

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BK-YL-2001-0003**

**AYDIN İLİNDE SERA DOMATESLERİNDE
TOPRAK KAYNAKLI BAKTERİYEL
HASTALIKLARIN SAPTANMASI**

HAZIRLAYAN: Ümit ÖZYILMAZ

DANIŞMAN: Prof Dr. Kemal BENLİOĞLU

AYDIN - 2001

Bu Yüksek Lisans Tezi Adnan Menderes Üniversitesi Araştırma Fonu Saymanlığınca FBE-00002 nolu proje ile desteklenmiştir.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma aşağıda isimleri bulunan juri üyeleri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir./...../.....

Ünvanı Adı Soyadı	Üniversitesi	İmzası
Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU (Danışman)	Adnan Menderes Üniv. Ziraat Fakültesi, Bit. Kor. Böl.	
Doç. Dr. Hatice ÖZAKTAN (Üye)	Ege Üniv. Ziraat Fakültesi, Bit. Kor. Böl.	
Doç. Dr. Seher BENLİOĞLU (Üye)	Adnan Menderes Üniv. Ziraat Fakültesi, Bit. Kor. Böl.	

Yukarıda juri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans Tezi Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih, sayılı kararıyla onaylanmıştır.

...../...../.....
İmza
Enstitü Müdürü

ÖZ

1999-2000 yıllarında Aydın iline ait 13 ilçede domates yetiştirilen seralarda *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas corrugata* ve yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* sp. varlığını saptamak için survey çalışmaları yapılmıştır. Aydın ilinin 13 ilçesindeki seralarda *Pseudomonas corrugata* ve yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* türlerine rastlanmazken, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' e Çine ilçesinde 2, Incirliova ilçesinde 1 olmak üzere 3 serada rastlanmıştır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm)'nin bilinen 4 yarı seçici besiyerinde (D2an, SCM, mSCM ve KBT) gelişme durumu ve Cmm' in gözle görülebilir koloni oluşturma süreleri ile bu besiyerlerinin domates tohumları ve bitkilerinden izole edilen tanılanmamış diğer bakterilere karşı seçiciliği değerlendirilmiştir.

Anahtar sözcükler

Aydın, Domates, Bakteriyel kanser, *Clavibacter*

ABSTRACT

Survey was conducted in tomato growing greenhouses of 13 towns of Aydın province in order to determine *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas corrugata* and soft rot *Erwinia* sp. in 1999-2000. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* was determined in 3 greenhouses (two in Incirliova and one in Çine town) while *P. corrugata* and *Erwinia* sp. was not found in 13 towns of Aydın province Four semi selective agar media (D2an, SCM, mSCM and KBT) were evaluated for the recovery and visible colony forming time of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) and the selectivity of unidentified bacterial isolates from tomato seed and plants.

Key words

Aydın, tomato, Bacterial canker, *Clavibacter*

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZ, ABSTRACT	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÇİZELGELER LİSTESİ	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	iv
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ.....	6
3. MATERYAL ve METOD	13
3.1. Survey Çalışmaları.....	13
3.1.1. Örneklerin toplanması.....	14
3.2. İzolasyon ve Tanılama Çalışmaları.....	14
3.2.1 İzolasyon çalışmaları	14
3.2.2. Bakterilerin tanılanması ve patojenisite çalışmaları	15
a) Gram boyama.....	16
b) Patojenisite çalışmaları.....	16
c) Biyokimyasal tanılama testleri.....	17
3.3. Seçici Besiyeri İle İlgili Çalışmalar	19
3.3.1. Çalışmalarda kullanılan bakterilerin izolasyonu	20
3.3.2. Seçici besi yerlerinin karşılaştırılması	20
3.3.3. Engelleyicilerin testlenmesi	22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	23
4.1. Survey Çalışmaları.....	23
4.2. Tanılama Çalışmaları	24
4.2.1. Patojenisite testleri.....	24
4.2.2. Biyokimyasal tanılama testleri	27
4.3. Seçici Besi Yerleriyle İlgili Yapılan Çalışmalar.....	29
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	32
ÖZET	33
SUMMARY	34
TEŞEKKÜR	35
KAYNAKLAR.....	36
EKLER.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	46

ÇİZELGELER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1. 1998 yılında Aydın İli Merkez ve ilçelerinde domates seracılığı yapan köy sayısı, seracı sayısı, toplam sera alanı ile bu alanda domatesin payı	4
Çizelge 2. Survey çalışmalarında incelenen domates seraları	14
Çizelge 3. Survey çalışmaları sonucunda elde edilen izolatların D2an besiyerinde gelişme durumları, KB’de UV ışık altında fluoresans pigment vermeleri, tütünde aşırı duyarlılık ve domateste patojenisite sonuçları.....	26
Çizelge 4. Domates Patojenisite sonucu pozitif olan izolatların biyokimyasal test sonuçları	27
Çizelge 5. Cmm-9 izolatının NDA ve seçici besi yerlerinde gelişen koloni sayıları, besi yerlerinin etkinlikleri ve Cmm’in görülebilir koloni oluşturma süreleri.....	29
Çizelge 6. Cmm’in gelişmesi engellemeyen boyaların (100 mg/L) diğer bakterileri engellemesi ve Cmm kolonilerini boyaması.....	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1 Aydın İli’nde 2000 yılında Kasım–Aralık aylarında incelenen domates seraları ve sayıları	23
Şekil 2 Tütünde aşırı duyarlılık testinde pozitif sonuç.....	25
Şekil 3 Domateste patojenisite testi sonucu.....	25
Şekil 4 Tanılama çalışmalarında uygulanan bazı biyokimyasal testler ve sonuçları	28
Şekil 5 Seçici besiyeri çalışmalarında kullanılan domates tohumu ve bitkileri yüzeyinden izole edilen bakteriler	30

1. GİRİŞ

19. yüzyıla kadar meyvelerinin güzelliği nedeniyle bir süs bitkisi olarak yetiştirilen domates (*Lycopersicon esculentum* L.), zehirli olduğu sanılarak yenilmezdi. Oysa en yüksek dozda içerdiği tomatine adlı alkaloidin bile zehir etkisinin düşük olduğu bilinen bir gerçektir (Sevgican, 1999).

Kültürü yapılan domatesin anavatanının Güney Amerika'nın orta ve güney kısımları olduğunu bilinmektedir. Kültür domatesi Amerika'dan Avrupa'ya, oradan da Afrika'ya geçmiştir. Bugün kültürü yapılmış domateslerin *L. hirsutum*, *L. peruvianum* ve *L. pimpinellifolium*'dan faydalanılarak geliştirildiği, ana materyelin ise *L. peruvianum* olduğu bilinmektedir (Vural *et al.*, 2000).

Domates beslenme programlarında önemli yeri olan sebzelerdendir. Domatesin 100 gramında 0.55 mg vitamin B6, 1000 IU vitamin A ve 0.10 mg vitamin B1 ile 21 mg vitamin C vardır. Bu vitamin içeriklerine göre domates 38 sebze arasında B6 vitaminince altıncı, A ve B1 vitaminince onüçüncü, C vitaminince yirmiüçüncü sırada yer almaktadır (Sevgican, 1981). Bu değerler bir yetişkinin günde 4-5 domates yemesi halinde günlük vitamin gereksinimini karşılayabileceği gerçeğini ortaya koymaktadır. Bir yetişkinin günlük vitamin gereksinimi B6 vitamini için 1-2 mg, A vitamini için 5,000-6,000 IU, B1 vitamini için 0.5-1 mg ve C vitamini için ise 45-70 mg'dır. Taze domatesin kalori değeri %19 gibi çok düşük olmasına karşın, domatesten elde edilen ürünlerin kalori değerleri oldukça yüksektir. Örneğin ketçapta %106'dır. Kalori değerinin düşük olması taze domatesi iyi bir rejim besini haline getirmiştir. Domatesin beyin hücrelerinin yaşlanmasını yavaşlattığı, bağışıklık sistemini güçlendirdiği, kireçlenmeyi önlediği, saçları ve cildi güzelleştirdiği, insanlara neşe verdiği, kalp hastalıkları ve kansere karşı koruyucu etkisinin olduğu son yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Sevgican, 1999).

Domates oldukça derin bir saçak köke sahiptir. Kökün derinlemesine ve yanlara dağılımı 1-1.5 m'yi bulur. Seralarda ise köklerin gerek yanlara gerekse derinlemesine dağılım alanı, toprak suyunun hareketinin aşağıdan yukarı olması nedeniyle daha azdır. Bu nedenle kök, sera domateslerinde bitkiyi dik tutabilecek

güçte değildir. Seralardaki domates bitkilerinin mutlaka askıya alınmalarının bir nedeni de budur (Sevgican, 1999).

Ülkemiz ekonomisinde çok önemli bir yeri olan domates, yetiştiriciliği yapılan bölgelerde çiftçimizin önemli gelir kaynaklarından birisini oluşturmaktadır. Karadeniz Bölgesi'nin yoğun yağış alan alanları dışında ülkemizin hemen her tarafında yetiştirilebilen bir sebzedir. Özellikle Marmara, Ege ve Akdeniz Bölgelerinde büyük boyutlarda domates üretimi yapılmaktadır (Vural *et al.*, 2000).

Ülkemizin iklim şartlarının bu sebzenin yetiştirilmesi için çok uygun oluşu, bu sebzeyi işleyecek bir sanayinin 1970'li yıllardan itibaren hızlı gelişmiş bulunması, domatese olan yönelmeyi hızlandırmış ve ülkemiz domates üretiminde Dünya ülkeleri arasında alt sıralardan hızla üst sıralara tırmanarak Amerika ve İtalya gibi üretim devlerinin arasına girmiştir. Ayrıca sadece üretim miktarı arttırılmamış domatesten elde edilen işlenmiş domates ürünleri çeşitlendirilmiş, kaliteli ürün alan Japonya, Kanada, Amerika Birleşik Devletleri gibi pazarlara da mal satabilecek bir üretim miktarı ve kalitesine ulaşılmıştır (Vural *et al.*, 2000).

1995 yılı üretim sezonunun sonunda 320,000 tonluk salça üretimine ulaşan ülkemiz bu ürün dışında soyulmuş domates, kubik kesilmiş domates, parçalanmış domates, güneşte kurutulmuş domates üretimini de çok önemli ölçüde arttırmıştır. Sadece ihraç edilen domates ürünlerinin miktarı yaklaşık 200 milyon dolar ile ülke ihracatında önemli bir kalemi oluşturmaktadır (Vural *et al.*, 2000).

1995 yılı verilerine göre Türkiye, domates yetiştirilen Dünya ülkeleri arasında ABD ve İtalya'nın ardından 3. sırada yer almakta iken (Anonymous, 1995), 1998 FAO verilerine göre, ekim alanı olarak ABD'den (164,410 ha) sonra 158,000 ha ile Dünya 2.'si konumuna yükseldiğimiz görülmektedir. Buna rağmen 47.7 ton/ha verim ile sadece OECD ülkeleri arasında 21. sırada yer almamızın nedenlerinden birinin de yetersiz tarım tekniklerinin yanında hastalık ve zararlılardan da kaynaklandığı düşünülebilir. Verim olarak Dünya 1.'si konumundaki Hollanda 466.6 ton/ha verim

ile yaklaşık 11 kat, en yakın rakibimiz ABD 13. sırada 65.6 ton/ha verim ile yaklaşık 1.5 kat bizden daha fazla verim almaktadır¹.

1998 yılı kayıtlarına göre Türkiye’de bulunan toplam 899,000 ha sebze ekiliş alanının 18,800 ha’ında sera üretimi yapılmaktadır (Abak *et al.*, 2000). Sebze seralarının %51’inde domates yetiştirilmektedir (Sevgican *et al.*, 2000). Domates üretimine bakıldığında 1998 yılı itibariyle Türkiye’de üretilen toplam 8,200,000 ton domatesten 1,011,361 ton’u serada üretilmektedir. (Anonymous, 1999; Abak *et al.*, 2000).

Aydın ilimizde örtü altı yetiştiriciliği dikkate alındığında ise 1998 yılı verilerine göre toplam 1,163 serada 997,881 m² alanda domates üretimi yapılmaktadır. Bu üretimde ise diğer ürünlerle yapılan mukayesede serada üreticisine iyi gelir sağlayan domatesin tercih edildiği görülmektedir. Aydın ili merkez ve ilçelerindeki domates seralarının 1998 yılı verilerine göre sergilediği durum Çizelge 1’de gösterildiği gibidir. Aydın ilindeki örtü altı yetiştiriciliği giderek artmaktadır. Son yıllar dikkate alındığında genel sera alanları 1990 yılında 524.5 da iken 1998 yılında bu %90’lık bir artışla 997.8 da’a ulaşmıştır².

Sera domateslerinde karşılaşılan problemlerin başında kalite ve kantite kayıplarına neden olan hastalıklar gelmektedir. Genelde fungal ve bakteriyel etmenlerin neden olduğu hastalıklar verim üzerine etkili olmaktadır. Domates bitkisinde hastalık oluşturan bakteriyel etmenler sıralanacak olursa; Domates Bakteriyel Kanseri (Solgunluk) (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ‘Smith’ Jensen), Domates Bakteriyel Benek Hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Alstatt), Domates Bakteriyel Leke Hastalığı (*Xanthomonas vesicatoria* (Doidge)), Domates Gövde Öz Nekrozu (*Pseudomonas corrugata* Roberts and Scarlett), Domateslerde Bakteriyel Yumuşak Çürüklük, (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *E. chrysanthemi*) ve Stolbur (İri Tomurcuk (Erkekleşme))’dur.

