

74

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Raziye ÇETİNKAYA YILDIZ

119943

Doğu Akdeniz Bölgesi Plastik Domates Seralarında Gövde Nekrozuna
Neden Olan *Erwinia chrysanthemi*'nin Tanısı, Biovarlarının
Belirlenmesi ve Epidemiyolojisi Üzerinde Araştırmalar

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA, 2002

119943

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞU AKDENİZ BÖLGESİ PLASTİK DOMATES SERALARINDA GÖVDE
NEKROZUNA NEDEN OLAN *Erwinia chrysanthemi*'nin TANISI,
BİOVARLARININ BELİRLENMESİ VE EPİDEMİYOLOJİSİ ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR

RAZİYE ÇETİNKAYA YILDIZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ


BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu tez, ~~02.09~~ 02.09/2002 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

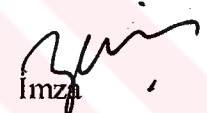

İmza

Prof. Dr. Özden ÇINAR
DANIŞMAN

İmza

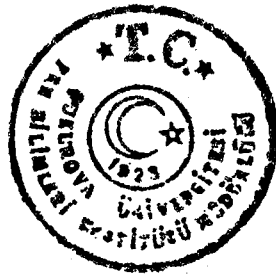

Prof. Dr. Zülküf KAYA
ÜYE

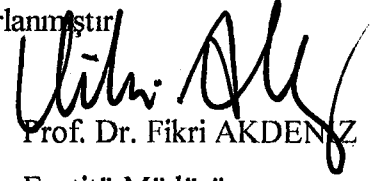
İmza


Yard. Doç. Dr. Yeşim AYSAN
ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır

Kod No: 2036




Prof. Dr. Fikri AKDENİZ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi Tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FBE.2002.YL.57

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

İÇİNDEKİLER	SAYFA NO
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
1. GİRİŞ	I
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
2.1. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin Tanısı ve Patovarylarını/Biovarlarının Belirlenmesi Üzerine Yapılan Çalışmalar	7
2.2. Hastalığın Epidemiyolojisi Üzerine Yapılan Çalışmalar	9
2.3. Tohum Uygulaması Üzerine Yapılan Çalışmalar	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM	13
3.1. Materyal	13
3.2. Yöntem	13
3.2.1. Yumuşak Çürüklük <i>Erwinia</i> Türlerinin İzolasyonu ve Eldesi	13
3.2.2. Domates Bitkilerinin Yetiştirilmesi	13
3.2.3. Bakteri Süspansiyonun Hazırlanması	14
3.2.4. Patojenite Testleri	14
3.2.5. Yumuşak Çürüklük <i>Erwinia</i> Türlerini Tanılamak İçin Testleri	14
3.2.5.1. Koloni Renk ve Şekli	14
3.2.5.1.(1). King B Besi Yerinde Gelişim	14
3.2.5.1.(2). YDC Besi Yerinde Gelişim	15
3.2.5.2. Potasyum Hidroksit Testi (KOH)	15
3.2.5.3. Levan Oluşumu	15
3.2.5.4. Oksidaz Testi	15
3.2.5.5. Patates Çürüklüğü Testi	16
3.2.5.6. Arginin Dehidrolaz Testi	16
3.2.5.7. Tütünde Aşırı Duyarlılık (HR)	16
3.2.5.8. Oksidasyon/ Fermantasyon Testi (O/F).....	16

3.2.5.9. Jelatin Hidrolizasyonu Testi	17
3.2.5.10. Lesitinaz Üretimi	17
3.2.5.11. NaCl Toleransı	18
3.2.5.12. Sukroz'dan Madde Azalması	18
3.2.5.13. Fosfataz Üretimi	18
3.2.5.14. İndol Testi.....	19
3.2.5.15. α -Metil-D-Glukoz'un Kullanımı	19
3.2.5.16. Eritromisin Testi	20
3.2.5.17. Metilen Kırmızısı Testi	20
3.2.5.18. Karbon Kaynaklarını Kullanma Testi	21
3.2.6. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin Biovarlarının Tespiti	21
3.2.6.1. Karbon Kaynaklarını Kullanma Testi	21
3.2.6.2. Arginin Dehidrolaz Testi	22
3.2.6.3. Sıcaklık Denemesi	22
3.2.7. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin Toprak, Tohum Ve Bitki Artıklarındaki Yaşam Süresinin Saptanması.....	23
3.2.7.1 Rifampisin'e Dayanıklı <i>Erwinia chrysanthemi</i> İzolatının Elde Edilmesi.....	23
3.2.7.2. En İyi İnokulasyon Yönteminin Belirlenmesi	24
3.2.7.3. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin Topraktaki Yaşam Süresinin Saptanması.....	24
3.2.7.4. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin Bitki Artıklarında Yaşam Süresinin Saptanması.....	25
3.2.7.5. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin Tohumlardaki Patojenitesi Ve Yaşam Süresinin Saptanması	26
3.2.8. Tohum Kökenli İnokulumu Baskı Altına Almada Tohum Uygulamalarının Etkisi	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	28
4.1. Yumuşak Çürüklük <i>Erwinia</i> Türlerinin İzolasyonu ve Eldesi	28
4.2. Patojenite Testleri	30
4.3. Bakteri İzolatlarını Tanılama Testleri	32
4.3.1. Koloni Renk ve Şekli	32
4.3.1.1. King B Besi Yerinde Gelişim	32

4.3.1.2. YDC Besi Yerinde Gelişim	32
4.3.2. KOH Testi	33
4.3.3. Levan Oluşumu	33
4.3.4. Oksidaz Testi	33
4.3.5. Patates Çürüklüğü Testi	33
4.3.6. Arginin Dehidrolaz Testi.....	34
4.3.7. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi (HR)	34
4.3.8. Oksidasyon / Fermantasyon Testi (O/F)	35
4.3.9. Jelatin Hidrolizasyonu Testi	36
4.3.10. Lesitinaz Üretimi	36
4.3.11. NaCl Toleransı	36
4.3.12. Sukroz'dan Madde Azalması	37
4.3.13. Fosfataz Testi	37
4.3.14. İndol Testi	37
4.3.15. α -Metil -D-Glükozun Kullanımı	37
4.3.16. Eritromisin Testi	38
4.3.17. Metilen Kırmızısı	38
4.3.18. Karbon Kaynaklarını Kullanma Testi	38
4.4. <i>E. chrysanthemi</i> izolatlarının Biovarlarının Tespiti	41
4.4.1. Karbon Kaynaklarını Kullanma Testi	41
4.4.2. Arginin Dehidrolaz Testi	41
4.4.3. Sıcaklık Denemesi	41
4.5. <i>Erwinia chrysanthemi</i> 'nin Toprak, Bitki Artığı Ve Tohumdaki Epifitik Yaşam Süresinin Saptanması	43
4.5.1. Rifampisin'e Dayanıklı <i>Erwinia chrysanthemi</i> İzolatının Elde Edilmesi.....	43
4.5.2. En İyi İnokulasyon Yönteminin Belirlenmesi	43
4.5.3. <i>Erwinia chrysanthemi</i> 'nin Toprakdaki Yaşam Süresinin Saptanması	43
4.5.4. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin Toprakdaki Bitki Artıklarında Yaşam Süresinin Saptanması	45

4.5.5. <i>I. chrysanthemi</i> 'nin Tohumlardaki Patojenitesi Ve Yaşam Süresinin Saptanması	47
4.6. Tohum Kökenli İnokulumu Baskı Altına Almada Tohum Uygulamalarının Etkisi	49
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	62



ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOĞU AKDENİZ BÖLGESİ PLASTİK DOMATES SERALARINDA GÖVDE
NEKROZUNA NEDEN OLAN *Erwinia chrysanthemi*'nin TANISI, BİOVARLARININ
BELİRLENMESİ VE EPİDEMİYOLOJİSİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

RAZİYE ÇETİNKAYA YILDIZ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Özden ÇINAR

Yıl: 2002, Sayfa 61

Jüri : Prof. Dr. Özden ÇINAR
: Prof. Dr. Zülküf KAYA
: Yard. Doç. Dr. Yeşim AYSAN

Doğu Akdeniz Bölgesinden 24 adet yumuşak çürüklük *Erwinia* türü izole edilmiştir. Bu izolatların 17 tanesi *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* ve 7 tanesi *Erwinia chrysanthemi* olarak tanılanmıştır. *E. chrysanthemi* izolatlarının biovar 6 olduğu saptanmıştır.

Doğu Akdeniz Bölgesinde yaz aylarında patojenin toprakta yaşamını devam ettiremediği ancak bu dönemde bulaşık bitki artıklarında bir sonraki mevsime kadar yaşamını sürdürdüğü saptanmıştır. Turfanda domates üretim mevsimi olan kış ayları boyunca patojen topraktan ve bitki artıklarından izole edilmiştir. Ayrıca bulaşık tohumlarda etmen yaklaşık 11 ay canlılığını korumuştur. Bulaşık tohumlardan gelişen fidelerin kotiledon yapraklarında hastalık belirtilerinin belirlenmesi etmenin tohumla taşınabileceğini göstermektedir.

Domates tohumlarından *E. chrysanthemi*'yi elimine edebilmek amacıyla çeşitli tohum uygulamalarının etkinlikleri test edilmiştir. Uygulamaların etkinliği ve çimlenme yüzdeleri dikkate alındığında *E. chrysanthemi*'nin neden olduğu gövde nekrozu hastalığına karşı 0.6 M HCl'ya 30 dakika ve %1'lik NaOCl'ya 30 dakika daldırma uygulamalarının başarılı olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Domates, *Erwinia chrysanthemi*, biovar, tohum, epidemiyoloji

ABSTRACT

MSc THESIS

IDENTIFICATION, DETERMINATION of BIOVARS and EPIDEMIOLOGY
of *Erwinia chrysanthemi* CAUSED STEM NECROSIS in PLASTIC TOMATO
GREENHOUSES in EASTERN MEDITERRANEAN REGION

RAZIYE ÇETİNKAYA YILDIZ

DEPARTMENT of PLANT PROTECTION

INSTITUTE of NATURAL and APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY of CUKUROVA

Supervisor : Prof. Dr. Özden ÇINAR

Year: 2002, Page: 61

Jury : Prof. Dr. Özden ÇINAR

: Prof.Dr. Zülküf KAYA

: Asisst. Prof. Yeşim AYSAN

Twenty four soft rot *Erwinia* species were isolated from Eastern Mediterranean Region. 17 of them were identified as *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* and 7 of them were identified as *Erwinia chrysanthemi*. It was determined that *Erwinia chrysanthemi* isolated were biovar 6.

It was determined that the pathogen couldn't survive during summer in Eastern Mediterranean Region but it could survive in plant debris as far as next season. During winter months which is the out of tomato growing season, the agent was isolated from soil and plant debris. The pathogen was also survived on contaminated seeds for 11 months.

Determination of disease symptoms on cotyledone leaves growed from contaminated seeds showed that the agent can be transported by seeds.

Effects of various seed applications were tested in order to eliminate *Erwinia chrysanthemi* from tomato seeds. From the point of the germination ratios and effect of applications on the stem necrosis caused by *Erwinia chrysanthemi* dipping in 0.6 M HCl and 1% NaOCl for 30 seconds were effective.

Key Words: Tomato, *Erwinia chrysanthemi*, biovar, seed, epidemiology

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarımın yürütülmesinde bana yol gösteren, derin bilgi birikimi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Prof. Dr. Özden ÇINAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalıőmalarımın tüm aşamalarında bana yol gösteren, sayın Yard. Doç. Yeşim AYSAN'a özveri ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Çalıőmalarımda emeği geçen tüm laboratuvar arkadaşlarıma, her zaman ve her konuda yanımda olan aileme ve eşime teşekkür ederim.



