

## Elma (*Malus domestica* L.) Ağaçlarında Ateş Yanıklığı Hastalığının Rhizobakteriler ile Biyolojik Mücadelesi\*

Sevgi AŞAN<sup>1</sup>, Mesude Figen DÖNMEZ<sup>1\*</sup>, Işıl TEMEL<sup>1</sup>, İrfan ÇORUH<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Iğdır, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Erzurum, TÜRKİYE

Geliş Tarihi/Received: 23.03.2023

Kabul Tarihi/Accepted: 08.07.2023

ORCID ID (Yazar sırasına göre / by author order)

[orcid.org/0009-0002-1610-9935](https://orcid.org/0009-0002-1610-9935) [orcid.org/0000-0002-7992-8252](https://orcid.org/0000-0002-7992-8252) [orcid.org/0000-0001-5968-3609](https://orcid.org/0000-0001-5968-3609) [orcid.org/0000-0002-6569-6163](https://orcid.org/0000-0002-6569-6163)

\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: [sudefigen@hotmail.com](mailto:sudefigen@hotmail.com)

**Öz:** Bu çalışma, *in vitro* ve *in vivo* koşullarda farklı kaynaklardan izole edilen bakteri strainlerinin *Erwinia amylovora*'nın gelişimini engelleme potansiyellerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Patojen olarak Iğdır ilinde hastalık semptomu gösteren elma (*Malus domestica* L.) ağaçlarından izole edilen 5 *E. amylovora* straini kullanılmıştır. *In vitro* ortamda patojene karşı 130 bakteri test edilmiş ve bunlardan 34'ü etkili bulunmuştur. *In vivo* ortamda 34 bakterinin biyokontrol etkisi sürgün inokulasyonu ile test edilmiştir. *Pseudomonas putida* strain BY-6 ve *Pantoea agglomerans* MÜ-1 strainlerinin hastalığı % 80 oranında engelleyerek en başarılı strainler olduğu tespit edilmiştir. Diğer strainlerin ise % 9-60 oranında hastalık gelişimini engelledikleri saptanmıştır. Biyokontrol etkinliği tespit edilen strainlerin *in vitro* etki mekanizmaları (ACC-deaminaz, HCN ve siderofor üretimi, proteaz, selüloz ve kitinaz aktiviteleri) belirlenmiştir. Elde edilen bulgular, etkili bulunan strainlerin patojenin entegre mücadele programına dahil edilmesiyle hastalık kontrolünde olumlu sonuçlar alınabileceği göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Malus domestica* L., biyokontrol, bitki gelişimini teşvik eden bakteriler, *Erwinia amylovora*, biyokontrol mekanizmaları

## Biological Control of Fire Blight Disease in Apple (*Malus domestica* L.) Trees with Rhizobacteria

**Abstract:** This study was conducted to determine the potential of bacterial strains isolated from different sources under *in vitro* and *in vivo* conditions to inhibit the growth of *Erwinia amylovora*. Five *E. amylovora* strains isolated from apple (*Malus domestica* L.) trees showing disease symptoms in Iğdır-Türkiye province were used as pathogen. 130 bacteria were tested against the pathogen *in vitro* and 34 of them were found to be effective. The biocontrol effect of 34 bacteria was tested by shoot inoculation under *in vivo* conditions. *Pseudomonas putida* strain BY-6 and *Pantoea agglomerans* strain MU-1 were found to be the most successful strains, preventing the disease by 80%. It was determined that other strains prevented the development of the disease by 9-60%. The *in vitro* mechanisms of action (ACC-deaminase, HCN and siderophore production, protease, cellulase and chitinase activities) of strains with biocontrol activity were determined. The findings show that positive results can be obtained in disease control by including effective strains in the integrated control of the pathogen.

**Keywords:** *Malus domestica* L., biocontrol, plant growth promoting bacteria, *Erwinia amylovora*, biocontrol mechanisms

### 1. Giriş

Rosaceae familyasından yer alan elma (*Malus domestica* L.), insan beslenmesi açısından büyük öneme sahip bir meyvedir. Türkiye'de hemen

hemen tüm illerde yetiştiriciliği yapılmakta ve en çok üretilen meyvelerin başında gelmektedir (Sevindik ve ark., 2019). Taze olarak tüketiminin yanı sıra, kurutulularak da kullanılmakta ve gıda endüstrisinde çeşitli ürünlerin hammaddesi

\* Bu çalışma; Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından kabul edilen birinci yazara ait "Elma Ağaçlarında Ateş Yanıklığı Hastalığına Neden Olan *Erwinia amylovora*'nın Rhizobakteriler ile Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması" isimli Yüksek Lisans Tez çalışmasından üretilmiştir.

oluşuyla da önem taşımaktadır (Satora ve ark., 2008). Bununla birlikte, elma yetiştiriciliğinde üretimi negatif yönde etkileyerek verim kayıplarına neden olan pek çok hastalık bulunmaktadır. Bu hastalıklar içerisinde *Erwinia amylovora*'nın sebep olduğu ateş yanıklığı, yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarının en tahripkâr bakteriyel hastalığı olup, belirlenen ilk bitki bakteri hastalığı olma özelliğini taşımaktadır. Ayrıca ateş yanıklığı, dünyada kayı milyonlarca doları bulan bir hastalık olarak da ön plana çıkmaktadır (Baştaş ve Saygılı, 2008; Vrancken ve ark., 2013; Wallis ve Cox, 2020).

Patojen, elma ağaçlarının; çiçek, meyve, dal ve yapraklarında önemli belirtiler oluşturmaktadır. Başlangıçta sulanmış bir görünüme sahip olan çiçekler, pörsüyerek hızla kahverengileşmekte ve genellikle ağaçta askıda kalmaktadır. Hastalıktan etkilenen sürgünler uçtan geriye doğru solmakta, kahverengi-siyaha dönmekte, sonra çökerek sertleşmektedir. Yaprakların kenar kısımlarında ve ana damarlarında kahverengimsi-siyahımsı görüntüler oluşmakta, yaprak kıvrılmakta, aşağı yöne doğru askıda kalmaktadır. Meyveler kahverengileşerek mumyalaşmakta ve kararmaktadır. Nemli koşullarda, meyve üzerinde yapışkan bakteriyel akıntı görülmekte ve akıntı hava ile temas edince kahverengileşmektedir (Baştaş ve Saygılı, 2008). Elma ağacının diğer aksamalarında da belirtilere gösteren bu hastalık, ağacın kısa sürede ölmesine neden olmakta ve ticari amaçlı yetiştiricilik yapılan bahçelerde, önemli oranda ürün kayıpları meydana getirmektedir (Evrenosoğlu ve ark., 2014).