¹ Food and Agriculture Organization of USA. FAOSTAT, Statistics Database Agriculture Database, Crop Primery. WebSite: <http://apps.fao.org>.

² Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Aydın Tarım İl Müdürlüğü kayıtlarından alınmıştır.

Çizelge 1. 1998 yılında Aydın İli Merkez ve ilçelerinde domates seracılığı yapan köy sayısı, seracı sayısı, toplam sera alanı ile bu alanda domatesin payı

İlçe	Seracılık Yapılan Köy Sayısı	Toplam Seracı Sayısı ^a	Toplam Sera Alanı (m ²)	Toplam sera domatesi alanı (m ²)	Domatesin toplam sera alanındaki % payı
İncirliova	17	216	344,880	236,280	68.5
Nazilli	12	173	241,930	179,672	74.3
Çine	20	164	180,500	154,800	85.8
Merkez	25	181	169,512	132,564	78.2
Germencik	9	68	127,360	81,160	63.7
Koçarlı	14	61	54,395	39,335	72.3
Sultanhisar	7	54	41,620	37,020	88.9
Karpuzlu	9	85	37,950	30,000	79.1
Buharkent	6	30	28,985	26,425	91.2
Kuyucak	11	33	22,630	16,780	74.1
Bozdoğan	6	16	20,200	15,200	75.2
Didim	5	16	18,980	14,580	76.8
Söke	8	23	22,310	9,965	44.7
Köşk	3	6	11,400	9,000	78.9
Yenipazar	3	26	32,700	6,800	20.8
Karacasu	3	5	4,450	4,200	94.4
Kuşadası	5	6	10,600	4,100	38.7
Toplam	163	1,163	1,370,402	997,881	

^a Diğer bitkilere ait seralar da dahil.

Bakteriyel hastalıkların toprak kaynaklı olanları sera toprağında ve bitki artıklarında kışladıkları için etkilidir. Seranın yerinin veya toprağının değiştirilemeyeceği, ayrıca bu hastalılara karşı etkili bir mücadele yönteminin olmayışı düşünüldüğünde sera toprağının bir kez bu patojenler ile bulaşması, takip eden yıllarda artan bir şekilde ürün kayıplarının beklenmesi anlamına gelmektedir. Sera domateslerinde hastalık oluşturan toprak ve bitki artığı kaynaklı bakteri hastalıkları; Domates Bakteriyel Kanseri (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) (Cmm), Domates Gövde Öz Nekrozu (*Pseudomonas corrugata*) (Pc), Domates Bakteriyel Yumuşak Çürüklük Hastalığı (*Erwinia caratovora* subsp. *caratovora*) (Ecc)'dir. Genelde domatesin hasadına yakın zamanlarda ortaya çıkan

bu üç hastalık için sera koşullarındaki yüksek nem ve sıcaklık koşulları hastalığın oluşumunu ve yayılışını teşvik eden en önemli faktörlerdendir.

Bu tezde, son yıllarda giderek artan Aydın İli seralarında Domates Bakteriyel Kanserinin (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ve gövde nekrozu hastalıklarının (*Pseudomonas corrugata*, *Erwinia* spp.) varlığını araştırmak, ayrıca Cmm için önerilen yarı seçici besi yerlerini değerlendirerek, seçiciliği yüksek Cmm'in gelişmesine maksimum ölçüde izin veren bir besiyerinin geliştirilmesi hedeflenmiştir.

2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

Domates Bakteriyel Kanser Hastalığı 1910 yılında A.B.D.' de ilk rapor edilişinden bu yana, tüm Dünya'ya yayılmış ve tarla ile seradaki domateslerde ciddi kayıplara neden olmuştur (Hayward and Waterston, 1964). Hastalık rapor edildiğinden bu yana Avusturya, Belçika, Bulgaristan, Çek Cumhuriyeti, Fransa, Almanya, Yunanistan, Macaristan, İrlanda, İtalya, Litvanya, Hollanda, Romanya, Rusya, İsviçre, Ukrayna, Yugoslavya, Ermenistan, Azerbaycan, Hindistan, İran, İsrail, Japonya, Lübnan, Türkiye, Kenya, Madagaskar, Fas, Güney Afrika, Tunus, Uganda, Zambia, Zimbabve, Orta Amerika'nın Geneli, Arjantin, Brezilya, Kanada, Şili, Kolombiya, Kostarika, Kuba, Dominik Cumhuriyeti, Ekvator, Meksika, Panama, Peru, Uruguay, Avustralya ve Yenizellanda'da saptanmıştır³.

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Cmm) tarafından oluşturulan Bakteriyel Kanser Hastalığı domatesin tohum kaynaklı en önemli hastalıklarındandır. Cmm domates bitkisinin her döneminde belirti oluşturan bir hastalıktır. Bu belirtiler bitkinin enfekte olduğundaki yaşına, enfeksiyon şekline ve çevre faktörlerine bağlıdır. Belirtilerin nedeni genelde sistemik enfeksiyonlardan kaynaklanır. Sekonder enfeksiyonlardan meydana gelen belirtiler ise genelde sınırlı kalır. Cmm'in en belirgin belirtilerinden bir tanesi solgunluktur. Eğer domates bitkisi genç yaşta bu hastalık ile enfekte olursa bir-iki gün içinde solar ve ardından ölür. Diğer taraftan gelişmiş bitkilerdeki solgunluk yavaş ve dereceli olarak ilerler. Sistemik olarak enfekte olmuş bitkilerde ilk belirtiler yaşlı yapraklarda görülür. Bu yapraklar solar ve aşağıya doğru sarkıp asılı kalır. Bu hastalıkta bitkinin bir tarafı solduğu halde diğer tarafı sağlıklı görülebilir. Bazı durumlarda aynı yaprak sapına bağlı yaprakçıkların bir kısmı solgun gözüktürken diğer yaprakçıkların turgorunu koruduğu ve sağlıklı görüldüğü durumlara da rastlanabilir. Yapraktaki belirtileri genelde yaprakların kenar kısımlarında gözlenir. Hastalığın bu dönemine "yanıklık dönemi" adı verilir. Bu hastalığa ait en önemli belirtilerden iki tanesi daha ise "kuş gözü" ve iletim demetlerindeki kahverengileşmedir. Meyvede meydana gelen belirtiler genelde sekonder olarak meyvenin enfekte olmasıyla oluşur. Belirti ilk

³ EPPO PQR bilgisayar programı, 1995 veri tabanı.

başta ufak ve beyaz bir benek şeklindedir. Hastalığın gelişmesiyle beraber bu noktalar genişler ve ortası “kuş gözü” etkisi verecek şekilde koyulaşır. Her zaman için meyve enfeksiyonları görülmeyebilir. Enfekte olmuş gövdenin içindeki iletim demetlerindeki kahverengileşme gövdenin boylamasına kesilmesiyle kolayca gözlenebilir. Bu belirti genelde bitkinin üst kısımlarında ve yaprak sapının gövdeye bağlandığı yerlerde gözlenir. İletim demetlerindeki kahverengileşme ileri durumlarda özün kuruyup boş bir görünüm almasına da neden olabilir (Anonymous, 1982).

Cmm domates bitkisinin yokluğunda toprakta 2 yıla kadar, bitki artıklarında 3 yıla kadar, odunlaşmış domates gövdesinde ise 10 aya kadar canlı kalabilmektedir. Hastalık, köpek üzümü gibi bazı Solanaceae familyası üyelerinde de yaşayabilir. Hastalık doğal açıklıklardan giriş yapabileceği gibi genelde yaralar yoluyla bitkiyi enfekte eder. Nem etmenin bitkiyi hastalandırabilmesi için önemli bir kriterdir (Fatmi and Schaad, 1988).

Cmm; aerobik, gram pozitif, coryneform çubuk, $0.6-0.7\mu \times 0.7-1.2\mu$ büyüklükte, tek veya "V" şeklinde çiftler halinde bulunan, hareketsiz, spor oluşturmeyen, kemoorgano ototrofik, glikozdan ve diğer bazı karbonhidratlardan zayıf asit oluşturan, optimum gelişme sıcaklığı $20-29^{\circ}\text{C}$ olan, 35°C 'nin üstünde çok nadir gelişebilen, katalaz pozitif, oksidaz negatif, nitratı indirgemeyen, indole negatif, bakteriyel bir mikroorganizmadır (Holt *et al.*, 1994).

Cmm'e karşı uygulanan tohum uygulamaları her zaman için bu hastalık ile mücadelede etkili olmayabilir (Thyr *et al.*, 1973; Shoemaker and Echandi, 1976). Bu nedenle; Cmm ile bulaşık hastalıklı tohumların saptanıp elimine edilmesi tohum kaynaklı olan bu önemli hastalık ile mücadelede etkili bir yöntemdir. Dünya'da yapılan araştırmalarda birçok tanılama tekniği üzerinde çalışılmıştır. Bunlar; bitkinin gelişimine bakılması (Ark, 1944; Grogan and Kendrick, 1953), yarı katı (Bryan, 1930) veya ayırıcı besi yerlerinde (Strider, 1967) tohumların kültüre alınması, tohum filtratı ile domates bitkilerinin inokule edilmesi (Thyr, 1969), immunofluoresan test (IF) (Trigalet and Rat, 1976), immunofluoresan test ve patojenisitenin birlikte kullanımı (Van Vaerenberg and Chauveau, 1987) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) (Dreier *et al.*, 1995)'dur. Ancak doğrudan besiyerine ekim şeklindeki klasik

izolasyon yöntemi; uygulamasının basitliği, daha ucuz olması ve sonuçta gelişen bakterinin patojenisite testine karar vermede kullanılabilir olması gibi bir çok avantaja sahiptir (Schaad, 1982).

Serolojiye dayalı testler ve PCR ile tohumda bu hastalığın varlığı çok kolay ve hızlı bir şekilde tesbit edilebilmesine rağmen, etmenin canlı olup olmadığı kesin olarak anlaşılamamaktadır. Bu nedenle son yıllarda tohumda bulunan sadece canlı patojenin duyarlı olarak saptanmasına yönelik BIO-PCR yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemin esası da tohum ekstraktının seçici besiyerine ekilmesinden sonra toplu iğne başı büyüklüğünde Cmm kolonilerinin oluştuğu devrede PCR uygulanmasıdır (Schaad *et al.*, 1998).

Dünya’da Cmm’in izolasyonu için yarı seçici besi yerleri ile ilgili bir çok araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalar sonucunda; D2 (Kado and Heskett, 1970), D2an (Hwanger, 1975), SCM (Fatmi and Schaad, 1988), KBT (Dhanvantari, 1988) ve mSCM (Waters and Bolkan, 1992) yarı seçici besi yerleri geliştirilmiştir.

Kado ve Heskett (1970) yapmış oldukları seçici besiyeri geliştirme çalışmalarında *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* ve *Xanthomonas* genusları için 5 farklı seçici besiyeri geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri bu besi yerlerinin etkinliklerini (Seçici besiyerinde gelişen bakteri kolonisi sayısı / seçici olmayan besiyerinde gelişen bakteri koloni sayısı x 100) *A. tumefaciens* için D1 besiyerinde %90.3, *C. michiganense* için D2 besiyerinde %27.1, *E. amylovora* için D3 besiyerinde %77.7, *P. syringae* için D4 besiyerinde %6.5 ve *X. campestris* için D5 besiyerinde %78.4 olarak bulmuşlardır. Ayrıca yaptıkları çalışmada diğer saprofitik bakterilerin varlığında bu bakterilerin gelişmesine izin verme etkinlikleri incelendiğinde (seçici besiyerinde topraktan gelişen bakteri koloni sayısı / aynı besiyerinde toprak olmadığı durumda gelişen bakteri koloni sayısı x 100) sırasıyla D1 besiyerinde %48.1, D2 besiyerinde %79.8, D3 besiyerinde %57.0, D4 besiyerinde %26.9 ve D5 besiyerinde %79.9 olarak bulmuşlardır.

Fatmi ve Schaad (1988) yapmış oldukları çalışmada Domateste Bakteriyel Kanseri etmeni Cmm’in tohumdan tesbitine yönelik SCM adı verilen bir yarı seçici besiyeri geliştirmişlerdir. Geliştirmiş oldukları bu yeni seçici besiyerinin testlenen 34

adet Cmm izolatının karşılaştırma ortamı nutrient broth yeast ekstrakt (NBY)’a göre %85–132 oranında gelişmesine müsaade ettiğini ve saprofitik karakterli bakterilerin gelişmesini de %98 oranında engellediğini bulmuşlardır. Bu besiyeri ile 10,000 tohum içinden 50 hücre/ml bakteri içeren tek bir tohumdan bile etmenin varlığını tesbit edebilmişlerdir.

Domatesin önemli patojenlerinden olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*’in neden olduğu Domates Bakteriyel Kanseri ve Solgunluğu ülkemizde ilk kez Bremer *et al.* (1952) tarafından Ankara’da daha sonra Karahan (1965), İç ve Güney Anadolu’da, Karaca ve Saygılı (1977), Marmara ve Ege Bölgesi’nde, Ulukuş (1982), Elazığ, Diyarbakır ve Mardin’de, Çınar (1980), Çukurova Bölgesi’nde, Öktem (1985), Ankara ve Eskişehir’de bulunduğunu bildirmişlerdir (Kahveci ve Gürkan, 1993).