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan yumuşak çürüklük <i>Erwinia</i> izolatlarının listesi	31
Çizelge 4.2. Doğu Akdeniz Bölgesinde domateste yumuşak çürüklüğe neden olan <i>Erwinia</i> izolatları ile yapılan fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçları.....	39
Çizelge 4.3. <i>Erwinia chrysanthemi</i> izolatlarının biovarlarını saptama test sonuçları.....	42
Çizelge 4.4. Çeşitli tohum uygulamalarının <i>E. chrysanthemi</i> ve tohum çimlenmesi üzerine etkisi	51

Şekil 1.1. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin domates bitkisinde oluşturduğu solgunluk ve yumuşak çürüklük	4
Şekil 1.2. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin domates meyvesinde oluşturduğu yumuşak çürüklük	4
Şekil 3.1. <i>E. chrysanthemi</i> ile bulaştırılmış toprak	25
Şekil 3.2. <i>E. chrysanthemi</i> ile bulaştırılmış bitki artıklarının gömüldüğü toprak alanı	25
Şekil 4.1. Domates bitkisinde <i>E. chrysanthemi</i> 'nin neden olduğu solgunluk ve gövde lekeleri	28
Şekil 4.2. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin neden olduğu gövde içi boşalması ve domates bitkisinde iletim demetlerindeki renklenme	29
Şekil 4.3. Patojenite testlerinde AB-İD 3a izolatının domates bitkisinde oluşturduğu gövde lekeleri ve iletim demetlerindeki renk değişimi	30
Şekil 4.4. AB-İD 3a izolatının YDC besi yerinde oluşturduğu mavi çözünmeyen pigment	32
Şekil 4.5. KOH testinde gram negatif kültürlerin oluşturduğu sümüksü yapı	33
Şekil 4.6. Solda oksidaz negatif, sağda pozitif olan reaksiyon	33
Şekil 4.7. OK2-Öza izolatının ürettiği pektolitik enzimler sonucu yumuşayan patates dilimlerinin görünümü	34
Şekil 4.8. Solda arginin dehidrolaz negatif, sağda pozitif olan reaksiyon	34
Şekil 4.9. OK2-Öza izolatının tütün yapraklarında oluşturduğu aşırı duyarlılık reaksiyonu	35
Şekil 4.10. <i>Pseudomonas cichorii</i> 'nin tütün yapraklarında oluşturduğu aşırı duyarlılık reaksiyonu	35
Şekil 4.11. <i>P. cichorii</i> kültürünün lesitinaz üretimi sonucu kolonilerinin çevresinde oluşan parlaklık ve sümüksü gelişme	36
Şekil 4.12. Üstte merkezi pembe olan OK2-Öza izolatının fosfataz pozitif kolonileri, altta İCL-1a izolatının fosfataz negatif kolonileri	37

Şekil 4.13. α -metil-D-glukozu kullanabilen <i>E. c. subsp atroseptica</i> 'nin kırmızımsı pembe renkli kolonileri	37
Şekil 4.14. Eritromisin antibiyotigine duyarlı olan OK2-Öza izolatının oluşturduğu inhibisyon zonu	38
Şekil 4.15. Solda <i>P. viridiflava</i> kültürünün D (-) tartrat'ı kullanarak ortamının renginin değiştirmesi, sağda D (-) tartrat'ı kullanamayan OK2-Öza izolatının gelişimi	41
Şekil 4.16. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin yaz aylarında topraktaki populasyonu	44
Şekil 4.17. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin kış aylarında topraktaki populasyonu.....	44
Şekil 4.18. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin topraktaki bitki artıklarında yaz aylarındaki populasyonu	45
Şekil 4.19. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin topraktaki bitki artıklarında kış aylarındaki populasyonu	46
Şekil 4.20. <i>E. chrysanthemi</i> 'nin bulaşık tohumdaki yaşam süresinin saptanması	48
Şekil 4.21. <i>E. chrysanthemi</i> ile bulaşık tohumdan gelişen fidelerin kotiledon yapraklarında oluşan lekeler	49

1.GİRİŞ

Domates dünyada ve ülkemizde tüketimi oldukça yoğun olan sebzelerden biridir. Türkiye’de sebze yetiştiriciliği son yıllarda sürekli bir artış göstermektedir. 1999 yılı verilerine göre 789.702 hektar alandan elde edilen 22.083.352 ton sebze üretiminde domates birinci sırada yer almaktadır. Domates iç piyasada taze olarak tüketilmesinin yanı sıra gıda endüstrisinde ham madde olarak kullanılmakta, dış pazarlara ise taze olarak veya işlenerek ihraç edilmektedir (DİE, 1999).

Ülkemizde farklı iklim bölgelerinde hem açık alanda hem örtü altında sofralık ve sanayi domatesi üretilmektedir. Sofralık domates üretimi en fazla Akdeniz bölgesinde kışın plastik ve cam seralarda, yazın ise tarlada yapılmaktadır.

Seracılık pahalı bir yatırım ve iyi bir işletmeciliği gerektirmektedir. Seraların iyi havalandırılmaması, yanlış kültürel işlemlerin uygulanması, hasta bitki artıklarının seralardan uzaklaştırılmaması, üreticinin her yıl aynı bitkiyi yetiştirme alışkanlığı gibi nedenlerden dolayı domates bitkileri hastalanmakta ve önemli verim kayıpları ortaya çıkmaktadır. Bu kayıplar hem üreticiyi hem de domates üretimine bağlı olan gıda endüstrisini olumsuz etkilemektedir.

Domateslerde fungal ve viral hastalık etmenlerinin yanı sıra pek çok bakteriyel etmen de önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Karaca ve Saygılı, 1982). Bölgemiz domates seralarında 70’li yılların sonunda *Pseudomonas syringae* pv *tomato* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*’in önemli zararlara neden olduğu belirlenmiştir (Çınar, 1977, Çınar, 1980). Bu hastalıklar hemen her yıl ortaya çıkarak üreticiye problem yaratmıştır. 1994 yılında ise seralarda domates gövdesinde nekroz ve çürüklüğe neden olan yeni bir hastalık ortaya çıkmıştır. Yürütülen araştırmalar sonucu hastalığa *Erwinia* yumuşak çürüklüklerinin neden olduğu belirlenmiştir. Yapılan izolasyon ve tanı çalışmalarına göre etmen *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* (Çınar ve Aysan, 1995; Tokgönül, 1995) ve *Erwinia chrysanthemi* (Çınar ve Aysan, 1995) olarak saptanmıştır.

Yumuşak çürüklüğe neden olan bu türler *Erwinia* cinsi içinde *caratovora* grubunda yer almaktadır. Yumuşak çürüklük *Erwinia* türleri gram negatif, spor formu olmayan, fakültatif anaeroblardır. Bu grup içerisinde yer alan en önemli türler

Erwinia caratovora subsp. *atroseptica* (Van Hall, 1902) Dye 1969, *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* (Jones, 1901) Bergey ve ark. 1923 ve *Erwinia chrysanthemi* Burkholder ve ark., 1953'dir.

Bu türler bitkinin çeşitli gelişme dönemlerinde, hasatta, taşınma esnasında ve depolama sırasında ürettikleri pektolitik enzimler (pektinliyaz, pektinmetilesteraz, pektatliyaz, polygalakturonaz, proteaz) ile bitkilerin parankimatik dokularını parçalayarak yumuşak çürüklüğe neden olurlar.

Bu türlerin önemli bir karakteristik özelliği konukçu spesifikliğinin az oluşudur. Bu üç tür pek çok bitki türünü hastalandırabilir. Ancak bir bitki türü üzerinde üç tür aynı anda hastalık oluşturmaz. Yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin sıcaklık istekleri farklı olduğundan coğrafik yayılımları da çok değişiktir. Diğer bir deyişle coğrafik yayılımda en önemli kriter sıcaklıktır.

Yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin en önemli konukçularından biri patatestir. *E. c.* subsp. *atroseptica*'nın konukçu dizisi patates ve serin iklim ürünleri ile sınırlı iken, *E. c.* subsp. *caratovora* daha ılıman ve tropikal alanlarda geniş bir yayılma gösterir. *E. chrysanthemi* tropik ve subtropik ürünleri hastalandıran sıcak iklimlerin bir patojenidir. Genellikle sera içinde yetişen ürünleri, patates (*Solanum tuberosum*), domates (*Lycopersicum esculentum*), havuç (*Daucus carota*), mısır (*Zea mays*), şeker kamışı (*Saccharum officinarum*), çeltik (*Oryza sativa*), ayçiçeği (*Helianthus annuus*), muz (*Musa parasidiaca*), ananas (*Ananas sativus*), hindibağ (*Cichorium intybus*), palmiye (*Phoenix* sp.) ve süs bitkilerini [begonya (*Begonia* spp.), krizantem (*Chrysanthemum morifolium*), karanfil (*Dianthus* spp.), orkide (*Orchis* spp.), sıklamen (*Cyclamen* spp.), lale (*Liriodendron tulipifera*), difenbahya (*Dieffenbachia* spp.), atatürk çiçeği (*Euphorbia pulcherrima*), afrika menekşesi (*Saintpaulia ionantha*), dalya (*Dahlia* spp.), agloanema (*Aglaonema trewbii*), pilodendron (*Philodendron* sp.)] hastalandırır (Tani ve Baba, 1971, Perombelon ve Kelman, 1980; Le Guern ve ark. 1992; Perombelon, 1992; Samson ve ark. 1989; Perombelon ve Solmond, 1995; Abdalla, 2001).

Erwinia yumuşak çürüklüklerinin domateste patojen olduğu ilk defa 1960'lı yılların sonunda Teksas ABD'de rapor edilmiştir (Speights ve ark., 1967). *E. c.* subsp. *atroseptica* Fransa (Barzic ve ark., 1976) ve Yunanistan (Malathrakis ve

Goumas, 1987) 'da, *E. c. subsp. carotovora* ABD (Speight ve ark., 1967; Carrol ve ark., 1992), Yugoslavya (Arsenijevic, 1978), Tayvan (Hsu ve Tzeng, 1981), Kanada (Dhantvantari ve Driks, 1987), Yunanistan (Malathrakis ve Goumas, 1987), Arjantin (Alippi ve ark., 1997) ve İspanya (Cazorla ve ark., 2000) 'da *E. chrysanthemi*'nin ise Kolombiya (Victoria ve Granada, 1981), Küba (Stefanova ve ark., 1984), Yunanistan (Alivizatos, 1985) ve ABD (Chellemi ve ark., 1998; Wick ve Shrier, 1990) 'de domateste gövde nekrozuna neden olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde ise bölgemiz dışında *Erwinia* yumuşak çürüklüklerin domateste varlığı Batı Akdeniz bölgesinde Basım ve ark. (2000), Ege bölgesinde Üstün ve Saygılı (2001) tarafından rapor edilmiştir.

Domatesin verimini azaltan ve pazar değerini düşüren etmenlerden biri olan *E. chrysanthemi* erken dönemde domates bitkisinde sararma, solgunluk ve yapraklarda su emmiş gibi görünlere neden olur. Hastalık ilerledikçe bitkide pörsüme, yumuşama, gövde üzerinde homojen olarak dağılmış grimsi siyah renk bozulmaları gözlenmektedir. Bitki boyuna kesildiği zaman kötü kokan bir sıvı akmakta, iletim demetlerinde ve özde kahverengileşme, boşalma ve yumuşama ortaya çıkmaktadır (Şekil 1.1.). Etmen meyve tutumundan sonra enfeksiyon oluşturduğunda meyvede yumuşama ve çürüklüğe neden olmaktadır (Şekil 1.2.).

Yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin verdiği ekonomik zarar incelenecek olursa *Erwinia* yumuşak çürüklükleri nedeniyle oluşan kayıplar ülkeden ülkeye değişmekle birlikte ürünün değerine, hastalığın şiddetine, iklim koşullarına, tarla ve depo şartlarına bağlı olarak kabaca yıllık 50-100 milyon dolar olarak tahmin edilmektedir (Perombelon ve Kelman, 1980). Örneğin Kolombiya'da 1978 yılında hastalık domateslerin %60'dan daha fazlasında zarara neden olmuştur (Victoria ve Granada, 1981). Suriye'de 1993 yılında diffenbahya üretiminin %50'si *E. chrysanthemi*'nin verdiği zarardan dolayı etkilenmiştir (Balestra ve Impiglia, 1996). Kaliforniyada 1998'de havuç üretimi *E. chrysanthemi* dolayı büyük zarara uğramış ve bir yetiştirme sezonunda yaklaşık 1.800 ton ürün kaybı meydana gelmiştir (Farrar, 2000).



