**BAKTERİYOLOJİ**

**1. Giriş**

Mikroskobun keşfinden sonra bakterilerin hastalık yaptığı ilk kez **1876** yılında **Pasteur** ve **Robert Koch** tarafından bildirilmiştir. Bu araştırıcılar **Bacillus antrachnis** isimli bakteriyel etmenin hayvanlarda antrax (**Şarbon**) denilen hastalığı yaptığını belirlemişlerdir. Bakterilerin bitkilerde hastalık yaptığı 1878 yılında **elma** ve **armutlarda ateş yanıklığı etmeni** **Erwinia** **amylovora**’nın izole edilmesiyle belirlenmiştir. Araştırıcılar tarihsel gelişme sürecinde 1883’te sümbülde solgunluk etmeni **Xanthomonas hyacinthi,** 1891 yılında **hıyar solgunluk etmeni** **Erwinia tracheiphila**, 1885 yılında **lahana siyah damar hastalığı** **X. campestris** etmenleri izole edilmiştir. **Smith** 1905 yılında 60 bitki familyasından 150 bitki cinsinde, 1930 yılında **Bergey** isimli araştırıcı 93 bitki familyasında, 1940 yılında ise **Elliot** isimli araştırıcı ise 177 bitki familyasında bakteriyel etmenleri tespit etmiştir.

**Bitkilerde Bulunan Bakteriler**

Bitkilerin bulunduğu tüm ortamlarda bakterilerin bitkiler ile yakın ilişki içinde olduğu gözlenmektedir. Bitkiler ile bakteriler arasındaki ilişkiler genel olarak iki kategoride gerçekleşmektedir.

1. Bitkinin dış yüzeyinde bulunanlar (**Epiphytic**)

2. Bitki içerisinde bulunanlar (**İnternal**)

Epiphytic bakteriler genellikle bitki yüzeyinde bulunurlar. Bu bakteriler köklerde (rizosfer) ve havada (phylosphere) bulunanlar olarak ikiye ayrılırlar. Bu tip bakteriler;

a. Bitkilere besin sağlamaları

b. Bitkileri soğuk ve dondan korumaları

c. Bazı bitki patojenleri ile biyolojik mücadelede kullanılmaları

Sebebiyle önemlidirler. Epiphytic bakterilerin çoğu saprofit olmasına rağmen bazıları hayatların belirli bir kısmını bitki yüzeyinde saprofit olarak belirli bir kısmını ise bitki içerisinde parazit olarak geçirirler.

Parazit bakteriler ise bitki dokularını işgal ederek buralarda çoğalır ve yayılırlar. Bitki patojeni bakterilerin büyük çoğunluğu hücreler arası boşluklarda yayılıp çoğalırlar. Sadece **Agrobacterium** ve **Rhizobium** cinsine dahil bakteriler bitki hücresi içerisine girebilmektedir.

**2. BAKTERİLERİN HÜCRE YAPILARI, FONKSİYONLARI, BESLENME VE ÜREME ŞEKİLLERİ**

Bakteriler basit yapıda tek hücreli organizmalardır. Genellikle 0.5-0.7μm. yarıçapında ve 2-4μ uzunluğundadır. Birçok hayvan, insan ve bitki patojeni türleri içeren **Pseudomonas** cinsine dahil bakteri hücreleri 0.4-0.7μm yarıçapında ve 2-3μ uzunluğunda bakterilerdir. Bakteri hücreleri genellikle yüksek büyütmeli ışık (100x) veya elektron mikroskobuyla görülebilirler.

1. Micrococcus, 2. Diplococcus, 3. Streptococcus, 4. Staphylococcus, 5. Sarsina, 6. Çubuk şekilli Bacillus, 7. Spiral, 8. Vibrio

**2.1. Belli başlı Bakteri Şekilleri**

Bakteriler şekillerine göre genel olarak 3 gruba ayrılmaktadır (Şekil 2).

**2.1.1. Yuvarlak şekilli bakteriler (coccus)**

0.8-1μm yarı çapındadırlar. Mikroskop altında bakıldığında şekillerine göre 5’e ayrılır.

- Mikrococcus &THORN; Bu bakteriler üreme esnasında bağımsız hücreler şeklinde tek tek bulunurlar.

- Diplococcus &THORN; İki yuvarlak hücrenin yan yana gelmesiyle oluşurlar.

- Streptococus &THORN; Hücrelerin zincir şeklinde yan yana gelmesiyle oluşurlar.

- Sarsina &THORN; Halkalar bir araya gelerek üzüm şeklini almıştır.

- Staphylococcus &THORN; Düzensiz zincir şeklindeki bakterilerdir.

**2.1.2. Çubuk Şekilli Bakteriler (Bacillus)**

Çubuk veya silindir şeklindeki bakterilerdir. Fitopatojen bakteriler genellikle bu guruptadır. Şekillerine göre 4 gruba ayrılırlar.

- Diplobacillus &THORN; İki bakteri hücresinin yan yana gelmesiyle oluşur.

- Streptobacillus &THORN; Hücrelerin zincir şeklinde birleşmesiyle meydana gelmiştir.

- Fusiformbacillus &THORN; Uçları sivri olan bakterilerdir.

- Coccobacillus &THORN; Eni boyuna eşittir.

**2.1.3. Spiral (Sarmal) Şekilli Bakteriler**

Bu gruptaki bakteriler sarmal şekilli olup burgunun kıvrım sayısı 1-15 arasında değişmektedir. İki grup altında toplanmaktadırlar.

- Spiroketler &THORN; Vücutları yumuşaktır ve kıvrılarak hareket ederler.

- Spiriller &THORN; Vücutları sert olup kamçıları ile hareket ederler.

**2.2. Bakteri Hücresinin Anatomik Yapısı**

Bakteriler tek hücreli canlılar olup bir bakteri hücresi içten dışa doğru protoplazma, hücre çeperi, kapsül ve yüzey uzantıları olarak 4 kısımdan meydana gelmektedir

**2.2.1 Protoplazma**

Hücre çeperinin içindeki tüm hücre kısımlarına **protoplast** adı verilir. Bakterilerin beslenme ve çoğalma dahil tüm hayatsal fonksiyonları bu kısımda meydana gelir. Protoplazma 3 kısımdan oluşmaktadır.

**2.2.1.1 Stoplazmik Zar**

Stoplazmayı çevreleyen yarı geçirgen yapıya sahip osmotik bir köprüdür. Hücre içerisine madde giriş çıkışını kontrol eder. Hücre için yararlı maddelerin girişini sağlamak için porlarını açarken yabancı maddelerin girişini engellemek için ise porlarını kapatır. Yapı olarak protein ve lipitçe zengin lipoproteinli maddelerden oluşmaktadır.

**2.2.1.2 Stoplazma**

Stoplazma; stoplazmik zar içerisinde berrak, sulu, homojen ve kolloidal bir yapıdır. Stoplazma içerisinde protein sentezinde rol oynayan ribozomlar bulunmaktadır.

**2.2.1.3 Nukleus (Çekirdek)**

Bakterilerde organize bir çekirdek bulunmamaktadır. Çekirdek zarı ve çekirdekçik belirgin bir şekilde değildir. Genelde DNA’dan oluşmaktadır ve genetik bilgilerin aktarılmasında rol oynar. Çekirdek görevi yapan DNA stoplazma içerisinde dağınık bir şekilde bulunmaktadır. Bakterilerde kromozomal DNA’ya ilaveten kapalı dairesel şekilli çift sarmallı ekstra kromozomal DNA bulunmaktadır. Bu DNA sürekli olarak çoğalır ve plazmit adını almaktadır.

**2.2.2. Hücre Çeperi**

Kapsül ile protoplast arasında yer almaktadır. Hücre çeperi hücreye göründüğü şeklini verir (Şekil 4). Hücre çeperinin sertliği, kalınlığı ve kimyasal yapısına göre bakteriler gram (-) ve Gram (+) olarak ayrılmaktadırlar. Gram (+) bakterilerin hücre duvarının %50-90’nı peptidoglucan yani mucopeptid, glucoaminopeptid ve mureinden oluşmaktadır. Gram (-) bakterilerin hücre duvarı ise 3 katmandan oluşmaktadır. En üstte protein, fosfolipid ve lipopolisakkarit bulunmaktadır. Orta katman protein fosfolipid yapısındadır ve peptidoglucan oldukça ince yapıdadır. En içte ise iç membran bulunmaktadır. Bir Gram (-) bakterinin içteki stoplazmik membranı respirasyondan elektron transportunda ve besin alışverişinde rol oynamaktadır. Ortadaki periplasmik boşluk bakterinin metabolik kaynağıdır ve hücre duvarı materyallerinin biriktiği noktadır. En dıştaki zar genellikle besin alışverişinde, lipid metabolizmasında ve hücre duvarı yapısının korunmasında rol oynar.

(A). LPS, lipopolisakkarit; Lp, lipoprotein linkır molekülü, PI, fosfolipit; P, protein.

(B) Gram (+) bakteri yapısını gösterir. Peptidoglukan varlığı dikkat çekicidir.

**2.2.3. Kapsül**

Hücrenin en dışında bulunan yapışkan sıvılardan meydana gelen koruyucu bir tabakadır. Yapı olarak polisakkarit, polipeptid ve glycopeptid’den oluşmaktadır. Kapsül tüm bakterilerde bulunmamakla beraber fitopatojen bakterilerde kapsül bulunmaktadır. Bakteriler tarafından oluşturulan bu kapsüller bakterinin patojenisite faktörü olarak besin sağlamasında direkt olarak rol oynarken bakteriyi dış etkenlere karşı koruyarak veya bakterinin bitki tarafından tanınmasını engelleyerek indirekt fayda sağlamaktadır.

**2.2.4. Yüzey uzantıları**

Bakterilerde yüzey uzantıları olarak kamçı (flagella) ve phili denen yapılar bulunmaktadır (Şekil 5). Kamçı daha çok çubuk veya spiral şekilli bakterilerde bulunmaktadır. Hücre membranın altından çıkar. Bakterilerin hareket organıdır.

**Bakteriler kamçı durumlarına göre 2 gruba ayrılmaktadır.**

a) Monopolar

b) Bipolar

Bakteriler kamçının bulunup bulunmamasına ve kamçı bulunduranlarda kamçı sayısı ve bulunduğu yere göre farklı isimler alırlar. Hiç kamçı içermeyenler atrik, hücrenin bir ucunda yalnızca bir kamçı içerenler monotrik, birden fazla kamçı içerenler politrik, iki ucunda birer tane kamçı içerenler amfitrik, hücrenin her tarafında kamçı bulunduranlar ise peritrik olarak adlandırılmaktadır.

Diğer bir uzantı olan Phili (=fimbria) ise flagelladan daha ince yapıda olup hücrenin dokunma organı olarak görev yapmaktadır. Ayrıca bakterilerde patojenisite faktörü olarak ta rol oynamaktadır.

**2.2.5 Bakterilerde Spor Oluşumu**

Bazı bakteriler stoplazmaları içerisinde özel koşullara bağlı olarak spor adı verilen özel yapılar oluşturmaktadırlar. Endospor adı verilen bu sporların üremede hiçbir fonksiyonu bulunmamaktadır. Genellikle olumsuz koşullardan korunmak amacıyla oluşmaktadır. Spor oluşumu daha çok çubuk şekilli bakterilerde görülmektedir. Sporlar genellikle içinde oluştuğu bakteri hücresinden küçüktürler. Hücre içerisinde bulundukları yere göre 3 gruba ayrılmaktadır (Şekil 5).

- Spor bakteri hücresinin merkezinde oluşanlar central,

- Hücrenin uç kısmında oluşanlar terminal,

- Hücrenin yan kısmında düzensiz olarak oluşanlar lateral olarak isimlendirilir.

**2.3 Bakteri Hücresinin Kimyasal Yapısı**

Bir bakteri hücresinin ağırlığının %15-30’unu kuru madde, %75-80’nini su oluşturmaktadır. Kuru maddenin %2-3’ü inorganik madde, %35 ise organik maddeden oluşmaktadır.

**2.4 Bakterilerde Beslenme ve Üreme**

Bakterilerin katı maddeleri sindirecek organelleri bulunmamaktadır. Bu nedenle ortamda bulunan besin maddelerini hücrelerinin dışında parçalayıp, sindirdikten ve onları hücre içerisine geçebilecek erimiş maddeler haline çevirdikten sonra yararlanabilmektedir. Beslenmelerine göre bakteriler 2 ana gruba ayrılmaktadır.

**2.4.1. Ototrof Bakteriler:** Basit organik maddeler (NaCl, FeCL3, MgSO4, K12HPO4) ve atmosferdeki CO2 ile yaşamlarını sürdürürler. Organik maddeye gereksinim duymazlar. İki alt gruba ayrılırlar.

**2.4.1.1 Kemoototrof Bakteriler;** Gerekli enerjiyi inorganik maddelerin oksidasyonundan elde ederler.

**2.4.1.2 Fotoototrof Bakteriler;** Gerekli enerjiyi güneş enerjisinden elde ederler. Çok az bakteri bu gruptadır.

**2.4.2. Heterotrof Bakteriler**: Beslenmeleri için en az bir organik maddey ihtiyaç duyan bakterilerdir. Bu tip bakteriler 2 kısma ayrılırlar.

**2.4.2.1 Fotoheterotrof Bakteriler;** Enerjilerini gün ışığından alan bakterilerdir.

**2.4.2.2 Kemoheterotrof Bakteriler;** Gerekli enerjiyi kimyasal yollarla sağlayan bakterilerdir. Bakteriler içerisinde oldukça önemli yer tutarlar ve saprofit ve parazit olarak iki gruba ayrılırlar. Saprofit bakteriler; başka organizmaların artık ürünleri ve ölü kısımlarından yararlanarak yaşamlarının sürdürürler. Parazit bakteriler ise yüksek organizmaların canlı doku veya hücreleri içerisinde yaşamaya uyum sağlamış ve bulundukları organizmaya çeşitli zararlar veren bakterilerdir. Bu bakterilerde iki türlü parazitlik görülmektedir. Birincisi obligat parazitlik olup yaşayabilmek içim mutlaka canlı bir dokuya ihtiyaç duyarlar. Diğeri ise fakültatif parazit olarak adlandırılmaktadır ve bu bakteriler hem canlı hem de cansız ortamlarda yaşamlarını sürdürebilmektedir. Fitopatojen bakteriler bu gruba girmektedir.

