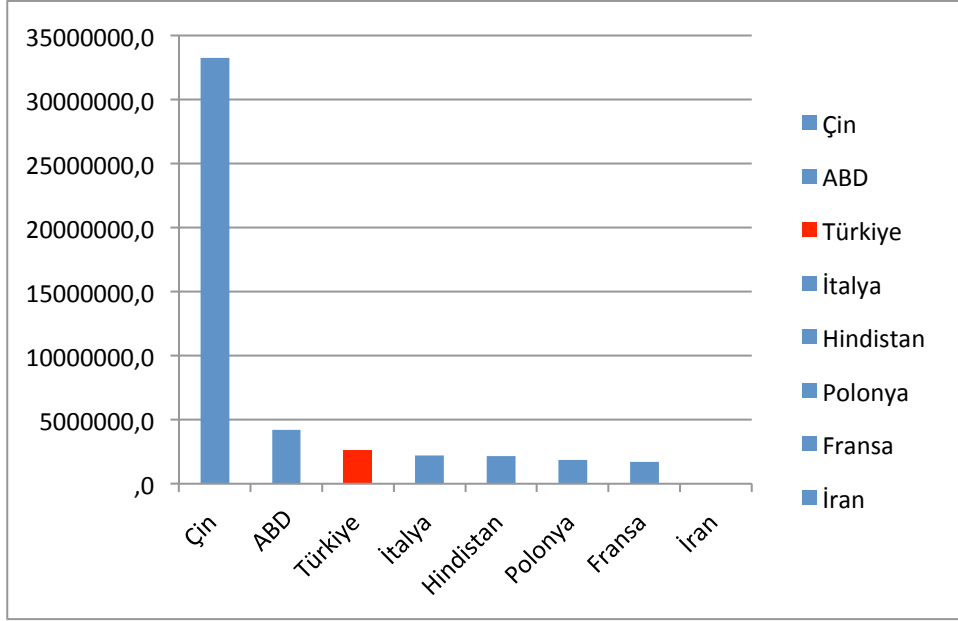
Kısaltmalar	Açıklama
EPPO	Avrupa ve Akdeniz Bitki Sağlığını Koruma Örgütü
FAO	Gıda Tarım Örgütü
I	Incidence (Oran)
LOPAT	levan oluşum, Oksidaz, Patateste Pektolitik enzim, Arjinin, Tütün HR
mg	Miligram
MGM	Meteoroloji Genel Müdürlüğü
nm	Nanometre
P	Prevelence (Yaygınlık)
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
S	Index-Severity (Şiddet)
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
ug	Mikrogram

1. GİRİŞ

Ülkemiz, dünya üzerinde bulunduğu coğrafi konumu nedeniyle birçok meyve türü için oldukça elverişli bir iklime sahiptir. Bu bakımdan ülkemiz, bahçe bitkileri kültürünün doğuş yeri ve dünyada yetişen birçok meyve türünün ana vatanı konumundadır (Ağaoğlu ve ark., 1997). Türkiye’de yetiştirilmekte olan meyve türlerinin önemli bir kısmını ılıman iklim meyveleri oluşturmaktadır. Bunlar içerisinde elma, fındık, armut, şeftali, kayısı, erik, kiraz, ceviz, kestane, ayva, badem, antepfıstığı gibi türler yaygın olarak yetiştirilmektedir. Elma, uzun yıllardan beri yetiştiriciliği yapılan, üretim ve alan bakımından öteki ılıman iklim meyvelerinin başında gelen bir meyve türüdür. Kuzey Anadolu, Karadeniz Kıyı Bölgesi, İç Anadolu ve Doğu Anadolu yaylaları arasındaki geçit bölgeleri ve Güneyde Göller Bölgesi, elmanın önemli yetiştiricilik alanlarını oluşturmaktadır (Anonim, 2016a) Elma ekolojik istekleri bakımından soğuk-ılıman iklim meyvesidir. Yüksek ışık yoğunluğu elmada renklenmede önemlidir. Elma ağacı düşük sıcaklıkların olduğu sert kışlara dayanıklıdır. Kış dinlenmesi sırasında odun kısımları -35°C ile -40°C ’ye, açmış çiçekler ise -2.2°C ile -2.3°C ’ye ve küçük meyveler ise -1.1°C ile -2.2°C ‘ye dayanırlar. Sıcaklık $+40^{\circ}\text{C}$ üzerine çıktığında ise büyüme durur, daha yüksek sıcaklıklar ise zarara neden olur (Özçağırın ve ark, 2004). Genellikle elma birçok toprak tiplerinde başarılı sonuçlar verir. Toprağın alt yüzeyi üst yüzeyinden daha önemli olup, yeterli kireç ve humus bulunduran tınlı, tınlı kumlu ve kumlu-tınlı geçirgen, nemli topraklarda daha iyi verim alınır. Elma için toprak derinliği 2m veya daha fazla olmalı, hafif asit karakterli pH aralığı 6.0-6.5 dolayında ve taban suyu seviyesi en az 1 m olmalıdır (Karahan ve Üstün, 2014).

Ülkemizde yumuşak çekirdekli meyve üretimi, tarımda önemli bir yere sahiptir. Bunun; 3.067.057’lik kısmını yumuşak çekirdekli meyve üretimi oluşturmaktadır. Yumuşak çekirdekli meyvelerinden elma 3.128.450 ton ve armut 462.336 ton üretim değerine sahiptir (FAO, 2014). Bu üretim miktarını elde etmek için ülkemizde yoğun olarak kullanılan elma çeşitleri; Jersey mac, William’s Pride, Gala, Red Chief, Starkrimson Delicious, Starkspur, Golden Delicious, Granny Smith olarak sayılabilir (Karahan ve ark., 2014).

Şekil 1.1’de dünya elma üretiminde ülkemizin yeri ve üretim miktarları verilmektedir. Bu veriler ışığında Ülkemiz elma üretiminde dünyada 3. sırada yer aldığı görülmektedir. Ayrıca bu yönüyle iç ve dış pazarlara sunulan elma ülke ekonomisi için önemli bir tarımsal üründür.



Şekil 1.1. Dünya elma üretiminde ilk sırayı alan ülkeler ve üretim miktarları (FAO, 2014).

Yumuşak çekirdekli meyveler grubuna giren; Elma (*Malus communis* L.), Armut (*Pyrus communis* L.), Ahlat (*Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nakai), Ayva (*Cydonia oblonga* Mill.), Muşmula (*Mespilus germanica* L.) ve Yenidünya (*Eriobotrya japonica* L.), sıcak iklim şartlarının hakim olduğu bölgelerde yetiştirilen çok yıllık bitkilerdir. Elma besin değerleri açısından Çizelge 1.1’de gösterildiği gibi oldukça değerli bir meyvedir.

Çizelge 1.1. 100 gr taze elma meyvesinin içerdği besin değerleri (Anonim, 2016b)

100 gr Elma	İçerdiği besin miktarı	100 gr Elma	İçerdiği besin miktarı
Protein	0.2 gr	A Vitamini	90 IU
Karbonhidrat	14.5 gr	B1 Vitamini	0.03 mgr
Kolesterol	0	B2 Vitamini	0.02 mgr
Yağ	0.2 gr	B3 Vitamini	0.1 mgr
Lif	1.8 gr	B6 Vitamini	0.3 mgr
Fosfor	10 mgr	C Vitamini	10 mgr
Kalsiyum	7 mgr	E Vitamini	0.7 mgr
Demir	0.3 mgr	Folik Asit	0.5 ugr
Sodyum	1 mgr		
Potasyum	110 mgr		
Magnezyum	8 mgr		

Yumuşak çekirdekli meyveler taze tüketiminin yanı sıra meyve suyu, konserve, reçel, marmelat, pekmez ve kurutmalık olarak sanayide hammadde olarak da kullanılmaktadır.

Yüksek ekonomik değere sahip ve yaygın olarak üretilen yumuşak çekirdekli meyvelerde birçok hastalığa neden olan bakteri, fungus ve virüs gibi mikroorganizmalar önemli ürün kayıpları oluşturmaktadır. Çizelge 1.2’de elmada görülen önemli hastalıklar verilmiştir.

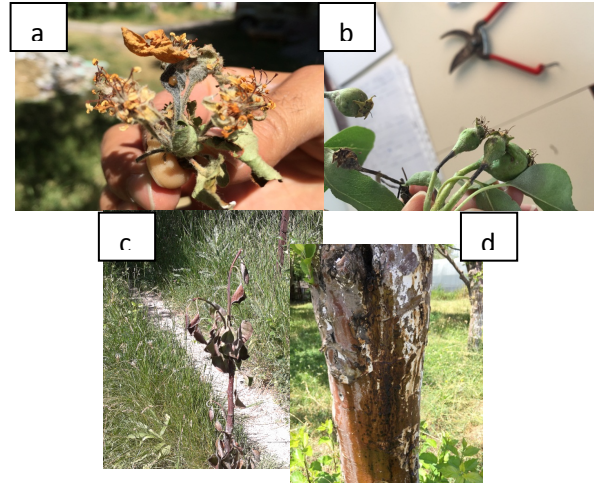
Çizelge 1.2. Elmada görülen önemli, bakteriyel, virüs ve fungal hastalıklar

Hastalık Adı	Hastalığın Etmeni
Ateş yanıklığı hastalığı	<i>Erwinia amylovora</i>
Elma da kanser hastalığı	<i>Pseudomonas syringae pv. papulans</i>
Kök uru ve kanseri hastalığı	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Elma mozaik virüs hastalığı	<i>Apple mosaic virus</i>
Elma klorotik yaprak leke virüsü	<i>Apple chlorotic leafspot virus (ACLSV)</i>
Elmada alternarya meyve çürüklüğü	<i>Alternaria alternaria</i>
Meyve monilyası (mumya)	<i>Monilinia fructigena</i>
Meyve ağaçlarında armillaria kök çürüklüğü	<i>Armillaria mellea</i>
Elma kara lekesi hastalığı	<i>Venturia inaequalis</i>
Elma küllemesi hastalığı	<i>Podosphaera leucotricha</i>

Bu hastalıklar içinde Ateş yanıklığı hastalığı, yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında en yıkıcı bakteriyel hastalıklardandır. 18. yüzyılda ateş yanıklığının nedeni olarak böcek ve fungus olmak üzere iki teori gelişmiş ancak 1882’de Burrill tarafından patojenin ilk bakteriyel tanımlanması yapılarak *Micrococcus amylovorus* olarak isimlendirilmiştir. Etmene en son 1920’de Winslow ve arkadaşları tarafından *Erwinia* cinsi içinde yer verilerek *Erwinia amylovora* ismi verilmiştir (Zwet ve Keil, 1979). Hastalık etmeni *Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow et al.’nın *Enterobacteriaceae* familyasında *Erwinia* cinsi içinde yer alan, gram negatif, fakültatif anaerob, 3.0 nm uzunluğunda, 0.5-1.0 nm çapında, kısa çubuk şekilli ve peritrik kamçılı bakterilerdir (Schroth ve Hilderbrand, 1980). *In vitro*’da optimum 21-28 °C arasında gelişen bakterinin, termal ölüm noktası 45-50°C’ dir. Optimum pH gelişimi 6,0-7,5’dir (Zwet ve Keil, 1979). *E. amylovora*’nın hastalık oluşturduğu konukçu bitkiler arasında: Elma, armut, ayva, yenidünya, ahlat, muşmula gibi yumuşak çekirdekli ile kimi sert çekirdekli ve üvez, ateş dikenini gibi süs bitkileri ile bazı yabancı otlarda bulunabilir ve hastalık oluşturabilirler (Sobiczewski et al. 1997; Zwet ve Keil, 1979). Ancak hastalık etmeni asıl zararı yumuşak çekirdeklielerde yapar. Ateş yanıklığı, Dünya’nın armut ve elma yetiştiriciliği yapılan birçok bölgesinde yaygın olarak görülen ve önemli ölçüde

ürün kayıplarına neden olan bir hastalıktır (Momol ve Zeller, 1992). Hastalık; çiçek tomurcukları, sürgün, ana dallar ve bazen tüm ağacın ölümüne sebep olmaktadır. Gövde ve kök boğazı enfeksiyonları ağaçların kısa sürede ölümüne yol açmakta ve ticari meyve bahçelerinde, önemli ölçüde kayıplara neden olmaktadır (Zwet ve Beer, 1991).

Hastalığın ilk belirtileri, infekteli çiçeklerde ıslak lekeler görülmesi ve bu lekelerin kuruyarak buruşmasından meydana gelir. Hastalık tek bir çiçekte de görülebileceği gibi çiçek demetinin tamamında da görülebilir. Kuruyan çiçek kahverengine bazen de siyah renge bürünür ve ağaçta asılı kalır. Çok küçük meyveler ise, kararır, buruşur ve kurur, dökülmeden ağaçta asılı kalır. Sürgün ve yapraklar da, sürgün ucu yere doğru kıvrılır, kurur ve sürgünlerin ucu çengel şeklini alır (balık oltası). Hastalık sürgünlerde çok hızlı yayılır ve hava sıcaklığına bağlı olarak birkaç günde 30-40 cm kadar ilerleyebilir. İleri düzeyde ağaçlar ateşte kavrulmuş gibi bir hal alır. Meyvelerde ise hastalık daha çok ham olanlarında görülür, infekteli küçük meyvelerde ıslak lekeler birleşir daha sonra kahverengileşir ve büzüşür, siyah bir renk alarak ağaçta asılı kalır. Ağaç gövdelerinde kanserleşmeye neden olarak ölümler görülebilir (Agrios, 2005; EPPO, 2015a). Dallarda ve gövdede bir önceki yıldan kalan kanserlerin kenarlarındaki kabuk dokusunda kışı geçirir. Hastalık etmeni bakteri; yağmur, rüzgar, böcekler, kuşlar ve budama aletleriyle ağaçtan ağaca yayılır (Anonim, 2016c). Etmenin bazı bitkilerde oluşturduğu hastalık belirtileri Şekil 1.2’de verilmiştir.



Şekil 1.2. Hastalığın bitkiler üzerindeki belirtileri. a) Çiçekte görülen belirti b) Meyvede görülen belirti c) Sürgünde görülen belirti d) Gövdede görülen belirti.

Ateş yanıklığı hastalığı dünyada yaklaşık iki asırlık geçmişi olan bir hastalıktır. Hastalık ilk olarak, 1780’de, New York eyaletinde belirlenmiştir (Arthur, 1985). 19. Yüzyılın başlarına kadar hastalığın yayılışı Kuzey Amerika kıtasıyla sınırlı kalmıştır. 1957’de İngiltere’ye ve 1964’te Mısır’a yayıldığı bildirilmiştir (Zwet, 1996). Mısır’dan İsrail ve Kıbrıs’a buralardan da ülkemize girdiği sanılmaktadır (Öktem ve Benlioğlu, 1988). Ateş yanıklığı hastalığı dünyada halen yayılmaya devam eden ve yumuşak çekirdekli meyvelerin en önemli bakteriyel hastalıklarından biridir.