Şekil 1.1 *E. chrysanthemi*'nin domates bitkisinde oluşturduğu solgunluk ve yumuşak çürüklük



Şekil 1.2. *E. chrysanthemi*'nin domates meyvesinde oluşturduğu yumuşak çürüklük

Ülkemizde ise Mersin ili plastik domates seralarında hastalığın ilk defa görüldüğü yıldan bu yana şikayetlerin arttığı gözlenmiş ve bazı seralar bu hastalıktan dolayı sökülmiştir. Mersin ilinde 1999-2000 yılları arasında yapılan sörveylerde bu hastalığın seraların %24'üne yayıldığı belirlenmiştir (Aysan ve Çınar, 2001).

Erwinia yumuşak çürüklüklerinin karakteristik özellikleri, etiyolojisi, epidemiyolojisi ve mücadelesine ilişkin araştırmalar çoğunlukla patates bitkisi üzerinde yapılmıştır. 20. yüzyılın başında yapılan ilk çalışmalarda bu patojenlerin toprakta yaşadıkları gösterilmesine karşın yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin toprakta yaşam süreleri halen tartışmalı bir konudur. Sağlıklı görülen patates bitkilerinden elde edilen tohumluk yumrular yetiştirildiğinde tipik hastalık belirtilerinin görülmesi pek çok araştırmacının hastalığı toprak kökenli olarak değerlendirmesine neden olmuştur. Oysa diğer bir grup araştırmacı ise patojenlerin toprakta sürekli bulunmadığına infekteli üretim materyallerinden tekrar giriş yaptığına inanmaktadır. Geliştirilmiş tanı yöntemlerine rağmen *Erwinia*'ların toprak kökenli olup olmadıkları henüz açıklığa kavuşturulamamıştır (Perombelon ve Kelman, 1980).

Bu türlerin tropik ve subtropik bölgelerde ve hatta Akdeniz ikliminin hakim olduğu yerlerdeki ekolojisi hakkında sınırlı araştırmalar mevcuttur. Sıcaklık ve yağmurun etkisinin dominant olduğu bu bölgelerde yumuşak çürüklük *Erwinia*'larının yaşam döngüsünün belirlenmesi yararlı olacaktır (Perombelon ve Kelman, 1980).

Bu yüksek lisans çalışmasında domateste solgunluk ve gövde çürüklüğüne neden olduğu daha önceki çalışmalarla saptanmış olan *E. chrysanthemi*'nin epidemiyolojisi üzerine araştırmalar yapılarak tohum, toprak ve infekteli bitki artıklarındaki yaşamı belirlenmeye çalışılmıştır. Bu konuda elde edilen sonuçlar hastalığın mücadelesinde bizlere önemli ipuçları verebilecektir.

Ayrıca doğal habitatı ve konukçu spesifikliğı konusunda en az araştırma *E. chrysanthemi* üzerinde yapılmıştır. Samson ve Nassan-Agha (1978) biyokimyasal ve serolojik özelliklerine göre *E. chrysanthemi*'yi konukçu bazında 6 patovara ayırmıştır. Daha sonra bunlarda bazı değişiklikler yapılmış (Dickey, 1979; Dickey, 1981; Samson ve ark.,1987; Janse ve Scheepens, 1989) ve isimlendirmede patovara

yerine biovar teriminin kullanılması önerilmiştir. Şimdiye kadar *E. chrysanthemi*'nin toplam 9 biovarının olduğu rapor edilmiştir (Ngwira ve Samson, 1990).

Doğu Akdeniz Bölgesi plastik domates seralarında yetiştirilen domates bitkilerinde yumuşak çürüklüğe neden olan *E. chrysanthemi*'nin biovar düzeyinde tanısını yapmak bu çalışmanın diğer bir amacını oluşturmaktadır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. *E. chrysanthemi*'nin Tanısı ve Patovarlarının/Biovarlarının Belirlenmesi Üzerine Yapılan Çalışmalar

E. chrysanthemi ilk kez süs bitkilerinden biri olan krizantemlerde patojen olarak belirlenmiştir. ABD'de seralarda yetiştirilen krizantemlerde 50'li yılların başında yeni bir hastalığın ortaya çıktığı gözlenmiştir. Hasta bitki gövdesine bastırıldığında bitki kolayca kırılmakta, boyuna kesildiğinde özde bir yumuşama köklerinde nadiren çürüme ve yanıklık belirtilerinin olduğu, lezyonların kahverengiden, kırmızımsı kahverengiye kadar değişen tonlarda meydana geldiği belirlenmiştir. Hastalığın özellikle yüksek nem ve sıcaklığın olduğu seralarda bitkinin sukulent dokusunda hızla ilerlediği ve infekteli dokudan izole edilen patojenin *Erwinia* cinsine ait olduğu saptanmıştır. Patojen, *E. c. subsp. atroseptica* ve *E. c. subsp. caratovora*'dan %1'lik laktozu geç kullanma, krumwiede's triple sugar agar ortamında önce sarı sonra kırmızı renk oluşturma, bromothymol-blue içeren sukroz ortamında renk bozulması, desoxycholate agar ortamında sarı renkli koloni oluşumu, endo-agar ortamında pembe koloni ve ortamın renginin pembeye dönüşmesi, fermi's solusyonunda iyi gelişme, metilen kırmızısı ortamında negatif, Voges-Proskauer ortamında pozitif sonuç, %5'lik NaCl'da gelişmeme ve 37-41 °C'de iyi gelişme özellikleriyle ayrılmıştır. Bu farklılıklar dikkate alınarak Bulkholder ve ark. (1953) bu yeni bitki patojenini *E. chrysanthemi* olarak isimlendirmişlerdir.

Daha sonraki çalışmalar etmenin tanısı ve konukçularının belirlenmesi üzerine yapılmıştır. *E. chrysanthemi*'nin domateste patojen olduğu ilk kez Victoria ve Granada (1981) tarafından Kolombiya'da rapor edilmiştir.

E. chrysanthemi üzerine fizyolojik ve biyokimyasal testlerle yapılan daha detaylı çalışmalarda izolatlar arası farklılıklar olduğu belirlenmiş ve patojenin patovar veya biovarlarının belirlenmesi üzerine araştırmalar başlamıştır. Fitobakteriyolojide patovar terimi konukçu dizisine göre kullanılır (Young ve ark., 1978). *E. chrysanthemi* ilk önce konukçu dizisine bakılarak 4 patovora ayrılmıştır. Krizantem bitkisinden (*Chrysanthemum morifolium*) izole edilen izolat pv. *chrysanthemi*, difenbahya (*Dieffenbachia* spp.) türlerinden izole edilen izolatlar pv.

diffenbachia, kavu uk bitkisinden (*Parthenium argentatum*) izole edilen izolatlar pv. *parthenii* ve mısırdan (*Zea mays*) izole edilen izolatlar pv. *zea* olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra 2 patovar daha eklenmiştir. Karanfil (*Dianthus* sp.) türlerinden izole edilen pv. *dianthicola* ve muzdan (*Musa paradisiaca*) izole edilen izolat da pv. *paradisiaca* olarak adlandırılmıştır (Hildebrand ve ark., 1978; Samson ve Nasan-Agha, 1978; Dickey, 1979; Dickey ve Victoria, 1980; Thomson ve ark., 1981). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology kitabında (Lelliott ve Dickey, 1984) yer alan bu 6 pathovarin sınıflandırılması izolatların patojenite testi, fenotipik özellikleri ve izolatlar arası serolojik ilişkilere göre yapılmıştır.

E. chrysanthemi yaklaşık 50 bitki türünden izole edilmiş (Bradbury, 1984) ve etmenin izole edildiği bitkiye göre isimlendirilmesinin zor olduğuna karar verilmiştir (Dickey, 1981; Samson ve ark. 1987; Janse ve Ruissen, 1988). Böylece biyokimyasal testlerde ortaya çıkan farklılık biovar olarak isimlendirilmiştir. Bunlar *E. chrysanthemi* pv *dieffenbahiae* (biovar 1), *E. chrysanthemi* pv *parthenii* (biovar 2), *E. chrysanthemi* pv *chrysanthemi* (biovar 3), *E. chrysanthemi* pv *zea* (biovar 4), *E. chrysanthemi* pv *dianthicola* (biovar 5), *E. chrysanthemi* pv *paradisiaca* (biovar 6) olarak kabul edilmiştir. Son olarak Janse ve Ruissen (1988) kalanchoe (*Kalanchoe* sp.) bitkisinden izole ettikleri *E. chrysanthemi* izolatını biovar 7, Ngwira ve Samson (1990) kalanchoe ve mısır bitkisinden saflaştırdıkları izolatları biovar 8 ve 9 olarak belirlemişleridir.

Samson ve Nasan-Agha (1978) 17 farklı konuk udan elde edilen 129 *E. chrysanthemi* izolatını biyokimyasal özelliklerine göre sınıflandırarak 58'inin biovar 1, 18'nin biovar 2, 42 tanesinin ise biovar 3 olduğunu tanılamışlardır.

Goto (1979) Japonya'da  eltikte (*Oryza sativa* L.)  r kl ge neden olan etmeni *E. chrysanthemi* olarak saptamıştır. Çeltik izolatının fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerini mısır ve krizantemden izole edilen izolatlarla kıyasladığında  eltik izolatının *Erwinia chrysanthemi* pv *zea* (biovar 4) ile benzerlik gösterdiğini gözlemiştir.

Victoria ve Granada (1981) Kolombiya'nın Cauca vadisinde yetişen domateslerin yaprak, petiol ve gövdesinde su emmiş lekeler ve  z n kurumasına neden olan yeni bir hastalık saptamışlardır. %60'a yakın verim kayıpları oluşturan

hastalığın etmenini *E. chrysanthemi* olarak tanılamışlar ayrıca patovar/biovar düzeyinde tanısını yaptıkları izolatları *E. chrysanthemi* pv *zea* yani biovar 4 olarak belirlemişleridir.

Janse ve Ruissen (1988) Hollanda'dan elde ettikleri 40 *E. chrysanthemi* izolatını 8 farklı karbon kaynağı kullanma 39 °C'de gelişme ve arginin dehidrolaz testi sonucuna göre biovar 2, 3, 5 ve 7 içinde sınıflandırmışlardır.

Janse ve Scheepens (1989) 65 *E. chrysanthemi* izolatını biovar ve/veya serogrup ve kamçı tipi özelliklerine göre fenotipik, biyokimyasal testler ile indirekt immunoflorans tekniği kullanarak belirlemişlerdir. Karşılaştırma amacıyla daha önce tanımlanmış 41 izolatın bilgileri de çalışmaya dahil edilmiş ve toplam 106 izolat ile çalışılmıştır. Karanfil'den izole edilen izolatları biovar 1 ve 5, patatesten izole edilen izolatları biovar 5 ve 7, krizantem'den izole edilen izolatları ise biovar 5 ve 6 olarak belirlemişler böylece bir konukçuda birden fazla biovarın bulunabileceğini vurgulamışlardır.

Samson ve ark. (1989) yaptıkları çalışmada 5 kıtadan muz, karanfil, dieffenbahia, kalanchoe, mısır, patates ve ayçiçeğinden elde ettikleri 192 izolatı kullanmışlardır. Çalıştıkları 192 izolatın % 49'unu biovar 3, % 24'ünü ise biovar 1 içinde sınıflandırmışlar ve yaygın biovar olarak 1 ve 3'ü belirlemişlerdir.

Wick ve Shrier (1990) ABD'de domateste iletim demetlerinde renklenme ve özde boşalmaya neden olan etmeni *E. chrysanthemi* ve pv *chrysanthemi* (biovar 3) olarak tanılamışlardır.