**2.4.3 Bakterilerin Beslenme ve Üremesine Etki Eden Çevre Koşulları**

**2.4.3.1. Hidrojen iyonu konsantrasyonu (pH)** : Özellikle bitki patojeni bakteriler için önemlidir. Fitopatojen bakteriler için optimum pH 6,8-7,2 arasındadır. Ortamın pH’sı düşürülerek fungus yetiştirme ortamında bakterilerin gelişmesi engellenebilir.

**2.4.3.2. Sıcaklık:** Yüksek sıcaklık bakterilerin faaliyetlerini olumsuz yönde etkiler. Fitopatojen bakteriler genellikle 50-60ºC’de ölürler. Sıcaklık isteklerine göre bakteriler 3’e ayrılır ;

**2.4.3.2.1 Psikrofil Bakteriler:** 8-20ºC arasında gelişirler. Deniz ve toprakta yaşayan bakteriler bu gruptadır.

**2.4.3.2.2 Mezofil Bakteriler:** 20-45ºC arasında gelişirler. İnsan ve hayvanlarda hastalık yapanlar bu gruptadır. En iyi 36-37ºC’de ürerler. İnsan ve hayvanlarda hastalık yapanları 36-37ºC’ye adapte olmuşlardır. Bitkilerde hastalık oluşturan bakteriler de bu gruba girerler. Ancak sıcaklık isteği bakımından optimum 24-27ºC arasındadır.

**2.4.3.2.3 Termofil Bakteriler :** Bu gruba özellikle 50-60ºC arasında yaşayan bakteriler girer. Bu tip bakteriler genellikle sıcak kükürtlü su kaynaklarında ve kaplıcalarda bulunurlar. Özel protein yapısına ve enzimatik mekanizmaya sahiptirler.

**2.4.3.3 Oksijen:** Bakteriler oksijen isteklerine göre 4’e ayrılırlar.

**2.4.3.3.1 Aerob Bakteriler:** Havanın serbest oksijenini alırlar. Oksijen yokluğunda üreme ve beslenme faaliyetleri durur. Besiyeri ile dolu tüpün üst kısmında yoğunlaşırlar.

**2.4.3.3.2 Anaerob Bakteriler:** Oksijensiz ortamlarda yaşarlar. Tüpün alt kısmında yoğunlaşırlar.

**2.4.3.3.3 Fakültatif Anaerob Bakteriler:** Hem oksijenli, hem de oksijensiz ortamlarda beslenip üreyebilirler.

**2.4.3.3.4 Mikroaerofil Bakteriler:** Bu gruba giren bakteriler çok az hidrojen varlığında üremeye adapte olmuşlardır.

**2.4.3.4. Diğer Faktörler:** Ozmotik basınç, CO2 gibi faktörlerde bakterilerin üremesine etkilidirler.

**2.5 Bakterilerde Üreme**

Bakteriler nesillerini sürdürmek amacıyla kendilerine benzer yapı ve karakterde yeni hücreler oluştururlar. Bakteriler genelde aseksüel olarak ve daha çok bölünme suretiyle çoğalırlar. Bölünerek çoğalmada önce bakteri hücresinin boyu uzar. Bakterinin kromozomu 2 eşit parçaya bölünür. Orta kısma yakın yerde stoplazmik zar içe doğru katlanarak hücreyi ikiye ayırır. Daha sonra her hücre kendi duvarını oluşturarak ayrı ayrı hücrelere bölünür. Bakterilerde bölünme uygun koşullarda her 15-20 dakikada tekrarlanmaktadır. Bu bölünme 24 saat bu şekilde devam ettiğinde bir hücreden 1021 hücre oluşmaktadır. Normal koşullarda çevre şartları böyle bir çoğalmaya asla izin vermez.

**2.5.1 Bakterilerde Üreme Dönemleri**

Bakteriler uygun ortamlarda önce beslenmeye başlar. Belirli bir gelişme döneminden sonra bölünme suretiyle çoğalırlar. Bir bakteri kültür ortamı veya bitkiye inokule edildikten sonra bir süre sayı bakımından dormant kalır. Bu dormant sürenin uzunluğu organizmanın yapısına, çevreye, hücrenin yaşına ve sıcaklığa bağlıdır. Bu süreden sonra çoğalma başlar ve hücreler bir süre hızla çoğalarak büyür. Daha sonra çoğalma oranı azalır ve zamanla gelişme durur. Bu veriler zamana bağlı olarak koordinat sistemine yerleştirilirse tipik bir bakteriyel gelişme-zaman eğrisi elde edilir. Yaygın olarak zamana karşı bakteri sayısı yerine, bakteri sayısının logaritması işlenir. Böylece sayıların milyarlarla ifade edilmesi önlenir. Şekil 6’da de görüldüğü gibi gelişme eğrisi değişik safhalara ayrılır.

**ZAMAN**

**A-B Başlangıç, durgun faz :** Bu dönemde bakteriler yeni ortama uyma çabası içindedirler. Hücre sayıları sabittir.

**B-C Pozitif gelişme, hızlanma fazı :** Bu dönemde bakterilerin ortamdaki çoğalma hızı zamanla artmaktadır.

**C-D Logaritmik gelişme fazı :** Bu dönemde organizma başına çoğalma oranı sabittir.

**D-E Negatif gelişme, hızlanma fazı :** Bu dönemde organizma başına gelişme hızı düşmektedir, fakat çoğalma halen devam etmektedir.

**E-F Maksimum sabit faz :** Bu dönemde bakteri sayısında artış yoktur. Çoğalma hala sabittir.

**F-G Hızlanan ölüm fazı :** Bu dönemde birim zamanda ölen bakteri sayısı sürekli olarak artmaktadır.

**G-H Logaritmik ölüm fazı :** Bu dönemde hücrelerin ölüm oranı sabit kalır.

**3. FİTOPATOJEN BAKTERİLERİN SINIFLANDIRILMASI**

Bakterilerin sınıflandırılması esası iki önemli amaca yöneliktir. Bunlar

1. Tüm Dünya’da uluslararası kurumlarca kabul edilen bir taksonomi sisteminin kurulması, böylece bir patojenin her ülkede aynı isimde bilinmesi.

2. Farklı bölgelerde tespit edilen ve izole edilen bir bakteri türünün diğer bölgedekilere olan benzerlik veya farkının kolayca karşılaştırılması. Böylece ülkeler arası kavram kargaşasının kaldırılması sağlanmaktadır.

Bakteri sistematiğinin temel prensipleri ünlü bakteriyolog Bergey’in Sistematik Bakteriyoloji Kılavuzunda verilmiş olup tüm Dünya’da uygulanmaktadır. Bakterilerin resmi isimleri, taksonomik kriterleri uluslararası fitopatoloji topluluğu tarafından belirlenmektedir.

Fitopatojen bakterilerin sınıflandırılması 3 ana kategoride incelenir.

**a. Standart taksonomik sınıflar :** Bu sınıflandırmada bakteri, familya, cins, tür ve alt tür gibi kısımlara ayrılır. Burada genellikle bakterilerin biyokimyasal gelişme koşulları ve hücre morfolojisi gibi klasik mikrobiyolojik özellikler göz önünde tutulur.

**b. Patovar ve Race (ırk) kavramı :** Bu sınıflandırma patojen türünün bir alt basamağa ayrılması ile yapılır. Genellikle patojenin özelleştiği konukçuya bağlı olarak alt türe göre sınıflandırılır.

**c. Biotip :** Patovarda olduğu gibi bir türün, bir başka alt türünü oluşturur. Bu türler biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerine göre biotip, serolojik özelliklere göre serotip, spesifik bakteriyofajlara karşı gösterdikleri reaksiyonlara göre lysotip ve DNA protein analizlerine göre farklı alt türlere ayrılmaktadır.

**Standart taksonomik basamaklar :** Standart taksonomik sınıflandırmada bakteriler;

* **Kingdom (Alem) :** Prokaryote
* **Division (Bölüm):** Gracilicutes
* **Family (Familya):** Pseudomonaceae Genus (Cins)
* **Pseudomonas Species (Tür):** Pseudomonas syringae

Prokaryote alemi 4 bölüme ayrılır.

**Division I : Gracilicutes**

Bu bölüm genel olarak gram (-) bakterileri içerir. Hücre çeperleri oldukça kompleks yapıdadır. Hücre biçimleri küresel, oval, düz ya da kıvrık çubuk şeklindedir. Genel olarak ikiye bölünerek çoğalır, endospor oluşturmazlar. Anaerobik, aerobik ve fakültatif anaerobik olabilirler.

**Division II : Firmicutes**

Gram (+) hücre duvarına sahip bakterilerdir. İkiye bölünerek çoğalırlar, bazıları endospor oluşturur. Bazıları ise hif üzerinde spor oluşturabilmektedir. Küresel, çubuk, ipliksi şekilli olabilirler

**Division III : Tenericutes**

Bu bölümdeki bakteriler hücre duvarı içermezler. Genelde hareketsiz ve gram negatif tirler. Oldukça kompleks yapılı besi ortamlarında gelişebilirler. Parçalanarak, tomurcuklanarak ve bölünerek çoğalabilirler. Fitoplazma benzeri olabilirler.

**Division IV : Mendosicutes**

Filogenetik olarak en eski bölümdür. Gram(+) ya da gram (-) olabilirler. Spor oluşturmazlar. Küresel, çubuk, ipliksi olabilirler.

**3.1. Önemli Bakteri Bölümleri**

Division I : Gracilicutes (15-17 Seksiyon)

4. Seksiyon : gram (-), çubuk, anaerob

Familya 1: Pseudomonadaceae

Genus: 1. Pseudomonas

**2. Xanthomonas**

Familya 3 : Rhizobiaceae

Genus: Agrobacterium

5. Seksiyon : gram (-), çubuk, anaerob

Familya 1: Enterobacteriaceae

Genus : Erwinia

**Division II : Firmicutes**

13. Seksiyon : gram (+), çubuk veya coccus, endospor oluşturur

Familya 1: Bacillaceae

Genus: 1. Bacillus

2. Clastridium

29. Seksiyon :

Familya : Streptomyceae

Genus : Streptomyces

**Division III : Tenericutes**

10. Seksiyon : Mycoplasma’lar

Familya 1: Mycoplasmataceae

Genus: Mycoplasma

Familya 3 : Spiroplasmataceae

Genus: Spiroplasma

**Division IV : Mendesicutes**

Bu bölümde tarım açısından önemli bir tür yoktur.

**3.2. Pathovar ve Irk (race) kavramları**

Bazı patojenik bakteriler oldukça geniş konukçu dizilimine sahiptir. Bu türler morfolojik olarak birbirlerinden ayırt edilemezler. Bu nedenle bazı bakteri türleri belirli konukçular üzerinde hastalık oluşturmalarına göre alt türlere ayrılmıştır.

Patovarlar genellikle bir bitki üzerinde hastalık yaparken, bazıları bir ya da birkaç bitki üzerinde de hastalık oluşturabilmektedir. Örneğin; Pseudomonas syringae oldukça geniş bir konukçu dizilimine sahip bir bakteri türüdür. P. syringae’nin fasulye üzerinde hastalık yapan etmeni P.s. pv. phaseolicola olarak bilinir, pv. tabaci yalnızca 2 farklı konukçu bitkide (Glycinia, Nicotiana) hastalık oluşturmaktadır. Bunun yanında pv. syringae oldukça farklı konukçu bitkilerde (tahıllarda, fasulyegillerde, odunsu süs bitkilerinde ve meyve ağaçlarında) hastalık yapabilmektedir. Pathovar kavramı genel olarak 5 fitopatojenik bakteri cinsinden, 8 farklı türde belirlenmiştir.

Bakterilerde pathovar kavramının yanı sıra birde ırk (race) kavramı vardır. Irk, pathovarların bir bitki türünün farklı çeşitlerinde farklı reaksiyonlara (dayanıklılık veya hastalık) neden olan alt birimleri olarak tarif edilir. Her ne kadar bakteri ırkları yalnızca bir konukçunun farklı çeşitlerini etkilese de bazı bakteriyel ırklar oldukça geniş konukçu dizilimine sahiptir. Örneğin; P. solonacearum’un bugüne kadar 3 tane ırkı tespit edilmiştir. Irk I (race I) Solonaceae familyasına bağlı ürünlerde hastalık oluştururken, ırk II (race II) muzda, ırk III (race III) ise patates ve domateste hastalık oluşturabilmektedir.

**3.3. Biotype’ler**

Fitopatojenik bakteri türleri patojenik olarak patovarlara veya ırklara ayrılırken bazı türler ve patovarlar coğrafik dağılımlarına, biyokimyasal özelliklerine, serolojik özelliklerine ve fajlara bağlı olarak alt gruplara ayrılır. Örneğin; X. c. pv. citri birçok ülkede turunçgillerde kanser hastalığına sebep olur. Bu tür, coğrafik dağılımına, konukçu dizilimine, simptomlarına, genetik özelliklerine ve fajlara duyarlılığına bağlı olarak 4 ana gruba ayrılır.

Grup a: Asya kökenli turunçgil kanserine sebep olur. Oldukça geniş konukçu dizilimine sahiptir.

Grup b: Güney Amerika’da sadece limonlar üzerinde etkilidir. Grup c: Meksika Lime üzerinde etkilidir.

Grup d: Sadece Florida’da bulunur.

3.4. Fitopatojen Bakteri Türlerinin Genel Özellikleri

1. Bilinen 1600 bakteriden 250 kadarı fitopatojen bakteridir. Fitopatojen bakteri sayısı, insan ve hayvanlarda hastalık oluşturan bakteri sayısından daha azdır.