Türkiye’de ateş yanıklığı hastalığı ilk kez, İç Anadolu Bölgesinde armut ve elmalarda bulunduğu bildirilmiş ise de bu iddia kanıtlanmamıştır (Karaca, 1977). Hastalık ilk olarak 1985 yılında Afyon ilinin Sultandağ ilçesindeki armut bahçelerinde tespit edilmiştir. Armut dışında çevredeki yumuşak çekirdekli diğer meyve ağaçlarında ve Rosaceae familyasına ait bitki türlerinde de hastalığın bulunduğu saptanmıştır (Öktem ve Benlioğlu 1988). Araştırmacılar hastalığın 1987 yılında Isparta ve Burdur’ da belirlemiş, elma, armut ve ayva ağaçlarında epidemi oluşturduğu saptanmıştır. Amasya ve Tokat bölgesinde ise ateş yanıklığının ilk olarak 1988 yılında ortaya çıktığı bildirilmiştir (Momol ve Zeller 1992; Tokgönül ve Çınar 1991; Tokgönül ve Başpınar 1995). Ülkemizde hastalığın 1985’ten berri hızla yayılması yumuşak çekirdekli meyve yetiştiriciliğini önemli düzeyde sınırlandırmaktadır.

Bu çerçevede Van gölü havzasının sahip olduğu azımsanamayacak kadar Elma ağacı varlığı devlet destekleri ile her geçen gün artmakta ve önemli bir tarımsal üretim alanı oluşturmaktadır. Günümüzde bu yıkıcı hastalığın Van gölü havzasında varlığı ve yaygınlığını tespiti yönelik çalışmalar uzun vadede üretimin planlanması ve hastalıkla mücadelede hayati öneme sahiptir. Hastalığın bölgedeki varlığının ve yaygınlığının belirlenmesi; yeni oluşturulacak bahçe ve fidanlık tesisleri için veri altyapısı sağlayacak, ayrıca var olan bahçelerde daha etkin ve güvenli mücadele veya koruma stratejileri oluşturulmasına katkı sunacaktır.

Bu çalışmada Van Gölü havzasında yetiştiriciliği yapılan elma (*Malus communis* L.) ağaçlarında ateş yanıklığı etmeni *E. amylovora*’nın klasik ve moleküler yöntemler ile tanınması ve bölgedeki yaygınlık oranının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Ateş yanıklığı Dünya’da ilk kez 1780’ de New York’ta görülmüştür (Arthur, 1985). Bu hastalık Avrupa’da ise ilk defa 1957 yılında İngiltere’de görülmüş ve çok kısa sürede diğer birçok Avrupa ülkesine yayılmıştır (Zwet and Keil, 1979). Ayrıca hastalığın İsrail, Mısır, Kıbrıs, Yunanistan gibi diğer ülkelerde de görüldüğü bilinmektedir (Zwet ve Bonn, 1999). Araştırmacılar hastalığın uzun mesafeler arası yayılmasında taşınan bitki materyallerindeki latent enfeksiyon veya belirlenemeyen kanserler yoluyla ve göçmen kuşlarla olabileceğini bildirmişlerdir (EPPO, 2015b). Zwet ve Keil (1979), *Sturmus vulgaris* L. (sığırcık) gibi göçmen kuşların *E. amylovora* patojeninin ülkeler arasında yayılmasında önemli roller üstlendiklerini bildirmişlerdir.

Ateş yanıklığı hastalığının ülkemize, 1982 yılında Mısır’da yaşanan epideminin ardından bulaşmış olabileceği bildirilmiştir (Momol ve Yeğen, 1993). Hastalık; ülkemizde ilk defa 1985 yılında Afyon ilinin Sultandağ ilçesinde tespit edilmiş ve çok hızlı yayılmıştır (Ökten ve Benlioğlu, 1988). Ankara Zirai Mücadele Enstitüsünün 1987 yılında yapmış olduğu geniş çaplı survey çalışmalarında, Afyon, Ankara, Burdur, Eskişehir, Isparta, Kayseri, Kırşehir, Konya, Nevşehir, Niğde ve Yozgat illerinde hastalığı yaygın bir şekilde görüldüğünü tespit etmiş fakat Bolu, Çankırı ve Zonguldak’ta hastalık tespit edilmiş olmasına rağmen yaygınlığının düşük olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu, incelenen toplam 160.000 adet armut ağacının % 15’nin, 16.000 adet ayva ağacının % 60’ının ve 328.000 adet elma ağacının % 0.84’ünün enfekteli olduğu bildirilmiştir. Hastalığın ülkemizde hızla yayıldığı ve önemli miktarda ürün kayıplarına neden olduğu belirlenmiş bu nedenle Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından 6 Şubat 1987 tarihinde hastalıkla mücadelede eradikasyona karar verilmiştir (Karahana ve Üstün, 2014).

Tokgönül ve ark., (1991), Mayıs-Ekim aylarında Doğu Akdeniz bölgesinde elma, ayva ve yenedünya bahçelerinde yapılan surveylerde Ateş yanıklığı hastalığı belirtisi gösteren ağaçlardan etmen izole edilerek, *E. amylovora* olarak tanımlanmıştır. Bölgede yapılan surveyler sonucunda ateş yanıklığı hastalığının elmalarda yaygınlık oranları Adana, İçel ve Kahramanmaraş illerinde sırasıyla; %8.33 ve 3.3, 42.85 iken hastalık oranı sırasıyla; %13.14, %6.25 ve %2.69 olarak bulunmuştur. İçel ilinde ayva ve

yenidünyalarda yaygınlık oranı ve hastalık oranları ise sırasıyla; % 100 ve 100, 11.76 ve 1.16 olmuştur. Gaziantep ilinde elma, Hatay ilinde ise elma ve yenidünyalarda hastalık tespit edilmemiştir.

Mirik (2000), Amasya ve Tokat illerinde yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen ateş yanıklığı hastalığının etmeninin tanınması, yaygınlık durumu ve dayanıklı çeşitlerin saptanması amacıyla yapılmıştır. Ateş yanıklığı hastalık yoğunluğu, Amasya’da % 8.9 ve Tokat’ta 14.4 oranlarında, yaygınlık oranları ise sırasıyla % 68 ve 71 olarak tespit edilmiştir. Çalışma alanı içerisinde sadece Amasya’nın Gümüşhacıköy ve Hamamözü bölgelerinde ateş yanıklığına rastlanmamıştır.

Yılmaz ve Aysan, (2009), Konya ilinde *E. amylovora*’nın Neden Olduğu Ateş Yanıklığı Hastalığının Elmalardan İzolasyonu, Belirtileri, Yayılması ve Mücadelesi araştırılmıştır. Araştırmada hastalığa duyarlı olduğu bilinen M9, M26 ve M27 gibi elma anaçlarından M9 anacı üzerine aşılaman Fuji, Summerred Breaburn ve Granny Smith elma ağaçlarında hastalık etmeni *Ea*’nın tanılama çalışmaları yapılmıştır. Çalışma sonucunda; yapılan izolasyonlar ve tanı çalışmalarında biyokimyasal ve patojenite testleriyle etmenin *E. amylovora* adlı bakteri olduğu tespit edilmiştir. Yapılan arazi incelemelerinde, M9 anacı üzerine aşılannmış olan Fuji, Summerred Breaburn ve Granny Smith elma ağaçlarında da biyokimyasal testler ile hastalığı tespit edilmiş ve 2007 yılında bu hastalığın yöredeki elmalarda bir epidemi yaptığı saptanmıştır. Hastalığın yaygın olmasının sebepleri arasında anaç-kalem ilişkisinin önemli olduğu bunun yanında böceklerin, çevresel koşulların ve budama makaslarının etkili olduğu ortaya konmuştur.

Güneydoğu Anadolu bölgesinde yapılan bir çalışmada Adıyaman, Bingöl, Bitlis, Diyarbakır, Elazığ, Hakkari ve Van illerinde ateş yanıklığı hastalığının yaygın olduğu, Malatya ve Muş’ta sınırlı olduğu, Siirt’te ise hastalığın bulunmadığı tespit edilmiştir. Bölgede ki hastalık oranları, armutta %0.007-53.3, ayvada %0.005-91.4, elmada ise %0.05-41.5 aralığında görüldüğü saptanmıştır (Karahan ve Üstün, 2014).

Çalışma alanıyla ilgili diğer bir veri, Öden ve Alp, (1994), Van ve etrafından yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında ateş yanıklığı hastalığının tespiti ve yaygınlığına yönelik yaptıkları çalışmadır. Bu çalışmada; Ayva ağaçlarında %100’e yakın hastalık yaygınlığı tespit edilmişken, armutta % 86.86 ve elmada % 38.00’da olarak

belirlenmiştir. Van ve etrafının hastalık yaygınlığı en fazla % 63.29 ile Van ili Gevaş ilçesi iken % 33.63 ile en düşük Van ili merkezde görülmüştür.

Manulis ve ark, (1998) tarafından, İsrail’ de yetişen elma, armut, ayva ve yenedünyadan izole edilen 205 farklı *E. amylovora* straininin karakterizasyonu için çalışmalar yapılmıştır. Çalışmanın yürütülmesinde bu farklı strainlerin farklı konukçular üzerindeki virülenslik derecesi incelenmiş, bunun yanında serolojik testler yapılmış ve moleküler karakterleri ortaya konmuştur. Yapılan ELISA ve İmmunoflourensans deneyler sonucu İsrail strainlerinde serotipik gruplar ortaya çıkmamıştır. Genomik çeşitlilik çalışmaları Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analizi kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada da rastlantısal olarak 10 bp’lik 24 primer belirlenmiştir. Tüm strainlerde uygulanan bu çalışma sonucunda İsrail’ deki *E. amylovora* populasyonunun benzerliği ortaya konulmuştur.

Taylor ve Hale, (1998) Avusturalya’ da yetiştirilen Dağ muşmulası (*Cotoneaster spp.*)’ den izole ettikleri *E. amylovora* izolatlarıyla, İngiltere ve Yeni Zelanda’ da yetişen *Pyrus communis*, *Malus spp.*, *Crateagus monogyna* ve *Cotoneaster melanacarpus* konukçularından izole ettikleri *E. amylovora* izolatlarını moleküler düzeyde karşılaştırarak incelemişlerdir. İzolatlar arasında fark tespit edilmemiş ve İzolatların tanısında Ea71 primerleri kullanılarak PCR yapılmıştır. Çalışma sonucunda 187 bp’ lik bant oluşumu gözlenmiş başarılı ve hassas bir şekilde tanılamının gerçekleştirildiği belirtilmiştir. Taylor ve ark, (2001)’de yürüttüğü sonraki çalışmada PCR ile bitki materyalindeki *E. amylovora*’nın hızlı ve hassas tanılamasına hedeflenmiştir. Beş ülkeden, 10 farklı konukçu bitkiden elde edilen 69 Ea izolatu kültürü üzerinden çalışılmış ve dizayn edilen GF1 ve GF2 primerleri yardımıyla başarıyla teşhis edilmiştir. Ateş yanıklığı hastalık belirtileri ortaya çıkmadan bu primerler ile tanısının yapılabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada PCR metodunun hastalıkların önceden tanısında hızlı ve başarılı sonuçlar verebildiği görülmüştür.

Pirc vd (2009) tarafından, TaqMan prob kullanılarak uygulanan Real-Time PCR yöntemi geliştirilmiştir. Hokkaido’ dan elde edilen *E. amylovora*’ ya ait farklı strainlerin ve İspanya’ dan elde edilen enfekteli armut çiçeklerinden izole edilen *E. pyrifoliae* ve *E. amylovora* strainlerinin Real-Time PCR yöntemiyle tespitleri yapılmıştır. Çalışmada kullanılmak üzere *E. amylovora*’nın kromozomal DNA’ sının *amsC* gen bölgesinden, ITS bölgesinden ve plazmidinden spesifik TaqMan probe geliştirilmiştir. Geliştirilen

problardan en güvenilir ve kesin sonucu verenin *ams* gen bölgesinden dizayn edilen prob olduğu belirlenmiştir.

De Bellis ve ark., (2007)' yılında armut yaprak ve çiçeklerinden real-time Scorpion-PCR ile *E. amylovora* bakterisinin tanılanması ve miktarının belirlenmesi araştırılmıştır. Plazmid pEA29'dan 111 bp'lik tek bir DNA fragmanını güçlendirici spesifik bir primer çifti olan E3-E4 ile yapılmıştır. Bakteri süspansiyonlarının seri seyreltilmesini kullanarak saptama limiti Scorpion-PCR'de 3.2×10^4 CFU ml⁻¹ ve iç içe geçmiş Akrep-PCR'da 2.8×10^2 CFU ml⁻¹ olmuştur. Gerçek zamanlı PCR, DNA ekstraksiyonu için etkili prosedürler ile kombine edildiğinde, yapay olarak aşılınmış armut çiçeklerinin ve yapraklarının yıkanmalarında *E. amylovora*'nın epifitik popülasyonunun tespiti ve miktarının belirlenmesine olanak sağlamıştır. Yarı seçici ortamdaki patojen CFU ile gerçek zamanlı PCR ile değerlendirilen ilgili hedef DNA konsantrasyonu arasında önemli bir korelasyon ($r = 0.92$) elde edilmiştir.

Bozan (2011)'deki çalışmasında Ateş yanıklığı hastalık etmeni *E. amylovora*'nın LNA probe kullanılarak kantitatif real-time PCR ile tanısı ve tespiti yapılmıştır. Bakteriyel patojen, *E. amylovora*'nın Real-Time PCR yöntemiyle tanısı için, patojenik bakterinin polisakkarit üretiminden sorumlu ve kromozomal *ams* gen'inin 1,6 kb'lık internal diziliminden prob ve primerler dizayn edilmiştir. Geliştirilen prob ve primerler ile *Erwinia amylovora* genomundan, planlandığı gibi 63 bp'lik PCR ürünü çoğaltılmıştır. Farklı bitki patojeni bakterilerin genomlarından hiçbir amplifikasyon tespit edilememesine rağmen, test edilen tüm yerli ve yabancı farklı *E. amylovora* strainlerinden 63 bp'lik amplifikasyon elde edilmiştir. Geliştirilen primer ve probun hassasiyet limiti direkt bakteriyel süspansiyondan 6 cfu/2, genomik DNA'dan 10 pg olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada geliştirilen prob ve primer kullanılarak gerçekleştirilen Kantitatif Real-Time PCR methodology, hastalıklı ve sağlıklı yaprak, sürgün ve çiçeği içeren bitki materyallerinden *E. amylovora*'nın tespiti yapılarak, hastalık etmeninin çiçeklenme döneminden üretim sezonunun sonuna kadar epifitik popülasyonlarının değişimlerinin tespit edilebileceği ileri sürülmüştür.