Hastalıklar, tarımsal üretimde verim ve kalitede büyük kayıplara neden olduğundan, bu kayıpların minimum seviyede tutulması önem taşımaktadır. *Erwinia amylovora* A2 karantina zararlıları listesinde yer aldığından (Anonymous, 2023), mücadelesinde en etkili yöntemlerin başında karantina gelmektedir (Döken ve ark., 2011). Alınabilecek öncelikli tedbirlerden bir diğeri de hastalıktan arı üretim materyali kullanmaktır (Baştaş ve Saygılı, 2008). Kültürel işlemlerde kullanılan alet ve ekipmanların dezenfekte edilmesi, elma ve armut bahçelerinin bulunduğu alanlarda bütün yabancı, hassas konukçu bitkilerin yok edilmesi, yetiştiricilik için verimi yüksek ve iyi drene edilmiş alanların tercih edilmesi de önemlidir. Fakat kültürel önlemler hastalık kontrolünde tek başına yeterli olmamakta ve çok fazla iş gücü gerektirmektedir (Chen ve ark., 2018). Hastalığın mücadelesinde kısa sürede sonuca ulaşma yolu olarak görülen bakırlı bileşikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bilinçsiz ve aşırı kimyasal kullanımı çevre kirliliği, dayanıklı strainlerin gelişimi, mikroflora içerisindeki ilişkilerin olumsuz

etkilenmesi, insan sağlığının ve doğal dengenin bozulması gibi birçok negatif etkiyi de beraberinde getirmektedir (Kokoskova ve ark., 2011). Bu nedenle sürdürülebilir bir tarımsal üretim için tüm ekosistemi dikkate alarak canlılar arasında var olan doğal dengeyi koruyan, çevreyi kirletmeyen, kalıntı sorunu oluşturmeyen ve girdi maliyetini azaltan biyokontrol uygulamaları ön plana çıkmaktadır (Khalid ve ark., 2017). Bu uygulamalar içerisinde bakterilerin biyopestisit ve mikrobiyal gübre olarak tarımda kullanımı ile elde edilen başarılı sonuçlar dikkat çekmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda *E. amylovora*'ya karşı *Bacillus*, *Pantoea* ve *Pseudomonas* cinslerine ait strainlerin biyokontrol etkinliği araştırılmış ve bu strainlerin patojen gelişimini engellediği olduğu etkililiği belirlenmiştir (Cornea ve ark., 2007; Sundin ve ark., 2009; Dagher ve ark., 2020). *Pantoea agglomerans* E325'in ürettiği bazı antibiyotiklerle patojen gelişimini baskıladığı (Pusey ve ark., 2011), *Pantoea agglomerans* NY60 straininin streptomycin kadar başarılı sonuç verdiği rapor edilmiştir (Dagher ve ark., 2020).

Daha önce yapılan çalışmalarda Iğdır'da elma yetiştiriciliği yapılan bahçelerde *E. amylovora* tespit edilmiş, bazı bahçelerde oldukça büyük zarara neden olduğu ve ağaçların imha edildiği görülmüştür (Gök, 2016). Hastalığın karantinaya tabi olması, kuşlar ve böceklerle kolaylıkla taşınabilmesi ve mücadelede kullanılan kimyasalların oluşturduğu zararlar da göz önünde bulundurulduğunda, patojen x bitki gelişimini teşvik eden bakteri x konukçu interaksyonunu içeren biyokontrol araştırmalarına ağırlık verilmesi bir gereklilik olarak ortaya çıkmıştır. Bu düşünceden hareketle, bu çalışmada *E. amylovora*'nın Iğdır ilinden izole edilen bakteri strainleri ile biyokontrol olanaklarının araştırılması ve etkinliği tespit edilen strainlerin antagonistik etki mekanizmalarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

Çalışmada, Iğdır'da varlığı tespit edilen, yağ asit metil ester analizi (YAME) ve biyokimyasal testlerle tanısı yapılan (Gök, 2016) yüksek virülensliğe sahip beş *E. amylovora* straini (E-3, E-20, E-67, E-99, E-100) patojen olarak kullanılmıştır. Iğdır Üniversitesi, Fitopatoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan, azotu fikse etme, potasyum ve fosfat çözme özellikleri bilinen 130 strain ise aday antagonist bakteri olarak kullanılmıştır. Patojene hassas olduğu bilinen ve Iğdır ilinde yetiştirilen Pink Lady elma çeşidi sürgünleri de çalışmanın bitkisel materyalini oluşturmuştur.

### 2.1. *Erwinia amylovora*'ya karşı aday antagonist bakteri strainlerinin biyokontrol etkisinin *in vitro* ortamda belirlenmesi

Patojen ve aday antagonist bakteri strainleri, sukroz içeren Nutrient Agar (NA, Oxoid) besiyerinde 27 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen *E. amylovora* strainleri steril eküvyon çubuk ile NA besiyerine yayılmıştır; ardından aday antagonist bakteri strainleri patojen ekimi yapılan besiyerinin üzerinde birbirine eşit uzaklıkta olacak şekilde dört noktaya inokule edilmiştir (Kotan, 2002). Ardından Petri bakterilerin gelişimi için 27 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bakterilerin patojen gelişimini engellendiği alan (x) ve Petri çeperine olan mesafe (y) ölçülmüş ve Petride oluşan antibiyosis 0-5 skalasına (0: Engelleme yok; 1:  $x \leq 2$  mm 2,  $2 \text{ mm} < x < y$  3,  $2 \text{ mm} < x > y$  4,  $y \leq 2$  mm 5;  $Y = 0$ ) göre belirlenmiştir (Bozkurt, 2009). Çalışma 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

### 2.2. Antagonist bakteri strainlerinin elma yapraklarında fitotoksik etkisinin test edilmesi

*In vitro* biyokontrol etkisi belirlenen strainlerin  $10^9$ ,  $10^8$ ,  $10^7$ ,  $10^6$  ve  $10^5$  hücre  $\text{ml}^{-1}$  konsantrasyonda solüsyonları hazırlanmış ve elma yapraklarına sprey şeklinde inokule edilmiştir. Kontrol grubunda yer alan sürgün yapraklarına steril su uygulanmıştır. İnokulasyondan sonra bitkiler 3 gün polietilen torbalar içerisinde muhafaza edilmiştir. İnkübyasyon periyodunu takiben oluşan sararmalar, nekrotik alanlar ve deformasyon oluşumu toksik etki olarak kaydedilmiştir. Çalışma 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

### 2.3. Antagonist bakteri strainleri ve patojene ait inokulumun hazırlanması

Sukroz içeren NA besi ortamında çoğaltılan bakteriler steril öze ile alınarak Nutrient Broth besiyerine aktarılmış ve inkübasyon için 140 rpm  $\text{dk}^{-1}$  da 27 °C'ye ayarlı çalkalayıcıda bir gece bırakılmıştır. Turbitimetre ile inokulum konsantrasyonu antagonist bakteriler için  $10^5$  hücre  $\text{ml}^{-1}$ , patojen için  $10^7$  hücre  $\text{ml}^{-1}$  olarak ayarlanmıştır (Pusey ve ark., 2011).