2. Nötr veya hafif alkali ortamlarda gelişirler. En uygun pH 6,8-7,2 arasındadır.

3. Pek az sayıda bakteri hem insanda hem de bitkide hastalık oluşturur. Örneğin bir bitki patojeni olan Agrobacterium tumefaciens bazı hayvanlarda tümör oluşumuna neden olmaktadır.

4. Fitopatojen bakterilerin büyük çoğunluğu çubuk şeklindedir.

5. Bacillus ve Clostridium cinsleri dışında bitki patojeni bakteriler spor oluşturmazlar.

6. Fitopatojen bakterilerin çoğunluğu hareketli kamçılara sahiptir.

7. Çoğu yapay besi ortamında gelişir.

8. Büyük bir bölümü aerobiktir, bazıları fakültatif anaerob olabilir. Örneğin; Erwinia amylovora.

9. Çoğu gram (-)’tir. Bunun yanında Clavibacter, Curtobacterium, Rhodococcus, Streptomyces, Bacillus, Clostridium gram (+)’tir.

10. Gelişmeleri 5-10 ºC’de başlar. 25-30 ºC’de optimum gelişme, 33-40 ºC’de üreme çok az olur, 50 ºC ve yukarısında ise ölüm meydana gelir.

11. Çoğunlukla hücreler arasında ve iletim demetlerinde yaşar, hücre içine girmezler.

**3.5. Önemli Fitopatojen Bakteri Cinslerinin Özellikleri**

1. **Agrobacterium**: Çubuk şeklinde olup gram(-)’tirler. Genelde kök bölgesi ve toprakta yaşarlar. Köklerde, kök boğazında ve kök üstü organlarda urlar oluştururlar. Kolonileri pigmentsiz ve düzdür. Bu tür bakteriler diğer bakterilerden farklı olarak konukçu bitki hücresinde Ti (Tumor inducing) plasmid’in sayesinde aşırı hücre bölünmesine neden olarak infeksiyon noktalarında tümör (ur) oluşumuna neden olurlar. Bu plasmid aktarımı nedeniyle saprofit karakterde patojen olmayan ırkları bitkilerden bitkiye istenilen özellikteki gen aktarılmasında kullanılır.

**2. Clavibacter**: Düz veya hafif eğilmiş çubuk şeklindedir. Gram (+)’tirler.

**3. Erwinia:** Düzgün çubuk şeklindedirler. Peritrik kamçılarıyla hareket ederler. Fakültatif anaerob grubundadırlar. Genelde nekrotik lekelere ve solgunluğa sebep olurlar. Bazı Erwinia’lar güçlü bir pektolitik seviyesine sahip olup bitkilerde yumuşak çürüklüklere sebep olurlar.

**4. Pseudomonas:** Düz veya çubuk şeklindedirler. Bazı türleri toprak ve tatlı sularda yaşar, çoğu bitkilerde hastalık oluşturur. Bazı pseudomonas türleri düşük Fe içeren besi ortamlarında sarımsı yeşil ve ortama yayılabilir pigment oluştururlar. Bu bakterilere floressent pseudumonadlar denir. Örneğin; P. s. pv. phaseolicola.

**5. Xanthomonas:** Düzgün çubuk şeklinde olup, besi yerinde genelde sarı koloniler oluştururlar. Çoğu türler yavaş gelişir. Tüm türleri bitki patojenidir.

**6. Streptomyces:** Actinomyset olarak bilinen gruba dahildir. Bakteri hücreleri ince uzun dallanmış hif şeklindedir. Olgunlaştıkça havai miselyum oluşturur, besiyerinde başlangıçta düzgün yüzeyli olan koloniler daha sonra tozlu veya kadifemsi gibi görünen havai miselyum ağıyla kaplanır. Çoğu tür değişik renkte pigment oluşturur, birçok bakteri, fungus ve protozoa’ya karşı aktif olan bir veya daha fazla antibiyotik oluşturur.

**7. Clostridium:** Çubuk şeklindedirler ve endospor oluştururlar.

**8. Bacillius:** Clostridiumlar gibi endospor oluştururlar, çubuk şeklindedirler.

**9. Rhizobium:** Nodül oluşumuna neden olan bakterilerdir.

**4. FİTOPATOJEN BAKTERİLERİN İZOLASYONU VE TANIMLAMASI**

Bitkilerde genellikle farklı organizmalar tarafından benzer simptomlar oluşturabilmektedir. Bu yüzden etmenin doğrudan tanımlanması çok zordur. Fitopatojen bakterilerin tanımlanması funguslara göre daha zordur. Hastalıklı bitki materyalinden bakteri izolasyonunda (Şekil 8) izlenen yollar şunlardır;

**4.1. Hastalıklı bitki örneğinin alınması ve korunması**: Alınan bitki örneğinde görülen tüm belirtiler doğru olarak kaydedilmelidir.

- Örnek yeni hastalık belirtisi gösteren taze kısımlardan alınmalıdır. Kuru kısımlardan izolasyon çok zordur. Hastalık meyve ve yapraklarda görülürse her ikisinden de örnek alınmalıdır.

- Toplanan örnekten hemen izolasyon yapılmayacaksa örnekler kağıt veya polietilen torbalar içerisine konulmalı varsa soğutucular içerisinde korunmalıdır. Örnekler mümkün olduğunca nemli ortamlarda saklanmamalı, çamurlu ve kirli örnekler suyla yıkanmalıdır. Laboratuvara getirilen örnekler;

a) +3 ºC’de polietilen torbalarda buzdolabında

b) Oda sıcaklığında kurutularak

c) Derin dondurucuda dondurularak

d) Preslenip kurutularak

e) Taze olarak bazı kimyasal maddeler içerisinde saklanırlar.

**4.2. Hastalıklı bitki örneğinin mikroskopta incelenmesi:** Bitkilerde görülen hastalıkların teşhisinde mikroskobik incelemeler yeterli değildir. Mikroskopta inceleme bakterinin hastalıklı örnek üzerinde oluşturmuş olduğu eksudattan alınarak direkt bakterinin incelenmesiyle yapılabilir. Eksudat oluşturmayan örnekler nemli ortama konarak eksudat oluşumuna teşvik ettirilir ve daha sonra mikroskopta incelenir. Ayrıca hastalıklı materyal su içerisinde ezilerek bitki özsuyunda bakterinin varlığı tespit edilebilir.

**4.3. İzolasyon:** hastalıklı bitkilerden bakteri izolasyonu etmenin hastalık oluşturduğu bitki kısmına veya materyale bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Bakteri izolasyonunda (yapraktan, eksudattan ve yumuşak çürüklüklerden) yüzey sterilazyonu pek tavsiye edilmez. Ancak bazı durumlarda yüzey sterilizasyonu gerekebilmektedir. Bu durumda dokular %0.5’lik veya 1/10 oranında sulandırılmış sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) çözeltisinde 2 dakika bekletilir, daha sonra steril su ile yıkanır. İzolasyonlar çeşitli şekillerde yapılır;

**4.3.1 Bakteriyel sızıntıdan izolasyon:** Genellikle Agrobacterium dışında çoğu fitopatojen bakteriler uygun sıcaklık ve nemin bulunduğu ortamlarda hastalığı oluşturduğu organ üzerinde sızıntı oluşturur. Bakteriler bu tür sızıntılardan steril bistüri veya jiletle alınarak içerisinde 2-3ml. Steril su veya fosfat tamponlu tuz yada sulandırılmış besi yeri bulunan tüplere konur. Örnek tipine bağlı olarak solüsyon içerisinde 30-60 dakika bekletilir, solüsyona geçen bakteri öze ile alınarak katı besi yerine aktarılır.

**4.3.2 Petriye doğrudan izolasyon:** Hastalıklı kısımdan küçük bir parça alınır, gerekirse iki dakika yüzeysel sterilizasyon yapılır, daha sonra steril su ile yıkanır. Buradan da petrideki katı besi yerine konur. Üzerine bir damla steril su damlatılır, 15-20 dakika bekletilir ve öze ile bu su damlacığı petri içerisine yayılır.

**4.3.3 Yapraktan izolasyon:** Hastalıklı yaprağın dış yüzeyi iyice temizlenir. Yaprak üzerinde hastalıklı ve hastalıksız kısmı içeren bir bölge steril jiletle kesilir. Gerekiyorsa 2 dakika yüzey sterilizasyonu yapılıp steril su ile yıkanır. Kesilen parça porselen veya cam havan içerisinde steril su ile iyice ezilerek süspansiyon hale getirilir. Daha sonra bu süspansiyon öze ile alınarak petrilere çizgi ekim yapılır.

**4.3.4 Odunsu kısım ve saptan izolasyon:** Sap kısmı yumuşak olan hastalıklı örneklerde, sap kısmından kesit alınarak yüzey sterilizasyonu yapılır. Sap hafifce sıkılarak çıkan özsu doğrudan besi yerine değdirilir, daha sonra öze ile yayılarak ekim yapılır. Alternatif olarak sap kısmı yumuşak olan örneklerde steril sivri uçlu iğne dokuya batırılır ve besi yerine çizgi ekimi yapılır.

**4.3.5 Topraktan izolasyon:** Topraktan yapılacak izolasyonda ilk dikkat edilecek nokta toprak örneğinin iyi seçilmesidir. Toprak örneği alınırken şu özelliklere dikkat edilmelidir;

•Toprak nem bakımından orta derecede olmalıdır.

•Fazla yaşlı ve kurak mevsimlerde örnek alınmamalıdır.

•Örnekler arazinin değişik yerlerinden, 5-20 cm derinlikten alınmalıdır.

•Toprak alımında kullanılan malzemeler temiz olmalıdır.

Bu şekilde alınan topraklar oda sıcaklığında kurutulup 2 mm’lik eleklerden geçirilir. Hazırlanan toprak örneğinden 10 gr alınır ve içerisinde 90 ml steril su bulunan kaplara konur. Daha sonra 30 dakika çalkalayıcıda bekletilir. Bu süspansiyondan 1ml alınarak içerisinde 9 ml steril su bulunan tüplere aktarılır. Bu şekilde 5-6 kez seyreltme yapılır ve 5. veya 6. seyreltmelerden alınan 200 µl besi yerine ekim yapılır.

**4.3.6 Çürüklüklerden izolasyon:** Çürük bitki kısımlarından bakteri izolasyonu çok zordur. Çünkü çürüyen kısımlarda saprofitler patojenden daha çabuk çoğalır. Patateslerde yumuşak çürüklük yapan Erwinia caratovora pv. caratovora’nın izolasyonunda da eğer yumrular aşırı çürük değilse sağlıklı dokuyla çürüyen kısmın kenarına yakın yerden 0,5 gr doku parçası alınır ve içerisinde 9 mm su bulunan tüplere konularak izolasyon yapılır. Eğer yumrular çok bulaşıksa izolasyon 2 kademede yapılır. Öncelikle hastalıklı kısımdan alınan etmen sağlam patates dokusuna inokule edilir. Daha sonra hastalıklı dokuda gelişen etmen süspansiyon haline getirilerek besi yerine ekilir. İnokulasyondan önce patates yumruları asidik cıva klorür içerisinde 15 dakika bekletilir, daha sonra patatesler %70’lik alkolle yıkanır ve kurutulur. Bu işlemden sonra yüzeyleri bisturi ile çizilir ve bakteri inokulasyonu yapılır.

**4.3.7 Tümörden izolasyon:** İzolasyon için genç tümörler seçilmelidir. bu tümörlerden değişik yöntemlerle izolasyon yapılır.

•Genç tümörler musluk suyuyla yıkanır. %0,5’lik Sodyum hipoklorit içerisinde 5 dakika bekletilir, steril su ile çalkalanır ve kurutma kağıtları arasında kurutulur. Daha sonra steril havanda iyice ezilir. Üzerine steril su eklenerek süspansiyon haline getirilir ve bu süspansiyondan alınarak besi yerine çizgi ekim yapılır.

•Steril edilip kurutulan örnekler lam üzerine konur ve üzerine 1 damla su ilave edilerek 2-3 saat bekletilir. Bu süspansiyonlar alınarak besi yerine ekim yapılır.

•Genç tümörler yıkanıp steril edildikten sonra içerisinde 2-3mm steril su bulunan tüplere konur, 30 dakika bekletilir ve oluşan süspansiyondan alınarak besi yerine ekilir.

**4.4 Fitopatojen bakterilerin saflaştırılması**

Değişik yöntemlerle izole edilen bakteriler petrilere ekim yapıldıktan sonra bakteri türlerine göre değişmekle birlikte genelde 24-25ºC’deki inkübatörlere konurlar. Petrilerdeki koloni gelişmesi her gün kontrol edilir. Bakterilerin petrilerdeki gelişme hızları arasındaki farklılıklar teşhiste kullanılabilir. Çoğu bakteriler 2-3 gün içerisinde koloni oluşturmaya başlar. Saprofit bakteriler, bitki patojeni bakterilerden daha çabuk gelişir. Bazı bakteriler (Xanthomonas ampeline) izolasyondan 4-14 gün sonra koloni oluşturur. İzolasyondan sonra gelişen bakterilerden saf kültür elde etmek oldukça önemlidir. Tek bir bakteriden elde edilen kültüre saf kültür denir. En çok kullanılan saflaştırma yöntemi çizgi ekimi yöntemidir. Eğer kültür devamlı karışık çıkıyorsa bu kültürden süspansiyon hazırlanır, birkaç kez seyreltilerek petrilere ekim yapılır (Şekil 8). Saflaştırılan kültürler tüplerde bulunan eğik agarlara aşılanır, bakteri geliştikten sonra +3ºC’de buzdolabında saklanır.

**4.5 Bakteriyel Hücre ve Koloni Morfolojisi**

Canlı bakteriyel hücrelerin mikroskop altında incelenmesi kesin teşhis için yeterli olmasa da önemlidir. Bunlara ilaveten değişik metotlar uygulanarak bakterilerin hücre morfolojisi (gram boyama, hareketleri) ve koloni morfolojisi teşhiste yardımcı olabilir. Bakterilerin hücre ve koloni morfolojilerinin incelenmesinde şu yöntemler kullanılır;

**4.5.1. Asılı damla yöntemi:** Bu yöntemde bakterilerin hareketlilik durumları gözlenir. Bir günlük besi yerinde gelişen bakteriler steril su içerisinde süspanse edilir. Bu süspansiyondan bir damla alınarak çukur lam üzerine konur ve lamel ile kapatılır. Mikroskop altında bakterilerin hareketlilik durumu incelenir.