Bir doktora çalışması olan bu araştırmada, Türkiye'de ilk defa ateş yanıklığı etmeni *E. amylovora*'nın moleküler açıdan detaylı olarak tanısı ve karakterizasyonu incelenmiştir. Armut, elma, ayva, muşmula, yenidünya ve Rosaceae familyasına ait Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinden tespit edilen bitkilerden ateş yanıklığı hastalık

belirtilerini taşıyan bitki örneklerinden izolasyonlar yapılarak hastalığın tanılması için LOPAT testleri ile birlikte patojenite testleri yapılmıştır. Elde edilen tüm *E. amylovora* izolatlarına patolojik ve biyokimyasal testler uygulandıktan sonra tüm izolatların moleküler düzeyde kesin tanılarının yapılması amacıyla PCR teknikleri kullanılmıştır. Patojenik bakterilerin polisakkarit üretiminden sorumlu olan ve kromozal DNA üzerinde bulunan *ams* geninin (1.6 kb) çoğaltılması ile *E. amylovora* izolatlarının kesin tanısı yapılmıştır. Çalışmada ayrıca izolatların plazmit profilleri belirlenmiş ve karakterizasyonu yapılmıştır (Ünlü ve Basım, 2002).

Atasağın (2009)'un bu çalışmasında 2006 ve 2007 yıllarında, Konya ilinde Rosaceae familyasına ait farklı konukçulardan ve bu konukçuların farklı çeşitlerinden alınan örneklerle *E. amylovora*'nın tanılanması amaçlanmıştır. *E. amylovora*'nın teşhisinde, çeşitli biyokimyasal testler ile moleküler test olan PCR kullanılmıştır. Moleküler tanılamada; A ve B primerleri kullanılarak pEA29 plazmidinin yaklaşık 1 kb'lık fragment PCR ile amplifiye edilmiştir. Patojenisite testlerinde, her izolat, elde edildiği konukçusunun fidanlarına ve ham armut meyvelerine 10^8 hücre/ml yoğunlukta bakteriyel süspansiyonun inokulasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 213 adet bitki örneği toplanmış olup bunlardan 148 adet bakteri izole edilmiştir. Yapılan biyokimyasal, moleküler ve patojenisite testleri sonucunda 84 adedi *E. amylovora* olarak tanılanmıştır.

İzmir ilinde ayvada ve diğer yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından izole edilen ateş yanıklığı hastalığı etmeninin (*E. amylovora*) klasik ve moleküler yöntemlerle tanısı ve entegre mücadele olanakları araştırıldığı bu çalışmada; Patojenite testlerinde ham meyve, koparılmış ayva çiçekleri ve fidan sürgünleri kullanılmış, klasik tanılamada ise LOPAT testlerinin yanında KOH (Potasyum Hidroksit) ve jelatin testi uygulanmıştır. Moleküler tanılamada ise G1F-G2R primerlerinin kullanıldığı PCR çalışması ile gerçekleştirilmiştir. PCR testine tabi tutulan 13 izolatında kesin tanılaması yapılmıştır. Çalışma sonunda etmenin tanılmasında güvenilir ve hızlı bir şekilde GF1 ve GF2 primer çifti kullanılarak klasik PCR ile gerçekleştirilebileceği belirtilmiştir (Arda, 2016).

Hastalığın yayılması ve oluşturduğu zararın meyve türü ve çeşidine göre önemli düzeyde değişiklik gösterdiği birçok çalışmada belirlenmiştir (Zwet ve Keil, 1979; Vanneste 2000). Bu yönüyle proje çalışma alanından elde ettiğimiz sonuçların

değerlendirilmesin de çeşit farklılığının göz önünde bulundurulması önemlidir. Bu çerçevede ülkemizde hastalığın yayılımı ve yaptığı zarar üzerine, yetiştiriciliği yapılan tür ve çeşitlerin etkisini ortaya koyan bazı çalışmalar bulunmaktadır. Bu çerçevede Mirik, (2000), Amasya ve Tokat illerinde yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen ateş yanıklığı hastalığının etmenine karşı dayanıklı çeşitlerin saptanması amacıyla çalışmalar yürütülmüştür. Amasya’da bulunan armut çeşitlerinden Santa maria ve Williams en hassas çeşitler iken en dayanıklı çeşidin Keklik çeşidi olduğu saptanmıştır. Amasya ve Tokat’ta yetiştirilen ayva çeşitlerinden Eşme ve Ekmek çeşitlerinin hastalığa duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Araştırma bölgesinde yetiştirilen elma çeşitlerinden ise Golden ve Starking Delicious çeşitleri hastalığa dayanıklı iken yerel çeşit olan Alyanak (Yaz Elması) ile Stark Earliest çeşitlerinin duyarlı oldukları saptanmıştır. Benzer olarak Tokgönül, (1994)’ün yaptığı çalışmada, Akdeniz Bölgesinde yetiştiriciliği yapılan yenedünya çeşitlerinin *E. amylovora*’ya karşı reaksiyonları araştırılmıştır. Yenedünyanın 18 çeşidinin üzerinde yapılan çalışmalarda tüm çeşitlerinde *E. amylovora*’ya karşı yüksek derecede duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Basım ve ark. (2014), Bu çalışmadaki amaç, 1997-2013 yılları arasında Ateş Yanıklığı Hastalığı etmeni *E. amylovora*’nın farklı strainlerinin elde edilmesi ve bu bakteriyel hastalığa karşı dayanıklı armut çeşitlerinin geliştirilmesidir. Bu amaçla, Güneydoğu Anadolu Bölgesi hariç tüm bölgelerden izole edilerek PCR ile tanıları yapılan *E. amylovora* izolatlarının genom analizleri Pulsed-Field Jel Elektroforesiz (PFGE) tekniği ile yapılarak farklı strainler belirlenmiştir. 2013 yılı Temmuz ayına kadar yapılan çalışmalarda *E. amylovora*’nın bakır, Oxolinic asic ve Streptomycin’e karşı dayanıklı herhangi bir strainni tespit edilememiştir. Farklı *E. amylovora* strainleri kullanılarak 2006-2008 yıllarında yapılan kontrollü melezleme çalışmalarıyla, pomolojik özellikleri üstün ve Ateş Yanıklığı Hastalığı’na karşı dayanıklı armut çeşitleri geliştirilmiştir.

Evrenosoğlu ve ark. (2014), Bu çalışmada; ateş yanıklığı etmeni *E. amylovora*’ya karşı melez armut bireylerinin duyarlılığı araştırılmıştır. Melez bireylerin testlenmesinde, virulensliği yüksek olan 7 izolat kullanılmıştır. Melez bireyler bu izolatların eşit oranda karışımlarından oluşan *E. amylovora* süspansiyonu ile Ağustos 2010 ve Mayıs 2011 tarihlerinde sürgün enjeksiyonuyla iki kez inokule edilmiştir. Sürgün yanıklığı oranına göre yapılan değerlendirmede, testlenen 7495 melez bitkiden,

%11,91’u “çok az duyarlı”, %3,99’u “az duyarlı”, %6,62’si “orta derecede duyarlı”, %18,07’si “duyarlı” ve %59,41’i “çok duyarlı” grupta yer almıştır. Dayanıklı Magness çeşidinin ana ebeveyn olarak kullanıldığı kombinasyonlarda “çok az duyarlı” grupta yer alan birey sayısının yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Aktepe (2012), Bu çalışma Adana’da, farklı yenidoğru çeşitlerinin *E. amylovora*’nın neden olduğu ateş yanıklığı hastalığına karşı reaksiyonlarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışmada 5 farklı yenidoğru çeşidi (Akko XIII, Gold Nugget, Sayda, Hafif Çukurgöbek ve Champagne de Grasse) ve Türkiye’nin farklı illerinden izole edilen 14 adet *E. amylovora* izolatu kullanılmıştır. Bu çeşitlerin ateş yanıklığı hastalığının yaprak ve sürgün enfeksiyonlarına duyarlılık düzeyleri 2011 ve 2012 yıllarında araştırılmıştır. Çalışma sonucunda tüm çeşitler ateş yanıklığı hastalığının yaprak enfeksiyonuna çok duyarlı bulunurken, ateş yanıklığı hastalığının sürgün enfeksiyonlarına Champagne de Grasse, Akko XIII ve Hafif Çukurgöbek çeşitleri orta duyarlı, Sayda ve Gold Nugget çeşitleri az duyarlı olarak tespit edilmiştir.

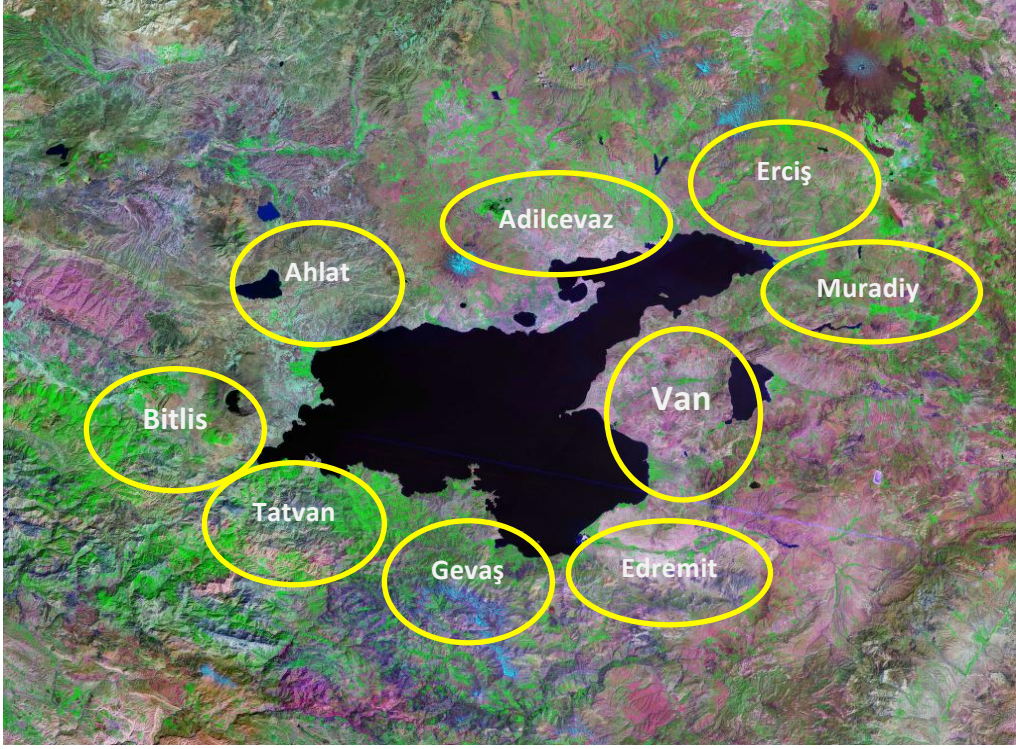
Tokgönül ve Çınar (1995), Bu çalışmada, Doğu Akdeniz Bölgesinde armutlarda Ateş Yanıklığı Hastalığı (*E. amylovora* Burr. Winslow et al.)’nın iklim koşulları ile ilişkisi araştırılmıştır. Adana ve İçel illerinde, daha önceki yıllarda yapılan çalışmalardan *E. amylovora*’ya duyarlı olduğu bilinen Santa Maria armut çeşidinin bulunduğu 6-7 yaşlarındaki bahçelerde yürütülmüştür. 1990-1994 yılları arasında armutlarda çiçeklenme periyodu boyunca iklim verileri ve hastalığın çıkışı kaydedilmiştir. Şiddetli hastalık çıkışının maksimum 24 °C’de ve yeterli yağışın(> 2.5mm) olması halinde dahi şiddetli varlığı tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Araştırma Bölgesinin Genel Özellikleri

Araştırma alanı Van ve Bitlis illerinin kapsayan Van gölü havzasıdır. Araştırma kapsamında havzada bulunan il ve ilçeler çalışmadaki sörvey ve değerlendirme merkezi olarak kullanılmıştır. Van Gölü havzası ve inceleme alanlarının uydu görüntüsü Şekil 2’de verilmiştir.

Araştırmaya konu olan havzanın alanı yaklaşık 20.000 km² olup bunun 3713 km²’sini Van Gölünün kendisi oluşturur. Karasal bir iklime sahip olan bölgenin etrafı tamamen dağlarla çevrilidir (Çiftçi ve ark, 2008). Van Gölü Havzasında ortama yıllık yağış miktarı yaklaşık 662.60 mm’dir. En fazla yağışı 59 mm ile Nisan ayında alırken en az yağışı ise 4 mm ile ağustos ayında almaktadır. Yıllık ortalama sıcaklık 24.9 °C dolaylarında değışiklik göstermektedir. En sıcak ay olan temmuzda ortalama sıcaklık 21.2 °C iken en soğuk ay olan ocak ayında ise ortalama sıcaklık ise -3.7 °C civarlarındadır (Anonim, 2016d). Havzada elma yetiştiriciliğinin yapıldığı yükseklik ortalaması 1650 ile 1800 m arasındadır. Van gölünün rakımı ise 1642m’dir (Anonim 2016e).



Şekil 2. Araştırma bölgesi olan Van gölü havzasının içinde yer alan Van- Bitlis il ve ilçeleri (Anonim, 2016f).

3.2 Materyal

Çalışma materyalini; Van Gölü Havzasında yer alan Van ilinin, merkez, Edremit, Gevaş, Muradiye ve Erciş ilçeleri ile Bitlis ilinin, merkez, Tatvan, Ahlat ve Adilcevaz ilçelerin de tesis edilmiş elma bahçeleri oluşturmaktadır. Araştırma bölgesinde bulunan bahçelerle, ağaç sayıları ve ilgili veriler Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Van ve Bitlis il ve ilçelerinde bulunan toplam ağaç, gözlem yapılan bahçe ve ağaç sayıları

İl	Örnek alınan bölgeler	Toplam ağaç sayısı (adet)	Gözlem yapılan bahçe sayısı	Gözlem yapılan ağaç sayısı (adet)
Van	Merkez	163.444	7	821
	Edremit	93.081	4	108
	Erciş	184.578	6	760
	Gevaş	7.935	4	125
	Muradiye	45.582	3	180
Bitlis	Merkez	20.471	2	71
	Adilcevaz	180.900	6	176
	Ahlat	11.400	5	612
	Tatvan	38.500	4	144
Toplam		745.891	41	2997

Bununla birlikte Ateş Yanıklığı Hastalığının etmeni olan *E. amylovora*'nın izolasyonu için toplanan hastalık belirtisi görülen sürgün, meyve ve çiçek örnekleri oluşturmaktadır. Ayrıca, HR testi için yetiştirilen “Samsun” cinsi tütün fideleri ve patojenite testi için kullanılan ham armut meyveleri ile hastalığa duyarlı olduğu bilinen 3 yaşındaki “Deveci” çeşidi armut fideleridir. Çalışma süresince genel besi yeri ve izolasyon çalışmalarında Kng's B (KB), levan oluşumu için Sakkaroz Nutrient Broth (SNA) ve Arjinin testi için kullanılan besi yerlerinin içerikleri Çizelge 2.2'te verilmiştir (Schaad ve ark., 2001; King ve ark., 1954).