Le Guern ve ark. (1992) hindibağ köklerinde çürüklüğe neden olan *E. chrysanthemi* olarak tanıladıkları izolatları biovar 5 ve 6 içerisine dahil etmişlerdir.

2.2. Hastalığın Epidemiyolojisi Üzerine Yapılan Çalışmalar

Erwinia yumuşak çürüklüklerinin tropik ve subtropik bölgelerde ve hatta Akdeniz ikliminin hakim olduğu yerlerdeki ekolojisi hakkında sınırlı bilgiler vardır. Ayrıca hastalığın epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar çoğunlukla patates bitkisi üzerine yapılmıştır. Hastalığın domates tohumlarında yaşamı, tohumla taşınıp taşınmadığı, bitki artıkları ve toprakta yaşam süresi yani patojenin epidemiyolojisi ile ilgili hiçbir araştırma mevcut değildir. Bu nedenle bu başlık altında etmenin diğer

konukçuları ve etmenle çok yakın akraba türler olan *E. c.* subsp. *caratovora* ve *E. c.* subsp. *atroseptica* ile yapılan önceki çalışmalara yer verilmiştir.

Burr ve Schroth (1977) ABD'nin California eyaletinde patates bitki artığı ve yabancı ot içermeyen nadasa bırakılmış kumlu-killi yapıdaki topraklarda *E. c.* subsp. *caratovora* ve *E. c.* subsp. *atroseptica*'nın kışı geçiremediğini saptamışlardır. Araştırmacılar patojenlerin toprakta yerleşik olmadığını fakat bitki kökleri ile birlikte oldukları zaman toprakta yaşamlarını devam ettirdiklerini öne sürmüşlerdir.

Mc Intrye ve ark. (1978) ABD'nin Connecticut eyaletinde yaptıkları çalışmada tütünlerde (*Nicotiana tabacum*) gövde çürüklük patojeni olan *E. c.* subsp. *caratovora*'nın bahar döneminde tütün tarlasında topraktan geri izole edilemediğini fakat tarlada bir önceki sezondan kalan çürümüş tütün köklerinden izole edilebildiğini belirlemişlerdir. Depolanan tütün tohumlarından etmeni 8 ay boyunca geri izole etmişlerdir.

Perombelon ve Kelman (1980) *Erwinia*'ların toprak da canlılıklarını sürdürüp sürdüremediklerinin tam ortaya konmadığını ve bakterinin topraktaki yaşamının toprak sıcaklığı ile direkt bağlantılı olduğunu rapor etmişlerdir. *E. c.* subsp. *atroseptica* ve *E. c.* subsp. *caratovora* kuru topraktan çok suyla doymuş toprak da daha uzun süre yaşarken *E. chrysanthemi* kuru toprak da daha uzun süre canlı kalmaktadır. Araştırmacılar yumuşak çürüklük *Erwinia*'larının hasattan sonra toprakta kalan bitki artıklarında ve patates yumruları üzerinde kışı geçirdiklerini ve şiddetli kış soğuklarında ölmeden bir sonraki mevsime kadar canlılıklarını devam ettirdiklerini bildirmişlerdir. *E. chrysanthemi*'nin toprak mikroflorası, bazı sinek larvaları, nematodlar ve yer solucanları ile taşındığını ancak toprak içerisindeki yoğun bakteri popülasyonunun metrelerce uzaktaki alanlara yayılmasının sadece su ile olduğunu belirtmişlerdir.

Perombelon ve Hyman (1989) İskoçya'da 17 farklı alanda yetişen yabancı ot ve kültür bitkilerinin toprak ve rizosferinde *E. caratovora*'nın yaşamını araştırmışlardır. Patates yetiştirilen alanlarda hasattan hemen sonra bulaşıklığın yoğun olduğunu fakat kış boyunca bir sonraki yetiştirme sezonuna kadar patojen yoğunluğunun oldukça azaldığını saptamışlardır. 16 aydan uzun bir süre patates üretilen alanlardan elde edilen *Erwinia* izolatlarının % 91'ni *E. c.* subsp. *caratovora*,

% 9'nu ise *E. c.* subsp. *atroseptica* olarak tanılamışlardır. Bakterinin toprakta, yabancı ot ve kültür bitkilerinin rizosferinde kısa süre yaşadığını, yaşam süresinin ıslak toprağa göre (%21 nem) kuru toprakta (%10 nem) daha uzun olduğunu, sıcaklığın 25°C'nin üstüne çıktığı durumlarda ise yaşam süresinin kıaldığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bakteriyi lahanagillerin (*Brassica* spp.) rizosferinde en yoğun, dar yapraklı bitkilerde ve tahıllarda daha az yoğunlukta saptamışlar, patates ve yabancı otlarda en az seviyede olduğunu belirlemişlerdir.

Benlioğlu (1991) ülkemizin patates üretiminin yaklaşık yarısının gerçekleştiği Bolu, Nevşehir ve Niğde illerinde 1988-1990 yılları arasında depo ve tarla sörveyleri yaparak tohumluk yumrular, toprak, patates bitki rizosferi, yüzey ve yer altı sularında yumuşak çürüklük *Erwinia*'larının varlığını araştırmıştır. İthal edilen tohumlukların çeşit ve tohum partilerine göre değişmekle birlikte %2.5-16.0 arasında değişen oranlarda *E. c.* subsp. *caratovora* ile bulaşık olduğunu saptamıştır. Üç farklı bölgeden toplam 32 farklı toprak örneğinden hiç bir *Erwinia* türü izole edememiştir. Ancak Nevşehir ilinde 11 patates bitkisinden 4 tanesinin kök bölgesi toprağından *E. c.* subsp. *caratovora* ve *E. c.* subsp. *atroseptica* elde edilmiştir. Bolu ili Çepni deresi ve Gölköy baraj gölünden alınan su örneklerinde *E. c.* subsp. *caratovora*'nın devamlı bulunduğunu yapılan izolasyonlarla saptamışlardır.

Tarlada çürümüş patates yumruları *E. chrysanthemi* için en önemli infeksiyon kaynağını oluşturur. Toprağına salınan bakteriler toprak suyu yolu ile yavru yumrulara taşınmaktadır. Hasat, tesviye, ekim gibi mekanik işlemler sırasında oluşan yaralara doğru çürüyen yumruların yoğun bakteri yayılımı olabilmekte. *E. chrysanthemi* ancak yüksek sıcaklıklarda patatesteki karabacak simptomu oluşturmaktadır. Hastalık gelişimini etkileyen ana faktör toprak nemidir. Özellikle toprak neminin yağış, aşırı sulama ve toprağın zayıf drenajı gibi nedenlerle uzun süre devam etmesinin patates yumrularının çürümesine ortam hazırladığı bildirmiştir (Perombelon 1992).

2.3. Tohum Uygulaması Üzerine Yapılan Çalışmalar

Yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin patates, tütün ve bir orkide türünde (*Oncidium* sp.) tohum kökenli olduğu ve tohum uygulamalarının yapıldığı bir çok

araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Ancak hastalığın domateste tohum kökenli olduğunu bildiren bir çalışma bulunmamaktadır.

Hankin ve Sands (1977) tohumdaki patojenik mikroorganizmaların yok edilmesinde alternatif yöntemlerden biri olarak mikrodalga uygulamasının tütün tohumlarındaki *E. c. subsp. caratovora*'nın yok edilmesindeki başarısını araştırmışlardır. 625 wattlık mikrodalga radyasyon 10 dakika tütün tohumlarına uygulandığında tohumdaki bulaşıklık %68 oranında azalırken süre 15 dakikaya çıkarıldığında etkinlik %99 olarak artmıştır. 20 dakikalık uygulamada ise tohum çimlenmesi azalmadan patojenin tamamen elimine edilebildiği bildirilmiştir.

Mc Intrye ve ark. (1978) yaptıkları çalışmada tütünlerde gövde çürüklük patojeni olan *E. c. subsp. caratovora*'nın depolanan tütün tohumlarında 8 ay boyunca canlılığını sürdürdüğünü saptamışlardır. Patojenin tohumdan eliminasyonunda 50°C'deki 12 dakikalık sıcak su uygulamasının başarılı olduğunu ve tohum çimlenmesini engellemediğini ortaya koymuşlardır.

Perombelon ve ark. (1989) tohumluk patates yumrularındaki *E. c. subsp. atroseptica* ve *E. c. subsp. caratovora* inokulumunu azaltmak için yumruları 49, 51, 53, 55, 57 ve 59 °C'deki sıcak suya 3, 5 ve 7 dakika daldırma yöntemlerinin etkinliklerini araştırmışlardır. Uygulamaların tümü inokulumu azaltırken 57°C'ye 7 dakika, 59°C'ye ise 3, 5 ve 7 dakika daldırılan tohumluklarda etmenlerin tamamen yok olduğu görülmüştür.

Yungchun ve ark. (2000) orkide tohumlarında *E. chrysanthemi* bulaşıklığını önlemek amacıyla tohumların 1 dakika %3'lük H₂O₂ solüsyonuna daldırmanın tohumdaki inokulumu yok etmek için yeterli olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca lincomycin (100 ppm) ve streptomycin'in (125 ppm) *in vitro* kağıt disk testinde *E. chrysanthemi*'nin gelişimini engellediğini saptamışlardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Mersin ili Erdemli, Kocahasanlı ve Limonlu ilçelerindeki domates seralarından tipik hastalık semptomu gösteren domates bitkilerinden izolasyon sonucu elde edilen bölge izolatları, tanımlama ve biovarların belirlenmesi çalışmasında kullanılmak üzere karşılaştırma kültürü olarak Georg-Agust Üniversitesi Bitki Koruma Bölümünden (Göttingen-Germany) Dr K. Rudolph'dan temin edilen tausu yapılmış *E. c. subsp. atroseptica* (GSPB 2131), *E. c. subsp. caratovora* (GSPB 30/77), *E. chrysanthemi* (GSPB 415) kültürleri, Heinz-2274 çeşidi domates tohumu ve fideleri, patates yumruları, saksılar, besi yerleri, çeşitli kimyasallar, laboratuvar araç ve gereçleri bu çalışmada materyal olarak kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Yumuşak Çürüklük *Erwinia* Türlerinin İzolasyonu

Doğu Akdeniz bölgesinde örtü altı sebze yetiştiriciliği yapılan Mersin'in Erdemli, Kocahasanlı ve Limonlu ilçelerindeki domates seralarından tipik hastalık semptomu gösteren domates bitkileri alınmıştır. Hastalıklı ve sağlıklı doku kısımlarını içeren bitki parçaları % 70'lik alkol ile yüzeyden dezenfekte edilmiş ve içinde 2 ml steril su bulunan havanlarda ezilmiştir. Elde edilen ekstraktan bir öze dolusu süspansiyon alınarak King B (King ve ark., 1954) besi yerine çizimler yapılmıştır. 25°C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra gelişen krem renkli koloniler saflaştırılmış ve gelecekteki çalışmalarda kullanılmak üzere eğik olarak hazırlanmış Yeast extract-Glikoz-Kalsiyum Agar (YDC) agar ortamında +4°C'de buzdolabında saklanmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

3.2.2 .Domates Bitkilerinin Yetiştirilmesi

Patojenite testi için H-2274 domates bitkileri (*Lycopersicum esculentum* Mill.) kullanılmıştır. İçinde 3:1 oranında killi yapıdaki siyah renkli toprak ve torf karışımı bulunan 25 cm çapında plastik kaplar içerisine tohum ekimi yapılmıştır. Fideler 15-20 günlük olduğunda aynı harç karışımı içeren saksılara (8.5 x 8.5 cm)

şşırtılmıştır. Bitkiler 25°C sıcaklık, %60-70 nem ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık koşullardaki iklim odasında tutulmuştur.

3.2.3. Bakteri Süspansiyonun Hazırlanması

King B besi yerinde geliştirilen 48 saatlik bölge izolatları ve orijinal kültürler spektrofotometrede 660 nanometrede 0.2 ölçüm değerine ayarlanarak (yaklaşık 10^8 hücre/ml) süspansiyonlar hazırlanmıştır.