**4.5.2. Gram boyama:** bakterilerin tanımında en çok kullanılan yöntemlerden biri olup ilk defa 1800’lü yıllarda Gram isimli bir araştırıcı tarafından bulunmuştur. Gram boyama bakterilerin hücre çeperi yapısına göre iki gruba ayrılır. Boyamaya pozitif cevap verenler Gram(+), negatif cevap verenler ise Gram (-) olarak adlandırılır. Gram boyamada 3 farklı solüsyon kullanılmaktadır.

-Kristal violet ( 2gr. Kristal violet 20ml. Etil alkol içerisinde çözülür).

-Lugol solüsyonu ( 1gr. iyot+2gr. potasyum iyodür+300ml. saf su )

-Safranin ( 0,25gr. safranin 100ml. %95’lik etil alkol içerisinde çözündürülür, daha sonra steril su ile 1/10 oranında karıştırılır )

Gram boyamada önce bakteriler lam üzerine fikse edilir. Bunun için lam üzerine bir damla steril su damlatılır ve bir gün önceden besi yerine aşılanan bakteriden öze ile alınarak bu su damlası içerisinde iyice karıştırılır ve lam üzerine yayılır. Daha sonra lam 2-3 kez alevden geçirilerek bakterilerin lama fikse edilmesi sağlanır. İkinci aşamada kurutulan bakteriler üzerine 1 damla kristal viole solüsyonu damlatılır ve 1 dakika beklenir. Boya çeşme suyuyla yıkandıktan sonra üzerine lugol solüsyonu konur ve 1 dakika beklendikten sonra tekrar çeşme suyuyla yıkanır. Lamlar 30sn. %95’lik alkol içerisinde bekletilir ve tekrar su ile yıkanır. Son olarak lam üzerine safranin konur lamlar yıkanıp kurutulur ve mikroskop altında incelenir. Gram (+) bakteriler mavi renkte iken gram(-) bakteriler ise pembe-kırmızı renkte görülürler.

**4.5.3. Bakterilerde kamçı boyama:**

İlk aşamada bakteriler uygun besi yerinde geliştirilir. Daha sonra buradan alınan bakteri kültürü steril su içerisinde süspanse edilir. Alkol ile temizlenmiş bir lam üzerine süspansiyondan 1 damla konarak oda sıcaklığında kurutulur. Boyama işleminde iki farklı solüsyon kullanılır.

a. Tannic asit solüsyonu (5gr. tannic asit+1.5gr ferric chlorid+%15’lik 2ml formalin+ 1lt NaOH)

b) %2’lik amonyaklı gümüş nitrat

Hazırlanan preparat üzerine I. solüsyondan bir damla konur, 2-4 dakika beklenir ve saf su ile yıkanır. Daha sonra II. Solüsyondan damlatılır 30 sn beklenir ve saf su ile yıkanır. Preparat kurutulur ve mikroskopta incelenir.

**4.6. Bakterilerin koloni morfolojileri**

Tek bir bakterinin steril besi yerinde üremesiyle oluşan bakteri grubuna bakteri kolonisi denir. Bakteri kolonileri renk, biçim, kenar yapıları ve diğer özellikleri yönünden cins ve türlere göre değişiklik gösterirler.

Bakterilerde koloni renkleri oldukça farklı olup daha çok beyaz, bej, krem, sarı ve camsı görünüştedirler. Fitopatojenik bakterilerin morfolojik karakterleri genellikle biçim bakımından düz, kabarık, konveks veya kubbeli, kenarları düz ve renk olarak camsı, beyaz, bej, krem veya açık sarı renktedir. Bazı bakteri türleri oldukça farklı gelişme gösterir

**4.7. Fitopatojenik bakterilerin in vitro koşullarda teşhisleri**

Bitki patojeni bakterilerin laboratuar koşullarında teşhislerinde birçok test uygulanmaktadır. Bunlar özel gelişme ortamları, metabolik ve fizyolojik karakterler, bakteriye özgü özel kimyasalların tespiti, faj testleri, seroloji ve moleküler testlerden oluşmaktadır.

Özel gelişme ortamları İki ana kategoriye ayrılırlar.

- Ayrıştırma ortamı. Bakterilerin koloni özelliklerine göre ayrıldığı ortamlardır.

- Seçici ortamlar. Gelişmesi istenen bakterilerin ihtiyaç duyduğu besin maddelerini içeren fakat diğer organizmaların gelişmesini desteklemeyen ortamlardır.

Ayrıştırma ortamında besi yerinin içeriğine bağlı olarak üzerinde gelişen bakteri oldukça farklı koloniler oluşturur. Nutrient agar veya Yeast pepton agar (YPA) birçok bakterinin gelişebilmesi için uygun bir ortamdır. Erwinia amylovora ve Pseudomonas syringae aynı ortamda bulunmalarına rağmen bu besi yerlerine ekilerek koloni morfolojileri bakımından birbirlerinden ayırt edilebilirler.

Seçici ortamlar; seçici veya yarı seçici olarak iki gruba ayrılırlar. Bu ortamlarda yalnızca hedef alınan patojenler gelişirken diğer organizmalar gelişemez. Örneğin; King B ortamı fluoresans madde üreten Pseudomonas’lar için seçici bir ortamdır (Şekil 11). Bu ortam üzerinde gelişen bakteriler UV ışık altında parlama gösterirken Xanthomonas’lar herhangi bir parlama göstermezler. YPA ortamına 50gr sakkaroz, 2ml kristal violet ilave edildiğinde gram (+) bakteriler gelişemezler. Bu ortama 10ml. cycloheximide ilave edildiğinde fungus gelişimi engellenir.

**4.8. Bakterilerin Biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi**

Fitopatojenik bakterilerin morfolojik özelliklerine bakılarak teşhisi oldukça zordur. Bakterilerin tanımlanmasında biyokimyasal özellikler çok önemlidir. Fitopatojen bakterilerin tanımlanmasında birçok bir çok biyokimyasal test uygulanmaktadır

**5. PATOJENİSİTE TESTLERİ**

**5.1. Hastalık belirti tipleri ve patojenisite testi uygulamaları**

Bakterilerin morfolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri saptandıktan sonra saflaştırılan izolatların patolojik özellikleri belirlenmelidir. Genel olarak bakteriler funguslar gibi bitki kutikulasını eriten maddeler salgılamadıkları için bitkilere direkt olarak giremezler. Bakteriler bitki içerisine girdikten sonra hücrelerarası alanlarda veya iletim demetlerinde çoğalır ve bitkilerde tipik veya atipik belirtiler oluştururlar. Tipik belirtiler suni inokulasyonlar sonucu oluşan ve doğadakine uygun belirtilerdir. Atipik belirtiler ise inokulasyon noktasında veya hemen onun çevresinde oluşan ve çabuk gelişen belirtilerdir. Yapay inokulasyonlar genellikle aşağıdaki durumlar için yapılır.

**5.1.1.Patojenisite için bakterilerin test edilmesi amacıyla**

a) Hastalıklı bitkiden izole edilen ve bilinmeyen bakterinin patojenisitesinin tespit edilmesi için.

b) Patofizyolojik çalışmalar için virülens faktörlerin tespitinde

c) Bakteriyel ırkların tespitinde

d) Genetik mutasyona uğrayanların patojenisite ve virülensliklerinin belirlenmesinde

**5.1.2. Bitkilerin hastalığa karşı dayanıklılıklarının tespiti**

a) Bakteri türlerinin konukçularının tespitinde

b) Bitkilerin dayanıklılığının tespitinde

c) Bakterisitlerin testlenmesinde

d) Bitkilerin savunma mekanizmalarının belirlenmesinde

e) Epidemiyolojik çalışmalarda

**5.2 Başarılı bir inokulasyon için gerekli koşullar**

Başarılı bir inokulasyon için 3 faktör önemlidir.

- Virülent bir patojen

- Hassas bitki

- Çevre koşulları

Bitkilere inokulasyon sonucunda tipik olmayan hastalık belirtilerin ortaya çıkma sebepleri;

1. Hazırlanan bakteri süspansiyonunun yoğunluğunun fazla olması

2. Normalde duyarlı olan bitkinin uygun fenolojik durumda olmaması (çok yaşlı veya genç olması)

3. İnokulasyon yönteminin uygun olmaması

4. Patojenin virülensliğini kaybetmesi

**5.3. Bakteri süspansiyonunun hazırlanması ve inokulum yoğunluğunun ölçülmesi**

**5.3.1. Bakteri süspansiyonunun hazırlanması:** İnokulasyonda kullanılacak bakteri kültürleri saf ve taze (24-48 saatlik) olmalıdır. İnokulasyonda kullanılacak kültürlerin önce petrilere çizgi ekimi yapılır. Ekinden 24-48 saat sonra gelişen tek kolonilerden örnek alınarak sıvı besi ortamına aktarılır ve çalkalayıcı inkübatörde 1-2 gün geliştirilir. Gelişen bakteri kültürleri santrifüjden geçirilerek hücrelerin çökmesi sağlanır ve üst kısımdaki besi yeri uzaklaştırılır. Dibe çöken bakteri hücreleri 10mM MgCL2 ,MgSO4 veya steril saf su içerisinde süspanse edilir.

**5.3.2 İnokulum yoğunluğunun ölçülmesi:** İnokulasyonda kullanılacak süspansiyonun yoğunluğu 3 farklı şekilde ölçülür.

**5.3.2.1 Türbidimetrik ölçümler:** İki farklı şekilde yapılır.

**5.3.2.1.1 Mc. Farland skalası kullanılarak:** %1’lik BaCl2 ve %’lik H2SO4 çözeltileri ayrı ayrı hazırlanır ve bu iki çözelti değişik oranlarda karıştırılarak elde edilen bulanıklık derecesine göre süspansiyonun yoğunluğu tahmin edilir.

**5.3.2.1.1 Fotoelektronik ölçümler (spektrofotometre ile yapılan ölçümler):** Bu ölçüm şeklinde hazırlanan bakteri süspansiyonu doğrudan spektrofotometre yardımıyla 600-640 nm dalga boyunda okuma yapılarak yoğunluğu belirlenir. Rutin olarak çalışmalar yapılan laboratuarlarda farklı absorbans değerleri doğrudan petrilere ekim yapılarak ortaya çıkan koloni sayısına göre bir skala oluşturur. Daha sonra bu değerler müteakip çalışmlarda referans olarak kullanılır. Niteki Pseudomonas syringae pv. tomato, phaseolicola, syringae gibi etmenlerle yapılan çalışmalarda 620 nm dalga boyunda 0.12 absorbans değerinin gerçekte 108 cfu/ml konsantrasyonuna eşit olduğu bildirilmiştir. CFU’nun anlamı mililitrede koloni oluşturan birim (colony forming unit) olarak bilinir.

**5.3.2.2 Petride koloni sayım yöntemi** Bu yöntemle hazırlanan bakteri süspansiyonunda bulunan canlı bakteri sayısı belirlenir. Yöntemin uygulanışı şu şekildedir; 1 veya 2 günlük bakteri kültürlerinden erlenlere bakteri süspansiyonu hazırlanır ve veya infekteli dokular direkt olarak su içerisinde süspanse edilir ve hazırlanan ilk süspansiyondan alınan örnek 1/1 ve katları şeklinde sulandırılarak petrilere belirli miktarlarda konur ve gelişmeye bırakılır. 2-3 gün sonra petrilerde gelişen koloniler sayılır ve ml’deki hücre sayısı aşağıdaki formül ile hazırlanır. Koloni sayısı x seyreltme oranı x alınan miktar = ml’deki bakteri sayısı

Alınan miktar µl ise ml çevrilir ve o değer yazılır. Örneğin 100 µl= 10 ile, 200 µl=5 ile; 500 µl=2 ile çarpılırki ml değeri bulunsun. Eğer değer 1 ml’den fazla ise (2 ml, 3 ml, veya 2000 µl=2 ml, 5000µl=5 ml) o zaman Koloni sayısı x seyreltme oranı sayısı alınan miktara bölünür. Yani 2000 µl (veya diğer değişle 2 ml) ise bu kez (Koloni sayısı x seyreltme oranı)/2 olarak hesaplanır.

**Örnek:** 5 kez sulandırılan tüpten 400 µl alınan süspansiyon petriye yayıldığında 500 bakteri kolonisi geliştiğine göre bu süspansiyonun başlangıç konsantrasyonunu bulmak için:

500 x 105 x 2.5 = 1250x105 cfu/ml olarak hesaplanır. (400 µl değeri 2.5 ile çarpılır ki 1000µl yani 1 ml olsun diye).

**5.3.2.3 Bakteri hücrelerinin direkt sayımı**. Bu yöntem özel hazırlanmış lam ve lamel ile yapılır. Kullanılan lamda her birinin içinde 16 küçük kare bulunan büyük kareler bulunur. Bakteri süspansiyonu %2’lik formaldehit solüsyonu bulunan %0,85’lik sodyum klorür içerisinde hazırlanır. Hazırlanan süspansiyon özel bir pipetle lam üzerine aktarılır ve daha sonra bu lam x40 büyültmede incelenerek belirli miktarda kareye denk gelen bakteriler sayılır ve hacimleri hesaplanarak ml’deki bakteri sayısı belirlenir.