Hastalığın Ankara ilinde %0.5 ile %23 arasında bir yaygınlık gösterdiği tespit edilmiş, ancak bazı ilçelerde %100 bulaşık tarlalara da rastlanmıştır. Yapılan çalışmalarda patojenin kurumuş domates gövdesinde 5 ay, kurumuş yaprakta (saplı) ise 4 ay süre ile yaşadığı tespit edilmiştir (Öktem, 1984).

Orta Anadolu Bölgesi’nde 14 ilde (Afyon, Ankara, Bolu, Burdur, Çankırı, Eskişehir, Isparta, Kayseri, Kırşehir, Konya, Nevşehir, Niğde, Yozgat ve Zonguldak) domates ekim alanlarında 354 örnekleme noktasında domates bakteri hastalıkları surveyi yapılmıştır. Surveyler sonucunda Afyon dışındaki 13 ildeki 97 tarlada Domates Bakteriyel Kanseri Hastalığına rastlanmıştır. Hastalık sırayla Isparta (%5.25), Yozgat (%4.67), Ankara (%3.71), Çankırı (%1.8) ve Niğde (%1.4) illerinde oldukça yüksek oranda görülmüş, diğer illerde ise %0.07-0.71 arasında değişen oranlarda saptanmıştır (Öktem ve Benlioğlu, 1993).

Domates Gövde Öz Nekrozu Hastalığı domates bitkilerinde kahverengi–siyah gövde lekeri, iletim demetlerinde kahverengileşme özde renk değişimi, nekroz ve boşalmanın yanı sıra, üst yapraklarda sararma, genel kloroz ve adventif kök oluşumu şeklinde belirtilere neden olan ve *Pseudomonas corrugata* olarak adlandırılan diğer domates bakteriyel hastalıklarından biridir (Scarlett *et al.*, 1978). *P. corrugata* non–fluorescent, polar kamçılara sahip ve hücreler arası depo granülü olarak poly–B

hidroksibutirate biriktiren, nutrient dekstroza agar (NDA) ortamında ise yeşil merkezli, sarımsak, hafif kubbeli, genelde merkezi veya kenarları kırışık ve sarı–yeşil, ortama yayılabilen bir bakteridir. Genelde düşük gece sıcaklığı ve toprakta yüksek azot seviyesi nedeniyle yumuşak yapı kazanan bitkilerin yetiştirildiği ısıtılmamış, yüksek neme sahip ve yoğunlaşma sonucunda bitki yüzeyinde serbest su damlacığı olan seralarda görüldüğü vurgulanmıştır (Scarlett *et al.*, 1978).

İlk olarak 1978 yılında İngiltere’de (Scarlett *et al.*, 1978) saptanmasından sonra Fransa (Paulin, 1979), Almanya (Naumann, 1980; Kohn, 1982), İspanya (Lopez and Noval, 1980), İsrail (Zutra and Kritzman, 1983), İsviçre (Vogelsanger and Grimm, 1983), İsveç (Olsson, 1986), İtalya (Fiori *et al.*, 1983; Scortichini, 1989; Catara and Albanese, 1993; Sesto *et al.*, 1996), ABD (Lai *et al.*, 1983; Wick and Rane, 1990; Carroll *et al.*, 1992), Yeni Zelanda (Clark and Watson, 1986), Güney Afrika (Bradbury, 1987), Yugoslavya (Mijatović *et al.*, 1988), Japonya (Kuwata and Oikawa, 1989), Sovyetler Birliği (Popkova and Nosova, 1989), Brezilya (Rodrigues Melo *et al.*, 1990), Türkiye (Demir, 1990), Arjantin (Alippi *et al.*, 1993), Yunanistan (Buonario *et al.*, 1993)’da da belirlenmiştir.

Ege Bölgesi’nde özellikle örtüaltı yetiştiriciliğinde, domateslerde başlangıçta gövdede çürük nekrozlara, giderek özde renk değişimi, öz boşalması ve solgunlaşmaya dönüşen belirtiler saptanmış ve hastalığın etmenini ve bölge seralarındaki durumunu ortaya koymak amacıyla 140 sera incelemeye alınmıştır. Hastalıklı bitki örneklerinde elde edilen bakteriyel izolatların tanımlanmasına yönelik olarak yürütülen çalışmalar sonucunda elde edilen izolatların Domates Gövde Öz Nekrozu etmeni (*Pseudomonas corrugata*) ile çok benzer olduğu belirtilmiştir (Demir ve Gündoğdu, 1988).

1989 yılında Ege Bölgesi’nde incelenen 136 domates serasının 3’ünde Domates Gövde Öz Nekrozu belirtileri saptanmıştır. Hastalıklı bitkilerden elde edilen 3 izolat, morfolojik, biyokimyasal ve patojenisite test sonuçlarına göre *P. corrugata* olarak tanımlanmıştır (Demir, 1990).

Akdeniz Bölgesinde tipik Gövde Öz Nekrozu gösteren domateslerden 17 bakteri izolatu toplanarak bunlar orjinal kültürüyle klasik bakteri tanılama testlerine verdikleri cevapları karşılaştırılmış ve elde edilen sonuçlarla her iki kültürün birbirine benzemesi nedeniyle bölge izolatu *P.corrugata* olarak saptanmıştır (Baş ve Çınar, 1995).

Üstün (2000), yapmış olduğu çalışmada Domates Gövde Öz Nekrozu Hastalığının Ege Bölgesi domates seralarındaki durumu, hastalığın etmenleri ve sera koşullarında saksı denemelerinde N, K, yüksek orantılı nem, düşük gece sıcaklığı ve bunların kombinasyonlarının hastalık şiddetine etkisini araştırmıştır. 1997, 1998 ve 1999 yıllarında yapılan survey çalışmalarında yaygınlık oranını sırasıyla %20.89, %27.45 ve %28.57 olarak bulmuş, bulunuş oranlarını ise %1.53, %1.33 ve %2.55 olarak belirlemiştir. Biyokimyasal ve fiziksel özellikleri incelendiğinde bu hastalık etmenlerinin *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas corrugata*, *Pseudomonas* sp. ve yumuşak çürüklük etmeni *Erwinia* sp. olarak tanılamıştır.

Pseudomonas genusu dışında yumuşak çürüklük grubu *Erwinia*'lar bitkinin ölümü ile sonuçlanan gövdede koyu renkli alanların oluşumu, özde sulanma, renk değişimi, parçalanma ve yumuşak çürüklük belirtilerine neden olabilmektedir. Pektolitik aktiviteye sahip, gram negatif, çubuk şekilli, fakültatif anaerob, King B'de (King *et al.*, 1954) krem renkli, 4–5 mm çapında, düzensiz kenarlı koloniler oluşturan bakteriler, Dünya'nın bir çok yerinde bir çok bitki türünde ciddi zararlara yol açmaktadır. Toprak kaynaklı bu patojen ayrıca sularda, rizosferde ve bitki artıklarında canlılığını sürdürebilmektedir (Üstün, 2000).

E. carotovora subsp. *carotovora*'nın oluşturduğu gövde çürüklüğü ve öz parçalanmasının serada önce su damlayan yerlerde ortaya çıktığı ve sonra yüksek orantılı nem ve serbest nem koşullarında şiddetlendiği bildirilmiştir (Dhanvantari and Dirks 1987).

Malathrakis ve Goumas (1987) 1979–1985 yılları arasında Girit adasında sera domateslerinden yapmış oldukları izolasyon çalışmalarında *Erwinia* ve *Pseudomonas* genusuna ait bakteriler izole etmişlerdir. Bunların fizyolojik ve biyokimyasal

karakteristikleri incelendiğinde ise 22 tanesinin *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, 10 tanesinin *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, 4 tanesinin *Pseudomonas viridiflava* ve 13 tanesinin ise *Pseudomonas fluorescens* biotype I olduğunu bulmuşlardır.

Akdeniz Bölgesi'nde 1992 ve 1993 yıllarında yapılan survey çalışmalarında örtü altında yetiştirilen domateslerde Domates Gövde Nekrozu Hastalığı'nın görüldüğü bitkilerden toplam 13 izolatın üçünün *Pseudomonas cichorii*, birinin *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, dokuzunun ise fluoresan *Pseudomonas* spp. oldukları belirlenmiştir (Tokgönül, 1993, 1995).

Adana, Erdemli ve Kocahasanlı bölgelerinde domates seralarından izolatlar toplanmış ve bunlardan Adana ve Erdemli'den alınan izolatların *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, Kocahasanlı'dan alınan izolatın ise *E. chrysanthemi* olduğu testpit edilmiştir. Bu çalışma ile ilk kez Doğu Akdeniz Bölgesi domateslerinde *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ve *Erwinia chrysanthemi* bakterilerinin domateslerde patojen olduğu bulunmuştur (Çınar ve Aysan, 1995).

3. MATERİYAL ve METOD

Çalışmalarda; Aydın ilinde seralarda yetiştirilen hastalıklı domates bitkileri, patojenisite çalışmalarında kullanılacak H2274 çeşidi domates tohumları, tütün (White Burley) bitkileri kullanılmıştır. Bakteri kültürleri ise *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Cmm-9 (Öktem ve Benlioğlu, 1993), *Pseudomonas corrugata* NCPPB-2445 [National Collection Plant Pathogenic Bacteria], *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* Ecc-133 [Scotish Crop Research Institute (SCRI)], *Erwinia caratovora* subsp. *atroseptica* Eca-1039 [Scotish Crop Research Institute (SCRI) ve seçici besiyeri çalışmalarında kullanılmak üzere domates tohumlarından ve domates bitkileri yüzeyinden izole edilen 22 adet bakteriyel izolat materyal olarak kullanılmıştır.

3.1. Survey Çalışmaları

2000 yaz dönemi (Şubat–Temmuz)’nde Aydın İline ait 27 köy ve ilçe merkezinde 68 üreticinin 89 serası gezilmiştir. Bu vejetasyonu takip eden güz dönemi (Kasım–Aralık)’nde ise 21 köy ve ilçe merkezinde 53 üreticinin 91 serası gezilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Survey çalışmalarında incelenen domates seraları

İlçe	Toplam sera domatesi alanı (m ²)	İncelenen sera alanı (m ²)		İncelenen sera sayısı		İncelenen sera %si	
		Yaz	Güz	Yaz	Güz	Yaz	Güz
İncirliova	236,280	4,200	28,700	5	33	1.8	12.1
Nazilli	179,672	18,500	12,250	16	8	10.3	6.8
Çine	154,800	7,200	1,500	10	2	4.7	1.0
Merkez	132,564	6,800	8,200	15	12	5.1	6.2
Germencik	81,160	5,500	12,800	6	16	6.8	15.8
Koçarlı	39,335	7,500	5,000	8	7	19.1	12.7
Sultanhisar	37,020	1,350	1,050	3	2	3.6	2.8
Karpuzlu	30,000	5,000	500	10	1	16.7	1.7
Yenipazar	6,800	1,500	500	1	1	22.1	7.4
Buharkent	26,425	3,500	–	4	–	13.2	–
Kuyucak	16,780	1,200	1,500	3	3	7.2	8.9
Söke	9,965	–	–	–	–	–	–
Bozdoğan	15,200	4,500	11,400	7	6	29.6	75.0
Didim	14,580	500	–	1	–	3.4	–
Köşk	9,000	–	–	–	–	–	–
Kuşadası	4,100	–	–	–	–	–	–
Karacasu	4,200	–	–	–	–	–	–
Toplam	997,881	67,250	83,400	89	91		

3.1.1. Örneklerin toplanması

Gidilen seralarda tüm sıra aralarına girilip tüm bitkiler incelenerek, hastalıklı bitki sayısı belirlenmiş ve yüzde hastalık oranları saptanmıştır. Hastalık belirtisi gösteren bitkiler sökülerek polietilen torbalara konmuş ve seraya ait bilgiler (Üreticinin ismi, sera alanı, mevkii) yazılarak etiketlenmiştir. Toplanan örnekler izolasyon çalışmaları için laboratuvara getirilmiş ve 24 saat içinde izolasyon çalışmalarına başlanmıştır.

3.2. İzolasyon ve Tanılama Çalışmaları

3.2.1 İzolasyon çalışmaları

Laboratuvara getirilen domates bitkilerinin belirti gösteren kısımlarından sağlıklı dokularıda içerecek şekilde parçalar alınmış, bu parçalar yüzey dezenfeksiyonu için %2’lik sodyum hipoklorür çözeltisinde veya %70’lik etil alkolde

2 dakika bekletilmiştir. Daha sonra steril damıtık su ile durulanmış ve steril kurutma kağıtları ile kurulanmıştır. Bu parçalar steril havan içinde 0.5–1 ml steril damıtık su içinde ezilmiştir. Elde edilen süspansiyondan KB (*Pseudomonas* agar F (Merck) 35 g/L + gliserin %1) (King *et al.*, 1954) ve D2an (dekstroz %1, kasein hidrolizat %0.4, yeast ekstrakt %0.2, NH₄Cl %0.1, MgSO₄.7H₂O %0.03, LiCl %0.5, tris %0.12, agar %1.5, otoklavdan sonra nalidiksik asit 28 mg/L, nyastatin 10 mg/L, polymixin B sulfat 40mg/L, sodyum azid 2 mg/L, cycloheximide 100 mg/L) (Hwang, 1975) ortamlarına ekim yapılmıştır. Inkubasyon için petriler 26°C deki inkubatöre konmuştur. Inkubatörde 48–72 saat inkubasyon sonrası KB’de UV ışık altında fluoresan pigment vermeyen koloniler ve D2an besiyerinde gelişen sarı koloniler saflaştırılarak nutrient agar içeren tüplere alınarak stoklanmış ve +4°C de saklanmıştır.