Çizelge 2.2. Ateş yanıklığı hastalığı etmeni *Erwinia amylovora* patojen bakterilerinin tanımlanmasında kullanılan besi ortamları (Schaad et al, 2001 ve King et al. 1954)

Besi Ortamının Adı	1000 ml Besi Ortamı İçin Gerekli Kimyasallar*	Gram/Litre
King's B	Pepton	20,0 gr
(King et al. 1954)	Glycerol	10,0 ml
	K2HP04	1.5 gr
	MgSO47H2O	1.5 gr
	Agar	16 gr
	Cycloxeimide**	100 mg
Sakkaroz Nutrient	Nurtient Broth	8 gr
Agar (SNA)	Agar	15 gr
(Schaad et al, 2001)	% 5 Sakkaroz	50 ml

*Tüm besi yerleri 15 dk 121 C'de otoklavlanarak steril edilmiştir.

** Cycloheximide otoklavlama işleminin ardından, besi yeri sıcaklığı 50°C'ye düştükten sonra %70'lik alkolde çözülerek ortama ilave edilmiştir.

3.3 Yöntem

3.3.1 Sörvey

Ateş Yanıklığı Hastalığının tespiti, şiddetinin ve yaygınlığının belirlenmesi amacı ile yapılan sörvey çalışmaları 2014-2015 yılları Mayıs ve Temmuz ayları arasında, araştırma bölgesi olan Van Gölü Havzasında gerçekleştirilmiştir.

Van ve Bitlis il ve ilçelerinin yer aldığı bölgelerdeki ziyaret edilecek bahçe sayısı, kapama bahçe olarak yetiştirilen elma bahçelerindeki ağaç sayılarına göre belirlenmiştir. Havzada bulunan elma bahçeleri sayıları ve yetiştirilen alan büyüklüğü Çizelge 2.3'te verilmiştir. Sörveylerde ilçeleri temsil edecek şekilde farklı yönlerden bahçeler ziyaret edilmiştir. Dolaşılan bahçelerden gözlemler ve alınan örnekler; ağaçların dört bir tarafı kontrol edilerek gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2.3. Van ve Bitlis il ve ilçelerinde bulunan elma ağaçlarının sayıları ve üretim alanı (TUIK, 2013)

İl	Örnek alınan yerler	Üretim yapılan alan (dekar)	Toplam ağaç sayısı (adet)
Van	Merkez	8.141	163.444
	Edremit	2.476	93.081
	Erciş	5.918	184.578
	Gevaş	117	7.935
	Muradiye	868	45.582
Bitlis	Merkez	385	20.471
	Adilcevaz	5.142	180.900
	Ahlat	992	11.400
	Tatvan	709	38.500
Toplam		24.748	745.891

Sörvey çalışmalarının yapıldığı bahçelerde incelemeler Lazarov (1961) modeline göre yapılmıştır. Bu metoda göre her bir bahçedeki toplam ağaç sayılarına göre asgari incelenecek ağaç sayısı aşağıdaki gibi belirlenmiştir.

- 20 meyve ağacı olan bahçelerde ağaçların hepsi
- 21-70 meyve ağacı olan bahçelerde 21-30 ağaç
- 71-150 meyve ağacı olan bahçelerde 31-40 ağaç
- 151-500 meyve ağacı olan bahçelerde 41-80 ağaç
- 501-1000 meyve ağacı olan bahçelerde ağaçların % 15'i
- 1000'den fazla meyve ağacı olan bahçelerde ağaçların % 5 (en az 150

ağaç) kontrol edilmiştir.

Elma bahçelerindeki gözlem ve incelemeler bahçe içerisinde zig zag oluşturulacak şekilde gezilerek şansa bağlı olarak yapılmıştır. Tipik ateş yanıklığı belirtisi taşıyan bitki yapıları gözlenmiştir. Tek bir belirtinin tespitinde dahi ağaç hastalıklı olarak değerlendirilmiştir. Bitkilerdeki hastalık şiddeti Çizelge 2.4' te verilmiş olan 1-10 skalasına göre modifiye edilerek değerlendirilmiştir (Zwet ve Keil (1979).

Çizelge 2.4. Ateş yanıklığı hastalık şiddetinin belirlenmesinde kullanılan Zwet ve Keil (1979)'un modifiye edilmiş olan 1-10 skalası aralığındaki değerler

Skala Değeri	Açıklama
1	Hastalık belirtilerinin olmaması
2	% 1-3 Hastalık Şiddeti veya 1 yaşındaki sürgünler üzerinde belirtilerin ortaya çıkması
3	% 4-6 Hastalık Şiddeti veya 1-2 yaşındaki sürgünler üzerinde belirtilerin ortaya çıkması
4	% 7-12 Hastalık Şiddeti veya 1-3 yaşlarındaki sürgünlerin 1/8'nin üst kısımlarında belirtilerin ortaya çıkması
5	% 13-25 Hastalık Şiddeti veya 3 yaşındaki sürgünlerin 1/4 'nin üst kısımlarında belirtilerin ortaya çıkması
6	% 26-50 Hastalık Şiddeti veya 3 yaşındaki sürgünlerin 1/2 'nin üst kısımlarında belirtilerin ortaya çıkması
7	% 51-75 Hastalık Şiddeti veya ağaç tabanının ve yaşlı dalların 1/4 'nin alt kısımlarında belirtilerin ortaya çıkması
8	% 76-88 Hastalık Şiddeti veya ağaç tabanının ve yaşlı dalların 1/2 'nin alt kısımlarında belirtilerin ortaya çıkması
9	% 89-99 Hastalık Şiddeti veya gövdede belirtilerin ortaya çıkması
10	% 100 Hastalık Şiddeti veya ağacın tümünün ölmesi

Sörvey yapılan bahçelerdeki hastalık şiddeti, hastalık oranı ve hastalığın yaygınlığı Bora ve Karaca (1970)'in formüllerine göre hesaplamaları yapılmıştır. Yukarıda belirtilen 1-10 skalasına göre ağaçlardaki hastalık şiddetinin belirlenmesinden sonra, bahçedeki hastalık şiddeti veya indeksini belirlemek için aşağıda belirtilen Hastalık şiddeti (Severity (İndex)-S) formülü kullanılmıştır. İlçe, il veya havzadaki hastalık oranını belirlemek için Hastalık Oranı (İnsidance-I) formülü, hastalık yaygınlığını belirlemek için ise Yaygınlık oranı (Prevelence-P) formülü kullanılmıştır.

$$Hastalık\ Şiddeti(S) = \frac{\Sigma (Hastalıklı\ Ağaç\ Sayısı \times Hastalık\ Skalası)}{En\ Yüksek\ Skala\ Değeri \times Gözlemlenen\ Ağaç\ Sayısı} \times 100$$

$$Hastalık\ Oranı\ (I) = \frac{\Sigma (Hastalıklı\ Bitki\ Sayısı \times S)}{Toplam\ Gözlemlenen\ Bitki\ Sayısı \times 100} \times 100$$

$$Hastalık\ Yaygınlığı\ (P) = \frac{\Sigma\ Hastalıklı\ Bahçe\ Sayısı}{Bölgedeki\ Toplam\ Bahçe\ Sayısı} \times 100$$

3.3.2 Örneklerin Alınması ve Muhafaza

İnceleme yapılan bahçelerde karakteristik Ateş Yanıklığı Hastalığı belirtisi gösteren ağaçların dal, sürgün ve çiçekleri canlı dokuyu da içerecek şekilde kesilip etiketli torbalara konularak ağızları kapatılmış ve soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılmıştır. Örnekler kullanılıncaya kadar (en fazla 24 saat +4 C⁰) buzdolabında saklanmıştır.

3.3.3 Etmenin İzolasyonu

İzolasyon çalışmalarında % 0,5'lik Na-hipoklorit veya % 70 seyreltilmiş alkol kullanılmıştır. Hastalıklı sürgün ve yapraklardan sağlam ve ölü dokuyu ayıran sınırdan steril bir bisturi yardımı ile doku parçaları alınmıştır.

Yapraktan izolasyon; hastalıklı yaprak örnekleri iyice temizlenerek hastalıklı ve hastalıksız kısımdan steril bir bisturi yardımıyla parçalar alınarak sterilizasyon işlemlerine geçilmiştir. Sterilizasyon %70 seyreltilmiş alkol içerisinde 3-5 dk bekletildikten sonra iki ayrı beherde steril saf su içerisinde 2 dk bekletilerek temizlenmesi sağlanmıştır. Dezenfeksiyonu yapılan parçalar steril kurutma kağıtlarında kurutulmuştur. Hazırlanan örneklerin ezme işlemi, steril havanlara bir miktar steril saf su eklenerek havaneli yardımıyla homojen bir hal alana değin devam etmiştir.

Çiçeklerden alınan örnekler seyreltilmiş alkol içerisinde 2 dk bekletilip ve ardından saf steril suda yaklaşık 1dk bekletildikten sonra kurutma kağıtlarında kurutularak havanlarda ezme işlemi yapılmıştır.

Dal ve sürgün izolasyonunda ise; hastalıklı sürgünler sağlam ve ölü dokuyu da içine alacak şekilde steril bir bisturi ile kesilip sonraki aşamaya geçilmiştir. Sterilizasyon işlemlerinden sonra steril kurutma kağıtlarında kurutulup steril tüpler içerisine hazırlanan steril saf sular eklenerek doku parçaları içerisine konulmuş ve yaklaşık 30-45 dk beklenmiştir.

Daha sonra bu ekstaksiyon süspansiyonları öze yardımıyla önceden hazırlanan King-B besi yerlerine çizgi ekimleri yapılmıştır. Ekim yapılan petri kapları 27 °C'de inkübe edilmiştir. Besi ortamlarında gelişen tipik kolonilere sahip bakterilerden saflaştırma yapılmıştır.

King-B besi ortamlarında beyaz-krem renkte, parlak yüksek bombeli ve mukoid olan levan tipte koloni gelişimi ve ayrıca fluorescent pigment oluşturmaması koloni seçiminde pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.3.4 Tanılama Çalışmaları

3.3.4.1 LOPAT Testi

a) Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu (HR) testi:

Elde edilen muhtemel *E. amylovora* izolatlarının 10^8 cfu/ml' lik süspansiyonları hazırlanarak en az 5-10 yapraklı tütün bitkilerine steril enjektör ile enjekte edilmiştir. Enjekte edilmiş tütün bitkisi kontrollü gelişme odasında 27 °C' de 48 saat bekletilmiştir (Schaad et al., 2001). Bulaştırma işlemi yapılan tütün yapraklarında süre sonunda parşomentimsi yapıların oluşması tütün HR testinin pozitif olarak değerlendirilmesini sağlamıştır.

b) Levan oluşumu:

Nutrient Agar + % 5 sukrozdan oluşan kültür besi ortamında 24 °C'de ve 48 saat sonunda gelişen bakteri kolonilerinde kubbemsi yapı oluşturanlar da levan pozitif olarak değerlendirilmiştir (Obradovic, 2010).

c) Oksidaz testi:

Nutrient Agar + % 1 glikozdan oluşan besi ortamına 48 saat önceden aşıl原因an bakteri kolonileri geliştirildikten sonra kurutma kağıdının üzerine % 1'lik tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride' den bir damla damlatıldıktan sonra bir öze yardımı ile bakteri kültüründen alınarak bu damlatılan bölgeye sürülmüştür. Kurutma kağıdı 60 saniyeye kadar mavi-mor renk oluşumu gözlemlenmeyenler oksidaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Schaad et al., 2001).

d) Patates pektolitik enzim aktivitesi testi:

Yüzey sterilizasyonu %70 alkol ile yapılan patatesler enine halkalar şeklinde kesilerek nemli kurutma kağıdının bulunduğu steril kaplar içine yerleştirilmiştir. King's B besi ortamında 48 saat gelişen kolonilerden bir öze yardımı ile aday bakteriler alınarak patatesin yüzeyinde önceden açılmış olan oyuklara uygulanmıştır. Uygulama görmüş patateslerin bulunduğu kaplara steril distile su ilave edilerek kapakları kapatılmıştır. 27°C' de 3–4 gün inkübatöre bırakılmıştır. Süre sonunda patateslerin yüzeyinde doku çökmesi oluşturmayanlar negatif olarak değerlendirilmiştir (Schaad et al., 2001). Negatif kontrol olarak saf steril su kullanılmıştır.

e) Arginin dehidrolaz testi:

Arginin dehidrolaz testi için kullanılan besi yerinin formülü aşağı verilmiştir.

	<u>g/l</u>
Peptone	1 gr
NaCl	5 gr
K ₂ HPO ₄	0.3 gr
Agar	3 gr
Phrnol red	1 mg
Arginine HCl	10 gr

Bu testte, tüplere 3 ml konan arjinin besi ortamının içine öze ile aşıl原因an aday bakterilerin üzerine 2 ml sıvı agar konulduktan sonra 27 °C' de 7–15 gün inkübatörde bekletilmiştir. Test sonucunda pembe-kırmızı-sarı renk olanlar negatif olarak değerlendirilmiştir (Obradovic, 2010).

3.3.4.2 KOH testi ile gram reaksiyonunun belirlenmesi

Bu test için %3'lük KOH çözeltisi kullanılmıştır. Bir lam üzerine %3'lük KOH çözeltisinden bir iki damla konulmuştur. Canlandırılmış bakteriler öze ile alınarak KOH damlası içerisinde 5-10 sn karıştırılmıştır. Öze damlamadan yukarı doğru kaldırılmıştır.

KOH'un vizkoz bir hal aldığı ve 0.5-2 cm veya daha yukarı iplik gibi uzayan bakteriler gram negatif (-) olarak değerlendirilmiştir (Saygılı ve ark., 2006).

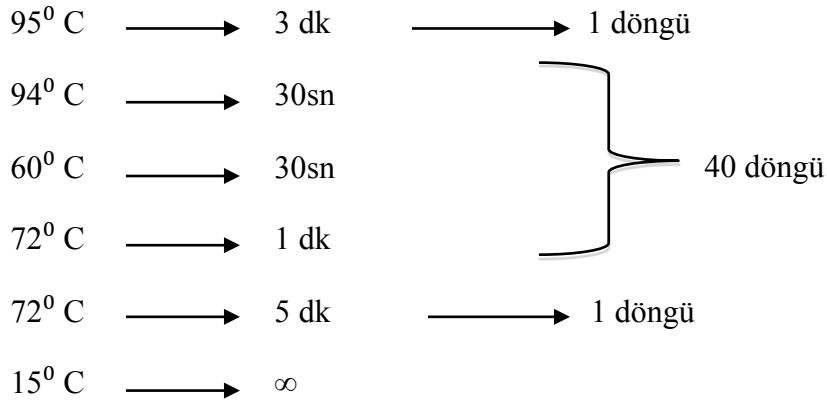
3.3.4.3 Moleküler tanılama

Ateş yanıklığı hastalığı etmeni olan *E. amylovora*'yı spesifik düzeyde tanılamak amacıyla **G1-F** (5'-CCTGCATAAATCACCGCTGACAGCTCAATG-3') ve **G2-R** (5'-GCTACCACTGATCGCTCGAATCAAATCGGC-3') primerleri kullanılmıştır. (Taylor *et al* 2001). DNA ekstraksiyonu 10^7 cfu/ml yoğunluğunda ($OD_{600nm}:0.1$) hazırlanan bakteri süspansiyonu 1 ml 1.5'lik santrifüj tüplerine konularak kuru blok ısıtıcıda 10 dakika süreyle kaynatılarak hazırlanmıştır. Daha sonra kullanılmak üzere $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Çalışmada kullanılacak master-mix ve termal cycle koşulları Taylor ve ark. (2001)'e göre hazırlanarak uygulanmıştır. PCR ürünlerinin değerlendirilmesi % 1.5'lik agaroz jelde 100V ta 30-45 dk koşularak yapılmıştır. Örneklerin *E. amylovora* olduğunu primerlerin jel üzerinde 187 bp büyüklüğünde oluşturduğu bantlara göre değerlendirilmiştir.

