ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Şebnem TİRENG KARUT

ORGANİK TARIMDA DOMATES BAKTERİYEL SOLGUNLUK HASTALIĞI ETMENİNE (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) KARŞI KULLANILABİLECEK TOHUM UYGULAMALARI

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA, 2011

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORGANİK TARIMDA DOMATES BAKTERİYEL SOLGUNLUK HASTALIĞI ETMENİNE (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) KARŞI KULLANILABİLECEK TOHUM UYGULAMALARI

Şebnem TİRENG KARUT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu Tez 10/02/2011 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/~~Oyçokluğu~~ ile Kabul Edilmiştir.

…….....	…….....	..……..
Prof. Dr. Yeşim AYSAN	Yrd. Doç. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU	Yrd. Doç. Dr. Mustafa MİRİK
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL

Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: ZF2010YL27

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORGANİK TARIMDA DOMATES BAKTERİYEL SOLGUNLUK HASTALIĞI ETMENİNE (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) KARŞI KULLANILABİLECEK TOHUM UYGULAMALARI

Şebnem TİRENG KARUT

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Yıl : 2011, Sayfa: 62
Jüri : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Yard. Doç. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU
Yard. Doç. Dr. Mustafa MİRİK

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* adlı bakteri domateste bakteriyel solgunluk hastalığına neden olur. Bu hastalık tarlada ve örtü altında tüm dünyada önemli sorunlardan biridir. Bakteriyel solgunluk hastalığına karşı yeterli ve etkili bir mücadele yöntemi bulunmamaktadır. Bu çalışmada, tohum kökenli inokulumun yok edilmesi veya azaltılmasında organik tarımda kullanılabilecek farklı tohum uygulamalarının etkinlikleri araştırılmıştır. Tohum uygulaması olarak antagonist bakteri, Serenade, ISR 2000, sodyum hipoklorit, üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit denenmiştir. Ayrıca, uygulamaların tohumun çimlenme gücüne etkisi de araştırılmıştır.

Yapılan tohum uygulamalarının tohumdaki bakteri popülasyonunu %77-100, bulaşık tohum sayısını % 31-100 oranında azalttığı belirlenmiştir. Sodyum hipoklorit, üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit uygulamaları başarılı tohum uygulamaları olarak saptanmıştır. Fakat sıcak su uygulaması tohumların çimlenme gücünü % 12.5 oranında azaltmıştır. Ayrıca laktik asit ve sodyum hipoklorit uygulamalarında az sayıda olsada tohumda bulaşıklık saptanmıştır. Sonuç olarak, uygulamaların etkinliği ve çimlenme düzeyleri dikkate alındığında organik tarım yetiştiriciliğinde *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı tohum uygulaması olarak üzüm sirkesi ve elma sirkesi uygulamalarının daha başarılı olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Domates, *Clavibacter*, Tohum uygulamaları, Organik tarım

ABSTRACT

MSc THESIS

USABLE SEED TREATMENTS FOR TOMATO BACTERIAL WILT DISEASE AGENT (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) IN ORGANIC PRODUCTION

Şebnem TİRENG KARUT

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Year : 2011, Sayfa: 62
Jüri : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Asst. Prof. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU
Asst. Prof. Dr. Mustafa MİRİK

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* causes bacterial wilt disease on tomato. The disease is one of the important problems in greenhouses and open fields all over the world. There is no effective control of bacterial wilt disease on tomato. In the study, effectiveness of different seed treatments in the elimination or decrease of seed-born inoculum was investigated for organic tomato production. Antagonistic bacterium, Serenade, ISR 2000, sodium hypochloride, vinegar from grape, vinegar from apple, hot water and lactic acid were tested as seed treatments. In addition, effects of the seed treatments on seed germination were evaluated.

It was detected that bacterial populations on seeds and contaminated seeds were decreased as 77-100% and 31-100% ratios by the seed treatments, respectively. Sodium hypochloride, vinegar from grape, vinegar from apple, hot water and lactic acid were found effective seed treatments. But seed germination was reduced 12.5% ratio by hot water application. Reduced numbers infected seeds were also detected in lactic acid and sodium hypochloride treatments. Therefore, vinegar from grape and vinegar from apple can be recommended as the best seed treatments for organic tomato production based on effectiveness and seed germinations.

Key Words: Tomato, *Clavibacter*, Seed treatment, Organic production

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve bana "Organik Tarımda Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmenine (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) Karşı Kullanılabilecek Tohum Uygulamaları" konulu yüksek lisans tezini veren, yönlendirici fikirleri ile bana daima sabırla yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yeşim AYSAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca jüri üyeleri Sayın Yard. Doç. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU ve Sayın Yard. Doç. Dr. Mustafa MİRİK'e katkılarından dolayı teşekkür ederim.

İklim odası olanaklarından yararlanmamı sağlayan ve tezim süresince desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ali ERKILIÇ'a yürekten teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında emeği geçen değerli arkadaşlarım Dr. Raziye ÇETİNKAYA YILDIZ ve eşi Yük. Zir. Müh. Suat YILDIZ'a teşekkür ederim. Ayrıca laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan Arş. Gör. Sümer HORUZ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımda kullandığım ISR 2000 ve Serenade'ı bana sağlayan Yük. Zir. Müh. Özlem SOYKAN ve Dr. Ayşegül ÇOLAK'a teşekkür ederim.

Tezim süresince bana destek veren Çukurova Tarım İşletmesi Müdürü Sayın M. Kasım VURAL, Müdür Yardımcısı Sayın Süleyman KESKİN ve Bitki Üretim Şube Şefi Sayın Bülent ÖZMERMER'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince beni yalnız bırakmayan ve her türlü desteklerini esirgemeyen annem, babam, kızım Didem KARUT ve eşim Kamil KARUT'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ…… I
ABSTRACT……..... II
TEŞEKKÜR……..... III
İÇİNDEKİLER…… IV
ÇİZELGELER DİZİNİ…… VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ…….. X
1. GİRİŞ……... 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR…… 11
3. MATERYAL VE YÖNTEM…….…….. 21
3.1. Materyal……..... 21
3.2. Yöntem……... 22
3.2.1. Rifampisine Dayanıklı Mutant Bakteri Elde Edilmesi……. 22
3.2.2. Potasyum Hidroksit Testi (KOH) ile Gram Reaksiyonunun Belirlenmesi……. 23
3.2.3. Patojenite Testi…….. 23
3.2.4. Akşamsafası (*Mirabilis jalapa* L.) Bitkisinde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu……... 23
3.2.5. Domates Tohumlarının Patojenle Yapay İnokulasyonu…… 24
3.2.6. Farklı Tohum Uygulamaları…….. 24
3.2.6.1. Antagonist Bakteri (K2C) Uygulaması... 24
3.2.6.2. Serenade Uygulaması…….. 24
3.2.6.3. Bitki Aktivatörü Olarak ISR 2000 Uygulaması…….. 25
3.2.6.4. Sodyum hipoklorit (NaOCl) Uygulaması…….. 25
3.2.6.5. Üzüm Sirkesi Uygulaması……... 25
3.2.6.6. Elma Sirkesi Uygulaması…… 26
3.2.6.7. Sıcak Su Uygulaması…….. 26

3.2.6.8. Laktik Asit Uygulaması…….. 26
3.2.7. Patojenle Bulaştırılan Tohumlardaki Bakteri Populasyonunun Saptanması……. 26
3.2.8. Farklı Tohum Uygulamalarının Tohumdaki Bakteri Populasyonuna Etkisi…… 27
3.2.9. Patojenle Bulaştırılan Tohumlardaki Bulaşık Tohum Oranının Saptanması……. 27
3.2.10 Farklı Tohum Uygulamalarının Bulaşık Tohum Oranına Etkisi…… 28
3.2.11. Farklı Tohum Uygulamalarının Tohum Çimlenme Gücüne Etkisi…… 28
3.2.12. Saksı Çalışmaları……... 29
4. BULGULAR…… 31
4.1. Rifampisine Dayanıklı Mutant Bakteri Elde Edilmesi……. 31
4.2. Potasyum Hidroksit Testi (KOH) ile Gram Reaksiyonunun Belirlenmesi……. 31
4.3. Patojenite Testi……. 31
4.4. Akşamsafası (*Mirabilis jalapa* L.) Bitkisinde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu…….. 32
4.5. Patojenle Bulaştırılan Tohumlardaki Bakteri Popülasyonunun Saptanması…… 33
4.6. Farklı Tohum Uygulamalarının Tohumdaki Bakteri Popülasyonuna Etkisi……... 33
4.7. Patojenle Bulaştırılan Tohumlardaki Bulaşık Tohum Oranının Saptanması…… 35
4.8. Farklı Tohum Uygulamalarının Bulaşık Tohum Oranına Etkisi……. 35
4.9. Farklı Tohum Uygulamalarının Tohum Çimlenme Gücüne Etkisi……. 38
4.10. Saksı Çalışmaları…….. 39
5. TARTIŞMA……. 43

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER……... 49
KAYNAKLAR…..……..... 51
ÖZGEÇMİŞ……..... 59
EKLER…….... 61

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 1.1. Ülkelere göre domates üretimi (FAO, 2009 yılı verileri)……..... 2

Çizelge 1.2. Organik tarımda bitki koruma amacıyla kullanılabilecek maddeler …..... 10

Çizelge 4.1. Farklı tohum uygulamalarının tohumdaki bakteri populasyonuna etkisi..... 34

Çizelge 4.2. Farklı tohum uygulamalarının bulaşık tohum sayısına etkisi …..... 36

Çizelge 4.3. Farklı tohum uygulamalarının domates tohumlarının çimlenme gücüne etkisi ……..... 39

Çizelge 5.1. Farklı tohum uygulamalarının domates tohumlarında bakteri populasyonu, bulaşık tohum sayısı ve çimlenme gücüne etkisi……..... 45

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 1.1. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in neden olduğu sistemik enfeksiyon sonucu oluşan solgunluk görünümü…… 5

Şekil 1.2. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in neden olduğu yaprak yanıklığı…….. 5

Şekil 1.3. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in neden olduğu iletim demetlerindeki renklenme belirtileri…… 6

Şekil 1.4. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in neden olduğu lokalize enfeksiyon sonucu oluşan lokal yaprak yanıklıkları……... 6

Şekil 4.1. Rifampisin içeren Psf besi yerinde bu antibiyotiğe dayanıklılık kazanmış patojenin koloni gelişimi……. 31

Şekil 4.2. Rifampisine dayanıklı mutant bakteri izolatının patojenite testinde oluşturduğu hastalık belirtisi…….. 32

Şekil 4.3. Rifampisine dayanıklı mutant bakteri izolatının *Mirabilis jalapa* L. (Akşamsafası) bitkisinde oluşturduğu aşırı duyarlılık reaksiyonu……... 32

Şekil 4.4. Sadece patojenle bulaştırılmış 1 g tohumdan yapılan izolasyonda, -1 seyreltmede gelişen bakteri kolonileri (A). Patojenle bulaştırılmış ve ISR 2000 uygulanmış 1 g tohumdan yapılan izolasyonda, -1 seyreltmede gelişen bakteri kolonileri (B)……... 34

Şekil 4.5. Sadece patojenle bulaştırılmış tohumların etrafında sarı renkli patojen bakteri gelişimi (A). Patojenle bulaştırılmış ve Serenade uygulanmış tohumların etrafında sarı renkli patojen bakteri gelişimi……... 35

Şekil 4.6. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık domates tohumlarında farklı uygulamalar sonucunda elde edilen bulaşık tohum sayıları (Ortalama±SH)……. 38

Şekil 4.7. Sıcak su uygulaması görmüş tohumlardan gelişen domates bitkileri…… 40
Şekil 4.8. Pozitif kontrolde yer alan bitkilerin kotiledon yapraklarındaki epidermis patlamaları……..... 40

1. GİRİŞ

Dünya çapında yetiştiriciliği yapılan, *Solanaceae* familyasından bir tür olan domates (*Solanum lycopersicum* Mill.), tropik bölgelerde çok yıllık, diğer bölgelerde ise tek yıllık bir kültür bitkisidir. Anavatanı ekvatordan Şili'ye kadar uzanan Amerika'nın dar batı kıyılarıdır ve dünyaya Meksika'dan yayılmıştır. Domatesin ilk olarak ticari gelişimi 1800'lü yılların ortalarında Amerika'da gerçekleşmiştir. İçerisinde A, B1, B6, C vitaminleri ve yüksek miktarda Likopen bulunmaktadır. Likopen'in bir antioksidant olarak değişik kanser türlerine ve kalp hastalıklarına karşı koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir (Anonim, 2009).

İki bin dokuz yılı dünya taze domates üretimi incelendiğinde, dünya genelinde yaklaşık olarak 126 milyon ton taze domates üretilmektedir. Üretimin %90'ı Kuzey Yarımküre'de Temmuz - Aralık aylarında ve %10'u ise Güney Yarımküre'de Ocak - Haziran aylarında yapılmaktadır. Bu üretimin tamamı taze olarak tüketilmemektedir. 2006 yılında sanayiye yönelik olarak yaklaşık 30 milyon ton domates üretilirken, 2008 yılında bu miktar yaklaşık 36.5 milyon tona çıkmıştır. Sanayi domatesi; salça, püre, konserve (dilimlenmiş, tüm soyulmuş), ketçap, domates suyu vb. yapımında kullanılmaktadır (Bayrak ve Kaya, 2009).

Türkiye'de toplam sebze üretiminin yaklaşık %38'ini domates oluşturmaktadır. Üretim ülkemizin her bölgesinde yapılmakla birlikte, sofralık domates Adana, Mersin, Antalya, Antakya, İzmir, Çanakkale, Konya ve Tokat illerinde yoğunlaşmaktadır. Sanayi domatesi üretimi ise Marmara ve Ege bölgelerinde Balıkesir, Bursa, Manisa ve Çanakkale illerinde yapılmaktadır (Bayrak ve Kaya, 2009). Ülkemiz 2009 üretim sezonunda 10.745.572 ton domates üretimi ile dünyada Çin, Amerika ve Hindistan'dan sonra dördüncü sırada yer almıştır (Çizelge 1.1) (FAO, 2010).

Çizelge 1.1. Ülkelere göre domates üretimi (FAO, 2009 yılı verileri)

	Ülkeler	Üretim (Ton)
1	Çin	34.120.040
2	USA	14.141.850
3	Hindistan	11.149.000
4	**Türkiye**	**10.745.572**
5	Mısır	10.000.000
6	İtalya	6.382.700
7	İran	5.887.714
8	İspanya	4.749.200
9	Brezilya	4.204.638
10	Meksika	2.936.773

Gerek örtü altı gerekse tarla koşullarında domates üretiminde ekonomik kayıplara neden olan faktörlerin başında bitki hastalıkları gelmektedir. Domateste hastalık oluşturan bakteriler *Pseudomonas, Xanthomonas, Clavibacter, Erwinia, Agrobacterium* ve *Ralstonia* cinsleri içerisinde yer almaktadır (Blancard, 1988; Üstün, 2008). Prokaryota alemi, *Firmicutes* bölümü, *Thallobacteria* sınıfı, *Microbacteriaceae* familyası, *Clavibacter* cinsi içerisinde yer alan, domates bakteriyel solgunluk hastalığına neden olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis,* dünya çapında domates üretimini kısıtlayan en önemli bakteriyel etmenlerden biridir (Gleason ve ark., 1993; Saygılı ve ark., 2006).

Etmen bakteri, Erwin F. Smith tarafından ilk olarak *Bacterium michiganense* daha sonra *Aplanobacter michiganense, Pseudomonas michiganensis, Phytomonas michiganensis* ve *Mycobacterium michiganensis* olarak isimlendirilmiş, daha sonra terminolojik isimlendirme kabul edilmiş ve uzun süre *Corynebacterium michiganense* olarak adlandırılmıştır. 1980'lerde patojenin hücre duvarı yapısı ile ilgili yeni bilgilere dayanılarak *Clavibacter* sınıfı içerisinde yeniden sınıflandırma yapılmış ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al. olarak isimlendirilmiştir (Gleason ve ark., 1993).

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis,* domates (*Solanum lycopersicum* Mill.), biber (*Capsicum annum* L.), patlıcan (*Solanum melongena*) ve *Lycopericium hirsutum, Lycopericium pimpinellifolium* gibi bazı *Solanaceae* familyasına ait türlerde hastalık oluştursa da, domates ekonomik anlamda önemli olduğu tek kültür bitkisidir (Gleason ve ark., 1993; Çetinkaya-Yıldız ve Aysan, 2008).