3.2.2. Bakterilerin tanılanması ve patojenisite çalışmaları

Domates bitkilerinden izole edilen bakterilerin tanılanması için şu yol izlenmiştir. Gram pozitif olan Cmm şüpheli izolatların tanılanması için ilk önce D2an besiyerinde gelişimine bakılarak sarı renkteki kolonilerin gram boyamaları yapılmıştır. Gram boyama sonunda mavimsi mor kısa çubuk şeklinde “V” biçiminde çift halinde görülen bakterilere ait izolatlar tütünde aşırı duyarlılık testlerine alınmıştır. Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu verenler ise domates bitkilerinde patojenisiteleri yapılmış ve domates bitkilerini hastalandıran izolatların biyokimyasal testleri yapılarak bu izolatların tanılama yoluna gidilmiştir. Gram negatif olan Pc ve Ecc şüpheli izolatların tanılanması için KB besiyerinde UV ışık altında fluoresan pigment vermeyen kolonilerin gram boyaması yapılmış ve gram negatif sonuç veren izolatlara yine aynı şekilde ilk önce tütünde aşırı duyarlılık testi uygulanmıştır. Pozitif sonuç verenler domates bitkilerinde patojenisiteleri yapılmış, sonucu pozitif olan izolatların biyokimyasal karakteristikleri incelenerek tanılama yoluna gidilmiştir.

a) Gram boyama

Gram boyama testi Klement (1968)'de belirtilen yöntemle göre yapılmıştır. Bu amaçla ilk önce temiz bir lam alınarak üzerine bir damla steril su damlatılmıştır. Sonra 24–48 saatlik nutrient agar besiyerinde gelişmiş olan bakteriler steril bir öze yardımıyla su damlası içinde yayılmış ve daha sonra lam hafifçe alevden geçirilerek bakteriler sabitlenmiştir. Bu lam üzerine crystal violet solusyonu damlatılarak bir dakika bekletilmiş ve lamlar çeşme suyunda yıkanmıştır. Sonra aynı lama gram iodine damlatılarak bir dakika beklenmiş ve tekrar çeşme suyunda yıkanmıştır. Daha sonra lamın üzeri %95'lik etil alkol ile yıkanıp 30 saniye beklenmiştir. En son olarak lamın üzeri safranin solüsyonu ile kaplanmış ve 2 dakika beklenmiş ardından lam yıkanmış ve temiz bir peçete ile kurulmuştur. Hazırlanan preparatlara normal ışık mikroskobunda 100 x objektif altında immersiyon yağı ile bakılmış; mavi–mor görülen bakteriler gram pozitif, pembe–kırmızı olarak görülenler de gram negatif olarak değerlendirilmiştir.

b) Patojenisite çalışmaları

Tütünde aşırı duyarlılık

Bu amaçla yetiştirilen White Burley cinsi tütün bitkileri kullanılmıştır. Nutrient agar besiyerinde 24–48 saat gelişmiş olan bakterilerden steril su ile süspansiyon hazırlanmıştır ($\sim 10^7$ hücre/ml). Bu süspansiyon steril bir enjektör yardımıyla tütün yaprağının iki yan damar arasına enjekte edilmiştir. İklim odasında 21°C de inkube edilmiş, 2–5 gün sonra belirti oluşumu için incelenmiştir. Enjekte edilen bölgenin nekroze olup derimsi bir hal alması pozitif sonuç olarak, sağlıklı olması ise negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Klement, 1968).

Domates bitkilerinde patojenisite testi

Elde edilen Cmm şüpheli bakteriyel izolatlar için uygulanan patojenisite çalışmaları şu şekilde yürütülmüştür: Bunun için 2–3 gerçek yaprağı bulunan domates bitkileri (H2274) kullanılmıştır. Kotiledon yapraklarının gövdeye bağlandığı noktanın 6–7 mm yukarısından steril bisturi ile gövde kesilerek bitkinin üst kısmı çıkarılmıştır. Mililitrede $\sim 10^9$ hücre/ml içeren süspansiyondan bu kesilen yaraya

mikropipet yardımıyla bir damla damlatılmıştır. Bu bitkilerin üzeri nemlendirilmiş polietilen torba ile kapatılıp hastalığın ortaya çıkışı için gereken nemli koşullar sağlanmıştır. 24 saat sonra bu torbalar çıkarılmıştır. 1–2 hafta içinde kotiledon yapraklarının solup kuruması pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Chaldecott and Preece, 1983).

c) Biyokimyasal tanılama testleri

Oksidaz testi

Bu test işleminde Kovacs (1956)'da belirtilen yöntemle göre %1 tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride içeren test solüsyonu kullanılmıştır. Nutrient agar besiyerinde 24–48 saat geliştirilen bakteriler, platin öze yardımıyla bir miktar alınmış ve kurutma kağıdına yayılmıştır. Daha sonra taze olarak hazırlanan oksidaz test solüsyonundan 50µl kağıt üzerindeki kültüre damlatılmış, kültürün 10 saniye içinde maviye dönmesi pozitif, 60 saniye içinde maviye dönmesi geç pozitif, 60 saniyeden sonra rengin değişmemesi negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Nitrat redüksiyonu testi

Bu test işleminde Lelliot *et al.* (1966)'da belirtilen yöntemle göre hazırlanan besiyeri (peptone 10 g, K₂HPO₄ 5 g, KNO₃ 1 g, agar 2 g, yeast extract 1 g, damıtık su 1000 ml pH=7.2) kullanılmıştır. Nitrat ayırıcı olarak solüsyon A (sulfanilik asit 400 mg, 5N asetik asit 50 ml) ve solüsyon B (1-naphthylamine 300 mg, 5N asetik asit 50 ml) kullanılmıştır. Hazırlanan besiyeri su banyosunda eritilerek vidalı kapaklı tüplere 4'er ml konmuş ve 121°C de 15 dakika otoklav edilmiştir. Nutrient agar besiyerinde 24–48 saat geliştirilen bakteriler steril özeyle alınmış ve bu tüplere batırma yöntemiyle inokule edilmiş ve 26°C'de 2 gün boyunca inkube edilmiştir. Daha sonra bu tüplerin üzerine bir damla gram iodine damlatılmıştır. Aynı bir yerde 1 ml solüsyon A ile 1ml solüsyon B karıştırılmış, bu karışımdan mikropipet yardımıyla 100 µl alınmış ve bu tüplerin üzerine damlatılmıştır. Tüplerde nitratın indirgendiğini gösteren kırmızı renk oluşması pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. 10 dakika içinde renk oluşmazsa bir bistüri ucuyla çinko tozu ilave edilmiş ve tüplerde renk oluşması negatif, renk oluşmaması ise pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

37°C’ de gelişme

Bu test işleminde Dye (1968)’de belirtilen yöntem kullanılmıştır. Nutrient agar besiyerinde 24–48 saat gelişmiş taze bakteri kültürleri steril özeyle alınmış ve nutrient agar besiyerine çizgi ekimi yapılmıştır. Bu petriler 37°C’de 48 saat inkube edilmiştir. Test sonucunda koloni oluşturan bakteriler pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Hidrojen sülfür (H_2S) oluşumu

Bu amaçla $NH_4H_2PO_4$ 0.5 g, K_2HPO_4 0.5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, NaCl 5 g, yeast extract 5 g, sodyum thiosülfat 0.5 g, damıtık su 1000 ml, (pH=7.2) olmak üzere hazırlanan besiyeri tüplere 5’er ml dağıtılmış ve 121°C de 15 dakika otoklav edilmiştir. Bu test işlemi için 0.5 cm eninde ve 12 cm uzunluğunda kurutma kağıtları kesilmiştir. Bu kurutma kağıtları %5’lik kurşun asetat çözeltisine emdirilmiş, 37°C de kurutulduktan sonra 121°C de 15 dakika otoklav edilmiştir. Daha sonra tüpler nutrient agarda geliştirilmiş 24–48 saatlik taze bakteri kültürleri ile inokule edilmiştir. Her tüp içine kurşun asetat emdirilmiş bir şerit besiyerine temas etmeyecek şekilde yerleştirilmiş ve bu tüpler 26°C de 7–10 gün süreyle çalkalama kültür şeklinde inkube edilmiştir. Test sonucunda H_2S oluşumu nedeniyle kağıt şerit siyahlaşırsa pozitif sonuç olarak, kağıt şerit siyahlaşmazsa negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Dye, 1968).

Katalaz testi

Bir damla hidrojen peroksit (%30) temiz bir lam üzerine damlatılmış ve üzerine 24-48 saatlik nutrient agarda gelişmiş bakteri kültürleri bir platin öze yardımıyla yayılmıştır. Küçük oksijen kabarcıklarının meydana gelmesi katalazın varlığını göstermiş ve pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Schaad, 1988).

Sitrat kullanımı

Bir litre damıtık su içine $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, $NH_4H_2PO_4$ 1 g, K_2HPO_4 2 g, sodyum sitrat 2 g, NaCl 5 g, bromthymol blue 0.08 g, agar 15 g gelecek şekilde karıştırılmış ve sıcak su banyosunda eritilmiştir (pH=6.8–6.9). Bu ortam su banyosunda sıcaklıkla eritilerek 5 ml olacak şekilde tüplere dağıtılmış, 121°C’de 15

dakika otoklav edilmiştir ve eğik olarak hazırlanmıştır. Test tüpleri 24-48 saatlik nutrient agar (NA) kültürleri ile inokule edilip 26°C’de 7–10 gün inkubasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda tüplerdeki ortamın mavi renge dönmesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Schaad, 1988).

Indole üretimi

Bu test için Bacto tryptone (Difco) 10 g, K₂HPO₄ 1 g, NaCl 5 g olacak şekilde 1 L damıtık su içinde eritilmiş ve 5 ml olacak şekilde tüplere dağıtılmıştır. 24–48 saatlik NA kültürlerinden inokule edilen bu tüpler 72 saat çalkalama kültür olacak şekilde 26°C’de inkubasyona bırakılmıştır. Gelişmeden sonra 0.5 ml xylol eklenmiş ve bunun üzerine daha önceden hazırlanmış olan 0.5 ml Kovacs ayırıcı (50°C’deki su banyosunda 1 g p-4 dimethylaminobenzaldehide [C₉H₁₁NO] 15 ml butil alkol içinde eritilmiş ve üzerine 5 ml HCl eklenmiştir) ilave edilmiştir. Bir dakika içinde oluşan kırmızı renk indolün varlığını göstermiş ve pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Ramamurthi, 1959).

Jelatinin hidrolize olması

Bu test için 1 litre damıtık su içine 120 g Bacto Jelatin gelecek şekilde karıştırılmış, su banyosunda eritilmiş ve 6 ml hacimlerde tüplere dağıtılmıştır. Ortamlar 121°C’de 15 dakika otoklav edilmiş, soğuyan ortamlara bakterilerin inokulasyonu yapılmış ve 26°C’de inkubasyona kaldırılmıştır. 48 saat sonra bu tüpler +4°C’de ki buzdolabına kaldırılmıştır. Buzdolabında yarım saat sonunda sıvı kalan ortamlar pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Lelliott *et al.*, 1966).

3.3. Seçici Besiyeri İle İlgili Çalışmalar

Seçici besiyeri çalışmalarında kullanılmak üzere, ortamların seçiciliğini saptamak amacıyla, D2an seçici besiyerinde gelişen 15’i tohumdan 7’si bitki yüzeyinden elde edilen toplam 22 adet bakteriyel izolat kullanılmıştır. Ayrıca bilinen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* kültürü olarak Cmm-9 izolatı kullanılmıştır.

3.3.1. Çalışmalarda kullanılan bakterilerin izolasyonu

Bu amaçla kullanılan bakteriyel izolatlar domates tohumları ve bitkileri yüzeyinden (yapraktan) izole edilmiştir. Bunun için; 24 g domates tohumu (yaklaşık 10,000 adet) veya 3–4 adet yaprakçık 150 ml steril fosfat tamponu (Na_2HPO_4 7.75 g/L; KH_2PO_4 1.65 g/L; Tween 20 0.2 ml/L, pH=7.4) içeren erlenlere alınmış, 15 dakika +4°C de (buzdolabında) inkube edilmiştir. Erlenler içerikleriyle beraber çalkalayıcıya konmuş ve 15 dakika çalkalanmıştır. Bu süspansiyondan 30 ml alınmış ve 1200 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatant atılmış ve pelletin üstüne 3 ml steril fosfat tampon (tween içermeyen) çözeltisi konarak 10^{-1} , 10^{-2} , seyreltmeler hazırlanmıştır. Ana solüsyon dahil her seyreltmeden 3'er adet olmak üzere D2an ortamına 0,1 ml bagetle yayılarak ekimi yapılmıştır. Petriler 26°C'de bir hafta boyunca inkube edilmiştir. Gelişen değişik koloniler ayrı ayrı nutrient agar besiyerine saflaştırılıp +4°C de saklanmıştır (Franken *et al.*, 1993).