Moneküler tanılama işleminde pozitif kontrol olarak; İzmir Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarından getirilen ve teşhisi yapılmış *E. amylovora* patojen bakterisi kullanılmıştır (Bkz. Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5. Spesifik tanılama da kullanılan PCR master mix içeriği ve termal cycle koşulları

G1-F/G2-R primerleri için master mix			
Gerekli Kimyasallar	Başlangıç Stok	Final Konsantrasyon	1 örnek için gerekli miktar
Taq Buffer	10 X	1 X	2,5 µl
MgCl ₂	25 Mm	1,5 mM	1,2 µl
dNTP	2,5 mM	0,1 mM	1 µl
Primer:G1-F	10 mM	0,4 mM	1 µl
Primer:G2-R	10 mM	0,4 mM	1 µl
Taq Polimeraz	5 U	1 U	0,2 µl
Steril Distile Su	-	-	13,1 µl
Örnek Nükleik Asit	10 ⁷ cfu/ml		5 µl
Toplam Hacim	-	-	25 µl



3.3.5 Patojenisite Testleri

3.3.5.1 Fidan-sürgün testi:

Bu testte hastalığa duyarlı olduğu bilinen deveci armut çeşidi kullanılmıştır. Armut sürgün testi için 48 saat öncesinde canlandırılan muhtemel patojenler 10⁸ cfu/ml'

lik süspansiyonlar şeklinde hazırlanmıştır. Hazırlanan bu süspansiyonlar steril bir şırınga yardımıyla sürgünlere bulaştırılmıştır. Bulaştırma işlemi yapılan sürgünlerin 25-30 gün son unda hastalık belirtisi gösterip göstermediğine bakılmıştır. Sürgünlerde Ateş Yanıklığı belirtileri oluşturanlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.3.5.2 Ham meyve testi:

Bu testte ham armut meyveleri kullanılmıştır. Sağlam, yara almamış ve taze ham armut meyveleri % 0.5'lik Na-hipoklorit içerisinde 3 dk bekletilerek steril edilmiştir. Daha sonra steril saf sudan geçirilen ham meyveler steril kurutma kağıtlarında kurutulduktan sonra steril bir bıçak yardımıyla enine kesilerek steril kaplara konulmuştur. Kesilen ham armutlara daha önceden -20 °C' de saklanan ve canlandırılan muhtemel *E. amylovora* bakterileri ham meyve parçaları üzerine steril bir pens ile açılan deliklere bulaştırılmış ve 27 °C' de 72 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda enine kesilen ham armut parçaları üzerinde gelişen ve yumuşama meydana getiren bakteriler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Sörvey Sonuçları

Van Gölü Havzasında Ateş Yanıklığı Hastalığının tespiti ve yaygınlık oranının belirlenmesine yönelik sörvey çalışmaları 2014-2015 Mayıs ve Temmuz ayları arasında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar da Van ve Bitlis il merkez ve ilçelerinde ziyaret edilecek bahçe sayısı ilçelerdeki ağaç sayısına göre yapılmıştır. TUİK verilerine göre havzadaki toplam ağaç sayısı 745.891 adettir. Havzada en yüksek ağaç sayısına sahip ilçeler sırasıyla Erciş, Adilcevaz ve Van merkezdir. Bu konu ile ilgili gerekli veriler Bölüm 3.2 'de yer alan Çizelge 2.1'de verilmiştir. Havzada bulunan bölgelerden en fazla ağaç sayısına sahip bölge 184.578 elma ağacı ile Van ili Erciş ilçesi, ardından 180.900 ağaç sayısı ile Bitlis ili Adilcevaz ilçesi gelmektedir. Ağaç sayısının en düşük olduğu bölge ise 7.935 ağaç sayısı ile yine Van ili Gevaş ilçesidir.

Çizelge 2.1'de görüldüğü gibi havzada toplam 41 bahçe incelenmiştir. Sörveyler sonucu Bitlis ili Tatvan ilçesi dışında havzadaki bütün il ve ilçelerde hastalık tespit edilmiştir. Dolaşılan 41 bahçeden 15'in de muhtemel Ateş Yanıklığı Hastalığı belirtisi tespit edilmiştir. Havzada bulunan ve inceleme yapılan bölgelerin ayrıntıları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Van Gölü Havzasında bulunan bahçelerin konum, bitki cinsi ve bitkilerin yaş çizelgesi

İl	İlçe	Konum	Bitki Türü	Bitki Çeşidi	Bitkinin Ort. Yaşı	Sörvey Tarihi
VAN	Merkez	Elmalı Köy	Elma	Starking Delicious	15-20	09.06.2015
	Merkez	Elmalı Köy	Elma	Starking Delicious	10-15	09.06.2015
	Merkez	Elmalı Otel Yanı	Elma	Starking Delicious	5-10	09.06.2015
	Merkez	Eminpaşa Mahallesi	Elma	Starking/golden Delicious	35-50	09.06.2015
	Merkez	Yyü çıkışı 5km	Elma	Starking/Golden Delicious	5-10	23.06.2015
	Merkez	Yyü çıkışı 10km	Elma	Starking/Golden Delicious	0-3	23.06.2015
	Merkez	İskele mahallesi	Elma	Yerli cins	5-10	02.07.2015
	Edremit	Edremit merkez	Elma	Starking/Golden Delicious	15-20	02.07.2015
	Edremit	Edremit merkez	Elma	Yerli çeşit	10-15	02.07.2015
	Edremit	Edremit merkez	Elma	Yerli çeşit	20	02.07.2015
	Edremit	Edremit merkez	Elma	Yerli çeşit	15-20	02.07.2015
	Muradiye	Muradiye giriş	Elma	Starking/golden Delicious	3-5	25.06.2015
	Muradiye	Muradiye merkez	Elma	Starking/golden Delicious, Ekşi elma	5-10	25.06.2015
	Muradiye	Açık yol	Elma	Starking/Golden Delicious	10-15	25.06.2015
	Gevaş	Gevaş giriş	Elma	Starking/Golden Delicious	3-5	25.06.2015
	Gevaş	Gevaş merkez	Elma	Starking/Golden Delicious	5-7	25.06.2015
	Gevaş	Gevaş merkez	Elma	Yerli çeşit	40-50	25.06.2015
	Gevaş	Devlet hastanesi	Elma	Starking Delicious/Pamuk elma	25-30	25.06.2015
	Erciş	Ünseli beldesi	Elma	Yerli/Starking Delicious	15-20	23.06.2015

Çizelge 3.1. Van Gölü Havzasında bulunan bahçelerin konum, bitki cinsi ve bitkilerin yaş çizelgesi (Devamı)

İl	İlçe	Konum	Bitki Türü	Bitki Çeşidi	Bitkinin Ort. Yaşı	Sörvey Tarihi
VAN	Erciş	Ünseli çıkışı	Elma	Starking/Golden Delicious	3-5	23.06.2015
	Erciş	Merkez kuzey yönü	Elma	Starking/Golden Delicious	5-10	23.06.2015
	Erciş	Çınarlı mahallesi	Elma	Starking/Golden Delicious	5-15	23.06.2015
	Erciş	Merkez	Elma	Starking/Golden Delicious	10-15	23.06.2015
	Erciş	Erciş çıkışı	Elma	Starking/Golden Delicious / fuji	8-10	23.06.2015
BİTLİS	Merkez	Merkeze giriş	Elma	Starking/Golden Delicious	3-8	25.06.2015
	Merkez	Cezaevi yanı	Elma	Starking/Golden Delicious	8-10	25.06.2015
	Tatvan	Merkez	Elma	Starking/Golden Delicious/Pamuk elma	25-30	25.06.2015
	Tatvan	Merkez	Elma	Starking/Golden Delicious	20-25	25.06.2015
	Tatvan	Tatvan çıkış nemrut yolu	Elma	Starking/Golden Delicious	10-15	25.06.2015
	Tatvan	Adabağ hasır beldesi	Elma	Starking/Golden Delicious	3-7	25.06.2015
	Ahlat	Ahlat yolu 20./km	Elma	Starking/Golden Delicious	3-7	25.06.2015
	Ahlat	Ahlat giriş	Elma	Fuji	3	25.06.2015
	Ahlat	Ahlat merkez	Elma	Starking/Golden Delicious	20-30	25.06.2015
	Ahlat	Ahlat merkez	Elma	Starking/Golden Delicious	10-15	25.06.2015
	Ahlat	Ahlat merkez	Elma	Starking/Golden Delicious	10-15	25.06.2015
	Adilcevaz	Ahlat-	Elma	Starking/Golden Delicious	3-5	23.06.2015
	Adilcevaz	Adilcevaz arası Merkez	Elma	Golden Delicious	10	23.06.2015
	Adilcevaz	Merkez	Elma	Starking/Golden Delicious	15-20	23.06.2015
	Adilcevaz	Merkez	Elma	Starking Delicious	10-15	23.06.2015
	Adilcevaz	Üniversite arkası	Elma	Starking/Golden Delicious	5-10	23.06.2015
	Adilcevaz	Adilcevaz çıkışı	Elma	Golden Delicious	8-10	23.06.2015

Yukarıda Çizelge 3.1’de de görüldüğü gibi sörvey aralığı 09 Haziran ile 02 Temmuz 2015 tarihleri arasında değişmektedir. Gözlem yapılan elma bahçelerinde genellikle Starking/Golden Delicious çeşidi elma ağaçlarının yanında yerli çeşitler ve üretimi çok fazla olmasa da Fuji çeşidi bodur elma bahçeleri görülmüştür. İncelenen ticari elma bahçelerindeki ağaçların yaşları yaklaşık olarak 3 ile 15 arasında iken hobi bahçelerdeki ağaçların yaşı daha yüksek ve kullanılan çeşitlerin değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Bkz. Şekil 3.1a,b).



Şekil 3.1 a. Sörvey çalışmalarının yapıldığı bahçeler.



Şekil 3.1 b: Sörvey çalışmalarının yapıldığı bahçeler.

Yapılan incelemelerin sonuçları doğrultusunda Van gölü havzasının ve bölgelerin hastalık şiddeti ve hastalık yaygınlığı Bölüm 3.3.1’de gösterilen formüller ile Bora ve Karaca (1970)’in belirttiği yöntem doğrultusunda tartılı derecelendirme ile tespit edilmiştir. Tespit edilen sonuçlar Çizelge 3.2’da verilmiştir.

Çizelge 3.2. Van Gölü Havzasında bulunan Ateş Yanıklığı Hastalığının hastalık şiddeti ve yaygınlık oranı

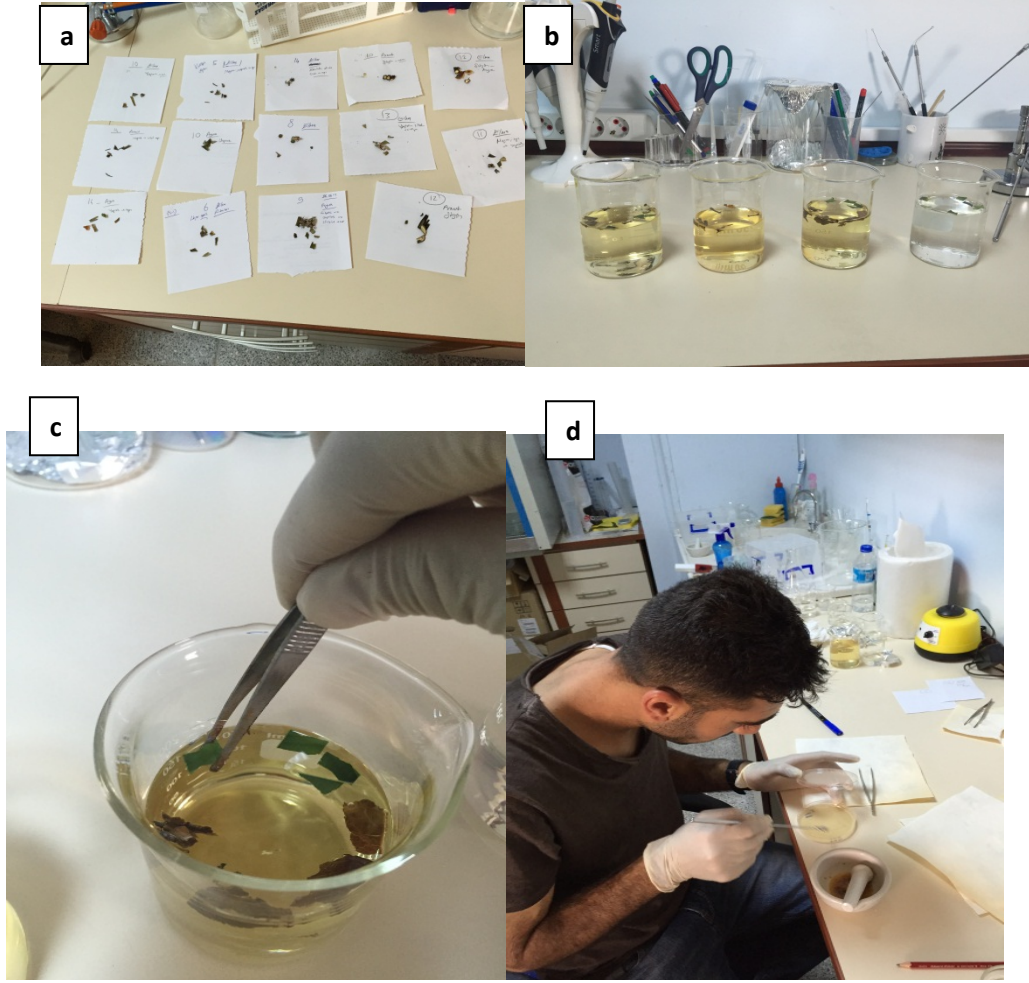
Araştırma bölgesi	Hastalık oranı (I) (%)	Hastalığın yaygınlığı (P) (%)	Bölgelerin (ilçelerin)	Hastalık oranı(I) (%)	Hastalığın yaygınlığı (P) (%)
Van gölü Havzası	0.23	36	Van merkez	0.25	28
			Edremit	6.006	50
			Erciş	0.72	66,6
			Muradiye	1.14	33
			Gevaş	0.09	25
			Bitlis merkez	0.32	50
			Tatvan	0	0
			Ahlat	0.0077	20
			Adilcevaz	0.23	50

Çizelge 3.2’da görüldüğü üzere hastalık oranı % 6.006 ile % 0.0077 arasında değişkenlik göstermektedir. Hastalık oranının en yüksek olduğu bölge % 6.006 ile Van ilinin Edremit ilçesidir. Bunu takiben Van ilinin Muradiye ve Erciş ilçeleri gelmektedir. Buna karşılık Bitlis ili Tatvan ilçesinde hastalık tespit edilememiştir.