3.2.4. Patojenite Testleri

Elde edilen bakteri izolatları ile 3-5 yapraklı dönemdeki domates bitkileri kullanılarak patojenite testleri yapılmıştır. Bunun için 48 saatlik bakteri kültürlerinden hazırlanan süspansiyona batırılan steril kürdan ile domates bitkisinin gövdesi birer cm ara ile 3-4 yerden inokule edilmiştir. Pozitif kontrol olarak GSPB 415 *E. chrysanthemi* kültürü, negatif kontrol olarak ise çeşme suyu kullanılmıştır. İnokule edilen bitkiler iklim odasına yerleştirilmiş ve yüksek nem sağlamak amacıyla 24 saat süreyle ıslak polietilen torba içerisinde tutulmuştur. Değerlendirme inokulasyondan 7 gün sonra bitki gövdeleri kesilerek oluşan semptomlara göre yapılmıştır (Kelman ve Dickey, 1989).

3.2.5. Yumuşak Çürüklük *Erwinia* Türlerini Tanılama Testleri

3.2.5.1. Koloni Renk ve Şekli

3.2.5.1.(1). King B Besi Yeriinde Gelişim

Litrede 20 g proteose pepton, 10 ml gliserin, 1.5 g K_2HPO_4 , 1.5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ve 15 g agar içeren King B ortamı 121°C'de 15 dakika otoklav edildikten sonra petrilere dökülmüştür (King ve ark., 1954). Besi yerine çizilen yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatları ve orijinal bakteri kültürleri 48 saat 26°C 'de inkübe edilmiştir. Gelişen koloniler UV ışık altında floresan gelişim yönünden incelenmiştir. Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas cichorii* (GSPB 2097) kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.1.(2). YDC Besi Yerinde Gelişim

Taze hazırlanan litrede 10 g yeast extract, 20 g dextrose, 20 g kalsiyum karbonat, 15 g agar içeren besi yeri 121°C'de 15 dakika otoklav edildikten sonra petrilere dökülmüştür. Besi yerine çizilen yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatları ve orijinal bakteri kültürleri 48 saat 26°C 'de inkübasyondan sonra mavi suda çözülmeyen pigmentlerin varlığı yönünden incelenmiştir.

3.2.5.2. Potasyum Hidroksit Testi (KOH)

Taze hazırlanan %3'lük potasyum hidroksit solüsyonundan lam üzerine bir damla damlatıldıktan sonra yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatlarının 48 saatlik kültüründen platin özeyle alınan bakteri, solüsyona dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. 15-20 saniye sonra öze yukarı kaldırıldığında viskoz, yapışkanmsı bir sünmenin oluşması gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Sands, 1990). Pozitif kontrol olarak *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* (GSPB 382) kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.3. Levan Oluşumu

Nutrient Agar ortamına %5 oranında sukroz eklenerek hazırlanan besi yerine yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatları çizildikten sonra 25°C'de 3-4 gün inkübe edilmiştir. Kalın, beyaz, konveks, mukoid koloniler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Pozitif kontrol olarak *E. amylovora* kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.4. Oksidaz Testi

Taze hazırlanan %1'lik N; N; N; N' - Tetramethyl- 1.4 phenylene diammonium diclorid eriyiği steril filte kağıdına damlatılmıştır. Yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatlarının 48 saatlik kültürü platin öze ile ıslak kurutma kağıdına çizildiğinde 5-10 saniye içinde oluşan koyu mor renk pozitif olarak değerlendirilmiştir (Kovaks, 1956). Pozitif kontrol olarak *P. cichorii* (GSPB 2097) kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.5. Patates Çürüklüğü Testi

Deterjanlı suda fırçalanarak yıkanan patatesler %1'lik NaOCl'da 3 dakika bekletilmiş daha sonra 3 kez saf su ile durulanmıştır. Bu işlemden sonra steril bir bisturi ile kabukları soyulmuştur. Steril ıslak filtre içeren steril petri içine kabuğu soyulmuş bir cm kalınlığındaki patates dilimleri yerleştirilmiştir. Bir öze dolusu yumuşak çürüklük *Erwinia* kültürleri patates dilimi üzerine bulaştırılmıştır. 26°C'de iki günlük inkübasyondan sonra değerlendirme yapılmıştır. İnokule edilen bölgedeki yumuşama pozitif olarak kabul edilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

3.2.5.6. Arginin Dehidrolaz Testi

Litrede 1 g pepton, 5 g NaCl, 0.3 g K₂HPO₄, 10 g L(+) arginin HCL, 0.01 g fenol kırmızısı, 3 g agar içeren ortam hazırlandıktan sonra pH 7.2'ye ayarlanmıştır. 16x1.5 cm boyutundaki cam tüplere 3'er ml ortam konup otoklav edilmiştir. Taze geliştirilmiş yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatları ve orijinal kültürler ile nokta aşılama yapılmıştır. Tüplerin üzeri steril vaspar eriyiği ile kapatılmıştır. Kültürler 25°C'de 1 hafta inkübe edildikten sonra kırmızıdan vişne rengine dönenler pozitif olarak kabul edilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Pozitif kontrol olarak *P. corrugata* (GSPB 1224) kültürü kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak üç tüp aşılınmamıştır.

Vaspar eriyiği hazırlanırken eritilen 1 ölçü vazeline 3 ölçü sıvı parafin ilave edilmiş ve otoklav edildikten sonra kullanılmıştır.

3.2.5.7. Tütünde Aşırı Duyarlılık (HR)

Tütün bitkisi yaprağının alt yüzeyine damar aralarına yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatlarının 10⁸ hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyonu bir enjektör yardımı ile inokule edilmiştir. 24-48 saat sonra inokule edilen alanlarda oluşan nekrotik görünüm pozitif olarak kabul edilmiştir (Klement ve Goodman, 1967). Pozitif kontrol olarak *P. cichorii* (GSPB 2097) kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.8. Oksidasyon/ Fermantasyon Testi (O/F)

Litrede 2 g pepton, 5 g NaCl, 0.3g KH₂PO₄, 3 g agar, 3 ml %1'lik bromothymolblue içeren ortam hazırlandıktan sonra tüplere 5'er ml konulmuştur.

Otoklavdan sonra 50°C'ye kadar soğutulan tüplerin her birine soğuk sterilizasyon yapılan %10'luk glikoz solüsyonundan 0.5 ml ilave edilmiştir. Taze geliştirilmiş 48 saatlik yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatları ve orijinal bakteri kültürleri ile nokta aşılama yapılmıştır. Her izolat için 6 tüp kullanılmıştır. Bu tüplerden üçüne 1 ml steril ılık vaspar konarak yüzeyi kapatılmış diğer üçüne hiçbir ekleme yapılmamıştır. 25°C'de 5-6 günlük bir inkübasyondan sonra ortam renginin sarıya dönmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Sands, 1990). Pozitif kontrol olarak *E. c.* subsp. *caratovora*, negatif kontrol olarak ise *E. amylovora* kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.9. Jelatin Hidrolizasyonu Testi

Litrede 3 g yeast ekstrakt, 5 g pepton, 120 g jelatin içeren ortandan tüplere 5'er ml konup 121°C'de 15 dakika 1.2 atmosfer basınçta otoklav edilmiştir. Ortam katılaştıktan sonra 48 saatlik yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatları ve orijinal bakteri kültürleri ile 3 tekrarlı olarak delme aşılama yapılmıştır. 25°C'de 14 günlük inkübasyondan sonra +4°C'de yarım saat bekletilip buzdolabından çıkartılan tüplerde görülen sivilaşma pozitif olarak kabul edilmiştir (Misaraghi ve Grogan, 1969). Negatif kontrol amacıyla üç tüp aşılanmamıştır. Pozitif kontrol olarak *P. corrugata* (GSPB 1224) kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.10. Lesitinaz Üretimi

Taze günlük yumurtalar deterjanlı su ile yıkandıktan sonra 5 dakika %70'lik alkolde bekletilip alevden geçirilmiştir. Steril bir mezür içine yumurtanın sarısı alınıp %40 oranında sulandırılmıştır. 48°C'ye kadar soğutulmuş nutrient agar ortamına bu solüsyondan %10 oranında ilave edilmiştir. Yumurta sarısı solüsyonu içeren Nutrient Agar ortamı iyice karıştırıldıktan sonra steril petrilere dökülmüştür. Katılan ortama yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatlarının 48 saatlik kültürü ile nokta aşılama yapılmıştır. Koloni çevresinde sütümsü parlak gelişme pozitif olarak değerlendirilmiştir (Fahy ve Persley, 1983). Pozitif kontrol olarak *P. cichorii* (GSPB 2097) kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.11. NaCl Toleransı

Nutrient Broth ortamına %5 oranında NaCl eklenmiş ve tüplere 5'er ml konularak otoklav edilmiştir. 48 saatlik yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatları ve orijinal bakteri kültürleri ile tüpler aşılansmış ve 25°C'de 18 günlük inkübasyondan sonra bakteri gelişimi kontrole göre değerlendirilmiştir (Klement ve Goodman, 1967). Yanılgıyı asgariye indirmek amacıyla bulanıklık gösteren tüplerden katı besi ortamına ekim yapılmış ve gelişen kolonilerin patates dilimlerinde pektolitik aktiviteleri test edilmiştir. Yumuşak çürüklük oluşturan kültürlerin yumuşak çürüklük *Erwinia* türleri olduğu kabul edilmiştir.

3.2.5.12. Sukroz'dan Madde Azalması

10g peptone, 17g agar 800ml distile su (A solüsyonu) ve 40g sukroz, 100ml distile su (B solüsyonu) ile iki farklı solüsyon hazırlanmıştır. A solüsyonu otoklav edilerek B solüsyonu ise filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Soğutulan A solüsyonu B solüsyonunun üzerine eklenmiş ve ortam steril petri kaplarına dökülmüştür. Yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatları ve orijinal bakteri kültürleri steril bir öze yardımı ile ortam üzerine çizilmiştir. Petriler 24-48 saat 26°C'de inkübe edildikten sonra her petriye Benedict ayracından 10 ml konulmuştur. Petriler 30-45 dakika 60°C'de tutulduktan sonra mavi zemin üzerinde turuncu zon oluşumu pozitif olarak kabul edilmiştir (Kelman ve Dickey, 1989). Pozitif kontrol olarak *E. c. subsp. atroseptica* (GSPB 2131) kültürü kullanılmıştır.

Benedict ayraçının içeriği: 173 g Sodyum citrat, 100g Na₂CO₃H₂O ve 800 ml distile su içine karıştırılmış ve kimyasallar eriyinceye kadar ısıtıldıktan sonra su ile 850 ml'ye tamamlanmıştır. Karışıma 17.3 g CuSO₄H₂O ilave edildikten sonra son hacim 1 litre olacak şekilde su ilave edilmiştir.

3.2.5.13. Fosfataz Üretimi

Litrede 10g bacto pepton, 5g beaf extract 17g agar içeren karışım eriyene kadar ısıtılmıştır. Ortamın pH'sı 7'ye ayarlanmış ve otoklav edildikten sonra 45-50°C'ye soğutulmuştur. Filtre ile sterilize edilen sodyum phenophthalein diphosphate solusyonu son konsantrasyon %0.05 (%10'luk solüsyonun 5 ml'si) olacak şekilde

eklenmiştir. Ortam karıştırıldıktan sonra petrilere dökülmüştür. Tam olarak kuruyan ortam üzerine bakteri kültürleri ile nokta inokulasyonu yapılmış ve 26°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. 0.1ml amonyum hidroksit petri kapaklarına konmuş ve ortam ters çevrilip kapaklar üzerine kapatılmıştır. Bakteri kolonilerinin 1-1.5 dakika içerisinde parlak, pembe, kırmızı bir renk alması pozitif olarak kabul edilmiştir (Kelman ve Dickey, 1989). *E. chrysanthemi* (GSPB 415) kültürü pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.2.5.14. İndol Testi

Litrede 10g tryptone, 1g L-tryptophan içeren besi yeri tüplere 5'er ml konup otoklav edilmiştir. 48 saatlik yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatları ve orijinal bakteri kültürleri ile aşılana ortam, 5 gün boyunca 200 rpm hızda çalkalanmıştır. Her izolat için 4 tüp kullanılmıştır. 2. ve 5. günlerde 0.5 ml kovacs'ın indol ayracından ortamı üzerine eklenmiş ve vortexte karıştırılan tüplerde ortam üzerinde koyu kırmızı renk oluşumu pozitif olarak kabul edilmiştir (Kelman ve Dickey, 1989). Pozitif kontrol olarak *E. chrysanthemi* (GSPB 415) kültürü kullanılmıştır.