3.3.2. Seçici besi yerlerinin karşılaştırılması

Cmm için geliştirilmiş olan ve sonraki sayfada içerikleri verilen yarı seçici besi yerleri; seçicilik, Cmm'in gelişmesine izin verme ve gelişme süreleri göz önünde bulundurularak karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir.

D2an (Hwang, 1975)

Dextrose.....	%1
Casein hydrolyate.....	%0.4
Yeast extract.....	%0.2
NH ₄ Cl.....	%0.1
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	%0.03
LiCl.....	%0.5
Tris.....	%0.12
Agar.....	%1.5
pH=7.8	
Otoklavdan sonra	
Nalidixic acid.....	28 mg/L
Nystatin.....	10 mg/L
Polymyxin b sulfate.....	40 mg/L
Sodium azide.....	2 mg/L
Cycloheximide.....	100 mg/L

mSCM (Waters and Bolkan, 1992)

K ₂ PO ₄ .3H ₂ O.....	%0.262
K ₂ HPO ₄	%0.05
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	%0.025
Boric acid.....	%0.15
Mannos.....	%1
Yeast extract.....	%0.01
Agar %1.2	
Otoklavdan sonra	
Nicotinic acid.....	100 mg/L
Nalidixic acid.....	30 mg/L
Cycloheximide.....	200 mg/L

SCM (Fatmi and Schaad, 1988)

Sucrose.....	%1
Yeast extract.....	%0.01
K ₂ HPO ₄	%0.2
KH ₂ PO ₄	%0.05
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	%0.025
Boric acid.....	%0.15
Agar %1.5	
Otoklavdan sonra	
Nicotinic acid.....	100 mg/L
Nalidixic acid.....	30 mg/L
Potassium tellurite.....	10 mg/L
Cycloheximide.....	200 mg/L

DYCA (tarafımızca hazırlanmıştır)

Dextrose.....	%0.2
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	%0.025
Yeast extract.....	%0.02
Casamino acid.....	%0.05
K ₂ HPO ₄	%0.2
KH ₂ PO ₄	%0.05
Agar.....	%1.8
Otoklavdan sonra	
Cycloheximide.....	200 mg/L
Nalidixic acid.....	30 mg/L

KBT (Dhanvantari, 1988)

Pseudomonas F Agar.....	%3.8
Glycerol.....	%1
Otoklavdan sonra	
Cycloheximide.....	200 mg/L
Nalidixic acid.....	30 mg/L
Potassium tellurite.....	10 mg/L

Karşılaştırma ortamı olarak nutrient dekstroz agar (NDA: nutrient agar (Merck) %2, dextrose %0.5, pH=7.2) genel besiyeri olarak kullanılmıştır.

Fosfat tampon çözeltisinde hazırlanan Cmm-9 solüsyonundan (OD₆₂₀=0.735) 1/10 luk seyreltme serileri hazırlanmış ve 6. ile 7. seyreltmelerden 200 µl olacak şekilde 3 tekerrürlü olarak besi yerlerine baget yardımıyla yayılarak ekimi yapılmıştır. Besiyerlerinin 26°C’de inkubasyonu sonunda gelişen koloniler sayılmış ve her besiyeri için mililitrede saptanabilen bakteri sayısı hesaplanmıştır. Kullanılan besi yerlerinin etkinlikleri NDA karşılaştırma besiyerinde saptanabilen mililitredeki bakteri sayısı dikkate alınarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Etkinlik} = \frac{\text{Seçici besiyerinde saptanabilen mililitredeki bakteri sayısı}}{\text{NDA besiyerinde saptanabilen mililitredeki bakteri sayısı}} \times 100$$

Bu test sırasında her besiyeri için Cmm'in gözle görülebilir koloni oluşturma süreleri de belirlenmiştir. Ayrıca besi yerlerinin Cmm'in izolasyonu sırasında elde edilen 22 adet diğer bakteriyel izolatu engelleyip engellemediği incelenmiştir. NA'da geliştirilen 24 saatlik bakterilerden fosfat tampon çözeltisi ile hazırlanan süspansiyondan (10^8) 5µl olacak şekilde alt yüzeyine 1 cm² lik 25 kare çizilmiş petrideki besi yerlerine her kareye bir izolat gelecek şekilde damlatılmıştır. Besi yerleri 26°C'de inkubasyona bırakılmış ve gelişip gelişmedikleri kaydedilmiştir. Bu testler 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

3.3.3. Engelleyicilerin testlenmesi

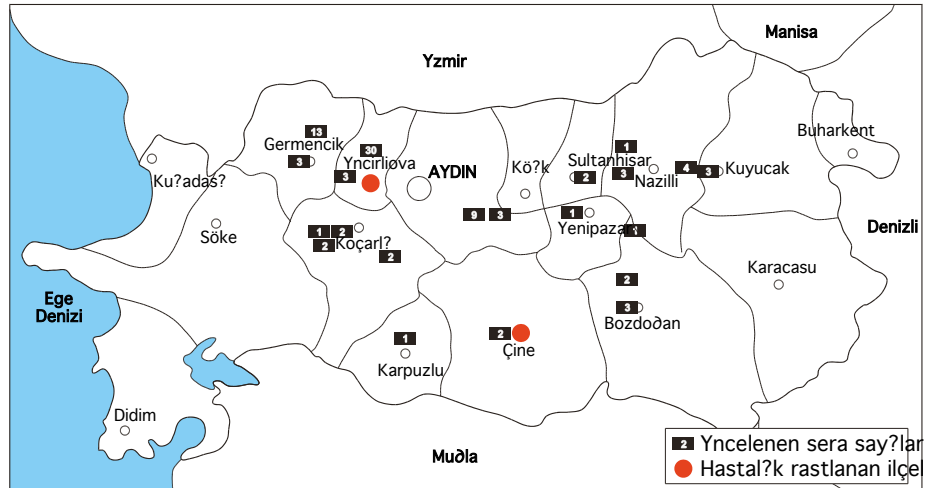
Besiyerine eklenen bazı boya ve kimyasalların Cmm ve domatesten izole edilen diğer bakterilerin gelişimine olan etkilerini saptamak ve besiyerinde Cmm'in koloni rengine etkilerini incelemek için testler yapılmıştır. Bu kapsamda; orange g, alizarin red, berberin sulfat, nile blue, eosine g, thionin, methyl orange, kresol rot ve crystal violet boyları 100 mg/L, potassium tellurite 10 mg/L konsantrasyonunda NDA besiyerine eklenmiştir. Cmm-9 ve diğer bakterilerin 24 saatlik NA kültürlerinden bakteri süspansiyonu hazırlanmış ve 5µl olacak şekilde besi yerlerine 3 tekerrürlü olarak ekim yapılmıştır. Petriler 26°C' deki inkubatöre konarak bakterilerin gelişimleri izlenmiştir.

Yukarıda belirtilen testler sonucunda, 100 mg/L konsantrasyonda Cmm'i engelleyici etkisi saptanmayan boyların bu kez Cmm kolonilerini boyama yeteneğinde olup olmadıkları araştırılmıştır. Bunun için boylar 2, 20, 40, 100, 200 mg/L doz aralıklarında, potassium tellurite 1, 2, 5, ve 10 mg/L lik dozlarda mSCM besiyerine eklenmiş ve 26°C de inkubasyon sonrası bakterilerin gelişimi ve koloni renkleri kaydedilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Survey Çalışmaları

Aralık 1999-Şubat 2000 tarihleri arasında Aydın İli ve ilçelerindeki örtü altı domates alanları gezilmiş, ancak sözü edilen tarihler arasında kışın çok sert ve donlu geçmesi nedeniyle (Ek Çizelge 1) ısıtmanın hemen hemen hiç yapılmadığı Aydın ili seralarında domatesler önemli ölçüde zarar görmüştür. Bu nedenle incelenen seralarda hastalıklı bitkilere rastlanmamıştır. 2000 yaz dönemi (Şubat-Temmuz)'nde Aydın İlinde incelenen toplam 89 domates serasından toplanan örnekler değerlendirildiğinde herhangi bir bakteriyel patojene rastlanmamıştır. Bu vejetasyonu takip eden güz dönemi (Kasım-Aralık)'nde incelenen toplam 91 domates serasından 8'inde (Şekil 1) bakteriyel hastalık belirtilerine rastlanmıştır. Bunlardan alınan örneklerden yapılan izolasyon çalışmalarında 11 izolat elde edilmiştir. Çine ilçesinde 2, Incirlioia ilçesinde 1 olmak üzere 3 serada Bakteriyel Kanser Hastalığı belirtilerine rastlanmıştır. Çine ilçesindeki iki seradaki bulunma oranları sırasıyla %1 ve %10 olarak saptanmıştır. Her 3 serada hastalıklı bitkilerden yapılan izolasyon çalışmalarından 3 adet Cmm izolatı (Cm-4, Cm-5, Cm-8) elde edilmiştir.



Şekil 1. Aydın İli'nde 2000 yılında Kasım-Aralık aylarında incelenen domates seraları ve sayıları; Incirlioia-Erbeyli 3, Nazilli-Güzelköy 4, Sultanhisar-Merkez 2, Incirlioia-Karabağ 30, Nazilli-İsabeyli 3, Kuyucak-Merkez 3, Koçarlı-Cincin 2, Merkez-Armutlu 9, Bozdoğan-Merkez 3, Koçarlı-Büyükdere 2, Merkez-Kozalaklı 3, Bozdoğan-Alamutlu 1, Koçarlı-Sabuca 1, Karpuzlu-Çobanhisar 1, Bozdoğan-Pınarlı 2, Koçarlı-Dereköy 2, Germencik-Merkez 3, Yenipazar-Dereköy 1, Nazilli-Ocaklı 1, Germencik-Alangüllü 13, Çine-Kahramanlar 2.

Aydın İli merkez ve ilçelerinde 1999–2000 yıllarında domates seralarında yapılan survey çalışmalarımız sonucunda Domates Gövde Öz Nekrozu ve diğer gövde yumuşak çürüklük grubu bakteriyel hastalıklarına rastlanmamıştır. Üstün (2000) yapmış olduğu çalışmada Ege Bölgesi domates seralarında 1997 yılında Domates Gövde Öz Nekrozu Hastalığının (Pc) yaygınlık ve bulunuş oranını araştırmış ve incelediği seralarda bu konu ile ilgili herhangi bir bakteriyel patojene rastlanmamıştır. Ancak 1998 ve 1999 yıllarında survey çalışmalarını tekrarladığında, 1998 yılında İncirliova İlçesinde bu hastalığa incelediği 4 seranın 1'inde rastlamış ve bulunma oranını %0.88 olarak belirtmiştir. 1999 yılında ise yine İncirliova İlçesinde incelediği 6 seranın 3'ünde bu hastalığa rastlamış ve bulunma oranını %1.69 olarak saptamıştır.

Demir (1990), 1989 yılında yapmış olduğu çalışmada Aydın'ın Çine ve Muğla'nın Fethiye ilçesindeki domates seralarındaki hastalıklı bitkilerden *Pseudomonas corrugata*'yı izole etmiştir.

4.2. Tanılama Çalışmaları

4.2.1. Patojenisite testleri

Survey çalışmaları sırasında incelenen 8 seradan toplanan 11 izolatın gram boyama ve tütünde aşırı duyarlık testleri yapılmış ve bunların hepsinin gram pozitif fakat 8 tanesinin tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu verdiği saptanmıştır (Şekil 2). Tütünde aşırı duyarlılık veren bu 8 izolat patojenisite için domates bitkilerine verilmiş ve bunlardan 3 tanesi domates bitkilerini hastalandırarak pozitif sonuç vermiştir (Şekil 3, Çizelge 3).



Şekil 2. Tütünde aşırı duyarlılık testinde pozitif sonuç.



Şekil 3. Domateste patojenisite testi sonucu (a: hastalıklı, b: sağlıklı).

Çizelge 3. Survey çalışmaları sonucunda elde edilen izolatların D2an besiyerinde gelişme durumları, KB’de UV ışık altında fluoresans pigment vermeleri, tütünde aşırı duyarlılık ve domatesta patojenisite sonuçları

İzolant	Alındığı yer ^a	D2an’de gelişme	KB’de UV altında fluoresans pigment	Tütünde aşırı duyarlılık	Domates bitkisinde patojenisite
Cm-1	Çine 1	+	–	–	–
Cm-3	Çine 2	+	–	–	–
Cm-4	Çine 2	+	–	+	+
Cm-5	Çine 3	+	–	+	+
Cm-6	Çine 4	+	–	–	–
Cm-7	Merkez 5	+	–	–	–
Cm-8	İncirliova 6	+	–	+	+
Cm-9	İncirliova 7	+	–	–	–
Cm-10	İncirliova 7	+	–	–	–
Cm-11	İncirliova 8	+	–	+	–
Cm-12	İncirliova 8	+	–	+	–
Cmm-9	pozitif kontrol	+	–	+	+

^a Aynı sayılar aynı seraları belirtmektedir.