Etmen ilk kez 1909 yılında Amerika Birleşik Devletlerinin Michigan eyaletinde domates üretim alanlarında saptandığından beri dünyanın domates yetiştirilen bütün bölgelerinde rapor edilmiştir (Gleason ve ark.,1993). Ülkemizde ise bakteriyel solgunluk hastalığının varlığı Tokgönül (1998)'ün bildirdiğine göre ilk olarak İç Anadolu bölgesinde (Bremer ve Özkan, 1950) saptandıktan sonra , Güney Doğu Anadolu (Bremer ve ark.,1952), Marmara (Karahan, 1965) ve Ege bölgesinde (Karaca ve Saygılı, 1977) tespit edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda etmen Doğu Akdeniz (Çınar, 1980), Batı Akdeniz (Basim ve ark., 2004) ve Doğu Anadolu (Sahin ve ark., 2002) bölgelerinde domates üretim alanlarında belirlenmiştir.

Hastalık belirtileri etmenin bitkiye giriş yoluna göre farklılık göstermektedir. Enfeksiyon tohumdan gelişirse veya yaralar yoluyla patojen direkt iletim demetlerine giriş yapmışsa sistemik enfeksiyondan söz edilir. Sistemik enfeksiyonlar bitkilerde solgunlukla başlar (Şekil 1.1). Tek taraflı solgunluk, renk değişimi ve yanıklık (Şekil 1.2) tipik hastalık belirtileridir. Sistemik enfeksiyonlar fide döneminde meydana gelmişse genç fideler hızla solar, çöker ve ölür. İlerleyen dönemde ise hasta bitkilerin gövdeleri boyuna kesildiğinde iletim demetlerinde başta sarımsı renklenme (Şekil 1.3) daha sonra kızılımsı kahverengiye dönen renk değişimi gözlenir. Solmuş bitkilerin iletim demeti tıkandığından ileri dönemde yapraklara besin ve su taşınması gerçekleşmez bunun sonucunda da yanıklıklar hatta kavrulmuş gibi görünümler ortaya çıkar. Patojen hidatodlar gibi doğal açıklıklar veya tüylerin kırılmasıyla açılan yaralardan bitkiye girdiğinde ise, lokalize olmuş enfeksiyondan söz edilir. Yaprakçıkların kenar nekrozları genellikle lokalize olmuş enfeksiyonların ilk simptomlarıdır (Şekil 1.4). Lokalize olmuş bir enfeksiyon zamanla, iletim demetlerine ilerleyerek uygun koşullar altında sistemik bir enfeksiyonu başlatabilir. Hastalıktan dolayı meydana gelen kayıplar esas olarak bitkilerin solması ve çökmesi ile oluşmakta, domates meyveleri üzerinde kuş gözü lekesi olarak bilinen lekeler de meyvenin pazar değerini düşürmektedir (Gleason ve ark., 1993; Çetinkaya-Yıldız ve Aysan, 2008).

Etmen toprakta, bitki artıklarında, yabancı otlarda, sera konstrüksiyon malzemeleri, çeşitli tarımsal aletler (fide saksısı, oluk, budama makası vb), üzerinde ve tohumlarda yaşamını sürdürebilmektedir (Blancard, 1988). Tokgönül (1998)'ün

bildirdiğine göre Grogan ve Kendrik'in 1953'de, Thyr'ın ise 1969'da yaptığı çalışmalarda *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* ile bulaşık domates tohumlarının hastalığın en önemli inokulum kaynağı olduğu ve etmenin tohumda taşınma oranının %0.25 ile %100 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Ayrıca Tokgönül (1998)'ün bildirdiğine göre, Öktem (1985) Türkiye'de domates üretiminin periyodik artışına paralel olarak tohumluk probleminin ortaya çıktığını ve çok sayıda çeşidin ülkeye girişi ile domates bakteriyel hastalıklarında artış görüldüğünü bildirmiştir.

Primer enfeksiyonların önlenmesinde tohum bulaşıklığının giderilmesi öncelikli bir konudur. Tohumla taşınan bakteriyel etmenlerin mücadelesinde tohum uygulamaları olarak;

1. Genel olarak üretim materyaline (tohum, fide, fidan vb) uygulanan antagonistlerin (*Bacillus subtilis* (Quantum 4000TM), *Penicillium oxalicum*, *Chaetomium* spp., *Pseudomonas cepacia*, *Streptomyces griseoviridis* (Mycostop), *Gliocladium virens*, *Agrobacterium radiobacter* ve *Trichoderma* spp.) yer aldığı, biyolojik mücadele yöntemi,

2. Tohum partilerinde patojenlerin enfeksiyonları nedeni ile rengi, şekli ve görünümü değişmiş, zarar görmüş tohumların mekanik olarak ayrılması esasına dayanan, mekanik mücadele yöntemi,

3. Tohumlara zarar vermeden, sıcaklıkla (sıcak su uygulaması, sıcak hava uygulaması, havalı buhar uygulaması ve radyasyon uygulaması) patojenlerin ortadan kaldırılması prensibi ile çalışan fiziksel mücadele yöntemi,

4. Streptomisin sülfat, Streptomisin, Kasugamisin, Na hipoklorit (NaOCl), Bronopol, Captafol, Mancozeb, TCMTB, Thiram, Hidroklorik asit (HCI), Sodyum hidroksit (NaOH) ve Sodyum fosfat (Na_3PO_4) gibi kimyasalların kullanıldığı kimyasal mücadele yöntemi uygulanmaktadır (Agarwal ve Sinclair, 1987; Karsavuran ve ark., 2005).



Şekil 1.1. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in neden olduğu sistemik enfeksiyon sonucu oluşan solgunluk görünümü



Şekil 1.2. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in neden olduğu yaprak yanıklığı



Şekil 1.3. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in neden olduğu iletim demetlerindeki renklenme belirtileri



Şekil 1.4. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in neden olduğu lokalize enfeksiyon sonucu oluşan lokal yaprak yanıklıkları

Tohum uygulamaları, tohum ve toprak kökenli mikroorganizmaların zararını önlemek veya azaltmak için düşünülmüş yöntemlerdir (Agarwal ve Sinclair, 1987; Karsavuran ve ark., 2005). Sodyum hipoklorit, hidroklorik asit, bakır asetat, sıcak su uygulamaları *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*'e karşı etkili bulunan fiziksel ve kimyasal tohum uygulamalarıdır (Dhanvantari, 1989; Fatmi ve ark., 1991; Özaktan, 1991). Hastalık ile mücadelede yoğun biçimde kullanılan kimyasalların insan ve çevre sağlığı üzerine olan olumsuz etkilerinin ortaya çıkması, düşük dozlarda ve çevreye dost kimyasal kullanımının hızla artmasına neden olmuştur. Bunun yanında bakteriyel solgunluk hastalığına karşı yeterli ve etkili bir mücadele yönteminin olmayışı, içerisinde biyolojik mücadele gibi alternatif yöntemlerin uygulandığı organik tarım yetiştiriciliğini öncelikli konular haline getirmiştir.

Organik tarım (Ekolojik tarım veya Biyolojik tarım); tarımsal ilaç, suni gübre, hormon, antibiyotik ve zararlı gıda katkı maddeleri gibi uygulamaları yasaklayan, yalnızca yönetmelikler çerçevesinde izin verilen girdilerin kullanımı ile yapılan, üretimden tüketime her aşaması kontrollü, doğal kaynakları en iyi şekilde kullanarak sağlıklı tarımsal ürünler üretilmesini sağlayan bir tarım sistemi olarak tanımlanmaktadır (İlbaş, 2009).

Dünyada 1950'li yıllardan sonra yaşanan hızlı sanayileşme ve nüfus artışı karşısında ortaya çıkan açlık probleminin giderilmesine yönelik politikalar geliştirilmiş ve yoğun girdi kullanılarak birim alandan yüksek verim almaya ve yeni alanların tarıma açılmasına yönelik hedefler belirlenmiştir. Yoğun ve bilinçsiz tarım ilacı ve gübre kullanımı, kalıntı riski, toprağın fiziksel ve kimyasal yapısının bozulması ile besin maddesi dengesinin bozulması, tuzlulaşma ve çoraklaşma gibi önemli çevre sorunlarını da beraberinde getirmiştir (Zengin, 2007). Tarımsal üretimde kullanılan ilaç, gübre vb. kimyasalların olumsuz etkilerinin insan ve toplum sağlığı üzerindeki zararlarının artarak kendini hissettirmeye başlaması üzerine konvansiyonel tarım yöntemine alternatif sistem arayışları ortaya çıkmıştır. 1910 yılında Albert Howard'ın "Tarımsal Vasiyetnamesi" ve 1924 yılında Dr. Rudolf Steiner'in "Biyodinamik Tarım Yöntemi" çalışmaları, birçok Avrupa ülkesinde bu konuda duyarlı üretici ve tüketicilerin de bir araya gelmesiyle ekolojik tarım çalışmalarına başlanmıştır. 1970'li yıllara kadar ülkesel boyutta devam eden

çalışmalar 1972 yılında Uluslararası Organik Tarım Hareketleri Federasyonunun (IFOAM/International Federation of Organic Agriculture Movement) kurulmasıyla uluslararası nitelik kazanmıştır (İlbaş, 2009).

Organik tarım konusunda kapsamlı ilk yönetmelik Avrupa Birliği (AB) tarafından 1991 yılında (EEC 2092/ 91) yayınlanmış ve daha sonraki yıllarda birçok değişiklikler yapılarak 1999 yılında hayvansal ürünlerle ilgili (EC 1804/1999) kısım da eklenmiştir. İsviçre'nin hazırladığı Bioswiss ve FAO tarafından 1999 yılında hazırlanan Codex Alimentarius'tan sonra 2000 yılında ABD'de National Organic Program (NOP), Japonya'da Japanese Agricultural Standards (JAS) yürürlüğe giren organik tarım standartları, tüm dünyada küresel pazar hareketlerini etkilemiştir (İlbaş, 2009). Organik tarım önce gelişmiş ülkelerde, daha sonra gelişmekte olan ülkelerde başlamıştır. Avustralya, Arjantin ve İtalya organik tarım üretim alanları bakımından ilk üç sırada yer alırken, bu ülkeleri ABD, Brezilya ve diğer Avrupa Birliği ülkeleri izlemiştir. Son yıllarda, Çin, diğer ürünlerde olduğu gibi, organik tarımda da önemli üretim alanlarına sahip olmaya başlamıştır (Beşirli, 2009). Almaya, İngiltere, İtalya, Hollanda ve İsveç'in katılımıyla Mart 2003'de, organik tohum elde edilebilmesi için, tohumla taşınan patojenlerin kontrolünde kimyasal yöntemlerin kullanılmaması ve yeni metodların geliştirilmesi amacıyla Stove (**S**eed **t**reatments for **o**rganic **ve**getable production) projesi başlatılmıştır. Bu projeyle,

1- Mevcut fiziksel yöntemlerin geliştirilmesi,
2- Bitki ekstraktlarının, bitki aktivatörlerinin, antagonist mikroorganizmaların test edilmesi ve bitki gelişimindeki etkinliklerinin geliştirilmesi,
3- Mikroorganizmaların, bitki aktivatörlerinin, sıcak su, sıcak hava ve elektron deneylerini içeren fiziksel yöntemlerin tohum canlılığına etkisinin karşılaştırılması ve
4- Fiziksel yöntemler ile doğal yöntemlerin kombinasyonu amaçlanmaktadır (Anonymous, 2010a).

Ülkemizde organik tarım faaliyetleri 1986 yılında Avrupa'daki gelişmelerden farklı olarak, ticari firmaların istekleri doğrultusunda ihracata yönelik olarak başlamıştır. Daha sonra 2092/91 sayılı yönetmeliğe ve Avrupa Topluluğuna organik

ürün ihraç edecek ülkelerin uymak zorunda olduğu hususlara bağlı olarak Tarım ve Köyişleri Bakanlığı yönetmelik hazırlama çalışmalarına başlamıştır. 1994 yılında "Bitkisel ve Hayvansal Ürünlerin Ekolojik Yöntemlerle Üretilmesine İlişkin Yönetmeliği" yürürlüğe koymuştur. Bu konudaki gelişmelere bağlı olarak Bakanlık, 2002 yılında mevcut yönetmeliği yürürlükten kaldırarak "Organik Tarımın Esasları ve Uygulanmasına İlişkin Yönetmeliği" yürürlüğe koymuş ve 2006 yılında yapılan değişikliklerle bu yönetmelik son halini almıştır (Zengin, 2007).

Organik Tarımın Esasları ve Uygulanmasına İlişkin Yönetmeliğe göre tohum; genetik olarak yapısı değiştirilmemiş, döllenmiş hücre çekirdeği içindeki DNA dizilimine dışarıdan müdahale edilmemiş, sentetik pestisitler, radyasyon veya mikrodalga ile muamele görmemiş biyolojik özellikte üretilmiş olmalıdır. Ayrıca kullanılacak tohum veya çoğaltım materyali organik tarım yöntemiyle üretilmiş olmalı, ancak fide dışındaki çoğaltım materyallerinin, organik olarak elde edilememesi durumunda konvansiyonel üretimden gelen, Çizelge 1.2'de yer alan maddelerin dışındaki herhangi bir sentetik kimyasal madde ile muamele görmemiş olması gerekmektedir (Anonim, 2010).

Bu yüksek lisans tezinin amacı, tohum kökenli domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in domates tohumlarından yok edilmesi veya azaltılmasında organik tarımda kullanılabilecek farklı tohum uygulamalarının etkinliğini ortaya koymaktır. Bu kapsamda suni olarak patojenle bulaştırılmış tohumlara; antagonist bakteri, Serenade, bitki aktivatörü olarak ISR 2000, sodyum hipoklorit, üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit uygulamaları yapılarak etkinlikleri ve tohumun çimlenme gücüne etkisi araştırılmıştır.

Çizelge 1.2. Organik tarımda bitki koruma amacıyla kullanılabilecek maddeler (Anonim, 2010).

Kullanılan maddeler	Kullanım Yerleri
1. Bitki veya hayvansal kökenli maddeler	
Lesitin	Fungisit
Nane yağı, çam yağı ve kimyon yağı gibi bitkisel yağlar	İnsektisit, akarisit, fungisit ve çimlenme önleyici
2. Zararlılara karşı biyolojik mücadelede kullanılacak mikroorganizmalar	
Antagonist bakteri, virüs ve fungus gibi mikroorganizmalar	Sadece genetik olarak modifîye edilmemiş ürünleri kapsar
3. Organik tarımda geleneksel olarak kullanılan maddeler	
Bakır hidroksit, Bakır oksiklorür, (tribazik) bakır sülfat ve bakıroksit	Fungisit Yetkilendirilmiş kuruluş tarafından kullanımına onay verilmelidir
Kireç- kükürt (kalsiyum polisülfit)	Fungisit, insektisit, akarisit Yetkilendirilmiş kuruluş tarafından kullanımına onay verilmelidir
Mineral yağlar	Insektisit, akarisit, fungisit Sadece meyve ağaçları, asma, zeytin ağaçları ve muz gibi tropik ürünlerde kullanılır Yetkilendirilmiş kuruluş tarafından kullanımına onay verilmelidir
Potasyum permanganat	Fungisit, bakterisit Sadece meyve ağaçları, zeytin ve asmada kullanılabilir
Kükürt	Fungisit, akarisit, uzaklaştırıcı
Kalsiyum hidroksit	Fungisit Fidanlıklarda dahil olmak üzere sadece meyve ağaçlarında *Nectria galligena*'yı kontrol altında tutmak için kullanılır

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Thyr ve ark. (1973), tohuma uygulanan farklı fermantasyon yöntemleriyle domates solgunluk hastalığı etmeninin bulaşık tohumlardan eradike edilebildiğini bildirmişlerdir. Hidroklorik asit (HCl) kullanılarak meyve etinden ayıklanan tohumların 66°C'de 3 saat kurutulması ile klasik yöntemler kullanılarak meyve etinden ayıklanmış tohumların 43°C'de kurutulmasından elde edilen tohumlardan gelişen fidelerdeki hastalık düzeyini karşılaştırmışlardır. Klasik yöntemlerin kullanıldığı uygulamalarda 5 ile 15. hafta arasında bitkilerde hastalık gözlenmiştir. Hidroklorik asit kullanılarak elde edilen ve 66°C'de kurutulan tohumlardan gelişen bitkilerde ise hastalık belirtileri gözlenmemiş ve bu uygulamanın en etkili tohum uygulaması olduğunu bildirmiştir.