Kovaks'ın ayracı : 5g P-dimethylaminobenzaldehyde, 75 ml saf amyl, iso-amyl veya butyl alkol, 25 ml HCl (konsantre). 50-55°C'deki su banyosunda alkol içerisinde P-dimethylaminobenzaldehyde eritilmiş karışım soğutulduktan sonra üzerine yavaşça asit ilave edilmiştir. Işıktan korumak amacı ile ayraç koyu renkli cam şişeye konulmuştur.

3.2.5.15. α -Metil-D-Glukoz'un Kullanımı

1. solüsyon	KH ₂ PO ₄	4 g
	K ₂ HPO ₄	14 g
	NH ₄ Cl	2 g
	Distile su	500 ml
2. solüsyon	Bakto agar	30 g
	Kasominoasit	2 g
	Distile su	500 ml
3. solüsyon	MgSO ₄ 7H ₂ O	10 g

	Distile su	100 ml
4. solüsyon	α -Metil-D-glukosid	20 g
	Distile su	100 ml
5. solüsyon	2,3,5, trimethyl tetrazolium klorid	1 g
	distile su	100 ml

Bu solüsyonlar otoklav edildikten sonra soğutulmuştur. 1. ve 2. solüsyonlardan 500'er ml karıştırılmış ve son hacim 1 litre olarak ayarlanmıştır. Daha sonra 3. solüsyondan 1 ml, 4. solüsyondan 50 ml ve 5. solüsyondan 2 ml ilave edilmiştir. Karıştırılan ortam petri kaplarına dökülerek iyice kurutulmuştur. Bölge izolatları ve orijinal kültürler ile nokta aşılama yapılmıştır. Petriler 22°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Pembe olarak gelişen koloniler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Kelman ve Dickey, 1989). Pozitif kontrol olarak *E. c. subsp. atroseptica* (GSPB 2131) kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.16. Eritromisin Testi

Nutrient Agar besi yeri üzerine spektrofotometrede 660 nanometrede 0.1 ölçüm değerine ayarlanan orijinal ve bölge izolatlarının süspansiyonlarından 100'er μ l yayılmıştır. Petrinin ortasına 15 μ l eritromisin içeren ticari antibiyotik diski yerleştirilmiştir. Diskin etrafında zon oluşumu bu antibiyotiğe bakteri izolatlarının duyarlı, zon oluşturmeyen izolatların ise dayanıklı olduğunu göstermektedir (Fahy ve Persley, 1983). Pozitif kontrol olarak *E. chrysanthemi* (GSPB 415) kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.17. Metilen Kırmızısı Testi

Litrede 5 g glikoz, 0.5 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0.5 g K_2HPO_4 , 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5 g NaCl, 5 g yeast ekstrakt ile hazırlanan besi yeri üç tekrarlı olarak tüplere 8'er ml olarak konmuştur. 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir. 48 saatlik bölge izolatları ve orijinal kültürler ile aşılama tüpleri 7 gün boyunca 200 rpm hızda çalkalanmıştır. 2. ve 7. günlerde tüplere 0.5 ml metilen kırmızısı ayracı eklenmiş ve karıştırılmıştır. Kültürlerin renginin kırmızıya dönmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Fahy ve Persley, 1983). Negatif kontrol olarak aşılama tüpleri kullanılmıştır.

Metilen kırmızısı ayracı: 1 g metilen kırmızısı 300 ml %96'lık alkol'de çözüldükten sonra 50 ml distile su ilave edilerek ayraç hazırlanmıştır.

3.2.5.18. Karbon Kaynaklarını Kullanma Testi

Ayers ve ark. (1919)'nın tarif ettiği temel besi yeri litrede 1 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0.2 g KCl, 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.016 g bromocresol purpur, içeren temel besi yerinin pH'sı 7.1-7.2'ye ayarlanmıştır. Başlangıçta pH'ı 4.5 civarında olan ortamın rengi sarı-turuncu iken pH yükseltince mor renge dönüşmüştür. Agar ilave edilip kaynatılmış ve ortam 3 erlene eşit olarak dağıtılmıştır. Her bir erlendeki temel ortama % 0.5 oranında maltoz, trahaloz ve laktoz ilave edilmiş ve tüplere 6'şar ml olarak dağıtılmıştır. Otoklav edilip eğik şekilde dondurulan tüpler yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatları ile aşılmalıdır. 25°C'de 5 günlük bir inkübasyondan sonra mor renkli negatif kontrole göre rengin sarıya dönmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak aşılınmamış tüpler kullanılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987).

3.2.6. *E. chrysanthemi*'nin Biovarlarının Tespiti

E. chrysanthemi biovarları, izolatların çeşitli karbon kaynaklarını kullanma, arginin dehidrolaz reaksiyonu ve farklı sıcaklıklarda gelişme yeteneklerine göre belirlenmiştir.

3.2.6.1. Karbon Kaynaklarını Kullanma Testi

3.2.5.18'de belirtildiği gibi hazırlanan temel besi yerine % 0.5 oranında melibiose, inulin, mannitol, raffinose, D (-) arabinose ve D (-) tartarat ilave edilmiş tüplere 6'şar ml olarak dağıtılmış ve otoklav edilip eğik şekilde dondurulmuştur. % 0.3 oranında D(-) tartarat eklenen temel besi yeri (litrede 5 g NaCl, 1 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 1 g K_2HPO_4 , 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01 g fenol kırmızısı ve 15 gram agar) otoklav edildikten sonra petrilere dökülmüştür (Gitaitis ve ark.,1997). *E. chrysanthemi*'nin 7 izolatı ile tüpler ve petrilere aşılmalıdır. 25°C'de 5 günlük bir inkübasyondan sonra mor renkli tüplerde rengin sarıya dönmesi, petrilere turuncu renk olan besi yerinin vişne rengine dönmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir. D(-) tartrate kullanımı

testinde pozitif kontrol olarak *P. viridiflava* (GSPB 1685) kültürü kullanılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987).

3.2.6.2. Arginin Dehidrolaz Testi

3.2.5.6.'de belirtildiği gibi hazırlanan ortam *E chrysanthemi*'nin 7 izolatu ile aşılanmıştır. Kültürler 25 °C'de 1 hafta inkübe edildikten sonra kırmızıdan vişne rengine dönenler pozitif olarak kabul edilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Pozitif kontrol olarak *P. corrugata* (GSPB 1224) kültürü kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak üç tüp aşılanmamıştır.

3.2.6.3. Sıcaklık Denemesi

E chrysanthemi'nin 7 farklı izolatu ile hazırlanan süspansiyondan 10x1.5 cm büyüklüğündeki tüplere 1-2 ml konmuş ve 39°C'ye ayarlı sıcak su banyosuna süspansiyonları örtecek şekilde daldırılmıştır (sıcaklık değişimi $\pm 1^\circ\text{C}$). Su banyosunda 24 saat tutulan süspansiyondan 1 ml alınıp besi ortamına verilmiştir. 26°C'de 5-7 günlük bir inkübasyondan sonra meydana gelen koloni gelişimi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Stapp, 1958). Elde edilen izolatlara yanülgüyü asgariye indirmek amacıyla KOII, oksidaz ve patateste pektolitik aktivite testleri yapılmıştır.

3.2.7. *E. chrysanthemi*'nin Toprak, Tohum Ve Bitki Artıklarındaki Yaşam Süresinin Saptanması

Yapay olarak bulaştırılmış domates bitki artıkları, domates tohumları ve topraktan yapılan izolasyonlarda besi ortamında gelişebilecek pek çok saprofitik bakteriden *E. chrysanthemi*'yi ayırt etmede kolaylık sağlamak amacıyla bir bölge izolatına 100mg/l rifampisin antibiyotikine karşı dayanıklılık kazandırılmıştır (Mariano ve McCarter, 1992). Ayrıca domates bitkileri *E. chrysanthemi* ile bulaştırılırken kullanılmak üzere en iyi inokulasyon yöntemi de belirlenmiştir.

3.2.7.1 Rifampisin'e Dayanıklı *Erwinia chrysanthemi* İzolatının Elde Edilmesi

E. chrysanthemi olduğu tanılanan bir bölge izolatı (AB-ID 3a) King B besi yerinde 48 saat geliştirildikten sonra tek koloniden alınan bakteri 20 ml YPS (Rhodes, 1959) sıvı besin yerine aktarılmıştır. 150 rpm hızda çalışan çalkalayıcıda (Heidolph unimox 1010) 48 saat geliştirilen bakteri süspansiyonundan 5 ml alınıp 200 ml YPS sıvı besi yerine aktarılmıştır. Çalkalayıcıda 48 saat geliştirilip bulanık bakteri görünümü gözlemlendikten sonra %70'lik alkol içerisinde çözülün 25 mg/l dozunda filtreden geçirilip steril edilen rifampisin bakteri süspansiyonuna eklenmiştir. İlk birkaç gün bakterilerin çoğunun ölmesinden dolayı sıvı besi yeri berraklaşmış daha sonra 25 mg/l rifampisin'e dayanıklı mutantlar çoğalıp ortam tekrar bulanıklaşınca 25 mg/l rifampisin içeren KB besi yerine bu süspansiyondan çizim yapılarak tek koloniler geliştirilmiştir. Tek bir koloni alınıp 20 ml besi yerinde tekrar çoğaltılmış ve yukarıda anlatılan işlemler 50, 75, 100 mg/l dozuna göre tekrar edilmiştir. Son olarak 100 mg/l rifampisin içeren King B besi yerinde gelişen dayanıklı mutantların *E. chrysanthemi* olup olmadığı patates dilimlerinde pektolitik aktivite ve domateste patojenite testleri ile kanıtlanmıştır. 1 hafta sonra tipik hastalık semptomu oluşturan bitkilerden yapılan reizolasyonlarda 100mg/l rifampisine dayanıklı reizolatlar elde edilmiştir. Bu izolatlar 100 mg/l rifampisin içeren YDC eğik ortamında +4°C'de saklanmıştır.

3.2.7.2 En İyi İnokulasyon Yönteminin Belirlenmesi

Rifampisin'e dayanıklılık kazandırılan ve *E. chrysanthemi* olduğu belirlenen bir bölge izolatu en iyi inokulasyon yönteminin belirlenmesi için kullanılmıştır.

Yöntem 1 Bir ml bakteri süspansiyonu steril bir enjektör yardımı ile domates bitkisinin gövdesinin toprağa bağlandığı kısımdan 1 cm yukarıdan bitki gövdesi içerisine enjekte edilmiştir. Bu işlem 5 tekrarlı olarak yapılmıştır. Negatif kontrol olarak 5 bitkinin gövdesine steril su enjekte edilmiştir.

Yöntem 2 Domates bitkisinin köklerinin uç kısımları kesildikten sonra bakteri süspansiyonuna 15 dakika daldırılmıştır. Bu işlemden sonra bitkiler tekrar toprağa dikilmiştir. İşlem 5 tekrarlı olarak yapılmış negatif kontrol olarak aynı şekilde 5 bitki steril su içerisinde 15 dakika bekletilmiştir.

Bitkiler yüksek nem seviyesini sağlamak amacıyla 24 saat nemli polietilen torbalar içerisine konmuş ve 25°C sıcaklık, %60-70 nem ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık koşullardaki iklim odasında tutulmuştur.