Havzada bulunan hastalık yaygınlığı ise % 66.6 ile % 20 arasında değişmektedir. Çizelge 3.2’te gösterildiği gibi hastalık yaygınlığının en yüksek olduğu bölge % 66.6 ile Van ilinin Erciş ilçesi, hastalık yaygınlığının en düşük olduğu bölge ise % 20 ile Bitlis ili Ahlat ilçesidir. Bunu sırasıyla % 50 ile Van ili Edremit ilçesiyle, Bitlis il merkezi ve Adilcevaz ilçesi, % 33 ile Van ili Muradiye, % 28 ile Van merkez ve % 25 ile Van ili Gevaş ilçesi izlemektedir.

4.2. İzolasyon Sonuçları

Sörveylerde toplanan örnekler (çiçek, yaprak, sürgün) laboratuvara getirilerek izolasyon işlemlerinin ardından tüplere alınarak -20 °C de muhafaza edildi. İzolasyon işlem basamakları Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.2. İzolasyon işlem basamakları a) Toplanan örneklerin hazırlanması b ve c.) Örneklerin sterilizasyonu, örneklerin kurutulması d) Ezilerek hazırlanan süspansiyonun besi yerlerine ekimi.

4.3. Hastalığın Tanınması Ve Belirtileri

Ateş Yanıklığı Hastalığının etmeni olan *E. amylovora*'nın tanınması için toplanan örneklerden elde edilen şüpheli izolatlar laboratuvar ortamında yapılan testler ile tanıları yapılmıştır. Yapılan test sonuçları Çizelge 3.3' te verilmiştir. Bu testler sırası ile;

4.3.1. LOPAT Testlerinden;

a) Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu (HR) testi:

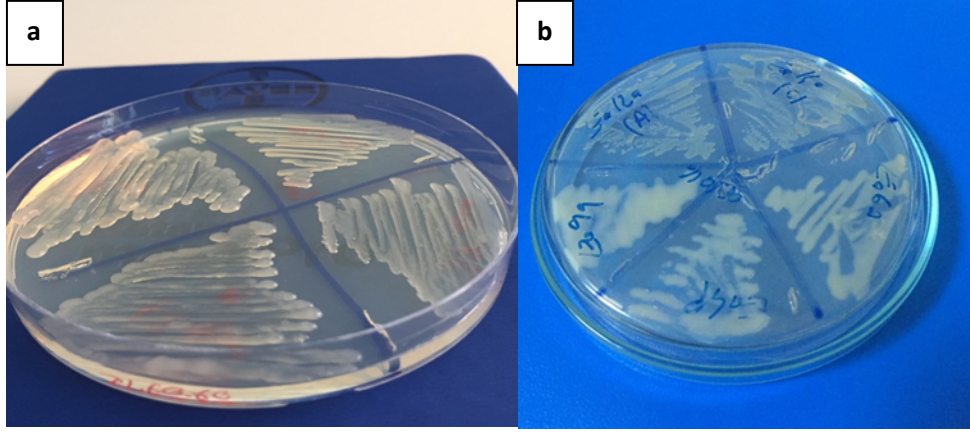
Hazırlanan süspansiyonların verildiği Şekil 3.3' te görüldüğü gibi 5-10 yapraklı Samsun cinsi tütün yapraklarında süre sonunda parşomentimsi oluşumların gözlemlenmesi ile HR testinin pozitif olduğu değerlendirilmiştir. Muhtemel izolatlardan 26 örneğin HR testi yapıldı. Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu (HR) sonucunda 17 örnekte parşomentimsi yapılar görülerek pozitif olarak değerlendirildi. Negatif sonuç veren 9 örnek ise dikkate alınmadı.



Şekil 3.3. Tütün yapraklarında hipersensitiv reaksiyonun görülmesi.

b) Levan testi:

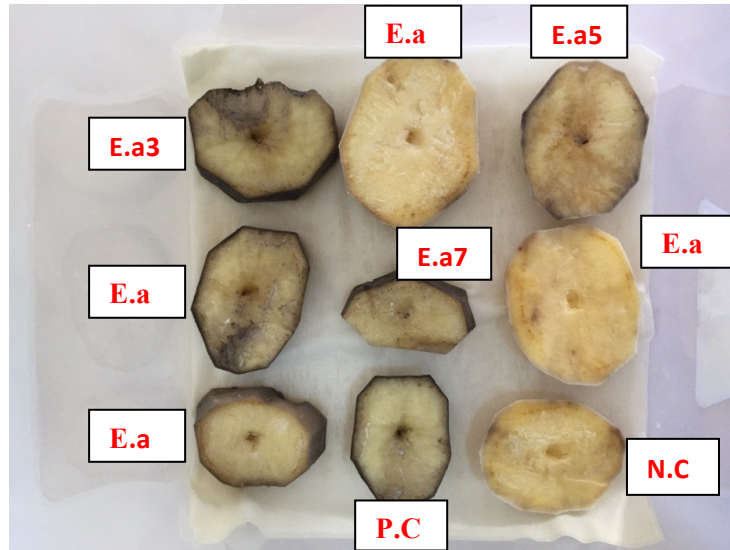
Levan testi için kullanılan Nutrient Agar + % 5 sukrozdan (SNA) oluşan kültür besi yerine ekimi yapılan 17 izolatın tamamında levan oluşumunda görülen kubbemsi yapılar Şekil 3.4'te gözlenerek pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* kullanılmıştır.



Şekil 3.4. a) SNA besi yerinde levan oluşumunun gözlenmesi. b) King's B besi yerinde muhtemel *E.a* izolatlarının gelişmesi.

c) Patates pektolitik enzim aktivitesi testi:

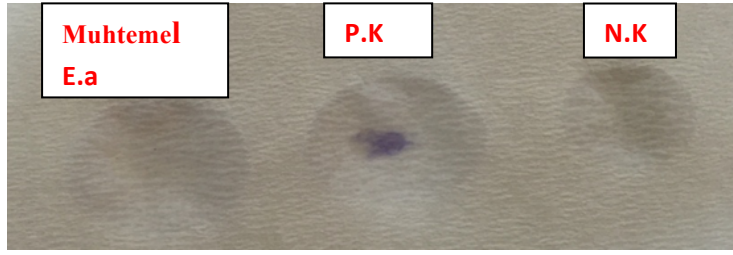
Patates testi için kullanılan *E. amylovora* olduğu tahmin edilen 17 izolatın tamamının dilimlenmiş patatesler üzerinde doku çökmesi oluşturmadığı gözlemlenerek pozitif olarak değerlendirilmesi yapılmıştır (Bkz. Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Patateste pektolitik enzim aktivitesi sonuçları.

d) Oksidaz testi:

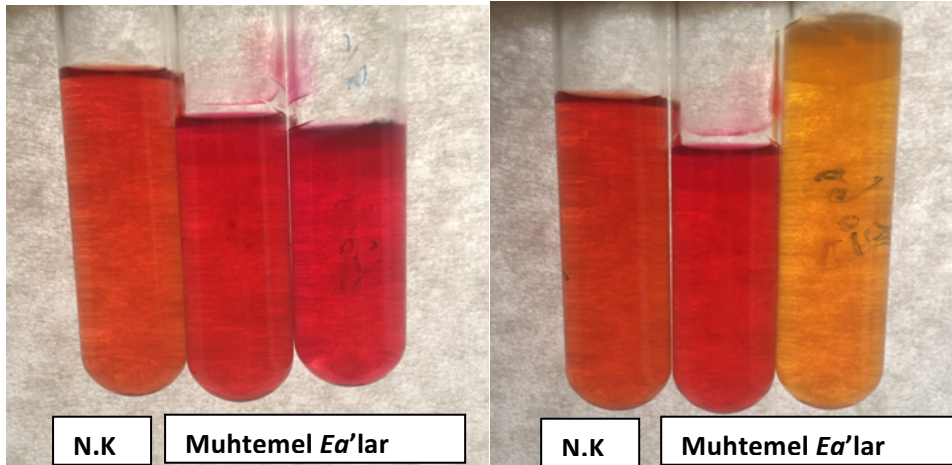
Bu test için geliştirilen 17 muhtemel bakteri örneklerinin tümünde kurutma kağıtları üzerinde renk değişimi gözlenmeyen izolatlar negatif (-) olarak değerlendirilmiştir (Bkz. Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Oksidaz testinde renk değişiminin gözlenmesi.

e) Arjinin dehidrolaz testi:

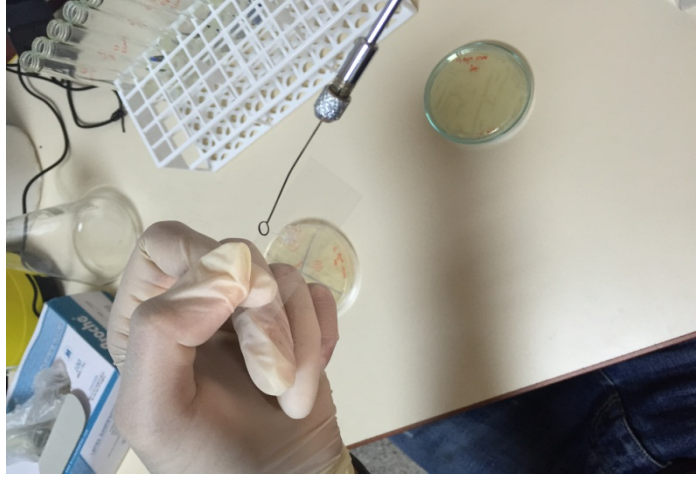
Bölüm 3.3.4.1’de belirtildiği gibi hazırlanan besi ortamlarına ekimi yapılan 17 izolatın tümünde de renk değişimi pembe-kırmızı gözlenerek negatif (-) sonuç alınmıştır (Bkz. Şekil 3.7).



Şekil 3.7. *E. amylovora*'nın Arjinin testi sonuçları (negatif) görünümü.

4.3.2. KOH testi ile gram reaksiyonunun belirlenmesi:

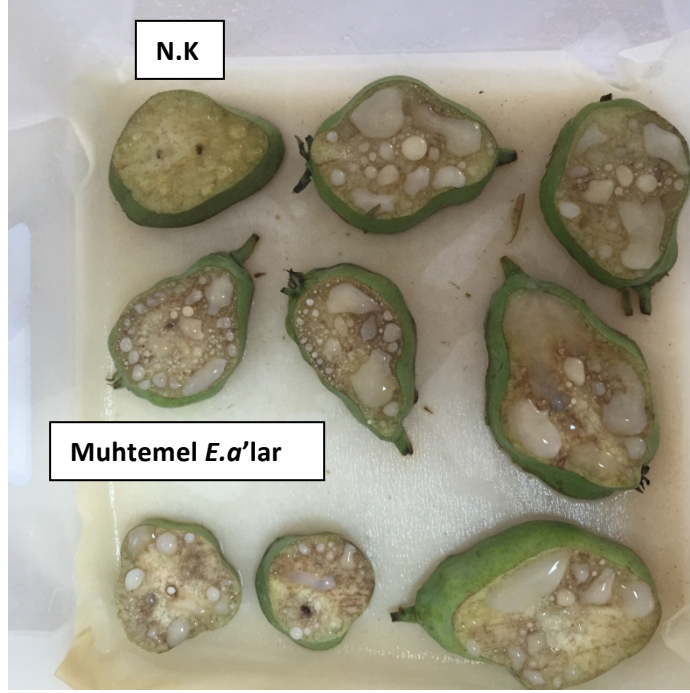
Bu teste %3'lük KOH çözeltisi kullanılarak aday izolatlara Bölüm 3.3.4.2'de belirtildiği şekilde uygulanmış ve toplam 17 izolatın tümünde gram negatif (-) olduğu tespit edilmiştir (Bkz. Şekil 3.8).



Şekil 3.8. KOH testi ile gram reaksiyonunun belirlenmesi.

4.3.3. Ham meyve testi:

Bu teste kullanılan ham armut meyvelerine uygulanan muhtemel *E. amylovora* izolatlarından 17'si dilimler üzerinde yumuşama ve bakteriyel akıntı oluşturdıkları gözlenmiş ve pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak daha önceden *E. amylovora* olduğu bilinen izolat kullanılmıştır. İzolatların uygulandığı armut dilimleri ve oluşan bakteriyel akıntı Şekil 3.9'da görülmektedir.

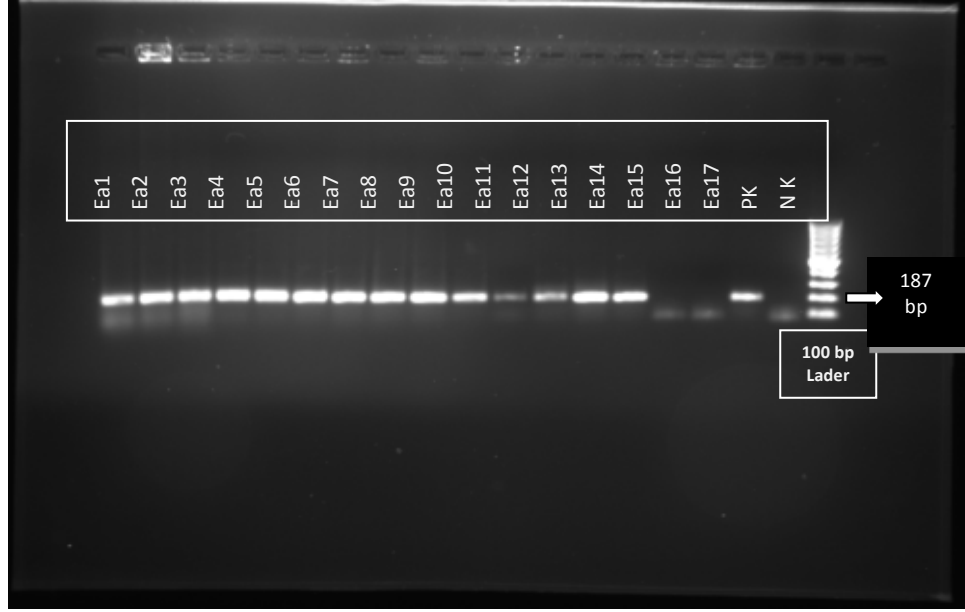


Şekil 3.9. Ham armut meyvelerinde bakterilerin oluşturduğu yapılar.