Çınar (1978), Çukurova bölgesinde domateslerde büyük ekonomik kayıplara neden olan *Corynebacterium michiganense*, *Pseudomonas tomato* ve *Xanthomonas vesicatoria* etmenlerinin neden olduğu bakteriyel hastalıklara karşı kimyasal mücadelede en uygun preparatları seçebilmek amacıyla çeşitli preparatların besi yerinde etkinliğini araştırmışlardır. *Corynebacterium michiganense*'ye karşı tohum ilaçlarından Orthocide 50 hariç tüm ilaçların (Brassicol, Brestan, Derasol, Dithane M22, Dithane M45, Pomarsol forte, Sublimat ve Bakır sülfat), *P. tomato*'ya karşı Sublimat, Dithane M-22 ve Dithane M-45'in, *Xanthomonas vesicatoria*'ya karşı ise Sublimat, Dithane M-22, Derasol ve Bakır sülfat'ın etkili olduğunu bulmuştur. Püskürtme şeklinde uygulanan preparatlardan her üç bakteriye karşı en iyi sonucu antibiyotiklerin verdiğini belirtmiştir. Araştırıcı, *Clavibacter michiganense*'ye karşı Dikotan Z-78, Dithane M-22, Polyram combi ve Tiezene preparatlarının antibiyotiklere eşdeğer etki gösterdiğini saptamıştır.

Çınar (1980), *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*'e karşı kimyasal mücadelede kullanılabilecek en uygun tohum ilacını belirleyebilmek için toz ilaçlardan Brassicol, Derasol, Dithane M-22 ve Femaset %0.2'yi; sıvı ilaçlardan Formalin %1, Polyram combi ve Tiezene %0.3'ü; antibiotiklerden ise 100 ppm dozunda Streptomycin sülfat'ı sera ve tarla koşullarında denemiştir. Ayrıca 100 ppm dozunda Antipen strepto, Streptomisin sülfat, Tetra ve Vitaklorin antibiyotiklerinin

etkinliğini *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırmıştır. Çalışma sonucunda sıvı tohum ilaçlarından Tiezene, kuru tohum ilaçlarından Femaset ve antibiyotiklerden Tetra'nın domates bakteriyel solgunluğuna karşı etkili olduğunu bildirmiştir.

Dhanvantari (1989), domateste bakteriyel solgunluk hastalığının mücadelesinde 0.6 M hidroklorik asit (HCl)'e 1 saat, %0.6'lık sodyum hipoklorit'e 15 dakika veya %0.05'lik orto-hidroksidifenil'e 15 dakika daldırılan domates tohumlarında *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in gelişme gösteremediğini bildirmiştir. Araştırıcı, hastalığın tohumlardan eradikasyonu için 20°C'de 96 saatlik fermentasyonun gerekli olduğunu ve 0.6 M hidroklorik asit'e 1 saat daldırma uygulamasının ya da %0.05 hidroksidifenil ile 15 dakika muamelenin fidelerde solgunluk hastalığı şiddetini, 15 dakika %0.6 NaOH uygulamasından çok daha fazla oranda azalttığını belirlemiştir. Ayrıca yapay olarak bulaştırılmış tohumların 0.6 M hidroklorik asit içinde bir saat bekletilmesinin fidelerde solgunluk hastalığı simptomlarını %0.1 ile %38 oranında azalttığını saptamıştır.

Fatmi ve ark. (1991), doğal bulaşık domates tohumlarından *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in eradike edilebilmesi için yapılan sıcak su, hidroklorik asit ve bakır asetat uygulamalarından sadece hidroklorik asit ve bakır asetat uygulamalarının tohumda bulunan saprofitleri tamamen elimine edebildiğini saptamışlardır. Kurutma kağıtları üzerinde yaptıkları çimlenme testinde bütün yöntemlerin *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensi*'yi eradike edebildiğini ancak 56°C'lik su uygulamasının tohum çimlenmesini önemli oranda azalttığını bildirmişlerdir.

Mangama ve Sreeramulu (1991), yapmış oldukları çalışmada, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ile bulaşık domates tohumlarına sarımsak ekstraktları uygulandığında sarımsağın fidelerdeki hastalık şiddetini büyük oranda azalttığını bildirmişlerdir.

Özaktan (1991), farklı tohum uygulamalarının domates tohumlarındaki *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* inokulumuna olan etkisini araştırmıştır. Çalışmada 54-56°C'de 25 dakika sıcak su, 300 µg/ml streptomisin, 30 µg/ml metoksietil civaklorür ve antagonist uygulamalarının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı etkili olduğunu, tarla koşullarında sıcak

su (54-56°C'de 25 dakika) uygulamasının %94, antagonist uygulamasının %75, kuru sıcaklık uygulamasının ise %40 oranında etki gösterdiğini bildirmiştir. Civa klorür ve kuru sıcaklık uygulamalarının tohum çimlenmesini olumsuz etkilemesi, streptomisine ise bakterilerin kısa sürede direnç kazanma ihtimalinin olması nedeniyle hastalıkla mücadelede sıcak su uygulamasını önermiş, meyve etinde bulunan domates tohumlarının 72 saat süreyle fermantasyonunun tohumdaki patojeni yok ettiğini bildirmiştir.

Kritzman (1993), altı yıl süresince yapmış olduğu çalışmalarda *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (PT), *Pseudomonas corrugata* (PC), *Xanthomonas campestris* pv.*vesicatoria* (XV) ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'i kontrol altına alabilecek bir tohum uygulaması sistemi geliştirmiştir. Domates tohumlarını içerisinde bakır asetat, asetik asit, pentakloronitrobenzen (PCNB), 5-etoksi 3-triklorometil 1, 2, 4 thiadiazole ve Triton X-100 bulunan 25-45°C'deki çözeltide farklı sürelerde bekletmiştir. Termostatik olarak kontrol edilebilen küvetlerde yürütülen denemelerde, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in 25°C'deki çözeltiye 30 dakika daldırma sonucunda kontrol edilebildiğini, *Pseudomonas corrugata*'nın tam olarak kontrol altına alınabilmesi için 45°C'de 1 saat tutulması gerektiğini bildirmiştir. Uygulamaların başarısının çözelti içerisinde bulunan bakır (Cu^{2+}) organik kompleksinin formülasyonuna bağlı olduğunu, uygulamanın tohumun çimlenmesini ve kalitesini etkilemediğini belirtmiştir. İsrail'de üretilen ve ithal edilen tohumlara bu sistemin başarıyla uygulandığını bildirmiştir.

Dhanvantari ve Brown (1993), yaptıkları çalışmada 0.1 M'lık hidroklorik asit (HCl) yada %0.05'lik o-hidroksidifenil çözeltisine 1 saat süreyle daldırılan tohumların daha sonra su ile yıkanıp yıkanmamasının çimlenmeyi benzer ölçüde etkilediğini bildirmişlerdir. Araştırıcılar, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık tohumların 0.1 M'lık hidroklorik asit veya %0.05'lik o-hidroksidifenil çözeltilerine 1 saat süreyle daldırılmasının, tohum bulaşıklığını %1'in altına düşürdüğünü belirtmişlerdir. Serada yapılan çalışmalarda ise kontrol ile karşılaştırıldığında hastalık şiddetinin %2'nin altına düştüğünü saptamışlardır. Bir başka uygulamada, %0.6'lık sıcak (50°C) sodyum hipoklorit çözeltisine 15 dakika

daldırılan tohumlarda bulaşıklığın tamamen yok olduğu, ancak sera koşullarında hastalık şiddetinin %4.5 oranında ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Demir ve Gündoğdu (1994), çeşitli tohum uygulamalarının (Kasugamisin, Streptomisin sülfat, sıcak su ve sıcak hava) *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*'ya karşı etkinliğini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada yapılan uygulamaların %0-79 arasında değişen oranlarda etkili olduklarını belirlemişlerdir. Ancak bazı uygulamaların önemli oranda bitki çıkışını engellediğini bildirmişlerdir.

Wilson (1996), domatesin *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* olmak üzere üç bakteri hastalığının olduğunu, bu hastalıkların mücadelesinde hastalıksız tohum veya fide kullanımı ile koruyucu olarak bakır uygulamasının önerildiğini bildirmiştir. Bu hastalıklarla mücadelede entegre mücadele programlarının geliştirilerek kullanılmasının yararlı olacağını, bitki büyüme düzenleyici rizobakterilerin (PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria) uygulandığı tohumlardan oluşan fidelerde sistemik dayanıklılığı arttırdığını belirtmiştir.

Tokgönül (1998), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in biyolojik mücadelesine yönelik olarak *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda *Actinomycetes* sp. ve fluoresan *Pseudomonas* sp. izolatlarını ümitvar bulmuş, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda 45°C'deki asetik asit ile asidiye edilmiş %0.25 bakır asetat (ACA) içinde 60 dakika bekletilen domates tohumlarında patojenin gelişiminin engellendiğini saptamıştır.

Diver ve ark., (1999), biyolojik fungisitlerin üreticiler için yeni bir mücadele yöntemi olduğunu, bu fungusitlerin hastalıkların baskı altına alınmasına yardımcı olan mikrobiyal antagonist olarak isimlendirilen bakteri ve funguslardan oluştuğunu bildirmişlerdir. Araştırıcılar domateslerde tohum uygulamalarında da ruhsatlanan F-stop^{TM}'un *Trichoderma viride*'yi içerdiğini, T-22 G'nin ise domates ve diğer sebzelerde toprak uygulamaları için ruhsat aldığını ve *Trichoderma harzianum'*un KRL-AG2 kodlu izolatını içerdiğini bildirmişlerdir.

Tokgönül ve Çınar (1999), yaptıkları çalışmada *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis'*e karşı antagonist bakteriler ile yapılan tohum uygulamalarının etkilerini araştırmak amacıyla İçel, Adana ve Hatay illerinde uzun yıllar açıkta ve

örtü altında domates yetiştirilen yerlerde hastalığın görülmediği veya hasta bir üretim alanında sağlıklı kalmış domates bitkilerinin rizosfer ile rizoplanından ve organik maddece zengin orman toprağından izolasyonlar yapmışlardır. *In vivo* koşullarda patojenin rifampisine dayanıklı mutantları ile yaptıkları uygulamalarda en iyi etkiyi sırasıyla *Actinomycetes*, fluoresan *Pseudomonas* ve *Bacillus* izolatlarının gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmalarda en etkili bulunan 7 antagonist izolatın *in vivo* koşullarda etkinliğini değerlendirmiş ve steril toprakta %45.5-100, bulaşık toprakta ise %64.5-100 arasında değişen oranlarda etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Basim ve ark., (2000), kekik yağı (*Thymbra spicata* var. *spicata*)'nın kontak ve uçucu yağ formunun, *Erwinia amylovora, Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Agrobacterium tumefaciens* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'ya karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı yağın kontak formunun minimum bakterisit dozunun 405 mg/ml, uçucu yağ formunun ise 91 mg/ml olarak belirlemiştir. Yağın uçucu formunun *Erwinia carotovora* pv *carotovora*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Agrobacterium tumefaciens* ve *Xanthomonas axonopodis* pv *vesicatoria*'ya daha toksik olduğunu saptamışlardır.

Aysan ve Çınar, (2001), *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ile bulaşık domates tohumlarıyla yaptıkları çalışmada tohum uygulaması olarak Bronopol, NaOCl ve sıcak su uygulamalarını etkili bulmuşlardır. Ancak NaOCl ve sıcak su uygulaması görmüş tohumların o yıl içerisinde kullanılmaları gerektiğini bildirmişlerdir.

Boudyach ve ark., (2001), Fas'ın Souss- Massa vadisinde domates bitkilerinin kök çevresinden, kök çevresi dışındaki topraktan ve yaprak yüzeyinden elde ettikleri 178 adet antagonist izolatı gram reaksiyon, sporulasyon, King B besi yerinde floresan renk oluşumu ve fizyolojik testlerle tanılamışlardır. Elde edilen 178 adet izolatın %28'ini floresan *Pseudomonas* spp., %20'sini *Bacillus* spp, %9'unu *Actinomiset* ve %43'ünü tanılanamamış gram negatif bakteri olarak belirlemiş, 18 izolatın *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'i baskı altına alabilme yeteneklerini saksı çalışmaları ile araştırmışlardır. Tohumlara uygulanan izolatlardan

sadece üç tanesinin hastalık şiddetini azalttığını, tohum uygulamasından sonra ve üretim alanına dikimden önce köklere uygulanan 10 izolatın hastalık şiddetinde azalmaya neden olduğunu belirlemişlerdir.

Daferera ve ark., (2003), keklik otu (*Origanum vulgare*), kekik (*Thymus capitatus*), gazelotu (*Origanum dictamnus*), mercan köşk (*Origanum majorana*), lavanta (*Lavandula angustifolia*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), adaçayı (*Salvia fruticosa*) ve yarpuz (*Mentha pulegium*) bitkilerinin uçucu yağlarının, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani* var. *coeruleum*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e etkilerini yapay ortamda araştırdıkları çalışmalarında, keklik otu, kekik, gazelotu ve mercan köşk bitkilerinin uçucu yağlarının düşük dozlarda (85-300 µl/ml) dahi her üç etmenin gelişimini tamamen durdurduğunu belirtmişlerdir.

Baysal ve ark., (2003), abiyotik uyarıcılar sınıfına giren Actigard veya Bion 50 WG (acibenzolar-S-methyl) adıyla bilinen ticari preparatın domates bitkilerinde bakteriyel solgunluk hastalığı olarak bilinen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı dayanıklılığı teşvik etmek amacıyla kullanmış ve Actigard'ın hastalık şiddetini %76.3, bakteriyel gelişmeyi ise %68.2 oranında azalttığını, bitkilerde peroxidase ve chitinase enzimlerinin miktarlarını artırarak *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı dayanıklılığı teşvik ettiğini bildirmişlerdir.

Boudyach ve ark., (2004), HF22 ve HF142 kodlu floresan Pseudomonas izolatlarının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı etkinliğini araştırmışlardır. Araştırıcılar destile su, %0.85'lik sodyum klorit (NaCl), %0.1 ve %0.2'lik agar ile %0.25 ve %0.5'lik xanthan sakızı gibi maddelerin bakteri hücrelerinin domates tohumuna girişine olan etkilerini saptamışlardır. En iyi bakteri koloni gelişiminin %0.5 xanthan sakızı uygulanmış tohumlarda elde edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, HF142 bakteri izolatının önce tohum, ardından köklere uygulanmasının hastalık infeksyonunu tamamen engellediğini saptamışlardır.

Groot ve ark., (2004), yaptıkları çalışmada tohumla taşınan bakteri ve fungusların mücadelesinde kullanılabilecek doğal bileşikleri belirlemek amacıyla 30 farklı uçucu yağı laboratuvar koşullarında denemiş ve bunlardan kekik yağının *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ve *Clavibacter michiganensis* subsp.

michiganensis'in mücadelesinde en yüksek etkiyi gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca lahana tohumlarına yarım saat %0.25'lik kekik yağı uygulanmasıyla tohum kökenli bakterilerin (>%99) ve saprofitik fungusların önemli derecede azaldığını, ancak yağ konsantrasyonunun %0.25'in üzerine çıkması ve 4 saat süreyle uygulanması durumunda tohumun çimlenme kapasitesinin olumsuz etkilendiğini bildirmişlerdir.

Çakmakçı ve ark. (2005), yapmış oldukları çalışmada PGPR'ların yüksek potansiyele sahip olduklarını, test ettikleri *Bacillus* (OSU-142, M-13, RC07), *Paenibacillus* RC05, *Pseudomonas* RC06 ve *Rhodobacter* RC04 izolatlarının organik ve sürdürülebilir tarımda başarıyla kullanılabileceklerini vurgulamışlardır. Ayrıca kimyasal gübre kullanımının neden olduğu çevre kirliliği ve yüksek maliyet dikkate alındığında bu bakterilerin çevre dostu olduğunu ve tarım için oldukça ümitvar olduklarını belirtmişlerdir**.**

Çetinkaya-Yıldız ve Aysan (2005), domates fidelerinde bakteriyel solgunluk hastalığına karşı bitki aktivatörü olan Crop Set, ISR 2000 ve Turf Set'in etkinliğini belirlemek için yaptıkları çalışmada, yeşil aksama yapılan uygulamaların hastalık gelişimini azaltma yeteneklerini ve bitki boyuna etkisini belirlemişlerdir. Sonuç olarak uygulamaların bitki boyunu %6.96-18.26 oranında arttırdığını, hastalık oluşumunu ise %27–73 arasında değişen oranlarda engellediğini bildirmişlerdir.

Basim ve ark. (2005), işçi bal arılarının ağaç ve çalıların yaprak tomurcuğu, gövde yaraları gibi büyüyerek yenilenen kısımlarından topladıkları sarı, yeşil ve kahverengi reçinemsi bir madde olan propolis ve polen ekstraktının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı antibakteriyel etkisini araştırmışlardır. Araştırıcılar polen ekstraktının 1/5, propolis ekstraktının ise 1/10 oranında kullanıldığında patojene karşı en etkili uygulama olduğunu, polen oranı 1/100, propolis oranı ise 1/1000'e düşürüldüğünde antibakteriyel etkinin minimuma indiğini belirtmişlerdir, Bu çalışmada polen ve propolisin bitki patojeni bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesinin olduğu ortaya konmuştur.