4.2.2. Biyokimyasal tanılama testleri

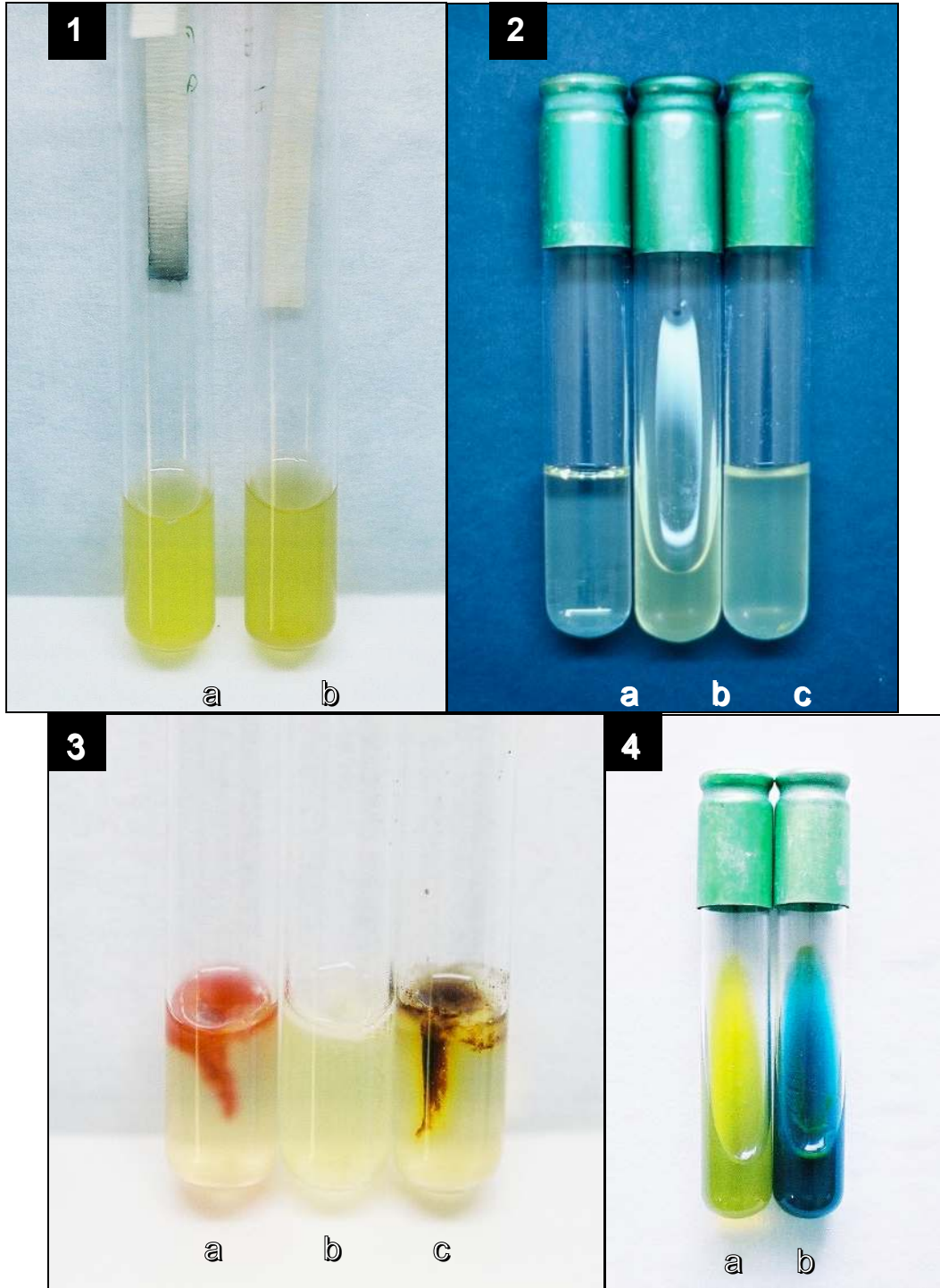
Domates bitkilerinde patojen olduğu saptanan 3 Cmm izolatı ve bilinen Cmm kültürü (Cmm-9)'ne ait biyokimyasal test sonuçları Çizelge 4'te verilmiştir (Şekil 4). Çizelge 4 incelendiğinde testlemiş olduğumuz 3 adet Cmm izolatı (Cm-4, Cm-5, Cm-8) tanınması yapılan Cmm-9 ile aynı sonuçları vermiştir. Bu bulgular Bergey's manual of determinative bacteriology'de belirtilen test sonuçları ile aynı paraleldedir (Holt *et al.*, 1994). Bu veriler dikkate alındığında Aydın İli'nde 3 serada Domates Bakteriyel Kanseri (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'in varlığı ortaya konulmuştur.

Karaca ve Saygılı (1977), Ege ve Marmara Bölgelerinde yaptıkları survey çalışmalarında Cmm'i Manisa, Balıkesir ve Çanakkale'de tespit etmişlerdir.

Kahveci ve Gürçan (1993), yaptıkları çalışmalarda Antalya İli'nde ele aldıkları tüm ilçelerdeki (Alanya, Kaş, Kumluca, Manavgat ve Merkez) sera domateslerinde Domateste Bakteriyel Kanser Hastalığına rastlamışlardır. Güllü ve Ulukuş (1985)'da bu etmenin Antalya seralarında bulunduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 4. Domates Patojenisite sonucu pozitif olan izolatların biyokimyasal test sonuçları

İzolat	Gram boyama	Oksidaz	Nitrat redüksiyonu testi	37°C gelişme	H ₂ S oluşumu	Katalaz	Sitrat kullanımı	Indole	Jelatin kullanma
Cm 4	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Cm 5	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Cm 8	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Cmm-9 (Kontrol)	+	-	-	-	+	+	-	-	-



Şekil 4. Tanılama çalışmalarında uygulanan bazı biyokimyasal testler ve sonuçları
[1: H_2S oluşumu (a: pozitif, b: negatif), 2: jelatinin hidrolize olması (a: inokulasyon yok, b: pozitif, c: negatif), 3: nitrat redüksiyonu (a: pozitif, b: negatif, c: negatif), 4: sitratı kullanma (a: negatif, b: pozitif)].

4.3. Seçici Besi Yerleriyle İlgili Yapılan Çalışmalar

Cmm için en uygun seçici besiyerinin saptanmasına yönelik, farklı araştırmacıların seçici besi yerleri kullanılarak yürütülen denemenin sonuçları Çizelge 5’de verilmiştir.

Çizelge 5. Cmm-9 izolatının NDA ve seçici besi yerlerinde gelişen koloni sayıları, besi yerlerinin etkinlikleri ve Cmm’in görülebilir koloni oluşturma süreleri

Besiyeri	Diğer bakterileri engelleme (%) ^b	Hücre/ml (Cmm) ^c	% Etkinlik	Cmm’in koloni oluşturma süresi(gün)
NDA ^a	0.0	1.64±0.06x10 ⁹	100.0	3
D2an	36.4	1.60±0.06x10 ⁹	97.3	4
MSCM	63.6	1.76±0.12x10 ⁹	107.0	6
SCM	27.3	0.33±0.11x10 ⁹	20.0	9
DYCA	36.4	2.14±0.20x10 ⁹	130.2	6
KBT	9.1	1.05±0.10x10 ⁹	64.0	3

^a Karşılaştırma besiyeri olarak kullanılmıştır.

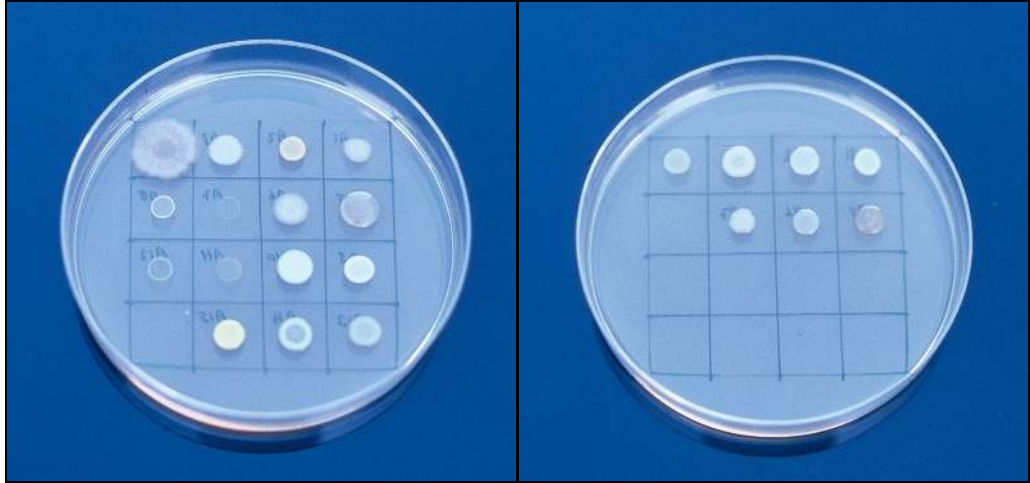
^b Cmm’in izolasyonu sırasında elde edilen diğer bakterileri engelleme oranları [22 bakteriyel izolatın engellenenlerin yüzde oranları (gelişmeyen bakteri sayısı / toplam bakteri sayısı x 100)].

^c 1 ml solüsyonda saptanabilen ortalama hücre sayısı.

Çizelge 5 incelendiğinde; seçici besi yerlerinin NDA’daki gelişen Cmm koloni sayıları dikkate alınarak yapılan karşılaştırmada etkinliği en yüksek olan besiyeri %130.2 ile DYCA olmuş, bunu %107.0 ile mSCM izlemiştir. D2an ise yaklaşık olarak NDA ile aynı etkinliği göstermiştir. SCM ise Cmm’in gelişimini %80 oranında engellemiştir. Hwang (1975) D2an ortamı ile yapmış olduğu testlerde; saprofitik toprak bakterilerinin varlığında Cmm’in tesbit edilebilme oranını %62.5 olarak bulmuştur. Fatmi ve Schaad (1988) ise kendi geliştirmiş olduğu SCM ortamının etkinliğini %107 olarak bildirmiştir. Testlenen besi yerlerinde koloni oluşturma süreleri dikkate alındığında; KBT ve NDA’da 3. günde, D2an’de 4. günde, mSCM’de 6. günde, SCM’ de ise 9. günde gözle görülebilir Cmm kolonileri saptanmıştır. Hwang (1975) yapmış olduğu çalışmada D2an besiyerinde çıplak gözle görülebilir Cmm kolonilerinin çalışmamızdakine benzer olarak 4-5 gün sonra oluştuğunu saptamıştır. Fatmi ve Schaad (1988) ise yapmış olduğu araştırmada SCM besiyerinde 7 gün sonra bakteri sayımları yaptığını bildirmiştir. Franken *et al.* (1993) SCM, KBT ve değiştirilmiş CNS besi yerleri ile yaptığı denemelerde Cmm’in

KBT’de diğer besi yerlerine göre 2–5 gün daha önce koloni oluşturduğunu belirtmiştir.

Seçici besiyerinde testlenen 22 bakteriyel (Şekil 5) izolatın gelişme durumları göz önünde bulundurulduğunda mSCM’nin %63.6 ile en seçici özelliğe sahip besiyeri olduğu bulunmuştur. D2an ve DYCA ise %36.4 oranında bir seçicilik göstermiştir. Seçiciliği en düşük ortam %9.1 ile KBT olarak bulunmuştur. Fatmi ve Schaad (1988), farklı orijinli 11 domates tohumluk partilerinden izole ettiği saprofitik bakterilerle yürüttüğü denemelerde SCM’nin ortalama %98 oranında seçicilik sağladığını bildirirken çalışmamızda bu değer bizim izolatlarımızla %27.3 olarak bulunmuştur. Franken *et al.* (1993), denemelerinde KBT besiyerinde çok fazla saprofitik bakteri geliştiğini ifade etmiştir. Bulgularımızda da KBT seçiciliği en düşük besiyeri olmuştur.



Şekil 5. Seçici besiyeri çalışmalarında kullanılan domates tohumu ve bitkileri yüzeyinden izole edilen bakteriler.

Cmm ve diğer bakterilere engelleyicilerin etkisinin araştırıldığı denemede; Nile blue ve crystal violet 100 mg/L konsantrasyonda Cmm’in gelişimini engellemiştir. Diğer boyaların Cmm üzerinde 100 mg/L konsantrasyonda engelleyici etkisine rastlanmamıştır. Cmm’in gelişmesini engellemeyen bu 7 boya ile testlenen diğer bakterilerin engellenme yüzdeleri ve Cmm kolonilerini boyaması Çizelge 6’da verilmiştir. Bu veriler dikkate alındığında kullandığımız 9 boyadan hiç birisi diğer

bakterilere karşı önemli bir engelleme oluşturmamıştır. Fatmi ve Schaad (1988) yaptığı denemelerde kullandığımız boyalardan farklı 18 boyanın Cmm’e etkisini araştırmış ve sadece potassium tellurite’in Cmm kolonilerini koyu gri boyayarak farklılık yarattığını bulmuştur. Bizim çalışmamızda da potassium tellurite Cmm kolonilerini koyu gri renkte boyamıştır.