4.3.4. Moleküler tanılama:

Bu yöntemle; biyokimyasal ve ham armut meyveleriyle yapılan potojenite testleri sonucunda *E. amylovora* olduğunu düşünülen muhtemel **17 izolatın** kesin tanılama işlemi yapılmıştır. Moneküler tanılamanın işlem basamakları Bölüm 3.3.4.3'te belirtilmiştir. Çalışmada G1-F ve G2-R primerler ile *E. amylovora* 'nın spesifik düzeyde tanılması yapılmıştır. Moleküler yöntemlere tabii tutulan 17 izolattan 15'inin jel üzerinde 187 bp büyüklüğünde bant oluşturduğu tespit edilmiş ve bu izolatların *Erwinia amylovora* olduğuna karar verilmiştir.

Bu veriler ışığında Şekil 3.10'da görüldüğü üzere 15 örneğin kesinlikle *E. amylovora* olduğu kanıtlanarak teşhis edilmiştir.



Şekil 3.10: PCR çalışması sonucu örneklerin jel görüntüleme cihazındaki sonuçları.

4.3.5 Fidan-sürgün testi:

Fidan sürgün testinde kullanılan deveci cinsi armut fidanlarından uygulama görmüş sürgünler Ateş yanıklığı hastalığı belirtisi gösterenler pozitif (+) olarak değerlendirilmiştir. Fidelere enjektörle verilen **15 örneğin tümünde** hastalık belirtileri olan sürgün yanıklığı görülmüştür (Bkz. Şekil 3.11). Bu *Erwinia amylovora* izolatlarının patojen olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.11. a) Hazırlanan süspansüyonların şırınga ile deveci çeşidi armut sürgünlerine inokule edilmesi b) inokule edilen sürgünlerde hastalık belirtisinin oluşumu. c) negatif kontrol yalnızca su enjeksiyonu yapıldı.

Yapılan çalışmalar sonucu elde edilen izolatların 15'sinin *E. amylovora* olduğu ve bu izolatların patojen olduğu belirlenmiştir. Yapılan testler ve elde edilen sonuçlar toplu olarak çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Tanılama çalışmalarında uygulanan testler ve sonuçları

Muhtemel <i>E.a</i> 'lar	Levan oluşumu	Oksidaz testi	Patates testi	Arjinin testi	Tütün HR testi	KOH testi	Ham armut testi	Fidan- sürgün testi	PCR testi
Ea1	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea2	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea3	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea4	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea5	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea6	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea7	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea8	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea9	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea10	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea11	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea12	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea13	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea14	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Ea16	+	-	-	+	+	+	-	-	-
Ea16	+	-	-	+	+	+	-	-	-
Ea17	+	-	-	+	+	+	+	+	+

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemiz elma yetiştiriciliğinde dünyada önemli bir yere sahip olmakla birlikte her geçen gün üretimini arttırmaktadır. Çalışma bölgesi olan Van Gölü Havzasında bu artış daha yüksektir. TUIK, 2013 verilerine göre 2003 yılından 2013 yılına toplam elma ağacı sayısı 400.842'den 745.891 adede elma üretimi ise 9.940 tondan 16.746 tona ulaşmıştır. Aradan geçen zaman diliminde bölgede elma üretiminin hızlı bir şekilde yaklaşık 3 kat artmış olduğu görülmektedir. Bu hızlı artış doğal olarak elmanın havzadaki hastalıklarının da takip edilmesinin önemini arttırmaktadır.

Ülkemizde önemli bir problem olan ateş hastalığı hastalığının ilk tespiti ve daha sonra hızlı bir şekilde yayılarak ciddi bir sorun haline gelmesi kısa bir zaman diliminde gerçekleşmiştir. Hepaksoy ve ark, (1998)'e göre *Erwinia amylovora*'nın ülkemize girdikten sonra, yumuşak çekirdekli meyve yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı alanlarda önemli zararlara neden olduğu ve yerli çeşitlerin kaybolması tehlikesini doğurduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle yetiştiriciliğin planlanması, korunma yöntemlerinin uygulanması veya geliştirilmesi için hastalığın yayılımının takip edilmesi kadar bölgelerdeki durumunun tespit edilmesi de önemlidir. Yürütülen bu yüksek lisans çalışmasında *E. amylovora*'nın tespiti ve hastalığın Van Gölü havzasındaki yaygınlık oranı ve hastalık oranının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışma alanı olan Van Gölü Havzasında sörveyler 2014-2015 yıllarında Mayıs, Haziran ve Temmuz ayları arasında yürütülmüştür. Yapılan arazi incelemelerinde elma bahçelerinde çiçek yanıklığı, dal ve gövdelerde kanserler gözlenmiş olsa da en fazla gözlenen symptom sürgün yanıklığıdır.

Yapılan sörveyler ile birlikte laboratuvar ortamında gerçekleştirilen biyokimyasal ve moleküler testler ile patojenite testlerinin sonuçlarıyla, yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında Ateş Yanıklığı Hastalığı etmeni *E. amylovora*'nın teşhisi yapılmıştır. Şüpheli 17 izolattan 15'inin PCR testi sonucunda *E. amylovora* olduğu tespit edilmiş ve patojenite testleri bu sonuçları teyit etmiştir. *E. amylovora* olmayan diğer 2 izolattan ise King's B besi yerinde flouresant olduğu görülerek *Pseudomonas s.s.p* bakterisi olabileceği düşünülmektedir. PCR çalışması Taylor ve ark. (2001)'nin dizayn ettiği G1-F ve G2-R primerleri kullanılarak yapılmış ve başarılı sonuçlar elde

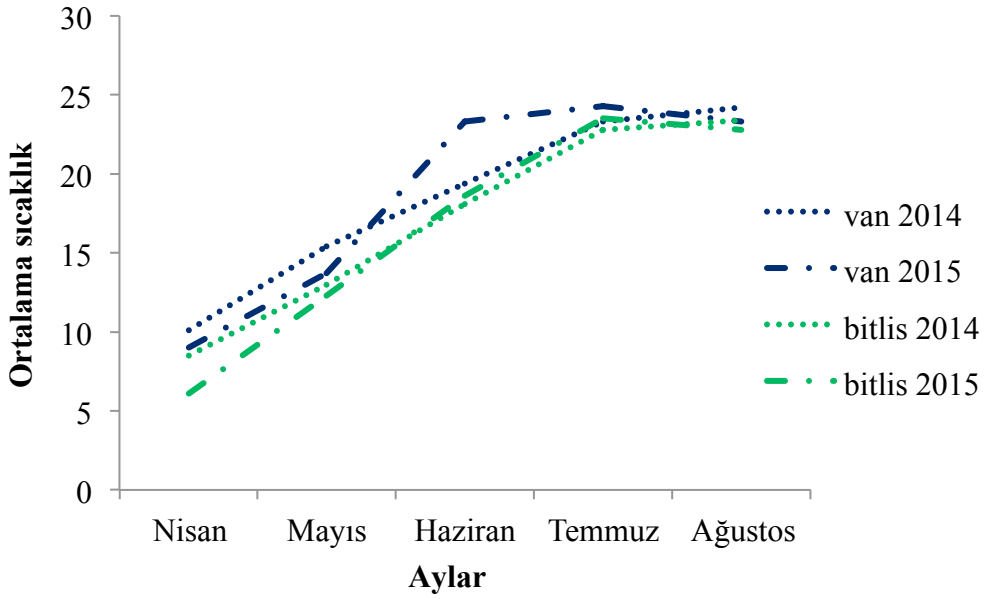
edilmiştir. Aynı şekilde (Arda, 2016; Lopez, 2006; De Bellis, 2007) bu primerleri kullanmış ve benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Çalışmada moleküler ve biyokimyasal testlerin kombinasyon halinde kullanılmasının daha güvenilir ve hızlı sonuçlar verdiği görülmüştür. qPCR çalışmaları ile hızlı ve yüksek duyarlılıkta sonuç elde edilebilmektedir (De Bellis ve ark., 2007; Pirc ve ark., 2009; Bozan, 2011), fakat sistem kurulumu ve altyapı maliyetinin hala yüksek olması nedeniyle her laboratuvarında bulunamayacağından, çalışmada kullandığımız klasik PCR kombinasyonlu yöntemin hızlı, ucuz ve güvenilir sonuçların elde etme olanağı sağlamaktadır.

Bu bakteriyel patojen araştırma bölgesi olan Bitlis ili Tatvan ilçesi dışında tüm bölgelerde tespit edilmiştir. Çizelge 3.2’te gösterildiği gibi hastalığın yaygınlık oranı bölgelerde farklılık göstermektedir. Van Gölü Havzasında genel olarak Hastalığının yaygınlık oranı %36 iken havzadaki Hastalık oranı ise % 0.23 olarak belirlenmiştir. İllere göre yaygınlık oranı ise Van ilinde % 41.6 iken Bitlis ilinde % 29.4 olarak hesaplanmıştır. Bölgede benzer sonuçlar 1990 yılında TAGEM tarafından Güneydoğu ve Doğu Anadolu bölgesini kapsayacak şekilde yapılan sorveylerde elde edilmiştir. Adıyaman, Bingöl, Bitlis, Diyarbakır, Elazığ, Hakkari ve Van illerinde ateş yanıklığı hastalığının yaygın olduğunu, Malatya ve Muş’ta sınırlı olduğunu, Siirt’te ise hastalığın bulunmadığını belirtilmiştir. İncelenen bölge kapsamında ki hastalık oranları armutta %0.007-53.3, ayvada %0.005-91.4, elmada ise %0.05-41.5 aralığında olduğu saptanmıştır (Karahana ve ark., 2014). Öden ve ark., (1994), ise daha dar bir çalışma alanında Van ve civarında 1993 yılında yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında ateş yanıklığı hastalığının tespiti ve yaygınlığına yönelik yaptığı çalışmada Ayva ağaçlarında % 100’e yakın hastalık yaygınlığı gözlenirken, armutta %86.86 ve elmada %38 oranında hastalık yaygınlığı tespit edilmiştir. Havzada yürütülen önceki ve bu çalışmalarda hastalık yaygınlık oranının, üretim alan ve miktarında artış olmasına rağmen önemli bir değişiklik gözlenmese de bir düşüşün olduğu görülmektedir. Bölgede ilk değerlendirilmenin yapıldığı dönemde (hastalık yaygınlık oranı %41.5) hastalığın ülke çapında epidemi yaptığı ve hızlı bir şekilde yaptığı dönemlerdir (Tokgönül, 1988; Tokgönül, 1991; Ökten ve Benlioğlu 1988). Hastalığın yayılışındaki bu düşüşün yaygın olarak kullanılmaya başlanan çeşitlerin tolerant olmasının ve duyarlı olan yerel çeşitlerin azalmasının etkisi olduğu düşünülebilir.

Yaptığımız çalışmada Havzada ki en yüksek hastalık yaygınlığının % 66.6 ile Van ilinin Erciş ilçesi, en düşük olduğu bölge ise % 20 ile Bitlis ili Ahlat ilçesidir. Fakat Hastalık oranının en yüksek olduğu bölge % 6.006 ile Van ilinin Edremit ilçesidir. Hastalık oranının en düşük olduğu bölge ise % 0.0077 ile Bitlis ili Ahlat ilçesidir. Bununla birlikte Bitlis ili Tatvan ilçesinde hastalık tespit edilmemiştir. Bu bölgede 1993 yılında Öden ve Alp (1994)'in yaptığı çalışmada; hastalık yaygınlığının en fazla % 63.29 ile Van ili Gevaş ilçesinde tespit edilir iken en düşük oran ise % 33.63 ile Van merkezde gözlenmiştir. Hastalık oranının en yüksek olduğu bölge olan Van ilinin Edremit ilçesinde elma üretiminin diğer bölgelere oranla da düşük olduğu ve üretimin genelde hobi bahçesi düzeyinde yapıldığı gözlemlenmiştir. Yapılan incelemelerde hastalığın diğer bölgelere oranla daha yüksek olma sebebinin yetiştirilen elma çeşitlerinin hastalığa duyarlı yerli çeşitlerinin olması ihtimalinin yanı sıra pestisit kullanımının düşük ve bahçelerin bakımsız oluşu hastalık oranının yüksek olmasını açıklayabilir. Bilindiği gibi hastalıkla mücadelede budama gibi bakım işlemlerinin yanı sıra pestisit kullanımı hastalığın kontrolünde önemli olduğu bildirilmektedir (Vanneste, 2000; Agrios, 2005). Bu bölgelerde genellikle Starking Delicious ve Golden Delicious çeşitlerinin yaygın olarak kullanıldığı TUİK, (2003), verilerinin yanı sıra arazi gözlemleriyle de tespit edilmiştir. Zwet ve Keil (1979)'un ve Demir ve Gündoğdu (1991;1993)'ün bahsi geçen elma çeşitlerinin hastalığa karşı tolerant olduğunu belirtmişlerdir. Ülkemizde yetiştirilen elma çeşitlerinden Red Spur, Starkearliest ve Staymared çeşitlerinin dayanıklı, Golden Delicious, Grany Smith, Amasya misket ve Starking Delious çeşitlerinin hastalığa orta düzeyde dayanıklıyken, Sport Golden çeşidinin ise duyarlı olduğunu belirlenmiştir (Demir ve Gündoğdu, 1991;1993). Tokgönül, (1991), Doğu Akdeniz bölgesinde bulunan Adana, İçel ve Kahramanmaraş illerinde yaptığı çalışmasında; Elmalarda hastalık yaygınlığı ve oranı sırasıyla; % 8.33, % 3.3, % 42.85 ve % 13.14, % 6.25, % 2.69 olarak hesaplanmıştır. Hastalığın bu denli yüksek seyretmesinin sebebini ise kullanılan meyve çeşitlerinin hastalığa karşı duyarlı olmasını ile açıklanmıştır. Benzer diğer bir çalışmada Mirik (2000), Amasya ve Tokat illeri ve civarındaki hastalığın yaygınlık oranı sırası ile % 68 ile % 71 olarak belirlemiş, Hastalık oranını ise Amasya'da % 8.9 iken Tokat'ta %14.4 olarak bildirmiştir. Mirik, çalışmasında hastalığın yaygınlığının yüksek olma sebebini arı kovanlarının bölgede fazlaca bulunmasına ve hastalığın yayılmasında rüzgar, dolu gibi doğal olayların etkili

olduğunu söylemiştir. Yaygınlığın bu kadar yüksek olup hastalık oranının düşük olma sebebi ise yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından Elma, Armut ve Ayva ağaçlarının dayanıklı çeşitlerinin kullanılması olduğunu belirtmiştir.

Ateş Yanıklığı Hastalık oranının Van Gölü Havzasında düşük seyretmesinin yetiştirilmekte olan elma ağaçlarının çeşitlerinin hastalığa tolerant olmasının yanı sıra havzanın iklim şartlarının etkili olabileceği de düşünülebilir. Çalışmanın yürütüldüğü 2014-2015 yıllarına ait ortalama sıcaklık verileri Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 4. Van Gölü Havzasına da bulunan Van ve Bitlis il ve ilçelerine ait 2014-2015 yılı Nisan-Ağustos ayları arasındaki sıcaklık ortalaması verileri (MGM, 2016).