**5.4 Tütünde aşırı duyarlılık testi** (Hypersensitive reaction=HR)

Hastalıklı bitki materyalinden izolasyonda fitopatojen bakterilerin yanında birçok saprofit bakteride izole edilebilmektedir. İzole edilen bakterilerin saprofit mi yoksa patojen mi olup olmadığı tütünde aşırı duyarlılık testi ile belirlenir. Bu amaçla 24-48 saatlik bakteri kültürlerinden steril saf su ile bakteri süspansiyonu hazırlanır ve süspansiyondan şırınga ile alınarak iyi gelişmiş tütün yapraklarının iki damar arsına injekte edilir (Şekil 13). Bu işlem uygulanırken iğnenin düz yüzeyi aşağı doğru olacak şekilde tutularak bitkiye injekte edilir. Tütünde aşırı duyarlılık testi yapılırken şu kurallara dikkat edilmelidir;

1. Yaprakları iyi gelişmiş, her türlü böcekten ari ve hassas tütün bitkileri kullanılmalıdır. Genç yapraklara injeksiyon oldukça zordur.

2. İnjeksiyon genelde iki damar arasına bir bakteri ırkı gelecek şekilde yapılmalıdır. Diğer bir ırk inokule edilirken bir damar arası boş bırakılmalıdır.

3. İnjeksiyon koparılmış ve zedelenmiş yapraklara yapılmamalıdır.

4. İnjeksiyondan sonra Pseudomonas cinsleri için bitkilerin oda sıcaklığında (20-24ºC) bırakılması yeterlidir. Ancak Xanthomonas cinslerinde bitkilerin inokulasyondan önce 18ºC’de, inokulasyondan sonra ise 30-38ºC’de bırakılmaları gerekmektedir.

5. Bir yaprağa birden çok bakteri inokule edilebilir. İnokule edilen bölgede ıslaklık kaybolmadan burası bir kalemle belirlenmelidir.

6. Eğer bitkiye verilen bakteri fitopatojen ise ve tütünde zararlı değilse injekte edilen bölgede 6-24 saat içerisinde genellikle nekrotik belirtiler oluşur. Saprofit bakteriler bu belirtilere neden olmazlar ancak uzun süreli beklemelerde bu bölgelerde hafif sararmalar görülebilir.

**5.5. Bakteriyel Etmenlerin Konukçu Bitkilere İnokulasyon yöntemleri**

Fitopatojen bakteriler değişik bitki organlarında değişik hastalık belirtileri oluştururlar. Bu belirtilere ve oluştuğu organlara göre bakteriler farklı yöntemlerle bitkilere inokule edilir. Bunlar;

**5.5.1 Yaprak leke hastalıkları:** bu hastalığa karşı püskürtme, yüksek basınç püskürtücüleri ile doku infiltrasyonu, şırıngayla doku infiltrasyonu, yaprak yüzeyini ovalama şeklindeki inokulasyon yöntemleri kullanılır. Bunlar içerisinde en çok kullanılan yöntem yüksek basınç püskürtücüleri (Harborg Cihazı) ile doku infiltrasyonu ve şırıngayla doku infiltrasyonudur (Örneğin Pseudomonas syringae pv. tomato)

**5.5.2. Kanser ve geriye ölüm hastalıkları:** bu hastalıklara karşı yaralama, budama, sürgün ve meyve dokusunu iğneleme ve gövdeye injekte etme gibi yöntemlerle inokulasyon yapılır (örneğin Agrobacterium tumefaciens).

**5.5.3. Solgunluk hastalıkları:** Bu tür hastalılara karşı gövde üzerine iğneleme, kırılan yada kesilen petioller üzerine bakteri süspansiyonun damlatılması veya bitki köklerinin bakteri süspansiyonuna daldırılması yöntemleri uygulanır (Clavibacter michiganensis).

**5.5.4. Yumuşak çürüklükler:** Bu hastalıklarda bitkinin etli kısımlarına iğneleme, kesik yüzeyler üzerine bakteri süspansiyonun damlatılması veya şırınga ile doku içerisine verilerek inokulasyon yapılır (Örneğin Erwinia caratovora)

**6. BAKTERİYOFAJLAR**

Bakteriyofajlar canlı bakteri hücresine girerek burada çoğalabilen ve hücreyi eritebilen virüslerdir. Bunlar bakterilerle mücadelede etkili bir silah olabilirler. Bakteriyofajlar basit yapıları, konukçu bakterilerine özgün ilişkileri, üreme ve çoğalmalarının kolay ve ucuz olması nedeniyle: (1) moleküler genetik çalışmalarında, (2) konukçu-parazit ilişkilerinin incelenmesinde, (3) bakteriyel etmenlerin tanımlanmasında ve (4) bakteriyel etmenlerle biyolojik mücadele gibi birçok araştırmada kullanılmaktadır.

Baş kısmı bir paket halinde, nükleik asit molekülleriyle bunları saran bir protein kılıf ve zardan oluşmuştur. Bazılarında kuyruk üzerinde bir kılıf taban kısmı ve bunlara bağlı kuyruk iplikçikleri bulunur. Bir bakteriyofajın bakteri içinde çoğalması 3 aşamada gerçekleşir.

1. Fajın başındaki nükleik asitin bakteri hücresini infeksiyonu ve aktarılması.

2. Hücre içinde büyüme ve virüs parçacıklarının beslenmesi: Bu dönemde bakteriyel hücrenin çoğalması önlenmekte ve bakteri hücreleri yavaş yavaş şişmektedir. Bakteri hücresinde faj parçacıklarının yapısını oluşturan protein ve nükleik asit sentezlenmeye başlar.

3. Bakterinin erimesi ve yeni oluşan bakteriyofaj parçacıklarının bakteri hücresinden ayrılması: Bakteri hücresinde çoğalan fajlar bakteri hücresini öldürerek bakteri hücre çeperini parçalayıp serbest kalır.

**6.1. Faj-konukçu bakteri ilişkisi**

Bakteriyofajla konukçu bakteri arasında iki türlü ilişki gözlenir.

**6.1.1. Litik ilişki:** Litik ilişkide tipik olarak bakteriyofaj bakteri hücresine girerek çoğalır ve bakteri hücresini eriterek tekrar ortama salınır. Beş gelişim dönemi vardır;

a) Fajın bakteriye absorbe olması

b) Bakteri hücresine giriş

c) Fajın bakteri hücresinde gelişmesi

d) Bakteri hücresinde olgunlaşması

e) Bakteri hücresinin erimesi ve yeni oluşan fajların serbest kalması

**6.1.2. Lizojenik ilişki:** Bazı fajlar infekte ettikleri bakterileri eritmezler. Bu tip fajlar bakteri hücresiyle lizojeni denen ortak bir yaşam sürdürürler. Böyle ilişkide bakterinin hayatsal faaliyetleri etkilenmez. Faj DNA’sı bakteri DNA’sı ile aynı zamanda çoğalır ve sonuçta yeni bakteri kuşakları oluşturulur. Bu tip bakterilere “lizojenik bakteri”, bu bakterinin taşıdığı fajlarada “profaj” denir.

**7. FİTOPATOJEN BAKTERİLERİN BİTKİYE GİRİŞ YOLLARI**

Bakteriler bitkilere aktif olarak kendi çabalarıyla giremezler. Bitkiye girişte bakteri türü, bitkinin konumu, taşıdığı özellikler ve çevre koşulları çok önemli unsurlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda belli başlı bakteri türleri ile bitkiye giriş yolları Tablo 3 de verilmiştir. Bitkiye giriş 2 ana grup altında gerçekleşir;

1. Yaralardan pasif olarak gerçekleşmektedir.

2. Stoma, lentisel, hidatod, çiçekler ve nektar deliği gibi Doğal açıklıklar yolu ile aktif olarak

Yaprak yüzeyinin ıslaklığı, birim alandaki stoma sayısı, stomaların açıklık süresi ve bitkinin yaşı gibi faktörler bakterinin doku içerisine girişinde önemlidir. Çiçeklerden dokuya giriş dişicik tepesi veya çiçek tablası (örnek, Erwinia amylovora) içinden olur. Ayrıca çanak yapraklardaki stomalardan da giriş olabilmektedir. Bitki gövdeleri ve patates yumrularındaki genç lentiseller yumuşak çürüklük hastalığı etmenleri (örnek, Erwinia caratovora) girişi için önemli açıklıklardır. İletim demeti hastalıklarında (örnek, Clavibacter michiganensis) ise giriş hidatodlardan olmaktadır (Şekil 15).

**1. Yaralardan Giriş**

Yaralar bitkinin toprak üstü veya toprak altı bölümlerinde bulunur ve bakteriler buralardan bitkiye giriş yapar. Bu iki sebebin yanında hayvanlar, fiziksel çevre ile ilgili faktörler veya kültürel uygulamalar sırasında oluşan yaralanmalarda girişi etkiler. Birinci durumda hayvanlar patojenler için vektör olabilirler. Gözle görülür geçiş yaraların son kısımlarından gerçekleşir. Cüce ağustos böceği ile ksilem ve floemde prokaryotların sınırlı yayılması, internal bölgede çoğalan patojenin direk yayılmasına iyi bir örnektir. Patojenik bakterilerin bitkiye girişinde, birtakım faktörler etkili olabilir. Bu faktörler rüzgar, sert fırtınalar, soğuk zararıdır.

**2. Don Hasarı**

Don hasarı, ılıman bölgelerde hem dokular içerisinde hem de bitki yüzeyinde etkili olarak, bakteriyel enfeksiyonda temel bir etken haline gelir.

İç donmanın potansiyel önemi Agrobacterium tumefaciens tarafından asma enfeksiyonu üzerindeki etkisi ile tanımlanır. Bu, bilhassa ilkbahar donlarında, odunsu doku damarlarındaki suyun, donması sonucu damar desteleri koptuğunda ve bunları çevreleyen çok sayıda parenkima hücreleri yaralandığında ciddi boyutta olur. Bakteri hücreleri, yılın o zamanında ortaya çıkan güçlü kök baskısı nedeniyle yaralanma bölgelerine (ve potansiyel enfeksiyon), odunsu dokular içerisinde sonradan büyük gruplar halinde taşınır.

Don yaralanmaları, özellikle bakteriyel patojenlerin, buz kristalleşmesi (INA+ bakteri) bölgesi olarak etkili oldukları bitki yüzeyine, bakteri girişinde de önemlidir. Bu durum, epifitik, INA+ bakteri varlığında donma şartları altında yüksek hastalık oranı (veya yüksek hastalık şiddeti) ile belirtilmiş ve Xanthomonas campestris pv.translucens’in (Azad ve Schaad,1988) neden olduğu,buğday karapası dahil birtakım yaprak hastalıkları olarak ortaya çıkmıştır. Buğday yaprağı yüzeyinden izole edilmiş bu bakteri bağları olumlu buz kristalleşmesi faaliyeti göstermiş ve INA+ bakteri serpilen, buğday bitkileri, kontrol bitkilerine göre don hasarına daha fazla dayanmışlardır. Saha gözlemleri de, hastalık yaralarının, dona maruz kalmamış bitkilerden ziyade, dona maruz kalanlarda daha hızlı geliştiklerini ve hem don hasarı hem de hastalık şiddetinin, don dönemi esnasında yaprak yüzeylerinde var olan patojenik INA+ bakterisi sayısı ile doğrudan ilgili olduğunu göstermiştir. Don hasarının karapas hastalığının gelişiminde etkili olmamasına rağmen, yukardaki deney ve saha gözlemleri don hasarının önemli bir yardımcı faktör olduğunu ortaya koyar. Bu, daha sonra, bahar buğdayında ve yüksek rakımlı yerlerde yetişen ürünlerde hastalık oranının artması ile desteklenmiştir. Buz oluşumu da, Pseudomonas syringae pv.syringae’nin sebep olduğu armut çiçeği çıkması gibi yapraksı hastalık olmayan bazı hastalıklarda önemlidir. Whitesides ve Spots’un (1991) INA+ bakteri kullanarak yaptığı deneysel çalışmalar, aşılamanın yer aldığı çevre sıcaklığını azaltma çalışmasının, donma sırasında enfeksiyonda bir artışla neticelendiğini ortaya koymuştur. Bu durum, ekzotermik bir ısı oluşumu ve buz oluşumunun geçiş noktasındaki küçük bir ısı yükselişi ile belirtilmiştir.

INA+ patojenik bakterinin don yaralanmalarını ve hastalık oluşumunu artırıcı direk etkisi göz önünde bulundurularak, hastalık tespitinde bakteri popülasyonunu görüntülemek için yapılan buz kristalleşmesi testlerinin kullanımı bilhassa uygun gibi görünmektedir. Bununla paralel olarak, Hirano ve arkadaşları (1987), hastalık tespiti için fasülye yapraklarında INA+ Pseudomonas syringae pv.syringae popülasyonlarını belirlemek için yapılan tüp nucleation (çekirdek) testini başarılı bir şekilde kullanmışlardır. Aynı zamanda bu testi, Pseudomonas syringae pv.coronafaciens’in neden olduğu yulaflardaki ışık küfü (mantarı) oranını tahmin etmek içinde kullanmışlardır.

**3. Doğal açıklıklardan giriş**

Stoma (ağızdan), hidatotlar, lentiseller, nektar ve enter’in (çiçeklerde ercik baş) yarılıp açılan bölgeleri gibi doğal açıklıklardan patojenik bakteri girişi, normal şartlar altında bakteriler, epidermise (bitki kabuğunun dış zarı) (epidermin dış tabakası ile) doğrudan geçemedikleri için bir çok bitki hastalığının başlangıcında önemlidir. Bazı durumlarda (örnek stoma, lentisel), giriş yolu, birçok değişik patojen tipi tarafından geniş ölçüde kullanılırken, diğerlerinde (örnek: hidatod enfeksiyonu, çiçek yüzeyleri) daha özeldir ve belirli bakteriler ile sınırlıdır.

**3.1. Stoma**

Stomaların genellikle, patojenlerin yaprak yüzeyinin normal sakinleri olduğu ve muhtemelen yağmur damlacıkları yoluyla veya kendi hareketleri ile girdikleri yaprak hastalıklarının indüksiyonunda özellikle önemli oldukları düşünülür.