Çizelge 6. Cmm’in gelişmesi engellemeyen boyaların (100 mg/L) diğer bakterileri engellemesi ve Cmm kolonilerini boyaması

Boyalar	Cmm kolonilerini boyama	Diğer bakterileri engelleme (%)
Orange g	–	0.0
Alizarin red	–	13.3
Berberin sulfat	–	6.7
Eosine g	–	0.0
Thionin	–	6.7
Metyl orange	–	0.0
Potassium tellurite	+ ^a	0.0 ^b

^a 5-10 mg/L doz aralığı

^b 10 mg/L

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Yapılan survey çalışmaları sonucunda incelenen seralarda toprak ve bitki artığı kaynaklı bakteriyel hastalıklara sadece 3 serada rastlanmış olması: Aydın'da sera alanlarının yeni kurulması ve bu nedenle seraların daha önceden bu hastalıklar ile bulaşmamış olmasına bağlanabilir. Ayrıca seralardaki domates bitkileri hibrit tohumlardan elde edildiği için sertifikalı olan bu tohumlardan hastalık bulaşma ihtimalinin olmayışı başka bir neden olarak düşünülebilir. İlerleyen yıllarda bu hastalık etmenleri ile sera toprağının buluşması ve Aydın iklim koşullarının toprak kaynaklı hastalık etmenlerinin hızla gelişip yayılması için uygun olması İç Anadolu ve Akdeniz Bölgelerinde olduğu gibi ürün kayıplarının meydana gelebileceği anlamına gelmektedir. Bu da temiz tohumluk ve fidelerin kullanımının gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır. Survey çalışmaları sırasında yapılan görüşmelerde bazı üreticilerin fidelerini Antalya ve Fethiye gibi bu hastalıklar ile bulaşık olan yerlerden temin ettikleri düşünüldüğünde bu hastalıkların sonraki vejetasyonlarda ortaya çıkma ihtimalini arttırmaktadır.

Bu hastalıklar ile mücadelede hastalığın sera toprağına bulaştırmadan üretim materyalinde saptamak ve eradike etmek en uygun yöntemdir. Bunun için seçici besi yerlerinin kullanımı hızlı, ucuz ve basit olması nedeniyle tercih edilebilir. Bu kapsamda Cmm'in teşhisi için yapılan seçici besiyeri çalışmalarında; mSCM'nin yüksek seçicilikte olduğu ve Cmm'in gelişimi açısından kontrol besiyeri NDA'ya yakın değerde olduğunun bulunması, bu seçici besiyerinin Cmm'in tesbiti için kullanılabilecek en iyi ortam olduğunu göstermiştir. Fakat diğer besi yerlerine göre orta düzeydeki koloni oluşturma süresi bu ortam için bir dezavantajdır. Bu besiyeri üzerinde yapılabilecek çeşitli modifikasyonlar ile besiyeri iyileştirilebilir ve Cmm'in izolasyonunda kullanılabilecek daha seçici, daha etkili ve daha kısa sürede gelişmenin sağlandığı bir besiyeri geliştirilebilir.

ÖZET

Bu çalışma, Aralık 1999-Şubat 2000 tarihleri arasında Aydın İli ve ilçelerinde örtü altı domates alanlarında *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas corrugata* ve yumuşak çürüklük grubu *Erwinia* sp. varlığını saptamak amacıyla yapılmıştır. 2000 yaz dönemi (Şubat–Temmuz)’nde Aydın İlinde incelenen toplam 89 domates serasından toplanan örnekler değerlendirildiğinde herhangi bir bakteriyel patojene rastlanmamıştır. Bu vejetasyonu takip eden güz dönemi (Kasım–Aralık)’nde incelenen toplam 91 domates serasından 8’inde bakteriyel hastalık belirtilerine rastlanmıştır. Bunlardan alınan örneklerden yapılan izolasyon çalışmalarında, Çine ilçesinde 2, Incirlioşa ilçesinde 1 olmak üzere 3 seradan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) izole edilmiştir. İzole edilen bakteriler bilinen Cmm kültürü ile karşılaştırıldığında aynı biyokimyasal karakterde olduğu ve domates bitkilerinde (H2274 çeşidi) patojen olduğu saptanmıştır. Domates seralarında yapılan survey çalışmamız sonucunda *Pseudomonas corrugata* ve diğer gövde yumuşak çürüklük grubu bakteriyel hastalıklarına Aydın İli’nde rastlanmamıştır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm)’nin bilinen 4 yarı seçici besiyerinde (D2an, SCM, mSCM ve KBT) gelişme durumu ve Cmm’ in gözle görülebilir koloni oluşturma süreleri ile bu besiyerlerinin domates tohumları ve bitkilerinden izole edilen tanılanmamış diğer bakterilere karşı seçiciliği değerlendirilmiştir. D2an, SCM, mSCM ve KBT besi yerlerinde Cmm’in gelişme oranı nutrient dextrose agar (NDA) karşılaştırma ortamı dikkate alınarak hesaplandığında sırasıyla %97.3, %20.0, %107.0 ve %64.0 olarak bulunmuştur. Tanılanmamış diğer 22 bakteri izolatının gelişimlerinin engellenmesi D2an’de %36.4, SCM’de %27.3, mSCM’de %63.6 ve KBT’de %9.1 olarak saptanmıştır. Cmm’in görünebilir kolonileri KBT ve NDA’da 3 günde, D2an’de 4 günde, mSCM’de 6 günde ve SCM’de 9 günde meydana gelmiştir. Ayrıca bazı boyaların (orange g, alizarin red, berberin sulfate, Nile blue, eosine g, thionin, methyle orange, kresol rot ve crystal violet) Cmm’in ve tanılanmamış bakteri izolatlarının gelişimini engellemesi ve kolonilerin farklılaşması yönünden etkisi incelenmiştir. Nile blue ve crystal violet, Cmm’i 100 µg/ml konsantrasyonda gelişimini engellemiş ancak boyalardan hiç biri Cmm kolonilerini boyamamıştır.

SUMMARY

Through this study, tomato plants grown in greenhouses of Aydın province were investigated to determine *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas corrugata* and soft rot *Erwinia* sp. in 1999-2000. No bacterial pathogen was found in tomato plants from 89 greenhouses examined in summer 2000. Eight out of 91 tomato growing greenhouses were found to be infected with bacterial disease in surveys carried autumn 2000. According to laboratory examinations, three Cmm were isolated from one greenhouse in Çine and two greenhouses in İncirliova. All Cmm suspected isolates showed the same bio- chemical characteristics as the know Cmm isolate (Cmm-9) and were found pathogenic on tomato plants (cv H2274). According to survey in tomato plants grown in greenhouses of Aydın, *Pseudomonas corrugata* and soft rot *Erwinia* sp. were not found in Aydın province. Four semi selective agar media (D2an, SCM, mSCM and KBT) were evaluated for the recovery and visible colony forming time of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) and the selectivity of unidentified bacterial isolates from tomato seed and plants. Recovery of Cmm on D2an, SCM, mSCM and KBT in comparison to nutrient dextrose agar (NDA) medium ranged from 97.3%, 20.0%, 107.0% and 64.0%, respectively. Percent reduction of unidentified bacteria was 36.4% on D2an, 27.3% on SCM, 63.6% on mSCM and 9.1% on KBT. Visible colonies of Cmm were observed after 3 days on KBT and NDA, 4 days on D2an, 6 days on mSCM and 9 days on SCM medium. The dyes (orange g, alizarin red, berberin sulfate, nile blue, eosine g, thionin, methyle orange, kresol rot and crystal violet) were also tested for inhibitory effect and colony differentiation of Cmm and the unidentified bacteria. Nile blue and crystal violet inhibited Cmm at 100µg/ml concentration but none of the dyes induced pigmentation of Cmm colonies.

TEŞEKKÜR

Araştırma konumun seçiminde ve çalışmalarım sırasında büyük katkı ve yardımlarını gördüğüm değerli danışman hocam Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU'na teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- Abak, K., O., Erkan, B., Eser, N., Halloran, R., Yanmaz, N., Sarı ve H., Ekiz, 2000. Sebze tarımında 2000 lerde üretim hedefleri. V. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 17-21 Ocak, Ankara, 133s.
- Alippi, R. M., L. Ronco and H. E., Alippi, 1993. Tomato pith necrosis caused by *Pseudomonas corrugata* in Argentina, *Plant Disease*, 77: 428.
- Anonymous, 1982. Data sheets on quarantine organisms, EPPO publication series Vol:12, No: 1, 1-6p.
- Anonymous, 1995. Tarımsal Yapılar ve Üretim. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Ankara, 8-313.
- Anonymous, 1999. Tarım istatistikleri özeti, 1979-1998. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Yayın No:2275.
- Ark, P. A., 1944. Studies on bacterial canker of tomato. *Phytopathology* 34: 394–400.
- Baş, B. ve Ö. Çınar, 1995. Domates gövde öz nekrozu etmeni *Pseudomonas corrugata*'nın tanısı. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, s392-396, 26-29 Eylül, Adana.
- Bradbury, J. F., 1987. *Pseudomonas corrugata*, CMI Description of Pathogenic Fungi and Bacteri No: 893.
- Bremer, H., G., Karel, K., Bıyıkoglu, N., Göksel ve F. Petrak, 1952. Türkiye'nin parazit mantarları üzerinde incelemeler (Schizomycetes, Oomycetes, Ascomycetes II). İ. Ü. Fen Fakültesi Mecmuası, 17: 145–160.
- Bryan, M. K., 1930. Stuies on bacterial canker of tomato. *J. Agric. Res.* 4: 825–851.
- Buonaurio, R., A., Karofilakis and M., Scortichini, 1993. Occurrence of *Pseudomonas corrugata* Roberts et Scarlett on tomato plants in Cret, *Phytopath Medit.*, 32: 245–246.

- Carroll, N. B., G., Echandi and P. B., Shormakes, 1992. Pith necrosis of tomato in Western North Carolina etiology and influence of cultural practices on its incidence and severity, *Technical Bulletin North Carolina Agricultural Research Service*, No: 300, 24, 22p.
- Catara, V. and G., Albanese, 1993. La necrosi del midollo del pomodoro in Sicilia, *Inf. Fitopatol.*, 9:42–44.
- Chaldecott, M. A. and T. F., Preece, 1983. The use of a tomato cotyledon test to identify *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*. *Plant Pathology*, 32, 441-448.
- Clark, R. G. and D. R. W, Watson, 1986. New plant disease record in New Zealand: tomato pith necrosis caused by *Pseudomonas corrugata*, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 29: 105–109.
- Çınar, Ö., 1980. Bakteriyel Domates Solgunluğu Hastalığı (*Corynebacterium michiganensis* (E.F. Smith) Jensen)'nın tanımı, savaş yöntemleri ve etmene karşı dayanıklı domates çeşitleri üzerinde araştırmalar. Ç.Ü Ziraat Fakültesi Yayınları No: 129, Adana, 33.
- Çınar, Ö. ve Y. Aysan, 1995. Doğu Akdeniz Bölgesi domates seralarında yumuşak çürüklük etmeni *Erwinia* türlerinin tespiti. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, s426-428, 26-29 Eylül, Adana.
- Demir, G. ve M. Gündoğdu, 1988. Ege Bölgesi seralarında görülen domates gövde nekrozu hastalığı. V. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildiri Özetleri, s59, 18-21 Ekim 1988 Antalya.
- Demir, G., 1990. Türkiye'de domateste *Pseudomonas corrugata*'nın ortaya çıkışı. *The Journal of Turkish Phytopathology*, Vol 19, No 2, p63-70, May.
- Dhanvantari, B.N. and V.A., Dirks, 1987. Bacterial stem rot of greenhouse tomato: Etiology, spatial distribution and the effect of high humidity, *Phytopathology*, 77: 1457–1463.

- Dhanvantari, B. N., 1988. Comparison of selective media for isolation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Phytopathology*, 78: 1694. (Abstract)
- Dreier, J., A., Bempohl and R., Eichenlaub, 1995. Southern hybridization and PCR for specific Detection of Phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Phytopathology* 85: 462–468.
- Dye, D. W., 1968. A taxonomic study of the genus *Erwinia*. I. the amylovora, group N.Z.J. Science 11: 590–607.
- Fatmi, M. and N. W., Schaad, 1988. Semiselective agar medium for isolation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from tomato seeds. *Phytopathology* 78: 121–126.
- Fiori, M., P., Corda and C., Carta, 1983. Agente della “ necrosi del midollo” del pomodoro (*Lycopersicum esculentum* Mill), Rivisia di Patologia Vegetale, 19: 21–27.
- Franken, A. A. J. M., G. C. Kamminga, W. Snijders. P. S. Van Der Zouwen and Y. E. Birnbaum, 1993. Detection of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in tomato seeds by immunofluorescence microscopy and dilution plating. *Neth. J. Pl. Path.* 99(1993) 125–137.
- Grogan, R. G. and J. B., Kendrick, 1953. Seed transmission, mode of overwintering and spread of bacterial canker of tomato caused by *Corynebacterium michiganense*. *Phytopathology* 43:473.
- Güllü, M. and İ. Ulukuş, 1985. Studies on the pathogenicity and the identification by using serological methods of a bacterial agent (*Corynebacterium michiganensis* pv. *michiganensis* (Smith) Jensen) which causes tomato wilt in greenhouses of Antalya province. *J. Turkish Phytopath.*, 14: 65–68.
- Hayward, A. C. and J. M., Waterston, 1964. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria, No:19.