### 2.4. Antagonist bakteri strainlerinin *E. amylovora*'ya karşı biyokontrol etkisinin *in vivo* ortamda belirlenmesi

Çalışmaya ilkbaharda elma ağaçlarının tam olarak yapraklandığı dönemde başlamıştır. Sağlıklı sürgünler 50 cm uzunluğunda kesilerek laboratuvara getirilmiş ve steril su içeren erlenmayerlere bırakılmıştır. Ardından *in vitro* biyokontrol etkinliği tespit edilmiş olan 34 bakteri strainine ait  $10^5$  hücre  $\text{ml}^{-1}$  konsantrasyondaki

solüsyonlar yapraklara püskürtülmüştür. Uygulamadan 48 saat sonra,  $10^7$  hücre  $\text{ml}^{-1}$  konsantrasyondaki 5 patojen bakteri straini (E-3, E-20, E-67, E-99 ve E-100) karıştırılarak yapraklara sprey edilmiştir. Negatif kontrol grubunda yer alan bitkilere sadece  $\text{sdH}_2\text{O}$ , pozitif kontrol grubunda bulunan bitkilere ise sadece patojen uygulanmıştır. İnokulasyondan sonra sürgünler nemli bir ortam sağlanması amacıyla polietilen torbalar içerisinde 3 gün tutulmuştur. Patojen inokulasyonundan 15 gün sonra yapraklarda oluşan belirtiler 1-5 hastalık skalasına (1= Yapraklarda simptom olmaması, 2= Yaprakta birkaç lekenin bulunması, 3= Yapraktaki lekelerin birleşerek nekrotik alanları oluşturması, 4= Yaprakta çok sayıda lekenin bulunması sonucu yaprakların ölmesi, 5= Yaprakların tamamının ölmesi) göre değerlendirilmiştir. Çalışma 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Her tekerrürdeki ortalama hastalık şiddeti indeksi (HŞİ, %) Townsend ve Heuberger (1943) formülüne göre hesaplanmıştır (Eşitlik 1).

$$\text{HŞİ} = \left[ \frac{(\text{SD} \times \text{BS})}{\text{ESD}} \right] \times 100 \times \text{TB} \quad (1)$$

Eşitlik 1'de *SD*, skala değerini; *BS*, aynı skala değerindeki bitki sayısını; *ESD*, en yüksek skala değerini; *TB*, toplam bitki sayısını ifade etmektedir.

Eşitlik 2'de belirtilen Abbott (1925) formülü yardımı ile etki oranı (%) hesaplanmıştır.

$$\text{Etki Oranı} = \frac{(X - Y) \times 100}{X} \quad (2)$$

Eşitlik 2'de *X*, kontroldeki hastalık şiddeti değerini; *Y*, uygulamadaki hastalık şiddeti değerini ifade etmektedir.

Elde edilen hastalık şiddeti verileri, SAS (Statistical Analysis System) paket programı (versiyon 9.4) (Anonymous, 2013) ile varyans analizine tabi tutulmuş ve uygulamalar arasındaki farklılıklar  $p < 0.05$  hata payı ile yapılan DUNCAN testiyle belirlenmiştir.

### 2.5. Biyokontrol etkinlik gösteren strainlerin antagonistik etki mekanizmalarının belirlenmesi

Bakteri strainlerinin siderofor üretimi Schwyn ve Neilands (1987) tarafından önerilen Crom Azurol S (CAS) agar besi ortamı kullanılarak belirlenmiştir. Bakteri kolonisi etrafında oluşan portakal renkli zon pozitif sonuç olarak değerlendirilmiş ve zon çapları ölçülerek ortalamaları alınmıştır. Antagonist bakteri strainlerinin bitkilerde zararlı etilen üretimini baskılayan 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase (ACC-deaminaz) enzimini üretebilme yetenekleri Penrose ve Glick (2003)'in belirttiği yöntemle göre Dworkin ve Foster (DF) besi ortamı kullanılarak test edilmiş ve besi ortamında bakteri kolonisinin gelişimi pozitif sonuç olarak

değerlendirilmiştir. Bakker ve Schippers (1987) yöntemine göre bakterilerin hidrojen siyanid (HCN) üretimi belirlenmiş ve bakteri ekiminden sonra 2 gün inkübasyona bırakılan Petrilerin kapaklarına yerleştirilen filtre kağıtlarında meydana gelen renk değişimi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Antagonistik bakterilerin kitinaz aktivitesi ise Faramarzi ve ark. (2009) tarafından önerilen yöntemle belirlenmiştir. Bakteri strainlerinin proteaz enzim aktivitesini belirlemek amacıyla Skim Milk Agar (SMA) besi ortamı kullanılmıştır (Ullah ve ark., 2017). Petriler ekimden sonra 5 gün inkübasyona bırakılmış ve bakteri kolonileri etrafında oluşan zon çapı ölçülmüştür. Andro ve ark. (1984) tarafından önerilen besi ortamı kullanılarak antagonist bakterilerin selüloz üretimleri tespit edilmiştir. Bakteri kolonisi etrafında oluşan sarı renkli alan pozitif sonuç olarak kabul edilmiş ve çapı ölçülmüştür.

### 3. Bulgular

*In vitro*'da *E. amylovora*'ya karşı 130 bakteri straininden 34 tanesinin antagonistik etki gösterdiği bulunmuştur. Etkisi belirlenen strainlere ait bazı bilgiler Tablo 1'de verilmiştir.