Ivey ve Miller (2005), Ohio (ABD)'da bulunan OSU/OARDC ve Hirzel Çiftliğinde yaptıkları çalışmalarda tohumlara sıcak su uygulamalarının bakteriyel hastalıklara olan etkisini araştırmışlardır. Bölgedeki hastalıkla bulaşık tarlalardan toplanan meyvelerden elde edilen tohumların bir kısmına sıcak su uygulamış, bir

bölümüne de uygulamamışlardır. Sıcak su uygulanan ve seralara aktarılan domateslerde hastalığa hiç rastlamamışlardır. Hirzel çiftliğinde ticari olarak satılan domates tohumlarının bir kısmına sıcak su uygulaması yapılırken, bir kısmı doğrudan hiç bir uyulama yapmadan seraya aktarılmıştır. Sıcak su uygulaması yapılan tohumlardan gelişen bitkilerde, uygulama yapılmayanlara oranla hastalık çok az görülürken, hasat edilen ürün miktarı daha yüksek, meyve iriliği de daha büyük olarak belirlenmiştir.

Mirik ve Aysan (2005), turp (*Raphanus raphanistrum*), sarımsak (*Allium sativum*), nane (*Mentha piperita*), soğan (*Allium cepa*), marata (*Clematis marata*), zakkum (*Nerium oleander*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), okaliptüs (*Eucalyptus* sp.), yalancı karabiber (*Schinus* sp.), menengiç (*Pistacia terebinthus*) ve çam (*Pinus sylvestris*) bitkilerinin sulu ekstraktlarının *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'ya karşı domates ve biber tohumlarında antibakteriyel etkilerini *in vitro* ve *in vivo* denemeleriyle araştırmışlardır. Sulu okaliptüs ve sarımsak ekstraktları *in vivo* kuşullarında *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın tohum kökenli inokulumunu azaltmada çok etkili olmuş ve en iyi tohum uygulaması olarak bulunmuştur.

Türküsay ve Tosun (2005), laboratuvar koşullarında hidrojen peroksit içeren, HuwaSan TR 50 (hidrojen peroksit 580 g/l ve kolloid gümüş 0.36 g/l)'nin *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in mücadelesinde etkili olup olmadığını belirlemek için çalışmalar yapmışlardır. HuwaSan TR 50'nin petri denemelerinde oldukça etkili olduğunu ve patojenin gelişimini %61.3 oranında azalttığını belirtmişlerdir. Ayrıca yapay olarak patojenle bulaştırılmış tohumlara HuwaSan TR 50 uygulandığında, kontrol uygulamasına göre elde edilen %73.5 oranındaki etkinin *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in mücadelesinde ümit var bir sonuç olduğunu bildirmişlerdir. Saksı denemelerinde ise HuwaSan TR 50 uygulamasının domates tohumlarında %80 başarı sağladığını, hidrojen peroksit uygulanan tohumlarda yüksek peroksidaz enzimi aktivitesinin olduğunu belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda HuwaSan TR 50'nin bir bitki aktivatörü olduğunu belirtmişlerdir.

Wszelaki ve Miller (2005), organik üretim sistemlerinde kullanılan 16 preparatın ve kombinasyonlarının domates hastalıklarının mücadelesindeki etkinliklerini araştırdıkları çalışmada Bordo bulamacı, bakır hidroksit, sarımsak (*Allium sativum*) ve zamzalak (*Azadirachta indica*) yağları, deniz yosunu ekstraktı ve Serenad'ın kontrolle karşılaştırıldığında hastalık gelişimini azalttığını bildirmişlerdir.

Umesha (2006), Hindistan'ın Karnataka eyaletine yaptığı sörvey çalışmasında *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in domates tarlalarında yaygın olduğunu ve bu alanlarda hastalık şiddetinin %25 ile %48 arasında değiştiğini bildirmiştir. Ayrıca araştırıcı laboratuvarda yaptığı çalışmalarda tohumların *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık olduğunu belirlemiş ve bunu farklı tanı metodları kullanarak testlemişlerdir. Doğal bulaşık tohumlarda taşınma oranının %46 olduğunu, tohumlara bir antagonist olan *Pseudomonas fluorescens* uygulanmasının laboratuvar koşullarında tohum kalitesini arttırdığını ve tarla koşullarında hastalığın görülme sıklığını azalttığını belirtmiştir.

Çetinkaya-Yıldız (2007), kimyasal mücadeleye alternatif olarak *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı bitki büyüme düzenleyici rizobakterilerin kullanılma olanaklarını araştırdığı çalışmasında, Adana, Antalya, Hatay, Osmaniye, Mersin ve Muğla illerinden aldığı 39 farklı toprak örneğinden 499 adet aday PGPR bakteri izolatı elde etmiştir. Bu izolatlardan en fazla fosforu çözme, azotu bağlama özelliklerine sahip 30 izolatı aday PGPR olarak belirlemiştir. Bu izolatlar arasında en etkili olan 8 izolatın *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'i baskılayabilme potansiyellerini *in vivo* saksı çalışmaları ile araştırmıştır. Saksı çalışmaları sonucunda 3 izolat ve kombinasyonları ile tohum denemeleri, 2 izolat ve kombinasyonları ile tarla çalışmalarını yürütmüştür. Çalışma sonucunda PGPR izolatları ile muamele görmüş domates bitkilerinde *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* tarafından neden olunan hastalık şiddetinin tarla koşullarında ortalama %43 oranında azaldığını, hastalık etmeninin bulunmadığı koşullarda PGPR izolatlarının bitki büyümesini (bitki boyu, gövde çapı, dal sayısı, bitki yaş ağırlığı ve kuru ağırlığı, kök boyu ve verim) değişen oranlarda arttırdığını belirtmiştir.

Raudales ve Gardener (2008), organik tarımda bitki hastalıklarının mücadelesinde kullanılabilecek, ABD Çevre Koruma Örgütü (US EPA) ve Organik Materyal Kontrol Enstitüsü tarafından onaylanmış biyopestisitlerin listesini hazırlamışlardır. Listede Agriphage™ (*Xanthomonas* spp. ve *Pseudomonas tomato*'nun bakteriyofajları); Bio-Save® 10LP[3] (*Pseudomonas syringae* izolat ESC 10); Bloomtime Biological™ FD[3], Bloomtime Biological™ [3] (*Pantoea agglomerans* izolat E325); Actinovate® AG, Actinovate® SP (*Streptomyces lydicus* WYEC 108); Ballad® Plus (*Bacillus pumilus* QST 2808); Contans® WG (*Coniothyrium minitans* izolat CON/M/91-08); Kodiak® (*Bacillus subtilis* GB03); Plant Shield® HC, RootShield® Granül (*Trichoderma harzianum* Rifai izolat KRL-AG2); Serenade® (*Bacillus subtilis* izolat QST 713); SoilGard 12G[3] (*Trichoderma virens*); Sonata® (*Bacillus pumilus* QST 2808); T-22™ HC, T-22™ Planter Box (*Trichoderma harzianum* Rifai izolat KRL-AG2); Yield Shield® (*Bacillus pumilus* GB34) ve Rhapsody® (*Bacillus subtilis* QST 708)'yi organik tarımda kullanılabilecek biyopestisidler olarak bildirmişlerdir.

Wolf ve ark. (2008), sebze tohumlarının hastalıklardan arındırılması için yaptıkları bitki ekstraktı, uçucu yağlar ve organik asit uygulamalarından, %2.5 konsantrasyonunda uygulanan laktik asidin *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* gibi tohumla taşınan bakterileri elimine ettiğini ve sadece propiyonik asidin tohum çimlenmesini olumsuz etkilediğini bildirmişlerdir.

Pradhanang ve Collier (2009), araştırmalarında *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile yapay veya doğal olarak bulaşmış domates tohumlarına uygulanan hidroklorik asit (HCl)'in etkinliğini araştırmışlardır. Domates tohumları patojenle yapay olarak bulaştırılmasından 15 gün sonra yapılan hidroklorik asit uygulamasının oldukça etkili olduğunu bildirmişlerdir. Doğal bulaşmalarda, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile infekteli bitkilerden toplanan meyvelerden elde edilen tohumların bir gün fermante edilmesinin etkili ancak yeterli bir yöntem olmadığını belirtmişlerdir. Araştırıcılar ayrıca tek başına asit ekstraksiyonunun *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'i tohumdan yeterince elimine edemediğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Patojen İzolat: TÜBİTAK tarafından desteklenen 105O465 nolu proje çerçevesinde Mersin'den izole edilen ve tanılanan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in CMM 3/1A kodlu izolatı kullanılmıştır (Aysan ve Çetinkaya Yıldız, 2006).

Besi Yerleri: Rifampisine dayanıklı *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* elde edilmesinde NBY (8.0 g Nutrient Broth (Difco), 2.0 g Yeast Extract, 2.0 g K_2HPO_4, 0.5 g KH_2PO_4, 2.5 g Glucose, 1000 ml distile su) besi yeri kullanılırken, etmenin gelişmesi için Pseudomonas Agar F (10 g Protose Pepton, 10 g Tryphtone, 10 ml Gliserin, 1.5 g K_2HPO_4, 1.5 g $MgSO_4$ $7H_2O$, 15 g Agar 1000 ml su) besi yeri kullanılmıştır (Saygılı ve ark., 2006).

Antibiyotik: Patojen izolatın adaptasyon yoluyla rifampisin antibiyotiğine dayanıklılık kazanmasıyla ilgili çalışmada Sigma marka K10514807 912 kodlu Rifampisin antibiyotiği kullanılmıştır.

Domates Tohumları: İklim odasında yapılan saksı çalışmalarında ve uygulamaların tohum çimlenmesine etkisi belirlenirken Batıasya Tohumculuk A.Ş.'ye ait H-2274 standart çeşidi domates tohumları kullanılmıştır.

İklim Odasının Özellikleri: Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim dalında bulunan 25±2^oC, %70 nem, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık koşullarına sahip üstten aydınlatmalı, klima ile ısıtılan iklim odasında denemeler yürütülmüştür.

Toprak ve Saksı Özellikleri: Saksı denemelerinde, 3:2 oranında tarla toprağı ve torf karıştırılarak hazırlanmış ve karışım 15 cm çapındaki plastik saksılara doldurularak kullanılmıştır.

Antagonist Bakteri (K2C): TÜBİTAK tarafından desteklenen 105O465 no'lu proje çerçevesinde izole edilmiş olan K2C kodlu antagonist bakteri izolatı 10^9 hücre/ml yoğunluğunda kullanılmıştır (Aysan ve Çetinkaya Yıldız, 2006; Çetinkaya Yıldız, 2007).

ISR-2000: Improcrop firması tarafından üretilen ISR-2000; bir bitki aktivatörü olup Yucca bitki ekstraktı, *Lactobacillus acidophilus* fermantasyon ürünü, maya özü ve benzoik asit içermektedir (www.improcrop.com).

Serenade: AgraQuest Inc. firması tarafından üretilen Serenade, bakterisit ve fungisit etkiye sahip *Bacillus subtilis*'in QST713 izolatıdır (www.agraquest.com).

Sodyum hipoklorit (NaOCl): Piyasada ticari olarak satılan %5'lik Sodyum hipoklorit (Ace marka) kullanılmıştır.

Üzüm Sirkesi: Piyasada ticari olarak satılan %5'lik üzüm sirkesi (Migros marka) kullanılmıştır.

Elma Sirkesi: Piyasada ticari olarak satılan %5'lik elma sirkesi (Migros marka) kullanılmıştır.

Laktik Asit: Sigma firmasına ait 088K1230 kodlu %98 oranında saf laktik asit kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Rifampisine Dayanıklı Mutant Bakteri Elde Edilmesi

Çalışma süresince yapılan izolasyonlarda, besi yerinde sadece bizim patojen bakterimizin gelişimine olanak sağlamak ve karışık populasyonların ortaya çıkmasını engellemek amacıyla rifampisin'e dayanıklı mutant bakteri izolatı kullanılmıştır. Rifampisin'e dayanıklı mutant bakteri, Aysan ve ark. (2002), Çetinkaya-Yıldız (2002) ile Çetinkaya-Yıldız ve ark. (2003)'nın belirttiği yönteme göre elde edilmiştir. Bu yöntemde, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in CMM 3/1A kodlu bölge izolatı Pseudomonas Agar F (Psf) besi yerinde 72 saat geliştirildikten sonra tek koloniden alınan bakteri 20 ml NBY sıvı besi yerine aktarılmış ve 150 rpm hızda çalışan çalkalayıcıda (Heidolph unimox 1010) 72 saat geliştirilmiştir. %70'lik alkol kullanılarak hazırlanan 25 mg/l dozunda rifampisin soğuk sterilizasyon yapılarak bakteri süspansiyonuna eklenmiştir. İlk birkaç gün bakterilerin çoğunun ölmesinden dolayı sıvı besi yerinin berraklaşması beklenmiş daha sonra 25 mg/l rifampisine dayanıklı mutantlar çoğalıp ortam tekrar bulanıklaşınca 25 ml/g rifampisin içeren Psf

besi yerine bu süspansiyondan çizim yapılarak tek koloniler geliştirilmiştir. Tek bir koloni alınıp 20 ml NBY besi yerinde tekrar çoğaltılmış ve yukarıda anlatılan işlemler 50, 75 ve 100 mg/l dozuna göre tekrar edilmiştir. Son olarak 100 mg/l rifampisin içeren Psf besi yerinde gelişen dayanıklı mutantların *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* olup olmadığı gram reaksiyonu ve patojenite testleri ile belirlenmiştir.

3.2.2. Potasyum Hidroksit Testi (KOH) ile Gram Reaksiyonunun Belirlenmesi

Taze hazırlanan %3'lük potasyum hidroksit solüsyonundan lam üzerine bir damla damlatıldıktan sonra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in CMM 3/1A kodlu bölge izolatının 48 saatlik kültüründen platin özeyle alınarak solüsyona dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. 15-20 saniye sonra öze yukarı kaldırıldığında viskoz, yapışkanımsı bir sünmenin oluşması gram negatif olarak, mukoid sünmenin oluşmaması pozitif olarak değerlendirilmiştir (Sands, 1990).

3.2.3. Patojenite Testi

Patojenite testinde saf koloniden elde edilen ve spektrofotometre'de A_{600}: 0.2 yoğunluğunda hazırlanan 100µl Rif^{+}*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* süspansiyonu genç domates fidelerine gövdeden enjekte edilmiştir. İnokulasyondan 10 gün sonra tipik hastalık simptomu gösteren bitkilerden yapılan reizolasyonlardan 100 mg/l rifampisine dayanıklı reizolatlar elde edilmiştir. Bu izolatlar 100 mg/l rifampisin içeren NBY eğik ortamında $+4^{o}C$'de saklanmıştır.

3.2.4. Akşamsafası (*Mirabilis jalapa* L.) Bitkisinde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Domates bakteriyel solgunluk izolatının 48 saatlik kültüründen hazırlanan süspansiyon Akşamsafası bitkisinin yaprak damar aralarına enjekte edilmiştir. Çalışmada Fransa'dan ithal edilen Vilmorin marka F1 tohumlarından geliştirilen bitkiler kullanılmıştır. 48 saatlik inkübasyon periyodundan sonra Akşamsafası

bitkilerinin yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Gitaitis, 1990; Gitaitis ve Beaver, 1990). Negatif kontrol olarak steril distile su kullanılmıştır

3.2.5. Domates Tohumlarının Patojenle Yapay İnokulasyonu

Çalışmada 25 g domates tohumu kullanılmıştır. Tohumlar $1.1x10^8$ hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan 125 ml *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* süspansiyonu içerisine daldırılmış ve 30 dakika vakum uygulamasının ardından 24 saat süspansiyon içerisinde bekletilerek patojenle bulaştırılmıştır (Özaktan, 1991).

Uygulamadan sonra süzülen tohumlar steril kurutma kağıdı üzerinde kurutulmuştur. Kağıt torbalara alınan tohumlar kullanılıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

3.2.6. Farklı Tohum Uygulamaları

3.2.6.1. Antagonist Bakteri (K2C) Uygulaması

K2C kodlu antagonist bakteri izolatı, Psf besi yerinde 24 saat geliştirildikten sonra spektrofotometre yardımıyla 10^9 hücre/ml yoğunluğuna (A600:0.2) ayarlanarak 500 ml antagonist bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık 1 g ve ayrıca 100 adet domates tohumu, bu süspansiyon içerisine konup 30 dakika 150 rpm'de çalkalanarak tohuma antagonist uygulaması gerçekleştirilmiştir (Tokgönül, 1998). Uygulama görmüş tohumlar oda sıcaklığında filtre kağıdında 24 saat bekletilerek kurutulmuştur.