E. amylovora'nın sıcaklık isteklerinin minimum 18°C, optimum 21-27°C arasında olduğu (Zwet and Keil, 1979) bu isteklerin karşılandığı dönemlerde bitkinin fizyolojisinin uyuşmamasından kaynaklanabileceği göz ardı edilmemelidir. Yukarıda ki Şekil 4'te görüleceği üzere araştırma bölgesinde yer alan Van ve Bitlis il ve ilçelerinin 2014-2015 yılları, Nisan-Mayıs-Haziran-Temmuz ve Ağustos aylarına ait sıcaklık ortalaması verileri görülmektedir. Hastalık etmeni bakterinin minimum gelişme sıcaklığının 18°C olduğundan ve çiçeklenme döneminde bitkiye giriş yaptığı göz önüne alındığında; araştırma bölgesinde bu sıcaklığa ancak Haziran ayında ulaşılabildiği görülmektedir. Bununla birlikte havzada elma ağaçlarında ilk çiçeklenme Nisan sonu

Mayıs başlarında gerçekleşmektedir. Böylece bitkinin duyarlı olduğu dönemde patojenin doğadaki faaliyeti sınırlı kalır ve hastalık oranının düşük seyretmesine neden olur.

Bu yüksek lisans çalışmasında biyokimyasal testler ile kombine edilmiş GF1 ve GF2 primerleri ile yapılan PCR çalışmasının *E. amylovora*'nın tespitinde hızlı ve güvenilir sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Çalışma kapsamında havzadaki ateş yanıklığı hastalığının yaygınlık oranının yüksek olmasına rağmen yetiştirilen tolerant çeşitler ve bakım işlemleri nedeniyle hastalık oranının düşük olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Agrios, G., 2005. *Plant Pathology*. Department Of Plant Pathology University of Florida.
- Ağaoğlu, Y.S., Çelik, H., Çelik, M., Fidan, Y., Gülşen, Y., Günay, A., Halloran, N., Köksal, A.Ğ. Yanmaz, R., 1997. *Bahçe Bitkileri*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları: 4, Ankara.
- Aktepe, B. P., 2012. *Yenidünya Çeşitlerinin Ateş Yanıklığı Hastalığına Duyarlılıklarının Belirlenmesi*. (yüksek lisans tezi, basılmamış). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Anomin, 2016a. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, *Elma Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele*, 2011, Ankara.
- Anonim, 2016b. Gıdaların Besin Değerleri <http://www.standartmerkezi.com/meyvelerin-besin-degerleri-tablolari/elma-besin-degerleri-tablosu.html>. Erişim tarihi: 27.10.16.
- Anonim, 2016c. Elma Hastalık ve Zararlılarıyla Mücadele <http://www.tarim.gov.tr>. Erişim Tarihi:27.10.16
- Anonim, 2016d. *Van İli Ortalama Sıcaklığı*. <http://bolge17.dsi.gov.tr/>. Erişim tarihi: 09.10.2016
- Anonim, 2016e. *Van Gölü*. https://tr.wikipedia.org/wiki/Van_G%C3%B6lü. Erişim tarihi: 08.11.2016.
- Anonim, 2016f. <https://www.google.com.tr/maps/@38.565495,43.2707549,14z>. Erişim tarihi: 08.11.2016.
- Arda, H., 2016. *Ayvada Ateş Yanıklığı Hastalığı Etmeninin (Erwinia Amylovora) Tanısı Ve Entegre Mücadele Olanakları*. (yüksek lisans tezi, basılmamış). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Arthur, J. C., 1985, Proof that bacteria are the direct cause of the disease in trees known as pear blight, 83 p., *Fire Blight, It's Nature, Prevention and Control: A Practical Guide to Integrated Disease Management*, (Ed. T. Van der zwet and s.v. beer eds.), U.S. *Department of Agriculture*, Agriculture Information Bulletin No. 631.

- Atasağun, R., 2009 *Rosaceae Familyasındaki Farklı Bitki Türlerinden İzole Eddien Erwinia Amylovora (Burr.) Winslow Et Al. 'nın Biyokimyasal ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Pcr) Testleriyle Tanılanması*. (yüksek lisans tezi, basılmamış). Konya Selçuk Üni. Bitki Koruma Ana Bilim Dalı.
- Aysan, Y.S., Tokgönül, Ö., Çınar, A. 1999. Biological, Chemical, Cultural Controls and Determination Resistant Cultivars of Fire Blight of Turkey.(Abstract) *8 Th International Workshop on Fire Blight Acta Hort. 489*, P:549-553.
- Basım, H., 2014. 1997-2013 yılları arasında ateş yanıklığı hastalığı etmeni *E. Amylovora*'nın farklı strainlerinin elde edilmesi ve bu bakteriyel hastalığa karşı dayanıklı armut çeşitlerinin geliştirilmesi *V. Türkiye Bitki Koruma Kongresi Bildi Özetleri*, 3-5 şubat 2014, Antalya/ say., 185.
- Bora, T. ve İ. Karaca, 1970. *Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi*. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No: 167 S:43.
- Bozan, G., 2011. Ateş Yanıklığı Hastalık Etmeni *Erwinia Amylovora' nın Lna Probe Kullanılarak Kantitatif Real-time Pcr İle Tanısı Ve Tespiti*. (yüksek lisans tezi, basılmamış). Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Çınar, Ö., 1990. *Bakteriyoloji*. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No:69 S:184.
- Çiftçi, Y., Işık, M., Alkeveli, T., Yeşilova, Ç., 2008. Van Gölü Havzası'nın jeolojisi. *Jeoloji Mühendisliği Dergisi*, 32(2). S:45
- De Bellis, P., Schena, L., 2007. Real-time Scorpion-PCR detection and quantification of *Erwinia amylovora* on pear leaves and flowers. *European Journal of Plant Patology*, (118), 11-22.
- Demir, G., Gündoğdu, M., 1991. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen ateş yanıklığı (*Erwinia AmylovoRa* (Burr.) Winslow et al.) hastalığı üzerinde araştırmalar. *VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, 11-17 Ekim 1991. İzmir, 299.

- Demir, G., Gündoğdu, M., 1993. Fire Blight on pome fruit trees in Turkey: distribution of the disease, chemical control of blossom infections and susceptibility of some cultivars. *Acta Hort.* **338**: 67-74.
- EPPO, 2015a.b. European and Mediterranean Plant Protection Organization <http://www.eppo.int/> Erişim tarihi: 7.10.2016.
- Evrenosoğlu, Y., Mısırlı, A., Aysan, Y., Saygılı, H., Boztepe, Ö., Horuz, S., Acarsoy, N., Bilen, E., Baykul, A., Yazıcı, İ., 2014. F1 Melez armut popülasyonunun ateş yanıklığı hastalığı etmeni *Erwinia amylovora* karşı reaksiyonunun belirlenmesi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, **51** (2):185-190 ISSN 1018 – 8851.
- FAO, 2016. Dünya Tarım ve Gıda Örgütü. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E> Erişim Tarihi: 7.11.2016
- Hepaksoy, S., Ünal, A., Can, H.Z., Saygılı, H. And Türküsay, H. 1998. Distribution of fire blight (*Erwinia amylovora* (Burill) Winslow et al.) diseases in Western Anatolia Region in Turkey. *Eight International Workshop on Fire Blight*. 12-15 October, 193-195 pp., Kuşadası, Turkey.
- Karaca, İ., 1977. *Fitobakteriyoloji ve Bakteriyel Hastalıklar*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bornova, İzmir.
- Karahan, A., Üstün, N., 2014. *Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarında Ateş Yanıklığı Hastalığı(Erwinia amylovora)*. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü.
- King, E. O., Raney, D. E., 1954, Two simple media for the demonstration for pyocyanin and flourescens, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **44**:103-307.
- Lopez, M.M., Bertolini, E., Marco, E., Noales, E., Llop, P., Cambira, M., 2006. Update on moleculer tools for detection of plant pathogenic bakteria and viruses, *Journal of Plant Pathology*, **91**(2), 249-292.
- Manulis, S., Kleitman, F., Diori, O., David, I., Zutra, D. 1998. Characterization Of The *Erwinia amylovora* Population In Israel. *Phytopara.*, **26** (1): 39-46.
- MGM, 2016. Meteoroloji Genel Müdürlüğü.

- Mirik, M., (2000), *Amasya ve Tokat illerinde yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında görülen ateş yanıklığı (Erwinia amylovora (Burrill) Winslow et al.) hastalığının etmeninin tanınması, yaygınlık durumu ve dayanıklı çeşitlerin saptanması*. (yüksek lisans tezi, basılmamış). Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Momol, M.T., Yeğen, O., 1992. Fire blight in Turkey: **1985-1992 Sixth International Workshop on Fire Blight**, October 20-23, Athens, Greece, ISHS, P:37-42.
- Momol, T., Yeğen, O., 1993. Fire blight in Turkey. *Acta Horticulturae*, **338**:37-40.
- Momol, M.T., Zeller, W., 1992. Identification and spread of erwinia amylovora on pear in Turkey. *Plant Disease*, **76**(11):1114-1116.
- Obradovic, A., 2010, *Pseudomonas Pathogens of Stone Fruits and Nuts: Classical and Molecular Phytobacteriology*, COST873 Stone Fruit Nut Health Trainig **Course Handbook**, Belgrade, 69p.
- Öden, S., Alp, Ş., 1994. Investigations on the fire blight infection in pome fruits grown in Van and around. **9th Congress of The Mediterranean Phytopatological Union**, Semtember 18-24, 1994., Kuşadası-Aydın, Türkiye.
- Öktem, Y.E., Benlioğlu, K., 1988. Yumuşak çekirdekli meyve ağalarında görülen ateş yanıklığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) winslow et. al.) üzerinde çalışmalar. **V. Türkiye Fitopatoloji Kongresi**, 18-21 Ekim 1988 Bildiri Özetleri, Tübitak Yayınları No:643, TOAG seri No:128:71.
- Özçağırın, R., Ünal, A., Özeker, E., İskenderoğlu, M., 2004. **Ilıman İklim Meyve Türleri, Yumuşak Çekirdekli Meyveler**. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 556, İzmir.
- Pirc, M., Ravnıkar, M., Tomlinson, J. and Dreo, T. 2009. Improved fireblight diagnostics using Quantitative Real-Time PCR detection of *Erwinia amylovora* Chromosomal DNA. *Plant Pathology*, **58**: 872-881.
- Saygılı, H., Şahin, F., Aysan, Y., 2006. **Fitobakteriyoloji**, İzmir, İstanbul, Adana.

- Schroth, M. H., Hilderbrand, D. C. 1980. *Erwinia* I. *Erwinia amylovora* or True *Erwinia* Gruop. (**Laboratuary Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria**. (Ed: N. W. Schaad), American Phytopathology Society, St. Paul, MN. 72 pp.
- Schaad, N. W., Jones, B. J., Chun, W., 2001, Laboratory Guide for Identification Plant Pathogenic Bacteria, **APS Press**, USA, 543p.
- Sobiczewski, P., Deckers T., Pulawska, J. 1997. **Fire Blight (*Erwinia amylovora*) Some aspects of epidemiology and control**. Research Institu Of Pomology And Floriculture, Skierniewice, Poland, 390/97 P: 9-38.
- Taylor, R. K., Guilford, P. J., Clark, R. G. Hale, C. N. Forster, R. L. S. 2001. Detection of *Erwinia amylovora* in plant material using novel polymerase chain reaction (PCR) primers. New Zealand, **Journal of Crop and Horticultural Science**, 29:1, 35-43.
- Taylor, R.K., Hale, C.N. 1998. Identification And Characterization Of Isolates Of *Erwinia amylovora* From *Cotoneaster spp* Australia. Austarl. **Biotech.**, 8 (6): 353-356.
- Tokgönül, S. 1994. Reaction of some loquat cultivars to fire blight(*Erwinia amylovora* (Burr.) Winslow *et al.*). **9th Congress of The Mediterranean Phytopatological Union**, semtember 18-24, 1994., Kuşadası-Aydın, Turkey.
- Tokgönül, S., Başpınar, N. 1995. Yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında ateş yanıklığı hastalığı (*Erwinia amylovora*(Burr.) Winslow *et. al*)'nın mücadelesi üzerine çalışmalar. **7. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirimleri**, 26-29 Eylül 1995. Adana, 397-399.
- Tokgönül, S., Çınar, Ö., 1991. Doğu Akdeniz bölgesinde armutlarda ateş Yanıklığı hastalığı (*Erwinia amylovora* (Burr.) winslow *at al.*)'nın tanısı ve yaygınlık durumu üzerine araştırmalar. **6. Türkiye Fitopatoloji Kongresi**, 7-11 Ekim 1991. İzmir-Türkiye, 303-306.
- Tokgönül, S., Çınar, Ö., 1995. Doğu Akdeniz bölgesinde armutlarda ateş yanıklığı hastalığı (*Erwlnia Amylovora Burr. Winslow Et Al.*)'nın iklim Koşulları ile ilişkisi **VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildiriler**, 26-29 Eylül 1995. Adana, 407-409.

- TÜİK, 2013. Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr/Start.do;jsessionid=yj2NYhhZwvQCTrcGZyrnqLpG9GQKYFIKF2G87sWcLSwWKyKFQTJC!-403787415>. Erişim Tarihi: 03.05.2014
- Ünlü, A., Basım, H. 2002. *Türkiye’deki Erwinia Amylovora İzolatlarının Elde Edilmesi Ve Bu İzolatların, Patolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Karakterizasyonu*. (Doktora Tezi, basılmamış). Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Yılmaz, M.A., Aysan, Y., 2009. *Erwinia amylovora*’nın neden olduğu ateş yanıklığı hastalığının elmalardan izolasyonu, belirtileri, yayılması ve mücadelesi. Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi, **2** (1):75-77, 2009 ISSN: 1308-3945.
- Zwet, T., Bonn, W.G., 1999. Recent spread and current worldwide distribution of fire blight. *Acta Horticulturae*, **489**:167-168.
- Zwet, T., 1996. Present worldwide distribution of fire blight. *Acta Horticulturae*, **411**:7-8.
- Zwet, T., Beer, S. V. 1991. Fire blight its nature, prevention and control, a practical guide to integrated disease management. u.s. department of agriculture, *Agriculture Information Bulletin*, 631,83.
- Zwet, T., Keil, H.L., 1979. *Fire Blight A Bacterial Disease Of Rosaceous Plants. United Department of Agricultural handbook* number:510 washington D.C.P:21-35 Agriculture Handbook, No: 520, 200 p.
- Vanneste, L. J., 2000. *Fire Blight, The Disease and Its Causative Agent, Erwinia Amylovora, New Zealand*.

ÖZGEÇMİŞ

Cevdet Kıpçak 1986 yılında Van’da doğmuştur. İlk ve ortaöğretimini Van’da tamamlayarak, 2008 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümüne yerleşmiş ve 2012 yılında mezun olarak lisans eğitimini tamamlamıştır. 2013 yılında Bitki Koruma Ana Bilim Dalı / Fitopatoloji Bilim Dalı yüksek lisans programına kabul edilmiş ve halen yüksek lisansına devam etmektedir.