Test edilen strainlerin *in vitro* antagonistik etkisine ait sonuçlar Tablo 2'de sunulmuştur. Tablo 2'de yer alan değerler incelendiğinde, E-3 strainine karşı 13, E-20 strainine karşı 14, E-67 strainine karşı 16, E-99 strainine karşı 24 ve E-100 strainine karşı 13 strainin etkili olduğu görülmüştür. En yüksek skala değerine sahip bu antagonist bakterilerin patojenden daha hızlı gelişerek antagonistik etki gösterdiği tespit edilmiştir. *In vitro* biyokontrol etkinliği test edilen strainlerden *Pantoea agglomerans* strain DT- 9, *Bacillus cereus* strain EP-20, *B. thuringiensis* strain EP-21, *B. cereus* strain SK-18, *Pantoea agglomerans* strain

**Tablo 1. Bakteri strainlerinin bazı özellikleri**

Table 1. Some properties of bacterial strains

| Bakteri türleri                        | Strain no | Bİ (%) | A   | P   | Ka | F   | H |
|--|-----------|--------|-----|-----|----|-----|---|
| <i>Pseudomonas putida</i>              | BY-6      | 83     | K + | -   | -  | +   | - |
| <i>Bacillus mycoides</i>               | BY-10     | 61     | +   | -   | -  | +   | - |
| <i>Bacillus megaterium</i>             | BY-29     | 66     | +   | -   | -  | +   | - |
| <i>Pantoea agglomerans</i>             | DT-9      | 89     | K + | -   | -  | +   | - |
| <i>Kocuria rosea</i>                   | EP-1      | 56     | K + | -   | -  | +   | - |
| <i>Bacillus viscosus</i>               | EP-7      | 72     | K + | -   | -  | K + | - |
| <i>Bacillus megaterium</i>             | EP-8      | 62     | -   | -   | -  | +   | - |
| <i>Bacillus cereus</i>                 | EP-19     | 43     | Z + | +   | +  | K + | - |
| <i>Bacillus cereus</i>                 | EP-20     | 72     | +   | -   | -  | K + | - |
| <i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i> | EP-21     | 69     | +   | -   | -  | Z + | - |
| <i>Bacillus cereus</i>                 | EP-22     | 41     | Z + | -   | -  | +   | - |
| <i>Pantoea agglomerans</i>             | MÜ-1      | 57     | +   | -   | -  | K + | - |
| <i>Bacillus subtilis</i>               | MÜ-2      | 78     | K + | -   | -  | +   | - |
| <i>Alcaligenes piechaudii</i>          | MÜ-3      | 72     | +   | -   | -  | +   | - |
| <i>Bacillus mycoides</i>               | NK-18     | 55     | +   | -   | -  | K + | - |
| <i>Bacillus megaterium</i>             | SA-5      | 51     | +   | -   | -  | +   | - |
| <i>Pseudomonas putida</i>              | SA-13     | 43     | +   | -   | -  | K + | - |
| <i>Bacillus GC group 22</i>            | SA-17     | 63     | +   | -   | -  | +   | - |
| <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>   | SA-20     | 50     | K + | Z + | +  | +   | - |
| <i>Bacillus cereus</i>                 | SK-18     | 42     | Z + | -   | -  | Z + | - |
| <i>Microbacterium esteraromaticum</i>  | SK-39     | 41     | K + | +   | +  | K + | - |
| <i>Bacillus viscosus</i>               | SY-4      | 44     | +   | -   | -  | K + | - |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i>         | SY-5      | 83     | +   | -   | -  | +   | - |
| <i>Pseudomonas putida</i>              | SY-22     | 67     | +   | -   | -  | +   | - |
| <i>Pantoea agglomerans</i>             | SY-30     | 45     | K + | -   | -  | +   | - |
| <i>Enterobacter cloacae</i>            | SY-32     | 80     | +   | +   | -  | K + | - |
| <i>Bacillus mycoides</i>               | YÖ-12     | 74     | +   | -   | -  | -   | - |
| <i>Bacillus viscosus</i>               | YÖ-17     | 35     | K + | -   | -  | +   | - |
| <i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i> | YÖ-24     | 44     | K + | -   | -  | -   | - |
| <i>Pseudomonas putida</i>              | YÖ-39     | 64     | +   | -   | -  | +   | - |
| <i>Bacillus cereus</i>                 | YS-3      | 76     | K + | -   | -  | Z + | - |
| <i>Bacillus megaterium</i>             | YS-14     | 59     | +   | -   | -  | +   | - |
| <i>Bacillus cereus</i>                 | YS-16     | 64     | +   | -   | -  | Z + | - |
| <i>Bacillus alcalophilus</i>           | YS-18     | 29     | +   | -   | -  | +   | - |

YAME: Yağ asit metil ester, Bİ: Benzerlik İndeksi, A: Azot fikse etme özelliği, P: Potasyum çözme özelliği, Ka: Kalsiyumu kullanma özelliği, F: Fosforu çözme özelliği, H: Hipersensitife reaksiyon, K+: Kuvvetli pozitif, Z+: Zayıf pozitif

**Tablo 2. Bakteri strainlerinin *in vitro* ortamda antagonistik etkilerinin değerlendirilmesi**Table 2. Evaluation of the antagonistic effects of bacterial strains *in vitro*