3.2.6.2. Serenade Uygulaması

Ticari olarak satın alınan Serenade, 15 ml/l dozunda (7.5 ml Serenade / 500 ml saf su) bir solüsyon haline getirilerek kullanılmıştır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık 1 g ve ayrıca 100 adet domates tohumu, hazırlanan

Serenade solüsyonu içerisine 30 dakika daldırılarak tohuma uygulanmıştır (Wszelaki ve Miller, 2005). Uygulama görmüş tohumlar oda sıcaklığında filtre kağıdında 24 saat bekletilerek kurutulmuştur.

3.2.6.3. Bitki Aktivatörü Olarak ISR 2000 Uygulaması

Ticari olarak satın alınan ISR 2000, 1 ml/l dozunda (500 µl ISR 2000 / 500 ml saf su) bir solüsyon haline getirilerek kullanılmıştır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık 1 g ve ayrıca 100 adet domates tohumu, hazırlanan ISR 2000 solüsyonu içerisine 40 dakika daldırılarak tohum uygulaması yapılmıştır (Çetinkaya-Yıldız ve Aysan, 2005). Uygulama görmüş tohumlar oda sıcaklığında filtre kağıdında 24 saat bekletilerek kurutulmuştur.

3.2.6.4. Sodyum hipoklorit (NaOCl) Uygulaması

Ticari olarak satın alınan %5'lik NaOCl çözeltisi, suyla seyreltilerek %0.25 oranında (25 ml %5'lik NaOCl / 475 ml saf su) 500 ml'lik bir çözelti hazırlanmıştır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık 1 g ve ayrıca 100 adet domates tohumu, %0.25'lik NaOCl çözeltisi içerisine 40 dakika bandırılarak tohum uygulaması gerçekleştirilmiştir (Anonymous, 2010b). Uygulama görmüş tohumlar oda sıcaklığında filtre kağıdında 24 saat bekletilerek kurutulmuştur.

3.2.6.5. Üzüm Sirkesi Uygulaması

Ticari olarak satın alınan üzüm sirkesinden hazırlanan %10'luk (30 ml üzüm sirkesi / 270 ml saf su) üzüm sirkesi içerisinde *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık 1 g ve ayrıca 100 adet domates tohumu, 12 saat bekletilerek tohuma uygulanmıştır (Anonymous, 2010c). Uygulama görmüş tohumlar oda sıcaklığında filtre kağıdında 24 saat bekletilerek kurutulmuştur.

3.2.6.6. Elma Sirkesi Uygulaması

Ticari olarak satın alınan elma sirkesi, %10'luk (30 ml üzüm sirkesi / 270 ml saf su) seyrelti haline getirilerek kullanılmıştır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık 1 g ve ayrıca 100 adet domates tohumu, %10'luk elma sirkesi içerisine 12 saat bandırılarak tohum uygulaması gerçekleştirilmiştir (Anonymous, 2010c). Uygulama görmüş tohumlar oda sıcaklığında filtre kağıdında 24 saat bekletilerek kurutulmuştur.

3.2.6.7. Sıcak Su Uygulaması

Termostatlı ve sirkülasyonlu su banyosu 55°C'ye ayarlandıktan sonra *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık 1 g ve ayrıca 100 adet domates tohumu, sıcak suda 25 dakika bekletilerek uygulama gerçekleştirilmiştir (Özaktan, 1991). Uygulama görmüş tohumlar oda sıcaklığında filtre kağıdında 24 saat bekletilerek kurutulmuştur.

3.2.6.8. Laktik Asit Uygulaması

Sigma firmasına ait laktik asitten %30'luk bir çözelti (15 g laktik asit / 50 ml saf su) hazırlanarak kullanılmıştır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık 1 g ve ayrıca 100 adet domates tohumu, laktik asit çözeltisi içerisine 30 dakika daldırılarak uygulama gerçekleştirilmiştir (Wolf ve ark., 2008). Uygulama görmüş tohumlar oda sıcaklığında filtre kağıdında 24 saat bekletilerek kurutulmuştur.

3.2.7. Patojenle Bulaştırılan Tohumlardaki Bakteri Populasyonunun Saptanması

Patojenle bulaştırılan tohumlardaki bakteri populasyonunu belirlemek için 9 ml salin buffer (%0.85 NaCI) içine konulan 1 g hastalıklı tohum, 150 rpm'de 30 dakika süreyle çalkalanmıştır. Elde edilen süspansiyon 10, 100 ve 1000 kat seyreltilmiştir. Her bir seyreltme serisinden 100 µl süspansiyon alınıp içerisinde 100

mg/l rifampisin bulunan Psf besi yerine baget yardımıyla yayılmıştır. Besi yeri ekimleri 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. İnkübatörde 25°C'de bekletilen petriler 4-6 gün sonra kontrol edilerek her bir seyreltmedeki koloni sayıları belirlenmiştir. Hiçbir tohum uygulaması görmemiş sadece patojenle bulaştırılmış bu tohumlar, farklı tohum uygulamalarının tohumdaki bakteri populasyonuna etkisi belirlenirken kontrol olarak kullanılmıştır.

Besi yerindeki rifampisinden dolayı besi yerinde sadece bu antibiyotiğe dayanıklılık kazandırılmış olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* gelişmiştir. Ayrıca, tesadüfi olarak her uygulamada besi yerinde gelişen, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* koloni morfolojisine benzeyen toplam 39 adet bakteri kolonisi saflaştırılarak gram reaksiyonu tespit edilmiş ve patojen olup olmadığı Akşamsafası bitkisinde aşırı duyarlılık reaksiyonlarına göre teyit edilmiştir.

3.2.8. Farklı Tohum Uygulamalarının Tohumdaki Bakteri Populasyonuna Etkisi

Farklı uygulamalara tabii tutulmuş 1'er g hastalıklı tohumdan 3.2.7'de anlatıldığı gibi izolasyon yapılarak her bir uygulamanın tohumdaki bakteri populasyonuna etkisi saptanmıştır. Sadece patojenle bulaştırılan tohumlardaki bakteri populasyonu, uygulama görmüş tohumdaki bakteri populasyonuyla karşılaştırılarak % etki Abbott formülüyle hesaplanmıştır. Böylece uygulama görmüş tohumlardaki patojen populasyonundaki değişim ortaya konmuştur. Uygulamalar arasındaki istatistiki farklar MstatC istatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma testinde $p \leq 0.05$ önem düzeyine göre yapılmıştır. Aynı istatistiki grupta yer alan uygulamalar aynı harfle işaretlenmiş ve sonuçlar yorumlanmıştır.

3.2.9. Patojenle Bulaştırılan Tohumlardaki Bulaşık Tohum Oranının Saptanması

Farklı uygulamalara tabii tutulmuş tohumlar kurutulduktan sonra 100 mg/l rifampisin içeren Psf besi yerine her petriye 10'ar adet olmak üzere, 10 tekrarlı toplamda 100 tohum yerleştirilmiştir. Petriler 25°C'de 7-10 gün inkübasyondan sonra

çevresinde sarı renkli bakteri gelişen tohum sayıları belirlenerek bulaşık tohum yüzdesi hesaplanmıştır. Hiçbir tohum uygulaması görmemiş sadece patojenle bulaştırılmış bu tohumlar, farklı tohum uygulamalarının bulaşık tohum oranına etkisi saptanırken kontrol olarak kullanılmıştır.

Besi yerindeki rifampisinden dolayı besi yerinde sadece bu antibiyotiğe dayanıklılık kazandırılmış olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* gelişmiştir. Ayrıca, tesadüfi olarak her uygulamada tohum etrafında gelişen, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* koloni morfolojisine benzeyen toplam 26 adet bakteri kolonisi saflaştırılarak gram reaksiyonu tespit edilmiş ve patojen olup olmadığı Akşamsafası bitkisinde aşırı duyarlılık reaksiyonlarına göre teyit edilmiştir.

3.2.10. Farklı Tohum Uygulamalarının Bulaşık Tohum Oranına Etkisi

Farklı uygulamalara tabi tutulmuş 100'er adet hastalıklı tohum 3.2.9'de anlatıldığı gibi 100 mg/l rifampisin içeren besi yerine ekilerek her bir uygulamanın bulaşık tohum sayısına etkisi ortaya konmuştur. Böylece uygulama görmüş tohumlardaki bulaşık tohum %'si saptanmıştır. Sadece patojenle bulaştırılan tohumlardaki bulaşık tohum sayısı, uygulama görmüş tohumdaki bulaşıklık düzeyiyle karşılaştırılarak % etki Abbott formülüyle hesaplanmıştır. Uygulamalar arasındaki istatistiki farklar MstatC istatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma testinde $p \leq 0.05$ önem düzeyine göre yapılmıştır. Aynı istatistiki grupta yer alan uygulamalar aynı harfle işaretlenmiş ve sonuçlar yorumlanmıştır.

3.2.11. Farklı Tohum Uygulamalarının Tohum Çimlenme Gücüne Etkisi

Patojen ile bulaşık olmayan sağlıklı 100'er adet domates tohumuna antagonist bakteri, Seranade, bitki aktivatörü olarak ISR 2000, sodyum hipoklorit, üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit uygulamaları yapılarak bu uygulamaların tohumun çimlenme gücüne etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, içerisinde torf bulunan 10X30X5 cm (genişlik x uzunluk x yükseklik) ölçülerindeki küvetlere 100'er adet

uygulama görmüş domates tohumu ekilmiştir. Deneme 3 tekrar olacak şekilde kurulmuştur. Kontrol olarak hiçbir tohum uygulaması yapılmayan sağlıklı tohum kullanılmıştır. İklim odasında muhafaza edilen küvetler günlük gözlemler ile kontrol edilmiş ve çimlenen tohum sayıları kaydedilerek uygulama görmüş tohumlardaki çimlenme %'si hesaplanmıştır. Herhangi bir tohum uygulaması yapılmayan kontrol parseldeki çimlenen tohum sayısı, uygulama görmüş tohumdaki çimlenme düzeyiyle karşılaştırılarak % etki Abbott formülüne göre hesaplanmıştır. Uygulamalar arasındaki istatistiki farklar MstatC istatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma testinde $p \leq 0.05$ önem düzeyine göre yapılmıştır. Aynı istatistiki grupta yer alan uygulamalar aynı harfle işaretlenmiş ve sonuçlar yorumlanmıştır.

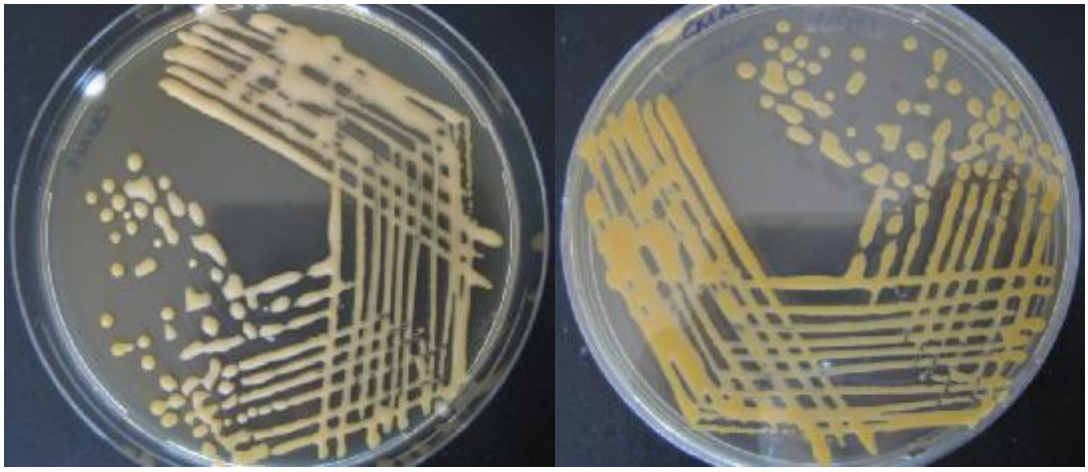
3.2.12. Saksı Çalışmaları

Bölüm 3.2.6.'da açıklandığı şekilde tohumlara farklı uygulamalar yapılmış ve farklı tohum uygulamalarının hastalık üzerine etkisi saksı çalışmalarıyla araştırılmıştır. Farklı tohum uygulamaları görmüş 100'er adet tohum her saksıya 10 adet olacak şekilde ekilmiştir. Pozitif kontrol olarak sadece patojenle bulaştırılmış, negatif kontrol olarak herhangi bir uygulama yapılmamış tohumlar kullanılmıştır. Materyalde özellikleri tarif edilen iklim odasında muhafaza edilen saksılar günlük gözlemler ile kontrol edilerek hastalık belirtisi gösteren bitki sayıları saptanmıştır. Pozitif kontrolde yer alan bitkilerde hastalık belirtisi gözlenene kadar bitkiler izlenmiş ve hasta bitki sayıları karşılaştırılarak değerlendirme yapılmıştır. Saksı çalışması iklim odası şartlarında 2 kez tekrarlanmıştır. Sadece patojenle bulaştırılan tohumlardaki hasta bitki sayısı, uygulama görmüş tohumlardan gelişen hasta bitki sayısına oranlanarak % etki Abbott formülüyle hesaplanmıştır. Uygulamalar arasındaki istatistiki farklar MstatC istatistik programında Duncan çoklu karşılaştırma testinde $p \leq 0.05$ önem düzeyine göre yapılmıştır. Aynı istatistiki grupta yer alan uygulamalar aynı harfle işaretlenmiş ve sonuçlar yorumlanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Rifampisine Dayanıklı Mutant Bakteri Elde Edilmesi

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis*'in 3/1A kodlu bölge izolatı 100 mg/l rifampisin içeren Psf besi yerinde gelişim göstererek adaptasyon yoluyla rifampisine dayanıklı mutant bakteri izolatı elde edilmiştir. Bu besi yerinde patojen bakteri önceleri açık sarı yaşlandıkça koyu sarıya dönen koloniler üretmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Rifampisin içeren Psf besi yerinde bu antibiyotiğe dayanıklılık kazanmış patojenin koloni gelişimi

4.2. Potasyum Hidroksit Testi (KOH) ile Gram Reaksiyonunun Belirlenmesi

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis*'in 3/1A kodlu bölge izolatı test sonucunda özeye yapışmamış, sümüksü bir oluşum gözlenmemiş ve gram reaksiyonu pozitif olarak değerlendirilmiştir.

4.3. Patojenite Testi

Rifampisine dayanıklı mutant bakteri izolatıyla yapılan patojenite testinde inokulasyondan 10 gün sonra domates fidelerinin yapraklarında solgunluk ve

yanıklık belirtileri gözlenmiştir (Şekil 4.2). Tipik hastalık simptomu gösteren domates fidelerinden etmen yeniden izole edilmiştir.



Şekil 4.2. Rifampisine dayanıklı mutant bakteri izolatının patojenite testinde oluşturduğu hastalık belirtisi

4.4. Akşamsafası (*Mirabilis jalapa* L.) Bitkisinde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Elde edilen izolatlar Akşamsafası bitkisinde aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturmuş ve pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.3). Negatif kontrol olarak kullanılan steril distile su uygulamasında ise herhangi bir değişim gözlenmemiştir.



Şekil 4.3. Rifampisine dayanıklı mutant bakteri izolatının *Mirabilis jalapa* L. (Akşamsafası) bitkisinde oluşturduğu aşırı duyarlılık reaksiyonu

4.5. Patojenle Bulaştırılan Tohumlardaki Bakteri Popülasyonunun Saptanması

Patojenin $1.1x10^8$ hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan süspansiyon ile bulaştırılmış 1 g tohumdaki, patojen bakteri popülasyonu $2.76x10^4$ bakteri hücresi olarak tespit edilmiştir.

Farklı tohum uygulamalarının tohumdaki bakteri popülasyonuna etkisi saptanırken kontrol dahil tüm uygulamalarda petrilerin -1 seyreltmelerindeki koloni sayıları karşılaştırılmıştır. Pozitif kontrolden yapılan -1 seyreltmedeki bakteri koloni sayımları üç tekrarda 224, 284 ve 319 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4). Bu seyreltmedeki ortalama koloni sayısı 275.7 olmuş ve diğer uygulamalar bununla karşılaştırılmıştır.