3.2.7.3. *E. chrysanthemi*'nin Topraktaki Yaşam Süresinin Saptanması

Çalışmada 100mg/l rifampisin'e dayanıklılık kazandırılmış AB-İD3a izolatu kullanılmıştır. Bitki artıkları içermeyen toprak 17 litrelik teneke kutular içerisine konarak Temmuz 1999 tarihinde toprağa gömülmüştür (Şekil 3.1.). 1 gram toprak yaklaşık 3×10^9 bakteri hücresi ile bulaştırılmıştır. İnokulasyondan 0, 3, 7, 14, 21 ve 30 gün sonra toprağın 0-15 cm derinliğinden örnek alınmış ve toprak sulandırma yöntemine göre izolasyonlar yapılarak patojenin yaz ayları boyunca toprakta yaşama süresi araştırılmıştır (Aysan ve Çınar, 1998).

Eylül 1999 tarihinde 1 gram toprak yaklaşık 2.6×10^8 bakteri hücresi ile bulaştırılmış ve bir yıl boyunca aylık yapılan izolasyonlarla patojenin kış aylarında topraktaki yaşama süresi araştırılmıştır (Aysan ve Çınar, 1998).



Şekil 3.1. *E. chrysanthemi* ile bulaştırılmış toprak

3.2.7.4. *E. chrysanthemi*'nin Bitki Artıklarında Yaşam Süresinin Saptanması

100mg/l rifampisin'e dayanıklılık kazandırılmış AB-İD3a izolatının kullanıldığı çalışmada domates bitkileri patojenin 10^8 hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyonu ile gövde enjeksiyonu şeklinde inokule edilmiştir. İki hafta sonra 10 g gövde parçası 10x10 boyutundaki naylon çoraplar içerisine konup Temmuz 1999 tarihinde 10 cm toprak derinliğine gömülmüştür (Şekil 3.2.). Dört ay boyunca 30 günde bir örnek çıkartılmış ve rifampisin içeren King B besi yerine izolasyonlar yapılmıştır (Aysan ve Çınar, 1998). Etmenin varlığı domateste patojenite, patateste pektolitik aktivite ve eritromisin'e duyarlılık testleri ile kanıtlanmıştır (Lelliot ve Stead, 1987)

Temmuz 1999 tarihinde toprağın 10 cm derinliğine gömülen örnekler 30 gün aralıklarla çıkartılarak yapılan izolasyonlar sonucu patojenin infekteli bitki artıklarındaki popülasyonu bir yıl boyunca izlenmiştir (Aysan ve Çınar, 1998).



Şekil 3.2. *E. chrysanthemi* ile bulaştırılmış bitki artıklarının gömüldüğü toprak alanı

3.2.7.5. *E. chrysanthemi*'nin Tohumlardaki Patojenitesi Ve Yaşam Süresinin Saptanması

%1 NaOCl'ye 3 dakika daldırılarak yüzeysel dezenfekte edilen H-2274 çeşidi domates tohumları 100mg/l rifampisin'e dayanıklı patojen süspansiyonunda vakum (15 dak.) ve ardından daldırma (30 dak.) yöntemi kullanılarak inokule edilmiştir. İnokuleli tohumlar bir gece boyunca steril kabinde kurutulmuş ve kağıt torbalar içerisinde oda sıcaklığında saklanmıştır. Tohumların patojen ile bulaşma oranını belirlemek amacıyla 100 adet tohum 100mg/l rifampicisin içeren King B besi yerine ekilmiş ve etrafında bakteri kolonisi gelişen tohumlar sayılarak bulaşık tohum yüzdesi belirlenmiştir. Her ay 100 adet tohum tesadüf olarak seçilerek 100mg/l rifampisin içeren seçici besi yerine ekilmiştir (Hankin ve Sands, 1977). Tohum etrafında gelişen koloniler sayılarak inokuleli tohum %'si belirlenmiştir. Kontrol amacıyla 3 dakika %1 NaOCl'ye batırılan domates tohumları kullanılmıştır. Etmenin tohumunda yaşam süresi ayda bir kez yapılan izolasyonlarla 14 ay süreyle izlenmiştir (Aysan ve Çınar, 1998).

Bulaşık tohumlardan gelişen fidelerde hastalığın ortaya çıkışı diğer bir deyişle hastalığın tohumlarla taşınma olasılığının belirlenmesi amacıyla H-2274 çeşidi domates tohumları *E. chrysanthemi* ile bulaştırılmıştır. Tohumların patojen ile bulaşma oranını belirlemek amacıyla 100 adet tohum 100mg/l rifampicisin içeren King B besi yerine ekilmiş ve etrafında bakteri kolonisi gelişen tohumlar sayılarak bulaşık tohum yüzdesi belirlenmiştir. Patojen ile bulaşık tohumlar içinde 3:1 oranında killi yapıdaki siyah renkli toprak ve torf karışımı bulunan 25 cm çapında plastik kaplar içerisine ekilmiştir. Ortamda yüksek nem sağlamak amacıyla plastik kaplar ıslak polietilen torba içerisinde konulmuş ve tohumlar 25°C sıcaklık, %60-70 nem ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık koşullardaki iklim odasında tutulmuştur. Kotiledonlarda leke gelişimi yönünden günlük incelemeler yapılmış ve simptom oluşumundan sonra lezyonlu bitkilerden örnek alınarak 100mg/l rifampicisin içeren King B besi yerine izolasyon yapılmıştır. Elde edilen izolatlara patatesta pektolitik aktivite, oksidaz ve KOH testleri yapılarak etmenin tanısı desteklenmiştir. Çalışma 3 kez tekrarlanmıştır.

3.2.8. Tohum Kökenli İnokulumu Baskı Altına Almada Tohum Uygulamalarının Etkisi

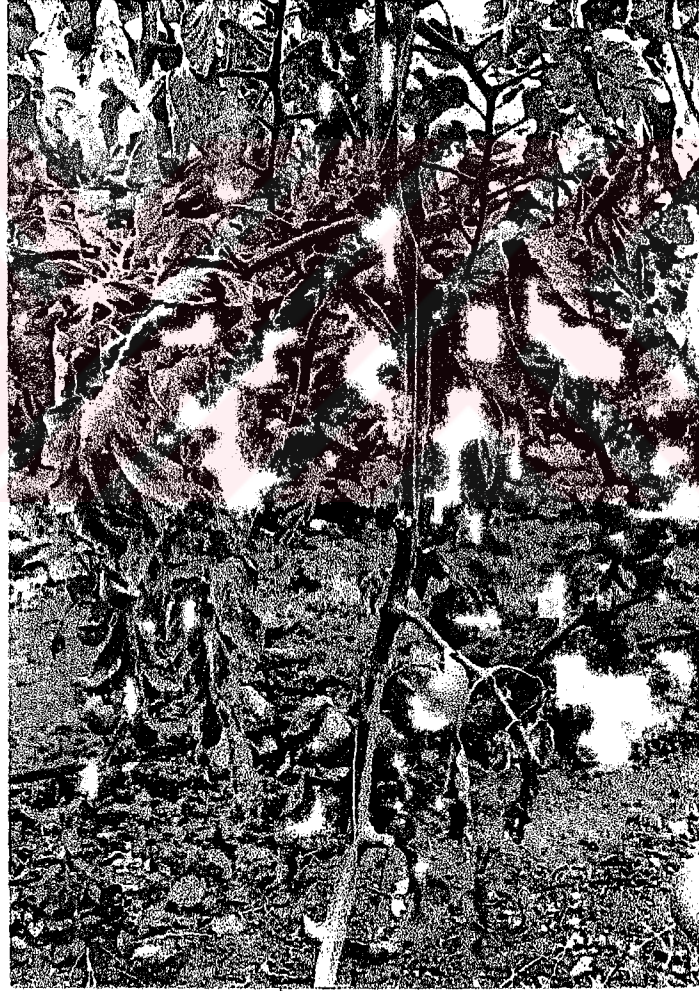
Patojen ile yapay olarak bulaştırılmış hasta tohumlardan patojeni elimine edebilmek için 50 ve 55 °C'deki sıcak suya 20 ve 30 dakika, %1 NaOCl' ye 3, 4 ve 5 dakika, 0,6 M HCl'e 30 ve 60 dakika, %0.5 ve 1.0'lik 8 hidroxyguinolin'e 3 dakika, %0.2 bakır asetatı 3 dakika, 50 ve 100 ppm dozundaki streptomycin'e 5, 10, 15, 30 dakika daldırma ve bronopol (Bronotak, Agrevo) ile kuru ilaçlamanın etkinliği araştırılmıştır (Kritzman 1993; Tokgönlü ve Çınar, 1998; Aysan ve ark., 2002).

Uygulama görmüş tohumlar antibiyotik içeren besi yerine ekilerek tohumdan elimine olan bakteri %'si belirlenmiştir. Abbot formülüne göre % etki hesaplanmış ve bilgisayarda ANOVA (p= 0.05) ile istatistiki analizler yapılarak uygulamaların birbirinden farkı belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Yumuşak Çürüklük Erwinia Türlerinin İzolasyonu

Doğu Akdeniz bölgesinde örtü altı sebze yetiştiriciliği yapılan Mersin'in Erdemli, Kocahasanlı ve Limonlu ilçelerindeki domates seralarından solgunluk, gövde üzerinde grimsi lekeler, gövde çürüklüğü, gövde içinin boşalması ve iletim demetlerinde renklenme gibi belirtiler gösteren domates bitkilerinden (Şekil 4.1. ve 4.2.) King B besi yerine yapılan izolasyonlarda krem renkli koloniler saflaştırılmış ve 24 adet bölge izolatu elde edilmiştir.



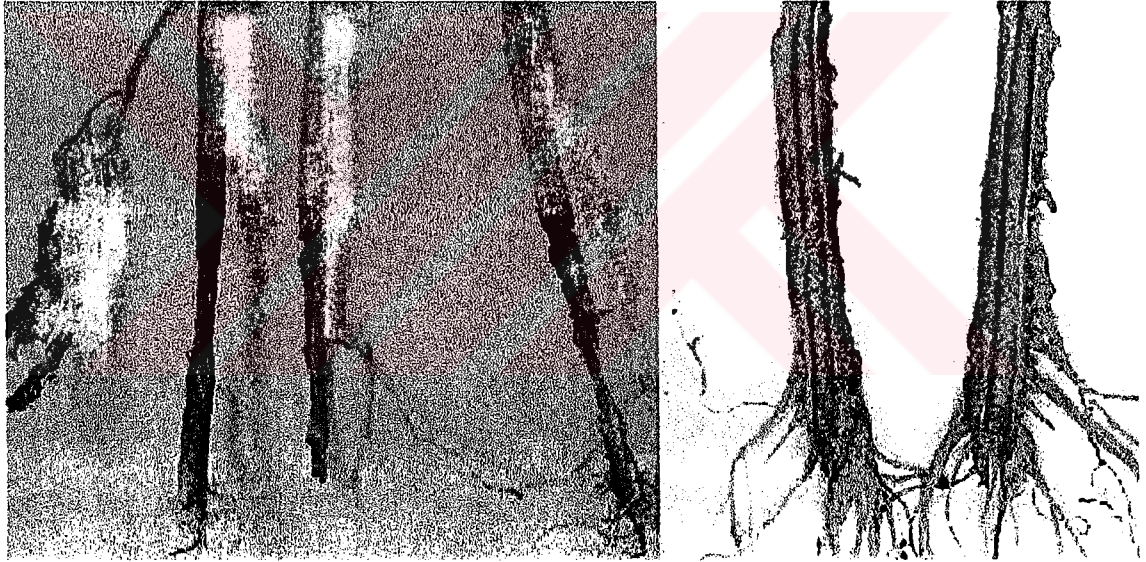
Şekil 4.1. Domates bitkisinde *E. chrysanthemi* 'nin neden olduğu solgunluk ve gövde lezyonları



Şekil 4.2. *E. chrysanthemi*'nin neden olduğu gövde içi boşalması ve domates bitkisinde iletim demetlerindeki renklenme