| Strain | E-3   |       |    | E-20  |   |    | E-67  |       |    | E-99  |   |    | E-100 |   |    |
|--------|-------|-------|----|-------|---|----|-------|-------|----|-------|---|----|-------|---|----|
|        | x     | y     | sd | x     | y | sd | x     | y     | sd | x     | y | sd | x     | y | sd |
| BY-6   | -     | -     | -  | 13.50 | 0 | 5  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | - | -  |
| BY-10  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 18.17 | 0 | 5  | 15.61 | 0 | 5  |
| BY-29  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | -     | -  | -     | - | -  | 11.79 | 0 | 5  |
| DT-9   | 18.19 | 0     | 5  | 21.06 | 0 | 5  | 13.42 | 0     | 5  | 18.59 | 0 | 5  | 17.21 | 0 | 5  |
| EP-1   | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 13.47 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| EP-7   | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 17.07 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| EP-8   | -     | -     | -  | -     | - | -  | 14.63 | 0     | 5  | -     | - | -  | 16.98 | 0 | 5  |
| EP-19  | -     | -     | -  | 14.05 | 0 | 5  | 12.49 | 0     | 5  | 19.53 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| EP-20  | 14.38 | 0     | 5  | 14.79 | 0 | 5  | 16.57 | 0     | 5  | 17.94 | 0 | 5  | 10.34 | 0 | 5  |
| EP-21  | 12.49 | 0     | 5  | 13.52 | 0 | 5  | 15.21 | 0     | 5  | 14.48 | 0 | 5  | 15.74 | 0 | 5  |
| EP-22  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 18.55 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| MÜ-1   | 14.14 | 0     | 5  | 15.01 | 0 | 5  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | - | -  |
| MÜ-2   | 15.41 | 0     | 5  | 13.23 | 0 | 5  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | - | -  |
| MÜ-3   | 14.55 | 0     | 5  | 14.79 | 0 | 5  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | - | -  |
| NK-18  | -     | -     | -  | -     | - | -  | 24.05 | 10.50 | 3  | -     | - | -  | 8.86  | 0 | 5  |
| SA-5   | 9.07  | 31.27 | 2  | -     | - | -  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | - | -  |
| SA-13  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 14.04 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| SA-17  | -     | -     | -  | -     | - | -  | 16.97 | 0     | 5  | 15.65 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| SA-20  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 12.47 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| SK-18  | 17.10 | 0     | 5  | 12.78 | 0 | 5  | 14.64 | 0     | 5  | 15.11 | 0 | 5  | 15.51 | 0 | 5  |
| SK-39  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 17.61 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| SY-4   | -     | -     | -  | 17.66 | 0 | 5  | 16.35 | 0     | 5  | 20.80 | 0 | 5  | 15.37 | 0 | 5  |
| SY-5   | -     | -     | -  | -     | - | -  | 3.9   | 0     | 5  | -     | - | -  | -     | - | -  |
| SY-22  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 19.24 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| SY-30  | 12.13 | 0     | 5  | 16.74 | 0 | 5  | 14.99 | 0     | 5  | 17.78 | 0 | 5  | 11.78 | 0 | 5  |
| SY-32  | -     | -     | -  | -     | - | -  | 4.31  | 0     | 5  | -     | - | -  | -     | - | -  |
| YÖ-12  | 13.91 | 0     | 5  | 12.03 | 0 | 5  | 13.55 | 0     | 5  | 21.81 | 0 | 5  | 14.42 | 0 | 5  |
| YÖ-17  | -     | -     | -  | -     | - | -  | 18.72 | 0     | 5  | 18.39 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| YÖ-24  | 13.39 | 0     | 5  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 15.73 | 0 | 5  | 13.10 | 0 | 5  |
| YÖ-39  | 17.95 | 0     | 5  | 17.14 | 0 | 5  | 3.47  | 0     | 5  | 15.59 | 0 | 5  | 13.26 | 0 | 5  |
| YS-3   | -     | -     | -  | 15.13 | 0 | 5  | 17.21 | 0     | 5  | 17.17 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| YS-14  | 7.46  | 31.55 | 2  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 18.43 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| YS-16  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 14.53 | 0 | 5  | -     | - | -  |
| YS-18  | -     | -     | -  | -     | - | -  | -     | -     | -  | 17.78 | 0 | 5  | -     | - | -  |

x: Zon, y: Petri çeperine olan mesafe, sd: skala değeri. Tabloda yer alan değerler mm cinsinden ölçülmüştür.

SY-30, *B. mycoides* strain YÖ-12 ve *Pseudomonas putida* strain YÖ-39'un çalışmada yer alan beş *E. amylovora* strainine karşı 5 skala değeriyle en yüksek etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 2).

Bakteri strainlerinin fitotoksik etkisi değerlendirildiğinde  $10^9$ ,  $10^8$ ,  $10^7$  ve  $10^6$  hücre  $ml^{-1}$  konsantrasyondaki solüsyonların yapraklarda toksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Konsantrasyonu  $10^5$  hücre  $ml^{-1}$  olan bakteri solüsyonunun spreyinden sonra yapraklarda herhangi bir fitotoksik belirti gözlenmemiştir. Bundan dolayı çalışmada antagonist bakteriler  $10^5$  hücre  $ml^{-1}$  konsantrasyonda uygulanmıştır.

Antagonist bakterilerin *in vivo* ortamda hastalık gelişimine etkisi Şekil 1'de verilmiştir. Pozitif kontrol uygulamasında yer alan bitkilerde hastalık şiddeti ortalaması % 100 olarak belirlenmiştir. Negatif kontrol grubunda ise hastalık simptomsu gözlenmemiştir. Strainlerden *Pseudomonas putida* strain BY-6 ve *Pantoea agglomerans* strain

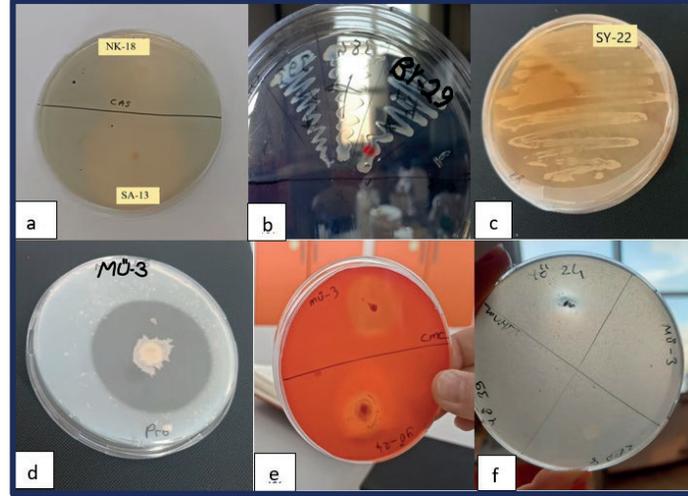
MÜ-1'in % 80 oranında en yüksek biyokontrol etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Strainlerden onbir tanesinin (NK-18, EP-21, EP-22, BY-10, SA-13, SY-22, YS-3, YS-16, YS-18, YÖ-17 ve YÖ-24,) % 60, iki tanesinin (BY-29 ve MÜ-3) % 48-49 ve 4 tanesinin (EP-1, DT-9, SY-4 ve YÖ-39) % 40 oranında hastalığı engellediği belirlenmiştir. Test edilen diğer strainlerin hastalığı % 9 ila % 34 arasında değişen oranlarda engelledikleri bulunmuştur. İki strainin (SA-5 ve SY-32) ise % 100 hastalık şiddetine neden olarak pozitif kontrol ile aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir (Şekil 1).