4.6. Farklı Tohum Uygulamalarının Tohumdaki Bakteri Popülasyonuna Etkisi

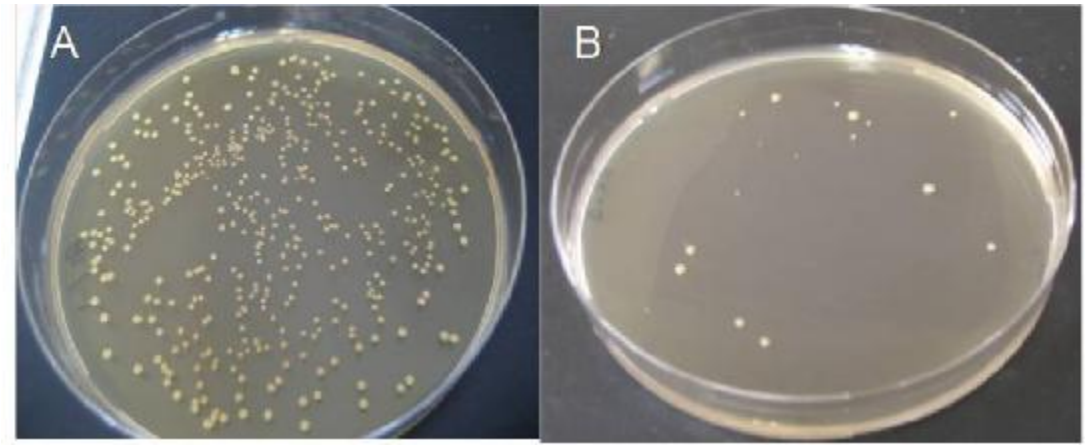
Yapılan tohum uygulamalarının pozitif kontroldeki 275.7 adet bakteri popülasyonunu ne düzeyde azalttığı yaptığımız çalışma sonucu ortaya konmuştur. Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibi uygulamalar %77-100 arasında bu popülasyonu baskılamada etkili olmuştur.

Yapılan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonucunda ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Serbestlik dercesi: 18, F: 299.5, $P<0.005$) (Ek çizelge 1). Verilere analiz yapılmadan önce ln(X+1) transformasyonu uygulanmıştır. Patojen ile bulaştırılan domates tohumlarına yapılan üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit uygulamalarının -1 seyreltmesinin hiçbir tekerrüründe bakteriye rastlanmamış, bu uygulamalara ait ortalamalar sıfır olarak bulunmuştur. Belirtilen uygulamaları ortalama 0.3 ile Sodyum hipoklorit uygulaması izlemiştir. Üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su, laktik asit ve sodyum hipoklorit uygulmaları sonucunda elde edilen ortalama bakteri yoğunluğu aynı grup içerisinde yer almış ve istatistiksel olarak aralarındaki fark önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Farklı tohum uygulamalarının tohumdaki bakteri populasyonuna etkisi

UYGULAMALAR	TEKERRÜR 1.	2.	3.	ORTALAMA	% ETKİ
Pozitif Kontrol	224	284	319	275.7 a*	
Antagonist	61	69	57	62.3 b	77.4
Serenade	44	31	42	39.0 c	85.9
ISR 2000	17	46	28	30.3 c	89.0
Sodyum hipoklorit	1	0	0	0.3 d	99.9
Üzüm sirkesi	0	0	0	0.0 d	100.0
Elma sirkesi	0	0	0	0.0 d	100.0
Sıcak su	0	0	0	0.0 d	100.0
Laktik asit	0	0	0	0.0 d	100.0

*Sütunda aynı harfe sahip ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak fark yoktur



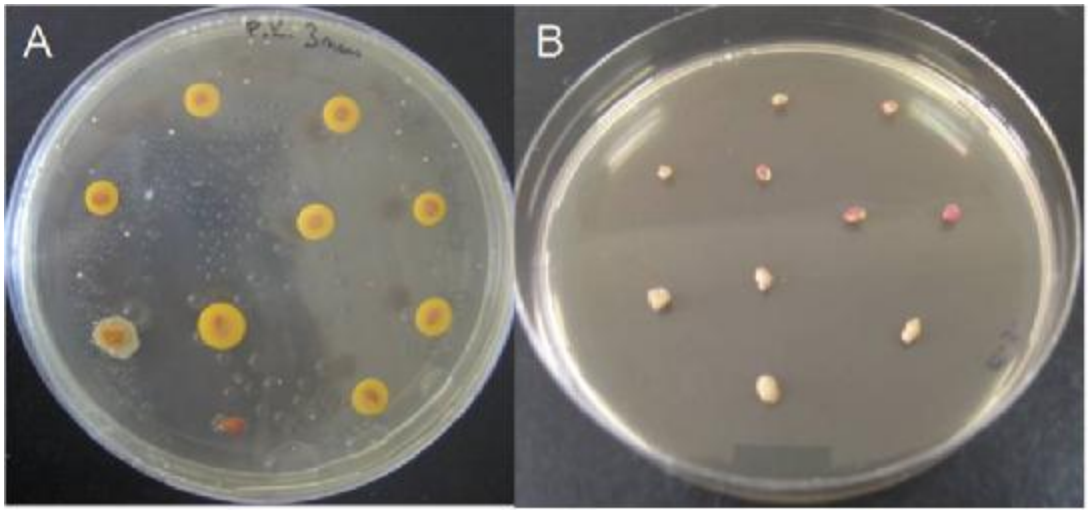
Şekil 4.4. Patojenle bulaştırılmış 1 g tohumdan yapılan izolasyonda, -1 seyreltmede gelişen bakteri kolonileri (A). Patojenle bulaştırılmış ve ISR 2000 uygulanmış 1 g tohumdan yapılan izolasyonda, -1 seyreltmede gelişen bakteri kolonileri (B)

Serenade ve ISR 2000 uygulamaları sonucunda ortalama bakteri yoğunluğu sırasıyla 39.0 ve 30.3 olarak belirlenmiş ve bu uygulamalar istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almışlardır. Antagonist uygulaması sonucunda ortalama bakteri yoğunluğu 62.3 olarak belirlenmiş ve bu değer diğer tüm ortalamalardan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. En yüksek ortalama 275.7 ile pozitif kontrolde elde edilmiş ve bu değer istatistiksel olarak diğer ortalamalardan farklı bulunmuştur. Abbot'a göre hesaplanan % etki değerleri incelendiğinde yapılan uygulamalardan

üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit %100 etkili olmuş, bunları %99.9 ile sodyum hipoklorit izlemiştir. Diğer uygulamalar ile karşılaştırıldığında antagonist uygulamasının %77.4 ile en düşük etkiye sahip olduğu, bunu %85.9 ve %89.0 ile Serenade ve ISR 2000'in izlediği belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

4.7. Patojenle Bulaştırılan Tohumlardaki Bulaşık Tohum Oranının Saptanması

Patojenle bulaştırılmış 100 adet tohum besi yerine ekim yapıldığında 7'sinin etrafında fungal gelişim tespit edilmiş ve bunlar değerlendirme dışı bırakılmıştır. Değerlendirilen 93 adet tohumdan 86'sının çevresinde sarı renkli patojen bakteri gelişimi (Şekil 4.5) gözlenmiştir. Patojenle bulaştırılan tohumların %92.5'inin patojenle bulaşık olduğu saptanmış ve bu değer farklı tohum uygulamalarının tohumlardaki bulaşık tohum oranını belirlerken kontrol olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.5. Patojenle bulaştırılmış tohumların etrafında sarı renkli patojen bakteri gelişimi (A). Patojenle bulaştırılmış ve Serenade uygulanmış tohumların etrafında sarı renkli patojen bakteri gelişimi (B)

4.8. Farklı Tohum Uygulamalarının Bulaşık Tohum Oranına Etkisi

Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi, farklı tohum uygulamaları bulaşık tohumlardaki patojeni %31-100 oranında engellemişlerdir. Sıcak su, üzüm ve elma

sirkesi uygulamaları patojeni tohumdan tamamen yok ederek son derece başarı göstermiştir. Sodyum hipoklorit ve laktik asit de %95.7 ve %96.8'lik etkiyle başarılı uygulamalar arasında bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Farklı tohum uygulamalarının bulaşık tohum sayısına etkisi

Uygulamalar	Toplam Tohum Sayısı	Bulaşık Tohum Sayısı	Bulaşık Tohum %'si	% Etki
Pozitif Kontrol	93	86	92.5	
Antagonist	92	59	64.1	30.6
Serenade	99	19	19.2	79.2
ISR 2000	97	15	15.5	83.3
Sodyum hipoklorit	100	4	4.0	95.7
Laktik Asit	100	3	3.0	96.8
Üzüm Sirkesi	100	0	0.0	100.0
Elma Sirkesi	100	0	0.0	100.0
Sıcak Su	100	0	0.0	100.0

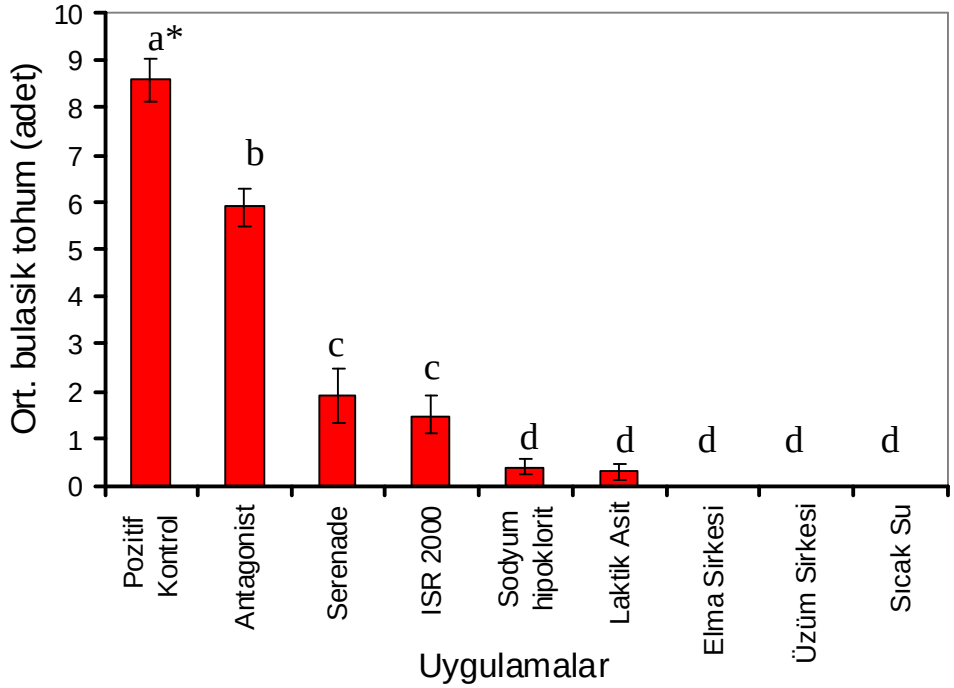
Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* ile bulaşık tohumlara hiçbir uygulama yapılmadan 100 mg/l rifampisin içeren Psf besi yerine ekilerek elde edilen pozitif kontrolde toplam bulaşık tohum sayısı 86 adet ile en yüksek bulunurken bunu 59 adet ile antagonist uygulaması izlemiştir. Serenade ve ISR 2000 uygulamaları sonucunda belirlenen toplam bulaşık tohum sayısı değerleri birbirine yakın olmuş (sırasıyla 19 ve 15), bu uygulamaları 4 ve 3 adet ile sodyum hipoklorit ve laktik asit uygulamaları sonucunda elde edilen değerler izlemiştir. Üzüm sirkesi, elma sirkesi ve sıcak su uygulamaları sonucunda ekilen tohumların hiçbirinde patojen gelişmemiştir (Çizelge 4.2).

Deneme sonucunda pozitif kontrolde %92.5 olan bulaşık tohum oranına en yakın değer %64.1 ile antagonist uygulaması sonucunda elde edilmiştir. Serenade, ISR 2000, sodyum hipoklorit ve laktik asit uygulamalarına ait % bulaşık tohum oranları ise sırasıyla 19.2, 15.5, 4.0 ve 3.0 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2).

Yapılan uygulamalardan elma sirkesi, üzüm sirkesi ve sıcak su Abbot'a göre %100 etkili bulunurken, laktik asit ve sodyum hipoklorit için bu oranlar sırasıyla

%96.8 ve 95.7 olarak bulunmuştur. ISR 2000 %83.3 etkili bulunurken, Serenade için bu oran %79.2 olmuştur. Tüm uygulamalar içerisinde Abbot'a göre en düşük % etki %30.6 ile antagonist uygulaması sonucunda elde edilmiştir (Çizelge 4.2).

Yapılan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonucunda elde edilen ortalama bulaşık tohum sayıları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Serbestlik derecesi: 81, F: 95.31, P<0.005) (Ek çizelge 2). Ortalamalar arasındaki fark MstatC paket programı kullanılarak Duncan çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir. Farklı uygulamaların ortalama bulaşık tohum sayıları karşılaştırıldığında en yüksek ortalama bulaşık tohum sayısı 8.6 ile pozitif kontrolde elde edilmiş ve bu değer istatistiksel olarak diğer tüm uygulamalardan farklı grup içerisinde yer almıştır. Pozitif kontrolden sonra ikinci en yüksek ortalama bulaşık tohum sayısı 5.9 adet ile antagonist uygulaması sonucunda elde edilmiş ve bu değerde istatistiksel olarak diğer uygulamalardan farklı bulunmuştur. Serenade ve ISR 2000 sırasıyla ortalama 1.9 ve 1.5 adet ile istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almış ve aralarındaki fark önemli bulunmamıştır. Sodyum hipoklorit ve laktik asit uygulamaları sonucunda elde edilen ortalama bulaşık tohum sayıları oldukça düşük olmuş (sırasıyla 0.4 ve 0.3) ve %100 etkili bulunan üzüm sirkesi, elma sirkesi ve sıcak su uygulamalarının aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile bulaşık domates tohumlarında farklı uygulamalar sonucunda elde edilen bulaşık tohum sayıları (Ortalama±SH). *Aynı harfe sahip ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak fark yoktur.

4.9. Farklı Tohum Uygulamalarının Tohum Çimlenme Gücüne Etkisi

Farklı uygulamaların tohumların çimlenme gücüne olan etkisinin belirlenmesi için yapılan çalışmada en yüksek ortalama çimlenen tohum sayısı 88.0 adet ile hiçbir uygulama yapılmayan negatif kontrolde elde edilmiş, bunu ortalama 86.7, 86.3, 86.0, 85.3, 84.7, 83.3, 83.0 ve 77.0 ile sırasıyla Antagonist, Sodyum hipoklorit, ISR 2000, pozitif kontrol, laktik asit, elma sirkesi, üzüm sirkesi ve sıcak su uygulamaları izlemiştir. Farklı uygulamaların çimlenme %'sine etkileri incelendiğinde ise en yüksek etki %12.5 ile sıcak su uygulaması sonucunda elde edilmiştir. Başka bir anlatımla sıcak su uygulaması tohumların çimlenme gücünü %12.5 düzeyinde azaltmıştır. Sıcak su uygulaması görmüş tohumlar içerisinde çimlenenlerin gelişmesinin zayıf ve cılız olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7). Serenade uygulamasında tohum çimlenme yeteneği %7.2 oranında azalmıştır. Üzüm sirkesi ve elma sirkesi uygulamaları çimlenme gücünü birbirine yakın oranda (sırasıyla %5.7 ve %5.3)

azaltmış, bunları %3.8 ile laktik asit uygulaması izlemiştir. Hiçbir uygulama yapılmadan sadece *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bulaştırılan pozitif kontrolde tohumların da çimlenme yeteneği %3 oranında azalmıştır. ISR 2000 ve sodyum hipoklorit uygulamaları tohumların çimlenme gücünü sırasıyla %2.3 ve %1.9 oranında azaltırken en düşük azalış %1.5 ile antagonist uygulaması sonucunda elde edilmiştir (Çizelge 4.3)

Çizelge 4.3. Farklı tohum uygulamalarının domates tohumlarının çimlenme gücüne etkisi

	TEKERRÜR				
UYGULAMALAR	**1.**	**2.**	**3.**	**ORTALAMA**	**% ETKİ**
Negatif Kontrol	85	93	86	88.0	
Pozitif Kontrol	90	81	85	85.3	3.0
Antagonist	86	87	87	86.7	1.5
Serenade	79	83	83	81.7	7.2
ISR 2000	90	81	87	86.0	2.3
Sodyum hipoklorit	88	83	88	86.3	1.9
Üzüm Sirkesi	75	89	85	83.0	5.7
Elma Sirkesi	87	85	78	83.3	5.3
Sıcak Su	74	80	77	77.0	12.5
Laktik Asit	85	86	83	84.7	3.8

4.10. Saksı Çalışmaları

İklim odası koşullarında gerçekleştirilen her iki denemede 8 hafta sonra yapılan değerlendirmede tipik hastalık belirtisi olan solgunluk görünümleri tespit edilememiştir. Ancak ilk saksı denemesinde pozitif kontrolde yer alan 4 adet bitkide ve Seranade uygulaması yapılmış 11 bitkide *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in diğer bir hastalık belirtisi olan kotiledon yapraklarda epidermis patlamaları şeklinde siğil benzeri oluşumlar tespit edilmiştir (Şekil 4.8). Bu belirti etmenin hızlı tanısında yaygın olarak kullanılır (Tokgönül, 1998; Çetinkaya-Yıldız, 2007). Bu hastalık görünümü pozitif kontrolde yer alan 100 adet bitkinin sadece dördünde gözlendiği için herhangi bir değerlendirme yapılamamıştır.