- Holt, J. G., N. R., Krieg, P. H. A., Sneath, J. T., Staley and S. T., Williams, 1994. *Clavibacter*. Bergey's manual of determinative bacteriology 9th edition. Williams & Wilkins, Baltimore, 787p.
- Hwang, R. C., 1975. Ecological studies of *Corynebacterium michiganense* the tomato canker pathogen, Hawaii, (Master Thesis) 194. USA., 1975.
- Kado, C. I. and M. G., Heskett, 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60: 969–976.
- Kahveci E. ve A. Gürcan, 1993. Antalya İlindeki domateslerdeki bakteriyel hastalık etmenlerinin tespiti. *Bitki Koruma Bülteni*, Cilt 33, No 3-4, s147-151, Temmuz-Aralık.
- Karaca, İ. ve H., Saygılı, 1977. Domateslerde bakteriyel hastalıklar. İzmir Bölge Zirai Mücadele ve Karantina Başkanlığı, Yayın No: 1, İzmir, 22.
- Karahan, O., 1965. Muhtelif sebzelerde zararlı hastalık amilleri ve mücadeleleri. Tarım Bakanlığı Ankara Zirai Mücadele Enstitüsü Müdürlüğü Sayı: 42, Ankara, 52.
- King E. O., M. K. Ward and D. E. Raney, 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 44:301-307.
- Klement, Z., 1968. Pathogenicity factors in regard to relationships of phytopathogenic bacteria. *Phytopathology*, 58: 1218–1222.
- Kohn, S., 1982. First occurrence of *Pseudomonas corrugata* as causal agent of tomato pith necrosis in the German Federal Republic, *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 34(6): 81–82.
- Kovacs, N., 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*, London, 70: 703.

- Kuwata, H. O. and K., Oikawa, 1989. Tomato pith necrosis in Aomori Prefecture, (1) Isolation of *Pseudomonas corrugata* Roberts et Scarlett 1981 and *Pseudomonas viridiflava* (Burkholder, 1930) Dowson 1939 from disease plants, Annual Report of the Society of Plant Protection of North Japan, 40:56–58.
- Lai, M., D. C., Opgenorth and J. B., White, 1983. Occurrence of *Pseudomonas corrugata* on tomato in California, *Plant Disease*, 67:110–112.
- Lelliot, R. A., E., Billing and A. C. Hayward, 1966. A Determinative scheme for the Fluorescent plant pathogenic Pseudomonads. *Journal of Applied bacteriology*. 29: 470–489.
- Lopez, M. M. and Noval, 1980. Bacterial diseases of tomato in Spain, In: Proceeding of the Fifth Congress of the Medeterranean Phytopathological Union, Athens, Greece: Hellenic Phytopathological Society, 140–141.
- Malathrakis, N. E., and D. E. Goumas, 1987. Bacterial soft rot of tomato in plastic greenhouses in Crete. *Ann. appl. Biol.* 111: 115–123.
- Mijatovic, M., N., Marinkovic, Z., Markovic and Z., Alecsiz, 1988. *Pseudomonas* sp. prouzrokovac nekroze srzi I uvenuca paradajza, *Zastita Bilja* 39: 89–93.
- Naumann, K., 1980. Die “bakterielle stengelmark–nekrose der tomate”– ein neues krankheitsbild in gewachshauskulturen, *Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR*, 34: 226–231.
- Olsson, K., 1986. Tomato pith necrosis, caused by *Pseudomonas corrugata* Roberts et Scarlett, a new disease of tomato plants in Sweden. *Vaxtskyddsnotiser* 50, 20–27.

- Öktem, Y. E., 1984. Domates bakteriyel solgunluğu (*Corynebacterium michiganense*)'nun Ankara İlinde yayılışı, etmenin toprak ve bitkiden izolasyonu ile bitki artıklarında yaşama süresi üzerinde çalışmalar. Türkiye'de Sertifikalı ve Kontrollü Tohumluk Üretim ve Dağıtım Sorunları Simpozyumu, 8-10 Şubat, s27, Ege Üniversitesi Atatürk Kültür Merkezi, İzmir.
- Öktem, Y. E., 1985. Domates Bakteriyel Solgunluğu (*Corynebacterium michiganense*)'nun Ankara İlinde yayılışı, etmenin toprak ve bitkiden izolasyonu ile bitki artıkları üzerinde yaşama süresi üzerinde çalışmalar. Türkiye'de Sertifikalı ve Kontrollü Tohumluk Üretim ve Dağıtım Sorunları Simpozyumu. 8–10 Şubat 1985 İzmir. Tübitak Yayınları No: 612, Ankara, 682.
- Öktem, Y. E. ve K. Benlioğlu, 1993. Orta Anadolu Bölgesinde domates ekim alanlarında bakteriyel hastalıklar üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, Cilt 33, No: 1-2, Mart – Haziran 1993.
- Paulin, J. P., 1979. “Necrose de la moelle” ou “moelle noire”, in: Les Maladies des Plantes. III. Journees Françaises d'Etudes et d'Informations, Paris, France, Association de Coordination Technique Agricole, 505.
- Popkova, K. V. and O. N., Nosova, 1989. Osobennosti razvitiya bakteriozov tomatu u teplichnoj kulture, *Izvestiya Timiryazevskoj Sel'skokhozyajstvennoj Akademii*, 1: 100–1006.
- Ramamurthi, C. S., 1959. Comparative studies on some Gram–positive phytopathogenic bacteria and their relationship to the *Corynebacteria*. *Mem. Cornell agric. Exp. Sta.* 366, 52 pp.
- Rodrigues Meto, J., V. A., Malavolta, R. S. Ramos and C. Sinigaglia, 1990. Occurrence de *Pseudomonas corrugata* em tomateiro no Estado de Sao Paulo. *Summa Phytopathologica*, 16: 279–284.

- Scarlett, C. M., J. T., Fletcher, P., Roberts and R. A., Lelliot, 1978. Tomato pith necrosis by *Pseudomonas corrugata* n. sp., *Annals of Applied Biology*, 88:105–114.
- Schaad, N. W., 1982. Detection of seed born bacterial plant pathogens. *Plant Dis.* 66: 885–890.
- Schaad, N. W., 1988. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 2nd edition. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota, 158p.
- Schaad, N. W., S. S. Cheong, S., Tamaki, E., Hatziloukas and N. J., Panopoulos, 1998. A combined Biological and enzymatic amplification (Bio-PCR) technique to detect *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in bean seed extracts. *Phytopathology* 85: 243–248.
- Scortichini, M., 1989. Occurrence in soil and primary infections of *Pseudomonas corrugata* Roberts et Scarlett, *Journal of Phytopathology*, 125: 33–40.
- Sesto, F., R., Areddia and V., Carata, 1996. Identification of *Pseudomonas corrugata* in tomato plantlets in the nursery, *Informatore Fitopatologico*, 46 (1): 62–64.
- Sevgican, A., 1981. Sebzelerin bileşimleri ve insan beslenmesi ve sağlığındaki yeri ve kış boyunca taze olarak saklanmaları. Ege Üniv. Matbaası, Yayın No: 419. İzmir.
- Sevgican, A., 1999. Örtüaltı Sebzeciliği. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 528, s302.
- Sevgican, A., Y., Tüzel, A., Gül ve R. Z., Eltez, 2000. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 17-21 Ocak, Ankara, 1133s. Cilt 679-707.
- Shoemaker, P. B. and F., Echandi, 1976. Seed and plant bed treatment for bacterial canker of tomato. *Plant Dis. Rep.* 60: 163–166.
- Strider, D. L., 1967. Survival studies with the tomato bacterial canker organism. *Phytopathology* 57: 1067–1071.

- Thyr, B. D., 1969. Assaying tomato seed for *Corynebacterium michiganense*. *Plant Dis. Rep.* 53: 858–860.
- Thyr, B. D., E., Webb, C. A., Jaworski and T. J., Rateliffe, 1973. Tomato bacterial canker: control by seed treatment. *Plant Dis. Rep.* 57: 974–977.
- Tokgönül, S., 1993. Akdeniz Bölgesinde örtü altında yetiştirilen domateslerde bakteriyel hastalıkların tespiti üzerine ön çalışmalar. *Zirai Mücadele Araştırma Yıllığı*, No:28-29, s129, 1993-1994, Ankara.
- Tokgönül, S., 1995. Akdeniz Bölgesinde örtü altında yetiştirilen domateslerde sorun olan bakteriyel hastalıklar. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, s402-406, 26-29 Eylül, Adana.
- Trigalet, A. and B., Rat, 1976. Immunofluorescence as a tool for detecting the internally borne bacterial disease: *Corynebacterium michiganense* (E. F. Smith) Jensen and *Pseudomonas phaseolicola* (Burkholder) Dowson. 15th. International Workshop on Seed Pathology, Paris. International Seed Testing Association. CH–8046 Zurich, Switzerland.
- Ulukuş, İ., 1982. Elazığ, Diyarbakır ve Mardin illerinde domates ve biberlerde bakteriyel hastalıkların surveyi, belirtileri, etmenlerin tanısı ve en önemlisine karşı korunma çareleri üzerinde araştırmalar. Doktora tezi.
- Üstün, N., 2000. Ege bölgesi domates seralarında öz nekrozu hastalığına neden olan bakteriyel etmenler üzerinde araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 2000.
- Van Vaerenberg, J. P. C. and J. F., Chauveau, 1987. Detection of *Corynebacterium michiganense* in tomato seed lots. *Eppo Bull.* 7: 131–138.
- Vogelsanger, V. J. and R., Grimm, 1983. Bakterienkrankheiten in unseren tomatenkulturen, verursacht durch *Corynebacterium michiganense*, *Pseudomonas syringae* var. *tomato* und *Pseudomonas corrugata*, *Gesunde Pflanzen*, 35:222–225.

- Vural, H., D., Eşiyok ve İ., Duman, 2000. Kültür sebzeleri, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Bornova, İzmir, 2000, s440.
- Waters, C. M. and H. B., Bolkan, 1992. An improved semi-selective medium for detecting *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds. *Phytopathology* 82:1072.
- Wick, R. L. and K. K., Rane, 1990. Occurrence of tomato pith necrosis caused by *Pseudomonas Corrugata* in Massachusetts, Plant Disease, 74: 80.
- Zutra, D. and G., Kritzman, 1983. New bacterial diseases in Israel, *Phytoparasitica*, 11: 3-4.

EKLER

Ek Çizelge 1. Aydın İli'nde 1999 yılında Ocak-Nisan aylarında minimum, maksimum sıcaklık değerleri ve yağış miktarları.

Günler	Ocak			Şubat			Mart			Nisan		
	Sıcaklık		Yağış	Sıcaklık		Yağış	Sıcaklık		Yağış	Sıcaklık		Yağış
	Min.	Maks.		Min.	Maks.		Min.	Maks.		Min.	Maks.	
1	3.6	15		7.5	19	9.5	6.4	20		7.3	16.8	0.9
2	5.4	16.6		7.6	16	11.4	6.7	18.7		6.6	19.4	
3	6	10.2		3.8	14		6.4	20.6		9	15.2	
4	9.2	14.5	14.6	1.7	10		7.6	22.3		9.3	17.6	3.4
5	9	15.3	7.5	0.8	12.1	3.3	13	22.6	0.1	9.8	16.7	2.4
6	5	15.7		3	12.7	0.6	7.6	22.6	0.1	8.1	21.4	1
7	4.4	16.2		6.3	10.2	11.2	8.2	23		9.2	22.7	0.8
8	3.4	17		0.9	12.3	8.9	9	23		8.5	23.4	
9	7.7	15		7.5	16	8.6	6.6	16.4	6.7	9	24.3	
10	10	15.1		5.4	16	1.2	4.5	19.4		11.4	24.5	
11	9.4	17.5	0.3	9	17.1		5.6	21		13.4	18	
12	9.8	17.7		8.8	14.4		6.2	20.6		11.6	19.8	5.9
13	8.8	18		7.4	13.6	23.1	7.4	22		9	20.2	11.1
14	7.4	15.7		6.4	13.2	17.8	7	21.6		12.5	21.2	0.8
15	9.4	17.6	1.2	7	15.2	12.5	4	16.7		9	23.6	
16	5.6	13.4	3	7.4	11.2	2.6	2	16.7		11	27.1	
17	2.8	16.4		7.2	8.4	3.6	6.3	15	3.6	13	27.1	
18	4	12.8		3.3	12.5	10	14	18.3	1.4	15	29.2	
19	1.1	13		2.4	9.6	18	11.6	17.2	7	13.1	21.8	
20	0.9	14.6		-1.2	11		8.2	12.6	4.3	8.5	22.9	
21	3.7	12.6		3.8	17.7		6.4	14.2	1	8.6	23.7	
22	7.1	11.7	4.1	10	13	0.3	2.1	13.6		9.4	25.2	
23	7	16.3	3.6	11.6	19.5	7.4	3.2	17.2		10.8	27.8	
24	3	14.4		5.6	14.9	0.2	7.2	13.6		12.6	28.1	
25	2	15.5		1.8	15	11.5	5.8	20.3	15.8	10.8	28	
26	3.4	11.4		3.4	16.6		6	21.2		16.4	25.4	
27	2.9	15.2	0.7	4.4	18.2		7	20.2		10.4	26.3	
28	5.7	13.4	0.8	5.4	19.2		11.9	15.5	3.4	11.9	27.2	
29	8.8	11.5	18.5				10.4	12.6	4.8	12.8	27.3	
30	7.7	12.2	17.1				7.3	15.2	11	12.5	30.3	
31	6.2	11.7	16.6				8.7	18.6	2.6			

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında İstanbul’da doğdu. İlk, orta öğrenimini İzmir’de, Lise öğrenimini Eskişehir’de tamamladı. 1997 yılında Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi’nin Bitki Koruma Bölümü’nden mezun oldu. Aynı sene mezun olduğu bölümde Yüksek Lisansa başladı. Halen Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü’nde Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.