Antagonist bakteri strainlerinden *in vivo* ortamda patojene karşı biyokontrol aktivitesi tespit edilen ve % 30 ve üzeri etki gösteren 21 strainin biyokontrolde rol oynayan etki mekanizmaları hazırlanan spesifik besiyerlerinde belirlenmiştir. Strainlere ait test sonuçları Tablo 3'te sunulmuştur. Test edilen strainlerden *Bacillus megaterium* strain



BY-29'un en yüksek ACC-deaminaz ve *Pseudomonas putida* strain SA-13'ün en yüksek siderofor üretimine sahip olduğu tespit edilmiştir. *Pantoea agglomerans* strain MÜ-1 ve *Pseudomonas putida* strain SY-22 strainlerinin kuvvetli hidrojen siyanid ürettiği belirlenmiştir. En

yüksek proteaz aktivitesi *Pseudomonas putida* strain SY-22, en yüksek selüloz aktivitesi ise *Pseudomonas putida* strain BY-6'da tespit edilmiştir. Strainlerden 6 tanesinin ise (YS-16, YÖ-24, SY-22, NK-18 ve DT-9) kitinaz aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Şekil 2).



Şekil 2. Test edilen strainlerin; (a) Siderofor üretimi, (b) ACC-deaminaz üretimi, (c) HCN üretimi, (d) Proteaz aktivitesi, (e) Selüloz aktivitesi, (f) Kitinaz aktivitesi  
Figure 2. Tested strains; (a) Siderophore production, (b) ACC-deaminase production, (c) HCN production, (d) Protease activity, (e) Cellulase activity, (f) Chitinase activity

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Yapılan bu çalışmada *in vitro* ortamda 5 *E. amylovora* straininin hepsinin gelişimini engelleyen bakteri strainlerinin *Pantoea*, *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinslerine ait türler olduğu belirlenmiştir. *In vitro* ortamda *E. amylovora*'nın biyokontrolünün araştırıldığı çalışmalarda da bu cinslerde bulunan bakterilerin başarılı sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Örneğin *Pantoea agglomerans* C9/1'in herbicolin 0 ve 1 antibiyotiklerini üreterek patojen gelişimini engellediği (Ishimaru ve ark., 1988), *Pantoea agglomerans* E-325'in alkalın ve fosfat içeren antibiyotikler ürettiği ve bu antibiyotiklerin antibiyosisle ilişkili olduğu belirlenmiştir (Pusey ve ark., 2011). Giddens ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada pantocin A, B ve pheazine antibiyotiklerini üreten *Pantoea agglomerans*'ın *E. amylovora* gelişimini baskıladıkları saptanmıştır. Aynı konuda Erdoğan (1999) tarafından yapılan çalışmada, 22 floresan *Pseudomonas* straininin patojen gelişimini inhibe ettiği belirlenmiştir. Cornea ve ark. (2007) tarafından *Bacillus*'a ait iki, *Pseudomonas*'a ait 3 straininin (*Pseudomonas putida* P5, *Pseudomonas aeruginosa* P10 ve P14) antagonistik etki göstererek *E. amylovora* gelişimini engellediği tespit edilmiştir. Bu çalışma

kapsamında başarılı bulunan türlerin farklı araştırmalarda tespit edilen bakteri strainleri ile uyumlu oldukları görülmektedir.

Mevcut çalışmanın *in vivo* sonuçları değerlendirildiğinde % 40-80 oranında hastalık gelişimini engelleyen strainlerin 3 tanesinin *Pseudomonas*, 2 tanesinin *Pantoea* ve 11 tanesinin *Bacillus* cinslerinde yer aldığı tespit edilmiştir. *Pantoea agglomerans* ve *Pseudomonas putida* türlerinin % 80 etki ile en başarılı strainler olduğu bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak Dagher ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada özellikle *Pantoea agglomerans* NY60 straininin ateş yanıklığı hastalığını % 70 oranında engellediği belirlenmiştir. *Pseudomonas* türlerinin hızlı bir şekilde geliştikleri, bu durumun kök salgılarıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca sentezledikleri antimikrobiyal bileşikler ile biyolojik kontrolde kullanılabilecekleri bildirilmiştir (Boudyach ve ark., 2001). Biondi ve ark. (2007) *B. subtilis* içeren Serenade'nın *E. amylovora* enfeksiyonunu % 62-68'e kadar azalttığı tespit edilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise *B. subtilis* QST713, *Pseudomonas fluorescens* A506, *Pantoea agglomerans* C9/1 ve E325 strainlerinin % 9.1-36 oranında çiçek enfeksiyonlarını azalttığı tespit edilmiştir (Sundin

ve ark., 2009). Mercier ve Lindow (2001) tarafından *Pseudomonas fluorescens* strainlerinin *E. amylovora*'ya karşı en yüksek antagonistik etki gösteren tür olduğu belirlenmiştir. Karabıçak (2012) tarafından *Pantoea agglomerans* RK-84'ün ise % 48 ve *Pseudomonas putida* RK-142'nin % 57 oranında hastalığı azalttığı rapor edilmiştir.

Mevcut çalışmada patojene karşı antagonistik etki gösteren strainlerin her birinin 2 ve daha fazla biyokontrol etki mekanizmasına sahip olduğu belirlenmiştir. Hastalık gelişimini % 80 engellediği tespit edilen *Pseudomonas putida* BY-6 ve *Pantoea agglomerans* MÜ-1'in 6 biyokontrol mekanizmasından 5'ine (ACC-deaminaz, siderofor, HCN, proteaz ve kitinaz) sahip olduğu saptanmıştır. Dagher ve ark. (2020) tarafından da *Pantoea agglomerans* NY60 ve NY130 strainlerinin hücre dışı inhibitör maddeler üreterek, doğrudan etkileşimle en güçlü antagonistik aktivite gösteren türler olduğu belirlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada *Pantoea* strainlerinin antimikrobiyal madde üretimi ile *E. amylovora*'ya karşı biyolojik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Smits ve ark., 2011). Bu çalışmada antagonistik etki gösteren strainlerin 14'nün ACC-deaminaz ürettiği bulunmuştur. ACC-deaminaz üreten bakterilerin, çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin bitkilerde oluşturduğu zararın azaltılmasında önemli bir yere sahip olduğu yapılan farklı çalışmalarda ortaya konulmuştur (Çakmakçı, 2009; Kardeş ve Ökmen, 2014). Bazı *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerinin siderofor üretme etkinliklerinin araştırıldığı bir başka çalışmada da test edilen tüm türlerin siderofor ürettiği belirlenmiştir (Güney, 2014). Bu çalışmada da test edilen strainlerden 14 tanesinin siderofor üretimi tespit edilmiştir. Bu çalışmada biyokontrol etki gösteren strainlerden 12'sinin HCN ürettiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara paralel olarak, son yıllarda yapılan çalışmalarda HCN gibi antimikrobiyal madde ve siderofor üretebilen bakteri strainlerinin patojen gelişimini baskılayarak biyokontrolde etkili oldukları bildirilmiştir (Blumer ve Haas, 2000; Duman, 2020). Mevcut çalışmada test edilen 21 strainden 20'sinde proteaz, 11'inde selülaz ve 6'sında kitinaz aktivitesi tespit edilmiştir. Proteolitik aktiviteye sahip (Harrison ve Bonning, 2010) ve selülaz, kitinaz gibi litik enzimleri üretebilen bakterilerin patojen gelişimini engelleyerek biyokontrolde etkili oldukları bildirilmiştir (Kundan ve ark., 2015; Widnyana, 2019). Çeşitli araştırmalarda yüksek sıcaklık, nem ve besinlerin yeterli olmaması, topraktaki pH farklılıkları gibi nedenlerle mikroorganizmaların koloni oluşturma hızının düştüğü, buna bağlı olarak antagonizmin azaldığı bildirilmiştir (Dobbelaere ve ark., 2001; Şahin ve ark., 2004).