Şekil 4.7. Sıcak su uygulaması görmüş tohumlardan gelişen domates bitkileri



Şekil 4.8. Pozitif kontrolde yer alan bitkilerin kotiledon yapraklarındaki epidermis patlamaları

Bir patojenin konukçu bitkide hastalık oluşturabilmesi için patojenin kritik inokulum yoğunluğunun üzerinde bulunması yani hastalık yapmak için yeterli popülasyona ulaşması gerekir. Bunun yanında konukçu bitkinin duyarlı ve çevre koşullarının (sıcaklık ve nem) patojenin gelişimi için uygun olması gereklidir. Chang ve ark. (1992) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in 10^2-10^5 hücre/g tohum popülasyonuyla bulaşık tohumları ektiklerinde, optimum iklim faktörlerinin varlığında 6 hafta sonra sistemik enfeksiyon sonucu bitkilerde solgunluk gözlemlemişlerdir. Tokgönül (1998) ise latent peryotları göz önüne alarak bu süreyi 8 hafta olarak uzatmıştır. Bizim çalışmamızda bulaşık tohumdaki patojen popülasyonu $2.76x10^4$ hücre/g tohum olarak saptanmış ve 8 hafta sonra patojenle bulaştırılan tohumlarda herhangi bir hastalık belirtisi tespit edilmemiştir. Çalışmada kullandığımız H-2274 çeşidi domates tohumlarının bu etmene duyarlı olduğunu göz önüne aldığımızda hastalık gelişimi için uygun çevresel faktörleri iklim odası şartlarında oluşturamadığımızı ve patojenin latent kaldığını düşünmekteyiz.

5. TARTIŞMA

Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis'in neden olduğu domates bakteriyel solgunluk hastalığı ülkemiz dahil domates yetiştiriciliği yapan pek çok ülkenin önemli sorunlarından biridir (Gleason ve ark., 1993; Saygılı ve ark., 2006). Bitki bakteri hastalıklarıyla mücadelede ilk adım hastalıksız üretim materyali kullanmaktır. Dünyada aktif olan tohum ticaretiyle hastalık etmeni temiz üretim alanlarına bulaşabilmektedir. Patojen bakteri üretim alanına bir kez bulaştıktan sonra kültürel işlemler esnasında açılan yaralardan tüm üretim alanına dağılabilmektedir. Özellikle örtü altında bitkiler ıslakken yapılan kültürel işlemler bu patojeni kolayca yayabilmektedir. Üretim sezonu sonunda patojen bakteri toprakta, bitki artıklarında, civardaki konukçu veya konukçu olmayan bitkilerde hatta sera konstriksüyon materyalinde yaşamaya devam etmektedir (Gleason ve ark., 1993). Üreticilerimizin aynı tarlada veya serada her yıl aynı ürünü yetiştirme tercihlerinden dolayı da inokulum bir sonraki üretim sezonuna populasyonunu artırarak yayılmaya devam etmektedir. Böylece patojen bakteri, bir kez bir alana giriş yaptıktan sonra iklim koşulları da patojenin gelişimini desteklerse her yıl hastalık ortaya çıkabilmektedir. Bu şekilde her yıl artış gösteren bakteri inokulumuyla mücadele etmek son derece zordur. Ülkemizde şu an bu hastalık etmeninin bulaşmadığı yöre hemen hemen yok gibidir (Tokgönül 1998; Çetinkaya-Yıldız, 2007).

Bu hastalık sadece tarla veya serada değil aynı zamanda fide üretim yerlerinin de önemli bir sorunudur. Domates tohumlarının pek çok yerinde (tohum kabuğu, endosperm ve embriyo) yaşamını sürdürebilen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* tohumun çimlenmesi esnasında populasyonunu arttırır ve iletim demetlerine ulaşarak bitkide solgunluk belirtileri oluşturur (Çetinkaya-Yıldız ve Aysan, 2008). İnokulum sağlıklı fidelere hava yoluyla veya sulama suyu sıçratmasıyla bulaşarak fidelikte çok sayıda fidenin imha edilmesine neden olabilir. Hastalıklı tohumdan gelişen fideler uygun iklim koşulunu bulamazlarsa belirti göstermeksizin epifitik olarak fidelerde yaşamaya devam ederler. Bu fideler pazarlanıp üretim alanına dikildiğinde uygun iklim koşulları oluştuğunda hastalık ortaya çıkabilir.

Bu hastalığın epidemiyolojisinden de anlaşıldığı gibi inokulumun yayılmasını engellemek ve hastalık döngüsünü kırabilmek için topraktaki inokulumu azaltmak ve hastalıksız tohum/fide kullanmak bir zorunluluktur. Bu hastalığın neden olduğu ekonomik kayıpları ortadan kaldırmak veya en aza indirmek için ilk inokulum kaynaklarının yok edilmesi bir ön koşuldur. Mücadelede ilk adımın tohumdan başlanması gerektiğinden dolayı geleneksel üretimlerde ve organik üretim yapan yerlerde kullanılabilecek tohum uygulamalarının belirlenmesi gereklidir.

Ülkemizde organik sebze üretiminin yapıldığı yerlerde geleneksel şekilde üretilmiş tohum ve fide kullanımı yaygındır. Ancak dünya standartlarında organik sebze üretimi yapmak için organik tohum ve organik fide kullanımını sisteme dahil etmek zorundayız. Bu çalışma çerçevesinde organik tarım mevzuatına uygun, tohumun çimlenme yeteneğini azaltmayan, tohumdaki *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bulaşıklığını yok edecek tohum uygulamaları araştırılmıştır.

Epidemiyolojik çalışmalarda etmen mikroorganizmanın yayılması, popülasyon artışı veya patojenin yaşam yerleri incelenirken tam seçici besi yerlerinden yararlanılır. Eğer sadece hedef patojenin gelişimine izin veren seçici bir besi yeri bilinmiyorsa mikroorganizma geniş spektrumlu bir antibiyotiğe dayanıklılık kazandırılarak mutant izolatı kullanılır (Chang ve ark., 1992; Tokgönül, 1998; Aysan ve ark., 2002; Yıldız ve ark., 2004; Aysan ve ark., 2004). Böylece tohum, toprak ve bitki artıkları gibi karışık popülasyonlarda sadece tek bir mikroorganizmayı izole etme olanağı sağlayan koşullar yaratılmış olur. Bu çalışmada *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in tohumlardan izolasyonunda rifampisin antibiyotiğine adaptasyon yoluyla dayanıklılık kazandırılmış bir bölge izolatı kullanılmıştır. Dayanıklılık şeklinin gen aktarımıyla yapılmamasından dolayı antibiyotiğe dayanıklılık birkaç yıl sonra kırılabilir. Bu durum da çevre ekolojisi açısından olumsuz bir durum yaratmamaktadır. Bu mutant bakteri izolatı kullanımıyla tohumlara patojenin bulaşma düzeyi ve tohum uygulamalarının etkinliği net bir şekilde tespit edilebilmiştir.

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* için izolasyonunda SCM gibi yarı seçici besi yerlerinin (Davis ve Vidaver, 2001) kullanımı tercih edildiğinde klasik petri teknikleriyle patojen popülasyonunu tam belirlemek mümkün

olamayabilir. Uygulama sonrasında etkinlik ortaya konurken düşük düzeydeki bakteri, saprofitler tarafından baskılanarak gelişimi engellenebilir. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* besi yerinde 25°C'de 3-4 günde yavaş gelişim gösteren bir bakteridir. Bu nedenlerle yarı seçici besi yeri kullanımı yerine rifampisin antibiyotiğine dayanıklılık kazandırılmış bir mutant izolatın kullanımı tercih edilmiştir. Tohumlardan yapılan izolasyonlarda rifampisine dayanıklı, sarı koloni morfolojisine sahip, gram reaksiyonu ve akşamsafası bitkilerinde aşırı duyarlılık reaksiyonu pozitif olan izolatların eldesi bu mikroorganizmaların herhangi bir şekilde bulaşmadığını, tohuma inokule edilen mutant bakteri izolatı olduğunun da göstergesidir.

Çizelge 5.1. Farklı tohum uygulamalarının domates tohumlarında bakteri populasyonu, bulaşık tohum sayısı ve çimlenme gücüne etkisi

UYGULAMALAR	BAKTERİ POPULASYONU		BULAŞIK TOHUM SAYISI		ÇİMLENME GÜCÜ	
	Ortalama	% Etki	%'si	% Etki	Ortalama	% Etki
Pozitif Kontrol	275.7 a*		92.5		85.3	3.0
Antagonist	62.3 b	77.4	64.1	30.6	86.7	1.5
Serenade	39.0 c	85.9	19.2	79.2	81.7	7.2
ISR 2000	30.3 c	89.0	15.5	83.3	86.0	2.3
Sodyum hipoklorit	0.3 d	99.9	4.0	95.7	86.3	1.9
Üzüm Sirkesi	0.0 d	100.0	0.0	100.0	83.0	5.7
Elma Sirkesi	0.0 d	100.0	0.0	100.0	83.3	5.3
Sıcak Su	0.0 d	100.0	0.0	100.0	77.0	12.5
Laktik Asit	0.0 d	100.0	3.0	96.8	84.7	3.8

*Sütunda aynı harfe sahip ortalamalar arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak fark yoktur

Rifampisine dayanıklı izolatla yapılan çalışmalarda patojenin miktarı veya varlığı kesin olarak tespit edilebildiği için saksı çalışmaları ile patojenin düzeyini belirlemeye ihtiyaç duyulmadığını gösteren pek çok çalışma mevcuttur (Fatmi ve ark., 1991; Paradhanag & Colier, 2008). Kullandığımız yöntemle çok küçük bakteri bulaşıklığı bile tespit edilebilmiştir. Ancak saksı çalışmasında hastalık belirtilerinin

çıkmaması bakterinin belirti oluşturacak populasyonun altında olması ve iklim şartları ile ilgili olabileceği kanaatine varılmıştır.

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis*'in domates tohumlarından arındırılmasında organik tarımda kullanılabilecek tohum uygulamaları olarak antagonist bakteri, Serenade, ISR 2000, sodyum hipoklorit, üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asidin etkinliği araştırılmıştır. Sodyum hipoklorit, üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit uygulamaları tohumdaki bakteri popülasyonunu yok etmede başarılı olmuştur. Uygulama görmüş tohumlar besi yerine ekildiğinde yine bu uygulamalar en başarılı olarak bulunmuştur. Her iki çalışmanın da bulguları birbirini destekler nitelikte olmuştur. Çok düşük orandaki bakteri bulaşıklığı bile tohum partilerinin bulaşmasına kaynak oluşturacağından uygulamaların %100 etkili olması beklenir. Bu nedenle sodyum hipoklorit ve laktik asit uygulamalarında başarılı bulunmasına rağmen organik tarımda *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'i tohumdan eliminasyonunda önerilmemiştir.

Tohumların çimlenme yetenekleri de göz önüne alındığında sadece sıcak su uygulaması tohum çimlenmesini %12.5 oranında azaltmıştır. Bu bulgumuz Fatmi ve ark., (1991) ile Tokgönül (1998)'le uyum içindedir. Fatmi ve ark., (1991) ve Tokgönül (1998) sıcak su uygulamasının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'i tohumdan yok edebildiğini ancak çimlenmeyi önemli oranda azalttığını bildirmişlerdir. Özaktan (1991) ise bunlardan farklı bulgular elde etmiştir. Özaktan (1991) 56°C sıcaklıkta 30 dakika sıcak su uygulamasının tohumların çimlenme gücünde sadece %4 oranında bir azalma tespit etmiştir. Bu farklılık kullanılan tohum çeşidinden kaynaklanmış olabilir (Tokgönül, 1998). Ancak sıcak su uygulamasının bu yan etkisi yaygın bilinen bir bulgudur. Ayrıca bizim çalışmamızda sıcak su uygulaması görmüş tohumların çimlensede fide gelişmelerinin diğerlerine göre daha zayıf ve cılız olduğu gözlemlenmiştir. Görüldüğü gibi farklı tohum uygulamaları tohum çeşitlerinin çimlenmesi üzerinde farklı etkiye sahip olabilir. Fatmi ve ark. (1991) belirttiği gibi tohum uygulaması tüm tohum partisine uygulanmadan önce kullanılacak tohum çeşidine etkisi ön çimlendirme testleri yapıldıktan sonra uygulanmalıdır.

Uygulamaların etkinliği ve çimlenme düzeyleri dikkate alındığında *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı organik tohum veya fide üretilirken tohum uygulaması olarak üzüm sirkesi ve elma sirkesi uygulamalarının öncelikle kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Ancak üzüm ve elma sirkesi içerisinde 12 saat bekletilen tohumlar, şişip kolaylıkla çimlenebileceğinden saklanmamalı hemen ekilmelidir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* adlı bakteriyel etmeninin neden olduğu bakteriyel solgunluk hastalığı, dünya çapında domates üretimini kısıtlayan en önemli bakteriyel etmenlerden biridir. Bakteriyel solgunluk hastalığına karşı yeterli ve etkili bir mücadele yöntemi bulunmamaktadır. Bu nedenle, mücadelesinde organik tarım yetiştiriciliği içerisinde yer alabilen çevre dostu alternatif mücadele yöntemleri öncelikli konular haline gelmiştir. Bu yüksek lisans tezinde, domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeninin suni olarak bulaştırılmış domates tohumlarından yok edilmesi veya azaltılmasında organik tarımda kullanılabilecek farklı tohum uygulamalarının etkinlikleri araştırılmıştır. Bu kapsamda patojenle bulaştırılmış tohumlara antagonist bakteri, Serenade, bitki aktivatörü olarak ISR 2000, sodyum hipoklorit, üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit uygulamaları yapılmıştır. Ayrıca, belirtilen uygulamaların tohumun çimlenme gücüne etkisi de araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Bu çalışmada *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in rifampisin antibiyotiğine adaptasyon yoluyla dayanıklılık kazandırılmış bir bölge izolatı ile tohumlar bulaştırılmıştır. Bulaşık tohumlara antagonist bakteri, Serenade, bitki aktivatörü olarak ISR 2000, sodyum hipoklorit, üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit uygulamaları yapılmıştır. Uygulama görmüş ve görmemiş tohumlardan izolasyonlar yapılarak elde edilen bakteri popülasyonları karşılaştırılmıştır. Herhangi bir tohum uygulaması yapılmamış bulaşık tohumdan elde edilen yıkama suyunun 1/10 seyreltmesindeki bakteri popülasyonu ortalama 275.7 olarak belirlenirken sodyum hipoklorit, üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit uygulaması yapılmış tohumlardan herhangi bir bakteri izole edilememiştir. Bu uygulamalar tohumdaki bakteri popülasyonunun tümünü yok ederek başarılı uygulamalar olarak değerlendirilmiştir. Diğer uygulamalarda (antagonist bakteri, Serenade, bitki aktivatörü olarak ISR 2000) tohumdaki bakteri popülasyonunu %77-89 oranında azaltmışlardır.

Farklı tohum uygulamalarının bulaşık tohum %'sine etkisinin araştırıldığı

diğer petri denemelerinde, sodyum hipoklorit, üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit uygulaması %96-100 arasında etki göstererek başarılı tohum uygulamaları olarak saptanmıştır.

Farklı tohum uygulamalarının tohum çimlenme gücüne etkisinin belirlendiği çalışmada, sıcak su uygulaması % 12.5, Serenade uygulaması tohumların çimlenme gücünü %7.2 düzeyinde azaltmıştır. Diğer uygulamalar etkisi %1.5 ile %5.7 arasında değişmiştir.

Sonuç olarak, uygulamaların etkinliği ve çimlenme düzeyleri dikkate alındığında organik tarım yetiştiriciliğinde *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı tohum uygulaması olarak öncelikle üzüm sirkesi ve elma sirkesi uygulamaları öncelikle önerilebilir.

KAYNAKLAR

AGARWAL, V. K. and SINCLAIR, J. B., 1987. Principles of seed pathology, 2, CRC Pres, Florida, 168s.