Yaprak beneklenmesine yol açan, Xanthomonas campestris pv. vesicatoria’nın neden olduğu domates enfeksiyonu, bunun ortaya çıkabileceği iyi bir örnek teşkil eder. Stomal girişin potansiyel önemi, hastalık oluşumu ile stomal açılma, yaprak yüzeyindeki stoma sıklığı ve düzeni gibi stomal faktörlerin dağılımı arsındaki ilişkiyi inceleyerek araştırılabilir. Bu faktörlerin bazılarının normal şartlar altında zor tesbitine rağmen, labaratuarda kontrollü bir şekilde yüksek basınçlı püskürtme inokulasyon yöntemi ile deneysel olarak araştırılabilir. Bu yaklaşımı kullanarak, Ramos ve Volin (1987), domatesteki patojen girişinin ve hastalık oluşumunun doğrudan şunlarla ilgili olduğunu ispatlayabilmişlerdir:

1. Stomaların açılma. Azaltılmış enfeksiyonla sonuçlanan, fizyolojik (bitkileri karanlıkta 4 saat aşılamadan önce) veya kimyasal stomal kapanma uygulanmıştır.

2. Stomaların sıklık. Farklı Lycopersicon türleri, melezler ve üreyen cinslerin stomal sıklıkta geniş bir çeşitlilikle birlikte serpilme enfeksiyonuna dayanıklılıklarında nispeten değiştikleri görülmüştür.

**3.2. Lentiseller**

Lentiseller, peridermin gelişimi sırasında stomadan türetilir. Odunsu gövdeler ve bazı yer altı organlara bakteriyel girişin önemli bir bölgesini temsil ederler. Mesela, patateste, bunlar Erwinia caratovora oluşumu ve ıslak, oksijensiz şartlarda patojen enfeksiyonu için temel bölgelerdir. (Perombelon & Lowe,1975). Bu durumlarda, su, lentisellerin açılmasına neden olarak emilir ve oksijen eksikliği, korteksin içine lentisellerden sürekli bir sulu safha başlatan parenkima hücrelerinden hücresel sıvıların bırakılmasına yol açar. Kök yüzeyindeki lentisellerde bulunan bakteriler, daha sonra yumuşak kök gelişimi ile patatesin içine doğru göç edebilirler.

Toprak çevresinde, genellikle lentiseller gibi doğal açılmalar ve gelişmiş çatlakla, (yan köklerin ortaya çıkması ile meydana gelen) Xanthomonas campestris pv.oryzeae (Bakteriyel pirinç mantarına sebep olan) gibi rizosfer (kök) patojenleri için enfeksiyonların önemli yerleridir.

**3.3. Hidatodlar**

Konukçu bitkilerin hidatodlar yoluyla işgali, damar demetlerinin doğrudan enfeksiyonuna neden olur ve patojenin odunsu dokuya göç edebilmesinde özellikle etkili olur. Bu giriş için ve Erwinia amylovora’nın tam etkili yayılması için bir yoldur. Aynı zamanda bakteriyel küflenme ve öncelikli damar patojeninin kararsız etkeni olan Xanthomonas campestris pv.oryzae’nın (Guo&Leach,1989) neden olduğu pirinç enfeksiyonunda da önemlidir. Pirinçte, 10-15 adet hidatod her yaprağın ucuna yakın bir yerde bulunur ve her bir hidatodun 10-20 adet su gözeneği vardır (Şekil 15). Bu su gözenekleri, filogenetik olarak türetilen yaprak stomasından 2-4 kat daha büyüktür. Bakteri su gözeneğine girdiğinde, parenkima dokusunda (epithem) çoğalır ve sonradan damar geçişi ile odunsu doku kanallarını işgal eder.

**3.4. Çiçek Enfeksiyonu, Bakteri girişinin özel yolları**

Çiçekler, epifitik gelişim ve dal yanığı (Pseudomanos syringae pv.syringae) ve rosaceae (gülgillerden) yanığı (Erwinia amylovora) gibi belirli özel hastalıklardaki enfeksiyon için kısa süreli bir yer sunar.

**8. FİTOPATOJEN BAKTERİLERİN OLUŞTURDUĞU TİPİK HASTALIK BELİRTİLERİ**

Herhangi bir şekilde bitki dokusuna giren bakteriler bitkilerde genellikle altı farklı belirtiye neden olurlar

**I. Yaprak leke hastalıkları:** P. s. pv. phaseolicola, P. s. pv. tabaci, P. s. pv. lachrymans, P. s. pv. pisi, P. s. pv. glycinia, X. c. pv. phaseolicola, X. c. pv. malvacearum, X. c. pv. vesicatoria gibi bakteriler bitkilerde yaprak lekelerine neden olmaktadır. Bu tip hastalık etmenleri belirtilerini genellikle yapraklar üzerinde oluştururlar. İlk belirtiler ıslaklık şeklinde olup zamanla bu ıslak alanlar kuruyarak nekrotik bir hal alır (Şekil 17).

**II. Kanser ve geriye ölüm hastalıkları:** P. s. pv. syringae ve E. amylovora. Her iki etmende belirtilerini sürgün, dal, çiçek ve meyve üzerinde oluşturur (Şekil 18). Hastalık sonucu yaprak sürgün ve dallarda ateşe tutulmuş gibi yanıklıklar ve kurumalar görülür.

**III. Solgunluk hastalıkları:** Pseudomonas solanacearum, X. c. pv. campestris, E. trachephila, Corynobacterium sepedonicum, C. michiganense subs. michiganense. Hastalık etmeni bakteriler iletim demetlerinde gelişmesi sonucu bitkilerde solgunluk ve kurumalar görülür (Şekil 19).

**IV. Yumuşak çürüklükler:** Erwinia caratovora, Pseudomonas marginalis, E. caratovora pv. atroseptica. Bu etmenler daha çok bitkilerin yumru ve meyveleri üzerinde belirtiler oluştururlar (Şekil 20). Salgıladıkları hücre duvarını yıkan enzimler sayesinde dokuların yumuşayıp çürümesine neden olurlar. Daha çok yaralanmış dokulardan, böcek deliklerinden, veya bizzat böcekle konukçulara giriş yaparlar. Daha çok tohum ve toprak kökenli etmenlerdir

**V. Tümör hastalıkları:** Agrobacterium tumefaciens, A. rhizogenesis. P. s. pv. savastonia. Bu tür hastalık etmenleri daha çok kök, kök boğazı, gövde ve yan dallarda belirti oluştururlar. Bu bakterilerin salgılamış oldukları hormonlar ile bitkilerde aşırı hücre bölünmelerine bunun sonucunda da farklılaşmış (ur, gal) yapılara neden olurlar (Şekil 21). Bu etmenlerden A. tumefaciens genelde kök ve kök boğazında. P. s. pv. savastonia dallar üzerinde urlara sebep olurken, A. rhizogenesis saçak köklülüğe neden olur. Diğer bir tür olan Agrobacterium vitis ise bağlarda kök ve kökboğazında oluşturduğu urların yanında dallarda da urlara neden olur.

**VI. Uyuz hastalığı:** Streptomyces scabies. Genelde yumrulu bitkilerde üzeri çatlak nekrotik lekelere neden olur. Hastalık etmeni toprakta saprofit olarak yaşar, sporlara benzeyen hücreler fungus sporu gibi çimlenerek yara ve lentisel dokulardan yumrulara geçer ve burada tipik hastalık belirtilerini oluşturur (Şekil 22).

**9. BAKTERİYEL HASTALIK ETMENLERİNİN HASTALIK OLUŞTURMADA KULLANDIĞI PATOJENİSİTE (=VİRÜLENSLİK) FAKTÖRLERİ**

Bakteriyel etmenlerde patojenisite (=virülenslik) deyimi hastalık oluşturabilme kabiliyetinde olan etmenin bu hastalığı oluştururken kullandığı kimyasal faktörler olarak tarif edilir. Farklı hastalık gruplarını (solgunluk, yaprak lekesi, yumuşak çürüklük ve kanser/ur) oluşturan bakteriyel hastalık etmenleri konukçu bitkilerinde bu tip belirtileri oluşturmada farklı patojenisite faktörleri kullanırlar. Bunlar:

**1.Toksinler:** Genellikle yaprak leke, sararma ve hale oluşturan bakteri türlerinin kullandığı patojenite faktörleridir. Örneğin domates bakteriyel benek hastalık etmeni P.s. pv. tomato coronatine isimli, P.s. pv. tabaci tabtoksin isimli, P.s. pv. phaseolicola phaseolitoksin isimli toksinler sayesinde yapraklarda benek, leke ve hale (sarı renk açılımı) oluşumuna neden olan toksinlerdir.

**2.Ekstraselüler polisakkaritler (EPS):** Birçok hastalık etmeninin hücreler arasında çoğalırken oluşturduğu mukoid yapıda bileşikler olup, bakteri hücresini gerek olumsuz çevre koşullarından (sıcak, soğuk) gerekse bitkinin tepki olarak salgıladığı antibakteriyal bileşiklerden (fitoaleksin, enzim) korur. Ayrıca EPS bakteri hücresinin hücre duvarına temasını keserek hücrenin patojeni tanımasını engeller. EPS ayrıca hücre içindeki su ve besin maddesini hücrelerarası boşluğa sünger gibi çekerek bakteri hücresinin besine ulaşmasını sağlayarak bölünüp çoğalmasına neden olur. Ayrıca EPS bakteri hücresinin oluşturduğu toksin ve enzimlerin daha uzak noktalara taşınmasında da rol oynar.

**3.Enzimler:** Daha çok yumuşak çürüklük etmenleri tarafından salgılanan bu bileşikler sayesinde bitki hücre duvarı yıkılarak hücre içinde bulunan besin maddelerin bakteri bünyesine alınarak bakterinin çoğalmasına neden olur. Bu enzimlerin başında pektinaz, hemilaz, selülaz gibi enzimler en fazla kullanılan patojen enzimleridir.

**4.Hormanlar:** Daha cok bakteriyel kanser ve urlar oluşturan bakteriler tarafından salgılanır. Örneğin Agrobacterium tumafaciens, P.s. pv. savastanoi bitki hücrelerine gerek kendi üreterek gerekse bitki hücresine sentezleterek bitkilerin hücrelerinin aşırı bölünmesine dolayısıyla ur ve gal oluşumuna neden olur. Bu hormonların başında IAA, GA, Auxin gibi hormonlar örnek olarak verilebilir.

**10. BAKTERİLERİN BİTKİYE BULAŞMA YOLLAR**

Bakteriler bitkiye 5 farklı yol ile bulaşır.

**10.1. Tohum ile bulaşma:** En önemli bulaşma yollarından biridir. Tohum ile bulaşan önemli patojenler arasında domates bakteriyel solgunluğu (P. s. pv. michiganense), domates bakteriyel benek hastalığı (P. s. pv.tomato), domates bakteriyel leke (X. c. pv. vesicatoria), fasulye hale yanıklığı (P. s. pv.phaseolicola), bezelyede yanıklık (P. s. pv. pisi) ve mısır bakteriyel solgunluğu (E. stewartii) örnek olarak verilebilir.

**10.2. Hastalıklı fide ve fidan ile bulaşma:** Fitopatojen bakterilerin çoğu toprak kaynaklıdır. Bulaşık toprak üzerinde yetiştirilen fide veya fidanların başka bölgelere taşınması ile hastalık yayılmaktadır. Örneğin A. tumefaciens bulaşık fidanlar ile geniş alanlara taşınabilmektedir

**10.3. Böcekler ve hayvanlarla taşınma:** Fitopatojen bakterilerin çoğu nemli ortamlarda eksudat denen bir sızıntı oluştururlar. Bu sızıntı içerisindeki bakteriler böcek ve hayvanlar ile bir bitkiden diğerine taşınırlar (Tablo 3). Vektörler; patojen alımı, patojenin hayatta kalması, konukçu bitki üzerine aşılama ve yaralardan bakteri girişi ve saldırısı için yapılan hazırlıkları içeren bir çok özel yöntemle hastalığın taşınması aşamasında bulunurlar. Bütün bu faktörler belirli bir hastalık için önemli olabilir. Örneğin; Erwinia amylovora baharın başlarında eksudat üreten ”kanser” (enfeksiyonlu ağaçların dalları ve gövdeleri) lerde kışı geçirir. Aphidler ve Hemipthera’yı içeren çeşitli böcekler bakteriyi çiçeklere aktarır ve saldırır, bu enfeksiyonda ikincil inokulma yol açar. Çiçekler bahar aylarındaki inokulum artışının temel sahasını ve enfeksiyon alanını temsil ederler. Çiçekten çiçeğe aktarma çoğunlukla arılar tarafından yapılır. Arılar bakteriyi stigma üzerindeki ana epifitik nüfusundan, diğer bahar çiçeklerinin nektarına (enfeksiyonun ana alanı) hemde antherlerine taşırlar (Şekil 4). Enfeksiyonlu çiçekler çiçeğin içinden saldırma yoluyla yada çiçeklerden sürgünlere ikincil böcek aktarımıyla, sürgün enfeksiyonuna yol açarlar. Sürgün enfeksiyonu, pislikle beslenen böcekler tarafından zarar gören doku yoluyla da – Lygus lineolaris böceği veya Aphis pomi gibi bitkisel enfeksiyona katkıda bulunur. Erwinia amylovora’nın böcekle taşıması, bakterinin birkaç gün hayatta kalmayı başarabileceği vektör yüzeyine yapışmasıyla ortaya çıkar.

**10.4. Rüzgar, yağmur ve sulama suyuyla taşınma:** Bu faktörler gerek hastalık etmeninin bir yerden başka bir yere taşınmasında, gerekse bitkiler üzerine açtıkları yaralar ile bakterilerin girişine katkıda bulunurlar. Sulama suyu özellikle toprak kökenli bakterilerin yayılmasında önemlidir.

**10.5. Alet ve ekipman ile taşınma:** Bazı bakteriyel hastalıklar budama makası, aşı bıçağı gibi aletler üzerinde bir yerden başka bir yere taşınabilmektedir. E. amylovora aşı bıçağı üzerinde 100 gün canlı kalabilmektedir.