Tarımsal üretimde kullanılan kimyasalların insan sağlığında, ekosistemde meydana getirdiği zararlar, mikroorganizmalarda meydana gelen dayanıklılık problemi ve insanoğlunun ilaçsız sebze ve meyve tüketim talebinin artması dikkate alındığında, biyokontrolün dünya genelinde önemli bir konu olduğu görülmektedir. Bu nedenle *E. amylovora*'ya karşı etkili bakteri strainlerinin tespiti oldukça önem taşımaktadır. Yürütülen bu çalışmada alınan sonuçlar *Pseudomonas*, *Pantoea* ve *Bacillus* cinslerinde yer alan strainlerin ateş yanıklığı hastalığını % 60-80 arasında engellediğini göstermektedir. Patojenin kontrolünde biyokontrol etkileri tespit edilen strainlerin tek ve/veya kombinasyonlar şeklinde entegre mücadelede bir parçası olarak kullanılabilmesi kanaatindeyiz. Ayrıca gerek elma bahçelerinde gerekse farklı konukçu x patojen sistemlerinde başarılı bulunan bakteri strainlerinin araştırılması hastalıkların kontrolünde fayda sağlayacaktır.

### Yazarların Katkı Beyanı

Materyal, Yöntem, Araştırma, Yazma-İnceleme ve Düzenleme, S. AŞAN; Fikir/Hipotez, Veri Analizi, Yazma-İnceleme ve Düzenleme, Danışman (I. Danışman), M.F. DÖNMEZ; Materyal, Yöntem, Araştırma, Yazma-İnceleme ve Düzenleme, I. TEMEL; Yazma-İnceleme ve Düzenleme, Danışman (II. Danışman), İ. ÇORUH. Tüm yazarlar makalenin yayına hazır son halini gördüklerini/okuduklarını ve onayladıklarını beyan ederler.

### Finansman

Bu araştırma, hiçbir dış finansman almamıştır.

### Çıkar Çatışması Beyanı

Tüm yazarlar, bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

### Kaynaklar

- Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Andro, T., Chambost, J.P., Kotoujansky, A., Cattano, J., Bertheau, Y., Barras, F., Van Gijsegem, F., Coleno, A., 1984. Mutants of *Erwinia chrysantemi* defective in secretion of pectinase and cellulase. *Journal of Bacteriology*, 160: 1199-1203.
- Anonymous, 2013. Statistical Analysis Software Users Guide Statistics Version 9.4. SAS Institute Inc., Cary.
- Anonymous, 2023. European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). ([https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant\\_quarantine/A2\\_list](https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A2_list)), (Erişim Tarihi: 04.03.2023).

- Bakker, A.W., Schippers, B., 1987. Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp mediated plant growth-stimulation. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(4): 451-457.
- Baştaş, K.K., Saygılı, H., 2008. Ateş yanıklığı hastalığı, *Erwinia amylovora*. In: H. Saygılı, F. Şahin ve Y. Aysan (Editörler), *Bitki Bakteri Hastalıkları Kitabı*, Beta Basım, İzmir, s. 61-68.
- Biondi, E., Brunelli, A., Ladurner, E., Portillo, I., Lancioni, P., Benuzzi, M., Bazzi, C., 2007. Efficiency of *Bacillus subtilis* against fire blight in pears. *Informature Agrario*, 63(19): 58-60.
- Blumer, C., Haas, D., 2000. Mechanism, regulation and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Archives of Microbiology*, 173: 170-177.
- Boudyach, E.H., Fatmi, M., Akhayat, O., Benizri, E., Ait Ben Aoumar, A., 2001. Selection of antagonistic bacteria of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and evaluation of their efficiency against bacterial canker of tomato. *Biocontrol Science and Technology*, 11(1): 141-160.
- Bozkurt, İ.A., 2009. Fasulye bakteriyel yanıklık hastalığına (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) karşı antagonist bakterilerle mücadele olanakları. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Chen, C., Li, C., Kang, Y., 2018. Modelling the effects of cutting off infected branches and replanting on fire-blight transmission using Filippov systems. *Journal of Theoretical Biology*, 439: 127-140.
- Cornea, C.P., Voaides, C., Kupferberg, S., Dinu, S., Ciuca, M., Babeanu, N., Oancea, F., 2007. In vitro inhibition of *Erwinia amylovora* by some antagonistic bacteria. *Animal Science and Biotechnologies*, 63(64): 545.
- Çakmakçı R., 2009. Stres koşullarında ACC-deaminaz üretici bakteriler tarafından bitki gelişiminin teşvik edilmesi. *Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(1): 109-125.
- Duman, K., 2020. Fasulye hale yanıklığı hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) biyolojik mücadelesinde endofit bakterilerin etkinliklerinin araştırılması. Doktora Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Dagher, F., Olisheska, S., Phillion, V., Zheng, J., Déziel, E., 2020. Development of a novel biological control agent targeting the phytopathogen *Erwinia amylovora*. *Heliyon*, 6(10): e05222.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Vanderleyden, J., Dutto, P., Labandera-Gonzalez, C., CaballeroMellado, J., Aguirre, J.F., Kapulnik, Y., Brener, S., Burdman, S., Kadouri, D., Sarig, S., Okon, Y., 2001. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28(9): 871-879.
- Döken, M.T., Demirci, E., Zengin, H., 2011. Fitopatoloji (4. Baskı). Atatürk Üniversitesi Yayınları No: 729, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 314, Ders Kitapları Serisi No: 66, Erzurum.
- Erdoğan, O., 1999. Isparta ilinde yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında ateş yanıklığı etmeni (*Erwinia amylovora*)'ne karşı antagonist bakteriyel mikrofloranın saptanması üzerinde çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- 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 Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 51(2): 185-190.
- Faramarzi, M.A., Fazeli, M., Yazdi, M.T., Adrangi, S., Al-Ahmadi, K.J., Tasharrofi, N., Mohseni, F.A., 2009. Optimization of cultural condition for production chitinase by soil isolate of *Massilia timonae*. *Biotechnology*, 8(1): 93-99.
- Giddens, S.R., Houliston, G.J., Mahanty, H.K., 2003. The influence of antibiotic production and pre-emptive colonization on the population dynamics of *Pantoea agglomerans* (*Erwinia herbicola*) Eh1087 and *Erwinia amylovora* in planta. *Environmental Microbiology*, 5(10): 1016-1021.
- Gök, G., 2016. Iğdır ili elma ağaçlarında ateş yanıklığı hastalığına neden olan *Erwinia amylovora* (Burr.) Wüinslow et al. etmeninin biyokimyasal ve moleküler (MIS) yöntemle tanısı. Yüksek Lisans Tezi, Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Iğdır.
- Güney, E., 2014. *Bacillus* sp. türlerinde siderofor üretimi ve *Bacillus cereus* DSM 4312de siderofor üretiminin optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze.
- Harrison, R.L., Bonning, B.C., 2010. Proteases as insecticidal agents. *Toxins*, 2(5): 935-953.
- Ishimaru, C.A., Klos, E.J., Brubaker, R.R., 1988. Multiple antibiotic production by *Erwinia herbicola*. *Phytopathology*, 78(6): 746-750.
- Karabıçak, Y., 2012. Armut ağaçlarında ateş yanıklığı etmeni *Erwinia amylovora*'ya karşı bakteri uygulamaları ile biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Kardaş, Ş., Ökmen, G., 2014. ACC deaminaz ve mikroorganizmalar. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 1: 69-78.
- Khalid, M., Hassani, D., Bilal, M., Liao, J., Huang, D., 2017. Elevation of secondary metabolites synthesis in *Brassica campestris* ssp. *chinensis* L. via exogenous inoculation of *Piriformospora indica* with appropriate fertilizer. *PLoS One*, 12(5): e0177185.
- Kokoskova, B., Pavela, R., Pouvova, D., 2011. Effectiveness of plant essential oils against *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and associated saprophytic bacteria on/in host plants. *Journal of Plant Pathology*, 93(1): 133-139.
- Kotan, R., 2002. Doğu Anadolu bölgesinde yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından izole edilen patojenik ve saprofitik bakteriyel organizmaların