ANONİM, 2009. Domatesin Türkiye ve dünyadaki durumu, BATEM. http://www. batem.gov.tr/urunler/sebzelerimiz/domates/domates.htm, erişim tarihi 2.12.2009.

ANONİM, 2010. Organik tarımın esasları ve uygulanmasına ilişkin yönetmelik. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, http://www.tarim.gov.tr/Files/Mevzuat/ yonetmelik_son/organiktarimin_esaslariveuygulanmasina.doc Erişim Tarihi 12.12.2010

ANONYMOUS, 2010a. EU-Project "Seed treatments for organic vegetable production" http://www.stove-project.net/03.02.05/general%20Stove-Poster. pdf, Erişim Tarihi 8.01.2010.

ANONYMOUS, 2010b. Organic seed treatment notes. http://www.growseed.org/ seedtreatments.html, Erişim Tarihi 09.01.2010.

ANONYMOUS, 2010c. Online information service for non-chemical pest management in the tropics; Seed treatments. http://www.oisat.org/control_ methods/other_methods/seed_treatment.html, Erişim Tarihi 09.01.2010.

AYSAN, Y. ve ÇINAR, Ö., 2001. Çukurova Bölgesinde biberlerde Bakteriyel Leke Hastalığının (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*) çıkışı ve kontrolü üzerinde araştırmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi, Bildiriler, 3-8 Eylül 2001, Tekirdağ, 45:549-554.

AYSAN, Y., ÜLKE, G. ve ÇINAR, Ö., 2002. Domates tohumlarında *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı tohum uygulamaları. Türkiye I. Tohumculuk Kongresi, 11-13 Eylül 2002, Bornova, İzmir, s.167-171.

AYSAN, Y., SAHIN, F., CETINKAYA-YILDIZ, R., MIRIK, M. and YUCEL, Y., 2004. Occurence and primer inoculum sources of bacterial stem rot caused by *Erwinia* species on tomato in the Eastern Mediterranean region of Turkey. Journal of Plant Diseases and Protection, 112:42-51.

AYSAN, Y., ve CETINKAYA-YILDIZ, R., 2006. Domates bakteriyel solgunluk

hastalığına karşı bitki büyüme düzenleyici rizobakterilerle dayanıklılığın teşviki, TOVAG–105 O 465 no'lu Proje Sonuç Raporu, 34 sayfa.

BASIM, H., YEGEN, O. and ZELLER, W., 2000. Antibacterial efect of essential oil of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz 107:279-284.

BASIM, E., BASIM, H., DICKSTEIN E. R. and JONES J. B., 2004. Bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on greenhouse-grown tomato in the Western Mediterranean Region of Turkey. Plant Disease, 88:1048.

BASIM, E., BASIM, H., ÖZCAN, M., 2005. Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. Journal of Food Engineering, 77:992–996.

BAYRAK, S.S. ve KAYA, M. L., 2009. Dünya taze domates ve işlenmiş domates ürünleri piyasası önemli ülkelerdeki son durum. Akdeniz İhracatçı Birlikleri Araştırma Serisi, No:59, 27s.

BAYSAL, Ö., SOYLU, E. M., and SOYLU, S., 2003. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator Acibenzolar-s-methyl in tomato seedlings aganist Bacterial Canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. Plant Pathology, 52:747- Baysal ve ark. (2010), 753.

BEŞİRLİ, G., 2009. Organik tarım. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Teşkilatlanma ve Destekleme Genel Müdürlüğü, televizyon yoluyla yaygın çiftçi eğitimi projesi (YAYÇEP). T. C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Yayın Dairesi Başkanlığı, 376s.

BLANCARD, D., 1988. Domates Hastalıkları: Gözlem, Teşhis, Mücadele. HASAD Yayıncılık, İstanbul, 215s.

BOUDYACH, E. H., FATMI, M., AKHAYAT, O., BENIZRI, E. and AIT BEN AOUMAR, A., 2001. Selection of antagonistic bacteria of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and evaluation of their efficiency against Bacterial Canker of Tomato. Biocontrol Science and Technology, 11:141-149.

BOUDYACH, E. H., FATMİ, M., BOUBAKER, H., AIT BEN AOUMAR, A. and

AKHAYAT, O., 2004. Effectiveness of fluorescent Pseudomonads strains HF22 and HF142 to control Bacterial Canker of Tomato. Journal of Food, Agriculture & Environment, 2:115-120.

CHANG, R. J., RIES, S. M., and PATAKY, J. K., 1992. Local sources of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in the development of Bacterial Canker on Tomatoes. Phytopathology, 82:553-560.

ÇAKMAKÇI, R., DÖNMEZ, F., CANBOLAT, M. ve ŞAHİN, F., 2005. Sera ve farklı tarla koşullarında bitki gelişimini teşvik edici bakterilerin bitki gelişimi ve toprak özelliklerine etkisi. Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, 5-9 Eylül 2005, Antalya, Cilt I:45-50.

ÇETİNKAYA-YILDIZ, R., 2002. Doğu Akdeniz Bölgesi Plastik Domates Seralarında Gövde Nekrozuna Neden Olan *Erwinia chrysanthemi*'nin Tanısı, Biovarlarının Belirlenmesi ve Epidemiyolojisi Üzerinde Araştırmalar. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 62s.

ÇETİNKAYA-YILDIZ, R., 2007. Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis Et. Al.]'nin Tanılanması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler ile Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 173s.

ÇETİNKAYA-YILDIZ, R., AYSAN, Y., ve ÇINAR, Ö., 2003. Domates tohumlarında bulunan *Erwinia chrysanthemi*'nin tohum ile taşınmasının ve çeşitli tohum uygulamalarının etkinliğinin araştırılması. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 18:1-6.

ÇETİNKAYA-YILDIZ, R. ve AYSAN, Y., 2005. Bakteriyel Solgunluk Hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ile bulaşık domates fidelerinde bitki aktivatörlerinin etkinliğinin belirlenmesi. Türkiye II. Tohumculuk Kongresi, 9-11 Kasım 2005, Adana, s.359.

ÇETİNKAYA-YILDIZ, R. ve AYSAN, Y., 2008. Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı, Tomato Bacterial Wilt Disease, Stem Canker, Bird's Eye Spot, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. (H. SAYGILI, F. ŞAHİN,

Y. AYSAN editörler). Bitki Bakteri Hastalıkları, Meta Basım Matbaacılık, Bornova-İzmir, s.49-52.

ÇINAR, Ö., 1978. Yapay ortamda *Corynebacterium michiganense* (Erwin F. Smith) Jensen, *Pseudomonas tomato* (Okabe) Alstatt ve *Xanthomonas vesicatoria* (Doidge) Dowson'ya karşı tarımsal savaş preperatları biyolojik savaş etkinliklerinin saptanması. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı Sayı 1, 14s.

ÇINAR, Ö., 1980. Bakteriyel Domates Solgunluğu Hastalığı (*Corynebacterium michiganense* (Erwin. F. Smith) Jensen)'nin Tanımı Savaş Yöntemleri ve Etmene Karşı Dayanıklı Domates Çeşitleri Üzerine Araştırmalar. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları:139, Bilimsel Araştırma ve İnceleme Tezleri:31, Adana, 36s.

DAFERERA, D. J., ZIOGASB, B. N. and POLISSIOU, M. G., 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Crop Protection, 22:39-44.

DAVIS, M. J. and VIDAVER, A. K., 2001. Gram positive bacteria, Coryneform Plant Pathogens.. (SCHAAD, N. W., JONES, J. B., CHUN,W. edited). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, Third Edition, APS Pres, Minnesota, s.221-226.

DEMİR, G., GÜNDOĞDU, M., 1994. Bacterial diseases of food Legumes in Aegean Region of Türkiye and effectivity of some seed treatments against Bean Halo Blight. Journal of Turkish Phytopathology, 23:57-66.

DHANVANTARI, B.N., 1989. Effect of seed extraction methods and seed treatments on control of tomato bacterial canker. Canadian Journal of Plant Pathology, 11:400-408.

DHANVANTARI, B. N. and BROWN, R. J., 1993. Improved seed treatments for control of Bacterial Canker of Tomato. Canadian Journal of Plant Pathology, 15:201-205.

DIVER, S., KUEPPER, G. and BORN, H., 1999. Organic Tomato Production. ATTRA, 1-25p. (http//attra.ncat.org/attra-pub/PDF/tomato.pdf, Erişim Tarihi

01.12.2009.)

FAO, 2010. FAOSTAT Agriculture. http://faostat.fao.org/site/567/-DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor, Erişim tarihi 02.12.2010.

FATMI, M., SCHAAD, N. W., and BOLKAN, H. A., 1991. Seed treatments for eradicating *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from naturally infected tomato seeds. Plant Disease, 75:383-385.

GITAITIS, R. D., 1990. Induction of a hypersensitivelike reaction in four-o'clock by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis.* Plant Disease, 74:58-60.

GITAITIS, R. D., and BEAVER, R.W., 1990. Characterization of fatty acid methyl ester content of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis.* Phytopathology, 80:318-321.

GLEASON, M. L., GITAITIS, R. D. and RICKER M. D., 1993. Recent progress in understanding and controlling Bacterial Canker of Tomato in Eastern North America. Plant Disease, 77:1069-1076.

GROOT, S.P.C., van der WOLF, J.M., JALINK, H., LANGERAK, C.J. and van der BULK, R.W., 2004. Challenges for the production of high quality organic. Seed Testing International, No:127, 12-15p.

İLBAŞ, A. İ., 2009. Organik tarım, ilkeler ve ulusal mevzuat, Eflatun Yayınevi, 267s.

IVEY, M. L. L. and MILLER, S. A., 2005. Evaluation of hot water seed treatment for the control of Bacterial Leaf Spot and Bacterial Canker on fresh market and processing tomatoes. Acta Horticulturae, 197-204.

KARSAVURAN, Y., SAYGILI, H., TOSUN, N. ve TÜRKÜSAY, H., 2005. Tohumla taşınan hastalık ve zararlıların mücedalesi. (ESER, B., SAYGILI, H., GÖKÇÖL, A. ve İLKER, E., editörler). Tohum Bilimi ve Teknolojisi, Cilt 2, Meta Basım Matbaacılık, Bornova-İzmir, s567-598.

KRITZMAN, G., 1993. A chemi-thermal treatment for control of seedborne bacterial pathogens of tomato. Phytoparasitica, 21:101-109.

MANGAMA, P. and SREERAMULU, A., 1991. Garlic extract inhibitory to growth of *Xanthomonas campestris* pv. v*esicatoria.* Indian Phytopathology, 44:372-374.

MİRİK, M. ve AYSAN, Y., 2005. Effect of some plant extracts as seed treatments on bacterial spot disease of tomato and pepper. The Journal of Turkish Phytopathology, 34:9-16.

ÖZAKTAN, H, 1991. Domates Bakteriyel Solgunluğu (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ile Savaşım Olanakları Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi Doktora Tezi, Bornova-İzmir, 98s.

PRADHANANG P. M. and COLLIER, G., 2009. How effective is hydrochloric acid treatment to control *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* contamination in tomato seed? Acta Horticulturae, 808: 81-85.

RAUDALES, R. E. and GARDENER B. B. M., 2008. Microbial biopesticides for the control of plant diseases in organic farming. The Ohio State University, Agriculture and Natural Resources, Fact Sheet, HYG-3310-08, 5s.

SAHIN, F., USLU, H., KOTAN, R. and DONMEZ , F., 2002. Bacterial canker, caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*, on tomatoes in eastern Anatolia region of Turkey. Plant Pathology, 51:399.

SANDS, D. C., 1990. Physiological criteria-determinate tests. In: Methods in Phytobacteriology. (Edts. Klement, Z.; Rhudolp, K.;Sands, D. C.) Academia Kiado, Budapest, Hungary.

SAYGILI, H., ŞAHİN, F. ve AYSAN, Y., 2006. Fitobakteriyoloji. Meta Basım Matbaacılık, İzmir, 530s.

THYR, B.D., WEBB, R. E., JAWORSKI, C. A. and RATCLIFFE, T.J., 1973. Tomato bacterial canker: Control by seed treatment. Plant Disease Reporter, 57 (11): 974-977.

TOKGÖNÜL, S., 1998. Ticari Domates Tohumlarında Bakteriyel Solgunluk Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'nin Saptanması ve Etmene Karşı Mücadele Olanakları Üzerine Araştırmalar. Ç. Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 93s.

TOKGÖNÜL, S. ve ÇINAR, Ö., 1999. Domates bakteriyel solgunluk hastalığı Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ile mücadelede antagonist bakterilerin kullanım olanakları. Türkiye IV. Biyolojik Mücadele Kongresi, 26-29 Ocak, 1999, Adana, s.177-188.

TÜRKÜSAY, H. ve TOSUN, N., 2005. Hidrojen peroksit uygulamalarının domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* (Smith) Davis et al)'na etkileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 42:45-56.

UMESHA, S., 2006. Occurrence of Bacterial Canker in tomato fields of Karnataka and effect of biological seed treatment on disease ıncidence. Crop Protection 25:375-381.

ÜSTÜN, N., 2008. Patates Kahverengi Çürüklük Hastalığı Brown Rot of Potato Domates ve Sardunya Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Southern Bacterial Wilt of Tomato and Geranium Muz Moko Hastalığı Moko Disease of Banana Tütün Granville Solgunluğu Granville Wilt of Tobacco *Ralstonia solanacearum*. (H. SAYGILI, F. ŞAHİN, Y. AYSAN editörler). Bitki Bakteri Hastalıkları, Meta Basım Matbaacılık, Bornova-İzmir, s. 127-134.

WILSON, M., 1996. An ıntegrated biological control strategy for foliar bacterial diseases on tomato. IOBC wprs Bulletin, 19:57p.

WOLF van der, J. M., BIRNBAUM Y., ZOUWEN van der P. S. and GROOT S. P. C., 2008. Disinfection of vegetable seed by treatment with essential oils, organic acids and plant extracts. Seed science and Technology, 36:76-88.

WSZELAKI, A.L. and MILLER, S.A, 2005. Determining the efficacy of disease management products in organically-produced tomatoes. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2005-0713-01-RS.

YILDIZ, H. N., AYSAN, Y., SAHIN, F. and CINAR, O., 2004. Potential inoculum sources of tomato stem and pith necrosis caused by *Pseudomonas viridiflava* in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. Journal of Plant Diseases and Protection, 111:380-387.

ZENGİN, M., 2007. Organik tarım. Hasad yayıncılık, 136s.

ÖZGEÇMİŞ

Karabük ilinde 1976 yılında doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimimi aynı ilde tamamladıktan sonra 1994 yılında Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde üniversite eğitimine başladı. Bölümden 1998 yılında mezun oldu. Altı yıl süresince zirai ilaç bayiliği yaptıktan sonra 2010 yılında TİGEM Çukurova Tarım İşletmesi Müdürlüğü (Adana)'nde, ziraat mühendisi olarak göreve başladı. Halen aynı kurumda göreve devam etmektedir.

EK1. Farklı tohum uygulamalarının tohumdaki bakteri popülasyonuna etkisinin belirlendiği çalışmada elde edilen verilere ln(X+1) transformasyonundan sonra uygulanan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları

ÖZET

Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans
Pozitif Kontrol	3	16.83691	5.612304	0.032226
Antagonist	3	12.43607	4.145358	0.00909
Serenade	3	11.0336	3.677866	0.034266
Isr 2000	3	10.10782	3.369272	0.230295
Sodyum hipoklorit	3	0.693147	0.231049	0.160151
Üzüm sirkesi	3	0	0	0
Elma sirkesi	3	0	0	0
Sıcak su	3	0	0	0
Laktik asit	3	0	0	0

ANOVA

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	124.102	8	15.51275	299.5842	1.53E-17	2.510158
Gruplar İçinde	0.932057	18	0.051781			
Toplam	125.0341	26				

EK2. Farklı uygulamaların bulaşık tohum sayılarına olan etkisinin belirlendiği çalışmada elde edilen verilere uygulanan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları

ÖZET

Gruplar	Say	Toplam	Ortalama	Varyans
Pozitif Kontrol	10	86	8.6	2.044444
Antagonist	10	59	5.9	1.655556
ISR 2000	10	15	1.5	1.611111
Hypo	10	4	0.4	0.266667
Elma Sirkesi	10	0	0	0
Üzüm Sirkesi	10	0	0	0
Serenade	10	19	1.9	3.211111
Laktik Asit	10	3	0.3	0.233333
Sıcak Su	10	0	0	0

ANOVA

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P-değeri	F ölçütü
Gruplar Arasında	764.4	8	95.55	95.31466	5.82665E-38	2.054882
Gruplar İçinde	81.2	81	1.002469			
Toplam	845.6	89				