**11. BAKTERİYEL HASTALIKLARLA MÜCADELE YOLLARI**

Kültür bitkilerinin ekim alanlarını kısıtlayarak, verim ve kalitesini etkilemede sıcaklık, yağış, toprak yapısı gibi abiyotik ile viral, bakteriyel ve fungal hastalık etmenleri gibi biyotik faktörler önemli bir yer tutarlar. Xanthomonas, Pseudomonas, Clavibacter, Agrobacterium, Erwinia, Streptomyces gibi önemli bakteriyel cinslere dahil olan çeşitli hastalık etmenleri birçok sebze, meyve, tarla ürünleri gibi bitkilerde önemli kayıplara neden olurlar (Smith ve ark., 1988). Dünyada bitki üretimini kısıtlayan biyotik faktörlerden olan bakteriyel hastalık etmenleriyle mücadele genellikle 4 ana kategoride yapılır:

**1- KİMYASAL MÜCADELE**

**2-ALTERNATİF MÜCADELE**

A-Biyolojik Mücadele

B-Dayanıklılığın Teşviki

C-Bitkisel Kökenli Preparatların Kullanımı

**3-DAYANIKLI ÇEŞİT ISLAHI**

**4-SANİTASYON İŞLEMLERİ**

Bitki bakteriyel hasatlık etmenleri ile mücadelede yukarda gösterilen dört farklı yöntemlerden biriyle veya bu mücadele yollarının birlikte kullanılmasıyla başarılı sonuçlar alınabilir.

**1- KİMYASAL MÜCADELE**

Bakteriyel hastalık etmenleriyle kimyasal mücadelede kullanılan bileşikler 2 ana sınıfa ayrılır;

**A)Bakterisitler** (Sentetik organik ve inorganik bileşikler)

**B)Antibiyotikler** (Doğal mikroorganizmalardan elde edilen ürünler)

**A) Bakterisitler**

Bakterilere karşı kullanılan bakterisitler 3 ana kategoriye ayrılır;

**a.Sentetik Bakterisitler**

**b.İnorganik Bileşikler**

**c.Toprakta Nitrifikasyon Engelleyiciler**

Günümüzde kullanılan bakterisitler Çizelge 1’de kimyasal yapılarına ve etkili olduğu fitopatojen bakterilere göre verilmiştir (Sekizawa & Wakabayashi,1990). Kullanılan bu bakterisitler ya tohum uygulaması (Ör: bronopol pamuk tohumlarına toz formülasyonda uygulanır.) ya da genel şekilde (yaprak yüzeyine püskürtme veya sulama suyuna) uygulanır. Bu bakterisitlerin in vitro ve in vivo testlemeleri sonucunda, inorganik bakterisitler ile bronopol’ün gerek in vitro da gerek in vivo da oldukça kuvvetli etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Diğer bakterisitlerden phenazine mono-oxide’nin çok düşük, probenazole ve tecloftalam’ın ise hiç in vitro etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir. İn vitro etkinliği bulunmayan bu bileşiklerin (probenazole ve tecloftalam) bitkiye doğrudan uygulandığında (in vivo) oldukça etkili olduğu görülmüştür.

Bakterisitler antimikrobiyal etkinliğini değişik yollarla gösterirler. İnorganik bakterisitlerden doğrudan toksik etkiye sahip olan Cu+2 bakteri ölümlerine sebep olarak çoğalmalarını engeller. Cu+2 uygulanmış bakteri hücrelerinde yapılan X-ray mikroanaliz yöntemleri sonucunda hücre yüzeyinde toksik etkinin oluştuğu, bakteri hücresinden dışarıya K+ iyonu çıkar iken bakteri hücresi içerisine Ca+2 ve Cu+2 iyonlarının giriş yaptığı belirlenmiştir (Hodson ve Sigee 1991). İn vitro da etkili olmayan bakterisitlerin muhtemelen uygulandığı bitkinin biyokimyasal metabolizmasını değiştirerek bakteri için uygun olmayan bir ortam yaratmak suretiyle bakteri gelişimini engellediği düşünülmektedir. Örneğin probenazole’nin konukçu bitki patojen taşınmasını olumsuz yönde değiştirerek hassas bitkiyi dayanıklı bitki haline çevirdiği bildirilmiştir (Sekizawa ve Wakabayashi,1990).

**B) Antibiyotikler**

Dünyada kullanılan antibiyotik sayısının sınırlı sayıda olması nedeniyle antibiyotiklerin fitopatojen bakterilere karşı kullanım oranı dünya genelinde oldukça sınırlıdır.

**Antibiyotikler nasıl etkili olur- Etki Mekanizmaları:**

1. Bakterilerin hücre duvarlarını oluşturmalarını engeller (Penicilin, Bacitracin, Vancomycin)

2. Bakterilerde bulunan ribosomların (30s, 50s) subunit’lere bağlanarak protein sentezini engellerler (Tetracyclines, Aminoglycosides, Chloramphenicol, Macrolides, Erythromycin, Clindamycin)

3. DNA sentezlenmesinde görev yapan bir enzimin (DNA gyrase) çalışmasını engelleyerek DNA sentezine engel olur (Quinolones)

4. DNA-bağımlı RNA polymerase enzimini engelleyerek bakteri hücrelerinde RNA sentezini engellerler. RNA lar bakteri hücresinde protein oluşturmakla görevli amino asitlerdir (Rifampicin)

Antibiyotikler genellikle aşağıda gösterildiği gibi iki amaca hitap edecek şekilde kullanılır;

1-Odunsu bitkilerin gövdesine mikoplazma benzeri organizmaları (MBO) kontrol altına almak için injekte edilerek kullanılır.

2-Bitki yüzeyine birçok yaprak patojenini kontrol altına almak için püskürtme şeklinde kullanılır.

Odunsu bitkilerde kullanılan antibiyotiklerden olan oxytetracycline-HCI bitkiye ya injeksiyon ile yada dokuya doğal difüzyon ile verilir. Bu bileşik hindistan cevizi lethal sarılık, şeftali X-hastalığı ve armut geriye ölüm gibi MBO hastalıklarına karşı etkilidir. Ağaçlar genellikle yılda bir kez hasattan sonra yaprak dökümü öncesindeki aralıkta ilaçlanır. Yaprak patojeni bakteriyal hastalıklarına karşı ise en fazla streptomycin sülfat kullanılır iken oxytetracycline ve kasugamycin gibi antibiyotiklerde kullanılmaktadır. Bu antibiyotiklerden streptomycin Erwinia amylovora’ya karşı ABD’de oldukça yaygın olarak kullanılmakla beraber bakteriyal etmenin bu bileşiğe karşı dayanıklılık geliştirmesi önemli bir sorun olarak ortaya çıkmıştır. Kullanılan antibiyotikte maksimum etkinin sağlanması için uygulamanın rüzgarsız ortamda, yüksek nemde yapılması, bileşiğin içerisine yayıcı yapıştırıcı bileşiklerin eklenmesi gerekir. Antibiyotiklerin bitki yüzeyinde oldukça kısa süre kalması nedeniyle (dokuya kolayca difüze olmaması ve yağmurlarla yıkanması) yetiştirme periyodu boyunca birden fazla uygulamanın yapılması gerekir.

Her ne kadar bakteriyel hastalık etmenleri ile mücadelede kimyasal mücadele önemli yeri tutsa da, son yıllarda çiftçilerin birim alanda hasatlıklara karşı yoğun ve yüksek dozlarda kimyasal ilaç kullanılması a) bu ilaçların etkinliğinin azalmasına, b) kullanıldığı patojenin ilaçlara karşı dayanıklılık geliştirmesine neden olmuştur. Böylece ilaç tüketimi gereksiz miktarda artarken, patojenin dayanıklılık göstermesi nedeni ile ilaçtan beklenen etkinliklerde de düşüşler gözlenmiştir. Kimyasal ilaçların bu olumsuz yönü yanı sıra, gelişen dünyada bilinçlenen tüketicilerin hazır gıda ürünlerinde ilaç kalıntılarına dikkat etmesi, organik tarım ürünlerine olan talepleri, c) ilaçların çevreye olan olumsuz etkiler nedeniyle bilim adamları son yıllarda hastalıkla mücadelede kimyasal mücadeleye alternatif olabilecek yeni mücadele yollarını araştırmaya başlamışlardır. Son yıllarda ilaçlı mücadeleye alternatif olabilecek mücadele yolları aşağıda özetlenmiştir.

**2-ALTERNATİF MÜCADELE YÖNTEMLERİ**

Bitki bakteriyel hastalık etmenleri ile alternatif mücadele yöntemleri 3 ana kategoride incelenebilir. Bunlar saprofit karakterli antagonist bakaterilerin kullanıldığı biyolojik mücadele; sentetik ve doğal kimyasallar kullanılarak bitkilerde dayanıklılığın teşvik edilmesi ve doğal olarak yetişen ve uçucu yağlara sahip olan bitkilerden elde edilen bitkisel kökenli preparatların kullanılması.

**A. Biyolojik Mücadele**

Hastalıklarla alternatif mücadele yollarından biri olan biyolojik mücadele, günümüzde oldukça rağbet görmekte olup, birçok bitki hastalık etmenine karşı çoğunlukla fungal kökenli biyolojik preparatlar geliştirilerek başarılı bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (Paulitz ve Belanger, 2001). Biyolojik preparat geliştirmenin en önemli adımlarından biri antagonistik potansiyele sahip mikroorganizmaların doğadan izolasyonu ve bunların patojen gelişimi üzerine olan etkinliğinin araştırılmasıdır. Bitki kök bölgesi (rizosfer) besin açışından zengin olması nedeniyle antagonistik potansiyele sahip fungal ve bakteriyel kökenli birçok mikroorganizmaya konukçuluk etmektedir. Buralardan izole edilen bakteriler antagonist veya bitki gelişimini teşvik eden kökbakterileri (=rizobakteriler) (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, PGPRs) olarak da adlandırılır. Bunlardan özellikle floresan Pseudomonas ve Bacillus spp. dahil antagonist bakteri türleri, toprak ve yaprak kökenli birçok bitki patojeni hastalık etmenlerine karşı oldukça etkili olduğu yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda ortaya konulmuştur. Bu tip antagonist veya PGPR özellikteki bakteriler patojen gelişimini engellemede genellikle (i) antibiosis (antibiosis), (ii) siderofor (siderophore) üretimi, (iii) karbon kaynağı açısından besin rekabeti (nutrient competition) (iv) bitkide dayanıklılığın teşvik edilmesi (induced of systemic acquired resistance) gibi bir takım mekanizmalara sahip olduğu ve bu mekanizmaları kullanarak hastalık gelişimlerini engelledikleri bildirilmektedir.

**B.Bitkilerde Dayanıklılığın Teşvik Edilmesi**

Bitkilerde hastalıklara karşı dayanıklılık biyotik ve abiyotik faktörlerle teşvik edilebilir. Biyotik faktör olarak bitkilerin normal virülent bir patojenin zayıf veya avirülent ırkı ile muamele edilmesiyle teşvik edilebilir. Yapılan birçok çalışmada yaprak kökenli fungal etmenlerin ve bazı bitkilerin konukçusu olmayan zayıf virüs ırklarıyla muamele edilmesi sonucu tütün, hıyar, domates, soya fasulyesi, Arabidiopsis gibi birçok bitkinin fitopatojen bakteri ve fungal hastalık etmenlerine dayanıklılığını teşvik ettiği bildirilmiştir. Biyotik faktörlerle farklı bitkilerde teşvik edilen dayanıklılık hedef hastalık etmeni ve bitkilerde ortaya çıkan dayanıklılık mekanizması hakkında yapılan pek çok çalışmalar bulunmaktadır.

Bitkilerde dayanıklılık biyotik etkenlerin yanısıra birçok abiyotik etkenler tarafındanda teşvik edilir. Farklı konukçu-patojen ilişkilerinde dayanıklılığın teşvik edilmesinde en fazla kullanılan kimyasal uyarıcılar salisilik asit (SA), jasmonik asit (JA), dichloro izonicotinik asit (INA) gibi doğal organik bileşiklerin yanısıra propenazol (oryzemate), 2-2 dichloro-3,3-dimethycyclopropane carboxylic asit, DL-3-aminobutyric asit (BABA) ve acibenzolar-s-methyl (BTH veya ASM) gibi sentetik yapıda doğrudan antimikrobiyal özelliğe sahip olmayan bileşikler birçok konukçu bitkide fungal, bakteriyal, viral hastalık etmenlerine karşı dayanıklılığı teşvik ettiği bildirilmiştir.

**C.Bitkisel Kökenli Preparatların Kullanımı**

Doğada yaygın olarak yetişen ve aromatik bileşikler içeren birçok bitkilerden elde edilen uçucu yağ veya bitki ekstraklarının gıda, hayvan, insan ve bitki patojeni, fungal ve bakteriyal etmenlere karşı antimikrobiyal etkinliği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Bu bitkilerden özellikle Laminaceae familyasına dahil kekik origanium, lavanta, biberiye gibi bitkilerin yanısıra sarımsak, soğan, karanfil, mersin, ökaliptus, defne, duvar sarmaşığı ve nane gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağların ve bu bitkilerin ekstraktlarının birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkiye sahip oldukları bildirilmiştir

**3-DAYANIKLI ÇEŞİT ISLAHI**

Bakteriyal hastalık etmenlerine karşı dayanıklı çeşit ıslahı bunların patojene karşı uzun süre etkili olması nedeniyle büyük bir öneme sahiptir. Bazı durumlarda dayanıklı çeşit ıslahı bakteriyal hastalıklarla mücadelede tek çözüm yolu olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle solgunluk hastalık etmenleriyle mücadelede dayanıklı çeşit ıslahı en etkili mücadele yolu olarak gösterilebilir. Hindistan’da domateste Pseudomonas solanecearum’a karşı dayanıklı domates çeşitlerinin kullanılması hastalıkla mücadelenin tek yolu olduğu bildirilmiştir. Ülke topraklarının bu hastalık etmeniyle aşırı düzeyde bulaşık olması nedeniyle dayanıklı çeşit ekilmeden üretim yapmanın mümkün olmadığı belirtilmiştir (Rao et al.,1975). Yine biberde Xanthomonas campestris pv. vesicatoria’ya karşı dayanıklı biber çeşitlerinin hastalığın engellenmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Nitekim hastalık etmeniyle mücadelenin sıcak nemli bölgelerde kimyasal yöntemlerle kontrol altına alınması hastalık etmeninin bu ortamlarda hızla çoğalması nedeniyle imkansız hale gelmiş olduğu bildirilmiştir. Dayanıklı çeşit ıslahının başarısız olduğu sistemlerde bulunmaktadır. Nitekim patates yumuşak çürüklük etmeni (Erwinia carotovora)’ne karşı bugüne kadar dayanıklı patates çeşidi bulunamamıştır. Bunun dışında Japonya’da Erwinia amylovora’ya karşı birçok yabani armut çeşitleri belirlenerek bunların hastalık etmenine karşı dayanıklı olduğu ve bu çeşitlerden dayanıklılık genlerinin kültür çeşitlerine aktarılması çalışmaları yapılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda fasulyede hale yanıklığı etmeni Pseudomonas savastanoi pv. phaseolicola; pamukta Xanthomonas campestris pv. malvecearum; kirazda Pseudomonas syringae pv. mors-purunorum; solgunluk hastalık etmenleri Pseudomonas solanacearum ,Erwinia stewartii, Erwinia tracheiphila ve tümör hastalık etmeni Agrobacterium tumefaciens’e karşı belirli düzeyde dayanıklı bitki çeşitleri belirlenmiştir.