- klasik ve moleküler metodlar ile tanısı ve biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Kundan, R., Pant, G., Jadon, N., Agrawal, P.K., 2015. Plant growth promoting rhizobacteria: mechanism and current prospective. *Journal of Fertilizers & Pesticides*, 6(2): 9.
- Mercier, J., Lindow, S.E., 2001. Field performance of antagonistic bacteria identified in a novel laboratory assay for biological control of fire blight of pear. *Biological Control*, 22(1): 66-71.
- Penrose, D.M., Glick, B.R., 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118(1): 10-15.
- Pusey, P.L., Stockwell, V.O., Reardon, C.L., Smits, T.H.M., Duffy, B., 2011. Antibiosis activity of *Pantoea agglomerans* biocontrol strain E325 against *Erwinia amylovora* on apple flower stigmas. *Phytopathology*, 101(10): 1234-1241.
- Satora, P., Sroka, P., Duda-Chodak, A., Tarko, T., Tuszyński, T., 2008. The profile of volatile compounds and polyphenols in wines produced from dessert varieties of apples. *Food Chemistry*, 111(2): 513-519.
- Sevindik, E., Murathan, Z.T., Filiz, S., Yalçın, K., 2019. Molecular characterization based on chloroplast (trnL-F) DNA sequence of the apple genotypes in Ardahan/Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 48(4): 1099-1106.
- Schwyn, B., Neilands, J.B., 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160(1): 47-56.
- Smits, T.H.M., Rezzonico, F., Kamber, T., Blom, J., Goesmann, A., Ishimaru, C.A., Frey, J.E., Stockwell, V.O., Duffy, B., 2011. Metabolic versatility and antibacterial metabolite biosynthesis are distinguishing genomic features of the fire blight antagonist *Pantoea vagans* C9-1. *PLoS One*, 6(7): e22247.
- Sundin, G.W., Werner, N.A., Yoder, K.S., Aldwinckle, H.S., 2009. Field evaluation of biological control of fire blight in the eastern United States. *Plant Disease*, 93(4): 386-394.
- Şahin, F., Çakmakçı, R., Kantar, F., 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N 2-fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil*, 265: 123-129.
- Towsend, G.R., Heuberger, J.W., 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Reporter*, 27(17): 340-343.
- Ullah, A., Musthag, H., Fahad, S., Shah, A., Chaudhary, H.J., 2017. Plant growth promoting potential of bacterial endophytes in novel association with *Olea ferruginea* and *Withania coagulans*. *Microbiology*, 86(1): 119-127.
- Vrancken, K., Holtappels, M., Schoofs, H., Deckers, T., Valcke, R., 2013. Pathogenicity and infection strategies of the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* in Rosaceae: state of the art. *Microbiology*, 159: 823-832.
- Wallis, A.E., Cox, K.D., 2020. Management of fire blight using pre-bloom application of prohexadione-calcium. *Plant Disease*, 104(4): 1048-1054.
- Widnyana, I.K., 2019. PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) benefits in spurring germination, growth and increase the yield of tomato plants. In: S.T. Nyaku and A. Danquah (Eds.), *Recent Advances in Tomato Breeding and Production*, 3rd Edn., London, pp. 17-25.

**ALINTI:** Aşan, S., Dönmez, M.F., Temel, I., Çoruh, İ., 2023. Elma (*Malus domestica* L.) Ağaçlarında Ateş Yanıklığı Hastalığının Rizobakteriler ile Biyolojik Mücadelesi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 10(2): 121-130.

**CITATION:** Aşan, S., Dönmez, M.F., Temel, I., Çoruh, İ., 2023. Biological Control of Fire Blight Disease in Apple (*Malus domestica* L.) Trees with Rhizobacteria. *Turkish Journal of Agricultural Research*, 10(2): 121-130. (In Turkish).