**4-SANİTASYON İŞLEMLERİ**

Sanitasyon işlemi genellikle hastalıklı bitki materyalin yetiştirme ortamından uzaklaştırılması, hastalıklı bitki materyallerinden herhangi bir şekilde çelik, tohum ve göz alınmaması şeklinde olur. Nitekim yapılan çalışmalarda %0.03 oranında bulaşık lahana tohumlarının ekilmesi durumunda tarla koşullarında X.c. pv. campestris hastalığının oldukça önemli düzeyde hastalık oluştururken, bu oranın %0.01 düzeyinde olduğunda hastalık çıkışının ve ürün kaybının daha az olduğu bildirilmiştir (Schaad, 1982). Yapılan çalışmalarda fasulye hale yanıklığı etmeni P.s.pv. phaseolicola ile %0.4 oranında bulaşık bir primer infeksiyondan %34 kapsül infeksiyonu ve %12.5 ürün zararı, %2.6 oranında bir primer infeksiyon kaynağı bulunduğunda ise % 62,5 kapsül infeksiyonu ve %43 ürün zararı oluştuğu rapor edilmiştir (Smith et al., 1986; Allen et al., 1998). Sanitasyon işlemlerine diğer bir örnekte hastalıksız bitki örneklerinden doku kültürü teknikleri ile yeni bitki materyallerinin üretilip kullanılması şeklinde olmaktadır. Özellikle meristem kültürü ile sağlıklı bitkilerden elde edilen yeni bitki materyalleri kullanılarak bu bitkilerden gerek tohum gerekse çelik elde edilerek üretimde kullanılması hastalığın engellenmesinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Meristem kültürü özellikle patateslerde Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicum hastalığına karşı başaraılı olduğu bildirilmiştir (Dinesen et al., 1990).

Yine ürünler arasında uygulanan rotasyonlar bazı toprak kökenli bakteriyel hastalık etmenlerinden Pseudomonas solanacearum’a (patates bakteriyel solgunluk) karşı başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Bazı durumlarda suyun hastalık yayılması ve taşınmasında önemli olduğu bildirilmiştir. Bu kapsamda Syngonium bitkisinde hastalık yapan X. campestris pv. syngonii etmenine karşı yağmurlama sulamanın kesinlikle önerilmemesi gerektiğini bildirmişlerdir (Dickney ve Zumoff, 1987). Zeytinlerde dal kanseri etmeni benzer şekilde hastalıklı bitkilerden alınan çeliklerle veya hasat sırasında dallara sopalarla vurularak yapılan bahçelerde önemli düzeyde yayılma gösterdiği bildirilmiştir. Turunçgillerde sorun olan X.c. pv. citri hastalığı ile mücadelede sağlıklı bitkilere 40 m uzaklıkta bulunan tüm bulaşık bitkilerin ortamdan uzaklaştırılması gerektiği bildirilmiştir (Timmer et al., 1987).

Yine hastalıkla bulaşık hasat ekipmanları hastalığın yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle paketleme ve depolarda hastalıkla bulaşık tüm alet ve ekipmanların sezon sonunda veya kullanım sırasında mutlak suretle dezenfekte edilmesi önerilmektedir. Bu yolla yayılan hastalığa örnek olarak bakteriyel halka çürüklüğü etmeni Clavibacter michiganense subsp. sepedonicum verilebilir (Secor et al., 1988). Bu aletlerin sterilizasyonlarında hipoklorid, iode, phenol, ethanol, chloroform, formalin ve bakırlı bileşikler başarılı bir şekilde kullanıldığı bildirilmektedir.

**12. ÖNEMLİ BAKTERİYEL HASTALIKLAR**

**12.1.Yaprak leke hastalıkları**

1. Domates bakteriyel benek hastalığı (P. s. pv. tomato)

2. Domates bakteriyel leke hastalığı ( X. c. pv. vesicatoria)

X. c. pv. vesicatoria hem domates hem de biberde hastalık oluşturmaktadır. Hastalık bitkinin toprak üstü aksamında yaprak, gövde ve genç bitkilerde meyve üzerinde tipik simptomlar oluşturmaktadır. Yapraklarda simptomlar başlangıçta küçük, şekilsiz, 4mm çapında, başlangıçta grimsi yağlı bir görünüşte olup daha sonra bu yapıların ortası siyah kenarları ise sarı bir hale ile çevrilir. İnfeksiyonun şiddetli olduğu durumlarda bu lekeler birleşir ve yaprağın şekli bozulur. Lekeler üst yüzeyden alta doğru basık bir halde oluşur. İnfeksiyon çiçeklerde görüldüğü zaman önemli zararlara ve çiçek dökümüne neden olur. Yeşil meyve üzerinde küçük yuvarlak ıslaklıklar şeklinde başlayan lekeler hafifçe kubbeleşerek siyahlaşır. Daha sonra bu lekelerin etrafı beyazımsı yeşil bir hale ile çevrilir. Bu lekeler zamanla kabuk bağlayarak yara halini alır. Bu lekeler sonraları sertleşir, içe doğru çöker ve kenarları düzensiz bir şekil alır.

P. s. pv. tomato’da diğer yaprak leke hastalıklarından farklı olarak yeşil meyveler üzerinde toplu iğne başı büyüklüğünde 2-3mm çapından daha küçük yaralar oluşturur. Bu yaralar genellikle bir arada olur ve etrafında açık sarımsı yeşil hale oluşur. Meyveler üzerinde küçük çukurlar oluşur ve şekil bozukluğu meydana gelir. Oluşan yaralar bazen meyvenin ¼’ünü kaplayabilir.

Her iki bakteride kışı tohum içinde, infekteli bitki artıklarında, toprakta, yabancı otlar ve diğer konukçularda geçirebilir. Etmen sağlıklı bitkiler yağmur damlaları ile, rüzgarla veya bitkilerin birbirine teması ile taşınabilmektedir. Patojenin bitkiye giriş yerleri stomalar ve yaralardır. Serin ve nemli havalarda hastalık şiddetini arttırır.

**Kültürel Önlemler**

* Fideler şaşırtılırken kontrol edilmeli hastalıklı fideler kullanılmamalıdır.
* Seralar iyi havalandırılmalı aşırı nem giderilmelidir.
* İnfekteli bitkiler ortamdan uzaklaştırılmalı ve bu fidelerden tohum alınmamalıdır.

**Kimyasal Mücadele**

**Bakır oksikorür** %50 WP. (300-400gr/100lt), **Mancozeb** %20 + **Bakır komleksi** %21 veya **Bakır hidroksit** %50 (250gr/100lt) gibi preparatlardan biri ile ilaçlama yapılır.

**3. Köşeli Yaprak Leke Hastalığı**

1. Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığı (P.s. pv. lachrymans)

2. Pamuk Köşeli Yaprak Leke Hastalığı (X. c. pv. malvacearum)

P.s. pv. lachrymans yaprak, gövde ve meyve üzerinde simptom oluşturmaktadır. Etmenin konukçuları hıyar, kavun, karpuz ve diğer cucurbitacea’lardır. Yapraklarda siptomlar ilk dönemlerde şeffaf, düzensiz yağ lekeleri şeklindedir. Bu lekeler damarlar arsında oluşur ve köşelidir. Lekeler zamanla kuruyarak delinir ve yaprak üzerinde farklı büyüklüklerde şekilsiz delikler oluşur. Bakterinin infekteli meyvelerde oluşturduğu belirtiler ilk dönemlerde küçük ve yuvarlak lekeler şeklindedir. Zamanla bu lekelerin üzerinde bakteriyel eksudat oluşur ve bu eksudatlar kuruyarak lekelerin çatlamasına ve beyaz renkli doku bozukluklarına neden olur. Bu belirtiler üzerinde yumuşak çürüklük yapan funguslar ve bakteriler yerleşerek meyvenin çürümesine neden olurlar.

X. c. pv. malvacearum’da pamuk yapraklarında benzer şekilde köşeli lekelere neden olur. Genç tarak ve elmalarda da köşeli lekeler oluşturmaktadır.

Her iki bakteride kışı infekteli tohumlarda ve bitki artıklarında geçirirler. Hastalık infekteli tohumların çimlenmesiyle sistemik olarak yayılır veya hastalıklı bitki artıklarından yağmur damlacıkları ile taşınarak sağlıklı yapraklar üzerine konar ve yara veya stomalardan giriş yapar.

**Mücadele**

Diğer hastalık etmenlerine karşı uygulanan kültürel önlemler bu hastalığa karşıda uygulanmalıdır.

Kimyasal mücadele olarak ise %50’lik **bakıroksiklorür**, %50’lik bakır oksit veya %80’lik **Mancozeb** ile ilaçlama yapılır.

**12.2. Bakteriyel Yanıklık Hastalığı**

a. Fasulye Hale yanıklığı (P. s. pv. phaseolicola)

b. Fasulye Bakteriyel adi yaprak yanıklığı (X. c. pv. phaseoli)

Her iki etmende fasulyeler üzerinde benzer simptomlar oluştururlar. Hastalık öncelikle bitkinin alt yapraklarında yaprağın alt yüzeyinde küçük ıslaklıklar şeklinde başlar. Lekeler zamanla genişler ve nekrotik bir hal alır. Bakteri iletim dokularını geçerek bitki gövdesini de infekte edebilir. P. s. pv. phaseolicola’nın oluşturduğu ıslak lekelerin etrafında yeşilimsi sarı renkte bir hale oluşur.

Xanthomonas’ta ise farklı olarak oluşan bu hale daha dar olup oldukça parlak limon sarısı rengindedir. Xanthomonas’ta sarı renkli, Pseudomonas’ta ise krem veya kurşuni renkte eksudat oluşur. Gövde üzerinde her iki bakteri tarafından oluşturulan ıslaklıklar kahverengileşir ve zamanla buralar kabuk bağlar. Daha sonra bu kabuklar soyularak dökülür ve bakterinin oluşturduğu eksudat ortaya çıkar. Kapsül üzerinde küçük yağ lekeleri şeklinde başlayan simptomların zamanla ortası nekrotikleşir ve etmen tohum kapsül içerisine girerek tohumu çürütebilir. Etmen kışı tohumlarda ve infekteli bitki gövdesinde geçirir. Tohumdan geçen bakteri kotiledonları infekte ederek buradan yapraklara ve daha sonra iletim demetleri ile sistemik olarak bitkinin diğer kısımlarına yayılır.

**Mücadele**

Diğer bakteriyel hastalıklara karşı kullanılan kültürel ve kimyasal mücadele yöntemleri uygulanmalıdır.

**Bakteriyel Solgunluk Hastalığı**

Bakteriler tarafından bitkilerde oluşturulan solgunluk hastalıkları 4 farklı bakteri cinsi tarafından oluşturulur.

**1.Clavibacter (Corynobacterium)**

Clavibacter michiganensis subsp. insidiosum – Yonca

Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicum – Patateste halkalı çürüklük

Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis – Domates bakteriyel solgunluğu ve bakteriyel kanser.

Corynobacterium flaccumfaciense – Fasulye solgunluğu

**2.Erwinia**

E. tracheiphila – Kabakgillerde solgunluk

E. stewartii – Mısırda solgunluk

**3. Pseudomonas**

P. solanacearum – Patates, biber, patlıca ve muzda solgunluk.

P. caryophylii – Karanfil solgunluğu

**4. Xanthomonas**

X. c .pv. campestris – Lahana, brokoli, karnabahar solgunluğu.

Solgunluk etmenleri genellikle konukçu bitkinin iletim demetlerinden giriş yapar, buralarda çoğalır ve bitki tarafından alınan su ve besin maddeleri ile bitkinin diğer kısımlarına yayılır. İletim demetlerinde gelişmeleri sırasında oluşturdukları ekstraselüler polisakkaritler (EPS) ve salgıladıkları bazı toksinler ile iletim demetlerinin yapısını bozarak veya tıkayarak su ve besin maddelerinin taşınmasını engellerler ve bitkide genel bir durgunluk, solma ve sonuçta ölüm meydana gelir. Bu hastalık oluşturma mekanizmaları açısından Ceratocystis, Fusarium ve Verticillium gibi fungal etmenlere benzerlik gösterirler. Bununla birlikte fungal solgunluk etmenleri bitki ölünceye kadar iletim demetlerinde kalır iken bakteriyel etmenler bulunduğu yerdeki ksilem borularının hücre duvarını salgılamış oldukları enzimler ile eriterek buradan komşu parankima hücrelerine geçip çoğalır ve buralarda cep şeklinde çöküntülere ve sakız oluşumuna sebep olur.

**NOTLAR**