4. 2. Patojenite Testleri

Toplam 24 adet bölge izolatu ve orijinal kültürler ile yapılan patojenite testlerinde tüm izolatlar inokulasyondan 7 gün sonra domates bitkilerinin gövde kısmında grimsi lekelenmelere gövde çürüklüğüne ve iletim demetlerinde renklenmelere neden olmuşlardır (Şekil 4.3.). Negatif kontrol olarak çeşme suyuyla inokule edilen bitkilerde ise herhangi bir hastalık semptomu gözlenmemiştir. Tipik hastalık semptomu gösteren bitkilerden yapılan izolasyonlar sonucu reizolatlar elde edilmiş ve tanı testlerinde kullanılmıştır. Bu izolatların izole edildiği yer ve izolasyon zamanı çizelge 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.3. Patojenite testlerinde AB-İD 3a izolatının domates bitkisinde oluşturduğu gövde lezyonları ve iletim demetlerindeki renk değişimi

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatlarının listesi

İzolatların Kod Adları	İzole Edildiği Yer	İzolasyon Tarihi
AE-1a	Kocahasanlı / MERSİN	04 Kasım 1999
AK-ÖZ3	Erdemli / MERSİN	16 Kasım 1999
AS-1b	Erdemli / MERSİN	04 Kasım 1999
AU-1a2	Limonlu / MERSİN	25 Ocak 2001
AY-ÖZ	Erdemli / MERSİN	07 Aralık 2000
Ceil-a2	Limonlu / MERSİN	09 Kasım 2000
FU-ÖZ	Erdemli / MERSİN	09 Kasım 2000
Hac-ÖZ1b	Erdemli / MERSİN	25 Ocak 2001
HC-İD	Erdemli / MERSİN	07 Aralık 2000
HCO ₃ -Öz3b	Erdemli / MERSİN	07 Aralık 2000
HD-ÖZ1b	Limonlu / MERSİN	17 Şubat 2000
HÖ-İD	Erdemli / MERSİN	17 Şubat 2000
İbc-ka1b	Kocahasanlı / MERSİN	18 Aralık 1999
İCL-1a	Kocahasanlı / MERSİN	11 Aralık 1999
Mc-3a	Erdemli / MERSİN	18 Mayıs 1999
MKY1-	Erdemli / MERSİN	18 Mayıs 1999
MK-ÖZ	Kocahasanlı / MERSİN	04 Aralık 1999
MUSEIL1	Kocahasanlı / MERSİN	12 Ekim 2000
MO-ÖZ	Erdemli / MERSİN	09 Kasım 2000
MS-ÖZ2	Erdemli / MERSİN	07 Aralık 2000
My-ÖZ1a	Erdemli / MERSİN	04 Kasım 1999
OK2-Öza	Kocahasanlı / MERSİN	09 Kasım 2000
RU-ID3	Erdemli / MERSİN	17 Şubat 2000
Yuc-ÖZ1b	Kocahasanlı / MERSİN	12 Ekim 2001
Patates 1*	Kürkçüler / ADANA	11 Şubat 1996
AB-İD 3a Rif*	Kocahasanlı / MERSİN	16 Kasım 1996
ME-ÖZ Rif*	Erdemli / MERSİN	16 Kasım 1996
İsrail Rif**	İsrail	08 Mayıs 1997

* İzolatlar Yrd. Doc. Dr. Yeşim AYSAN'dan temin edilmiştir.

** Kültür Dr. Giora Kritzman'dan (Plant Protection Department, Volcani Center ISRAEL) temin edilmiştir.

4.3. Bakteri İzolatlarını Tanılama Testleri

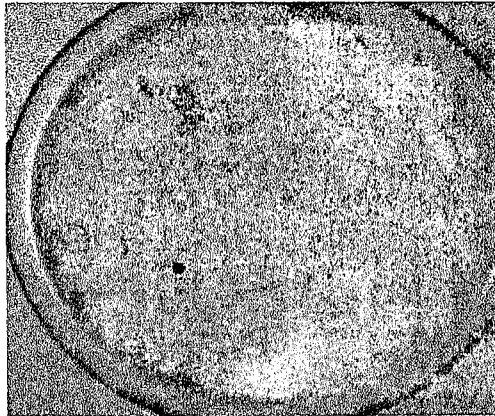
4.3.1. Koloni Renk ve Şekli

4.3.1.1. King B Besi Yerinde Gelişim

Bölge izolatları ve yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin orijinal kültürlerinin King B besi yerinde floresan pigment üretmeyen, krem renginde, kenarı düz, kıvrımsız ve mat görünümlü koloniler geliştirmişlerdir. Pozitif kontrol olarak kullanılan *P. cichorii* (GSPB 2097) kültürü ise parlak floresan renkte koloniler oluşturmuştur.

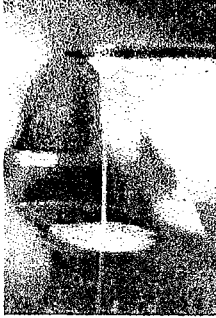
4.3.1.2. YDC Besi Yerinde Gelişim

Bölge izolatlarından bir tanesi taze hazırlanmış YDC besi yerinde 7 gün sonra suda çözülmeyen mavi halka şeklinde pigmentli gelişim göstermiştir (Şekil 4.4.). Victoria ve Granada (1981), Aysan (2001) ile Aysan ve Çınar (2001) domatesten elde ettikleri *E. chrysanthemi* izolatlarının YDC besi yerinde yukarıda belirtildiği şekilde koloni geliştirdiğini bildirmişlerdir. Fakat tüm *E. chrysanthemi* izolatları bu pigmenti üretmemektedir (Cothier ve Sivasithamparan, 1983). Benzer şekilde *E. chrysanthemi*'nin orijinal kültürü olan GSPB 415'in ve bölge izolatlarının YDC besi yerinde oluşturduğu koloniler mavi renkli pigment üretmemişlerdir.



Şekil 4.4. AB-İD 3a izolatının YDC besi yerinde oluşturduğu mavi çözünmeyen pigment

4.3.2. KOH Testi



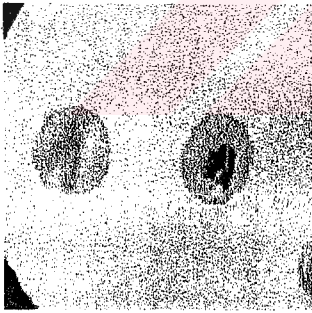
Orijinal kültürler ve bölge izolatları test sonucunda özeye yapışarak sümüksü bir yapı oluşturduğundan gram negatif (Şekil 4.5.), karşılaştırma kültürü *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ise sümüksü bir yapıyı göstermediğinden gram pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Şekil 4.5. KOH testinde gram negatif kültürlerin oluşturduğu sümüksü yapı (Şekil Duveiller ve ark. (1997)'den alınmıştır)

4.3.3. Levan Oluşumu

Sukroz (% 5) içeren Nutrient Agar besi yerinde orijinal kültürler, bölge izolatları ve pozitif kontrol olarak kullanılan *E. amylovora* kültürleri kalın, beyaz, konveks ve mukoid koloniler geliştirdiğinden levan pozitif olarak değerlendirilmiştir.

4.3.4. Oksidaz Testi

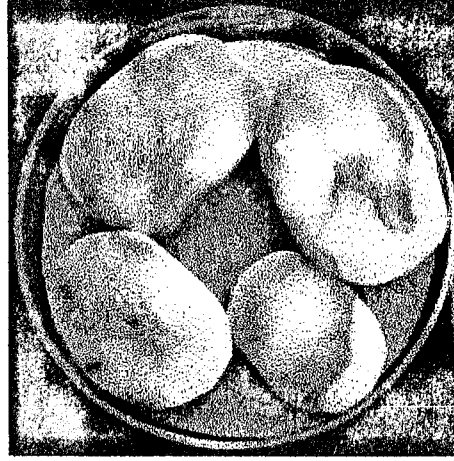


Yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin orijinal kültürleri ve bölge izolatları oksidaz test solüsyonu emdirilmiş filtre kağıdına çizilen zigzaglar sonucu hiçbir renk değişimi göstermediğinden oksidaz negatif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan *P. cichorii* kültürü birkaç saniye içinde koyu mor renk oluşturmuştur (Şekil 4.6.).

Şekil 4.6. Solda oksidaz negatif, sağda pozitif olan reaksiyon (Şekil Duveiller ve ark. (1997)'den alınmıştır)

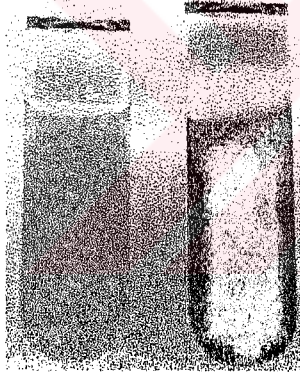
4.3.5. Patates Çürüklüğü Testi

Yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin orijinal kültürleri ve bölge izolatları 26°C'de iki günlük inkübasyondan sonra patates dilimleri üzerinde çürüklükler oluşturmuşlar ve deneme sonucunda pozitif olarak değerlendirilmişlerdir (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. OK2-Öza izolatının ürettiği pektolitik enzimler sonucu yumuşayan patates dilimlerinin görüntüsü

4.3.6. Arginin Dehidrolaz Testi



Yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin orijinal kültürleri ve bölge izolatlarında 3. gün yapılan değerlendirmede herhangi bir renk değişimi gözlenmezken 6. gün ortamda renk açılması sonucu negatif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan *P. corrugata* izolatı aşılamadan 3 gün sonra hafif bir renk değişimi göstermiş 6 gün sonra ise vişne rengine dönmüştür (Şekil 4.8.).

Şekil 4.8. Solda arginin dehidrolaz negatif, sağda pozitif olan reaksiyon

(Şekil Duveiller ve ark. (1997)'den alınmıştır)

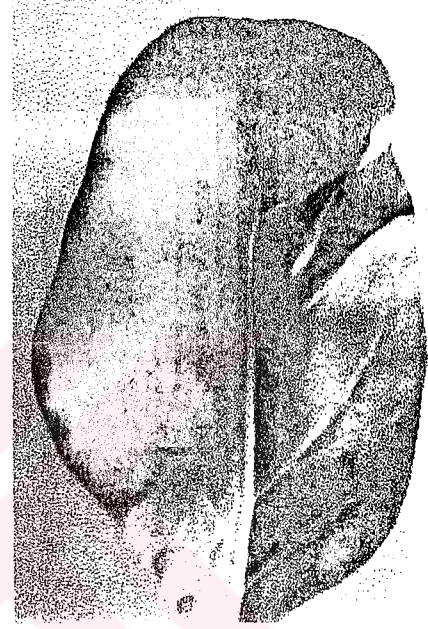
4.3.7. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi (HR)

İnokulasyondan 24 saat sonra 28 yumuşak çürüklük *Erwinia* izolatlarının tümü tütün yaprağında aşırı duyarlılık reaksiyonu benzeri belirtiler oluşturmuştur (Şekil 4.9.). Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde Çınar ve Aysan (1995) domateste yumuşak çürüklüğe neden olan *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* ve *Erwinia chrysanthemi*'nin tütün damar aralarına inokulasyonundan 24 saat sonra tipik aşırı duyarlılık reaksiyonu yerine inokulasyon yerinde yumuşama, pörsüme ve iki parmak

arasına alındığında yaprakların lime lime parçalandığını saptamışlardır. Alivizatos (1985) ise domateste solgunluk etmeni olarak tanıladığı *Erwinia chrysanthemi*'nin tütün yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olduğunu bildirmiştir. Denemede pozitif kontrol olarak kullanılan *P. cichorii* (GSPB 2097) kültürü tütün yapraklarında tipik aşırı duyarlılık simptomsu oluşturmuştur (Şekil 4.10.).



Şekil 4.9. OK2-Öza izolatının tütün yapraklarında oluşturduğu aşırı duyarlılık reaksiyonu



Şekil 4.10. *P. cichorii*'nin tütün yapraklarında oluşturduğu aşırı duyarlılık reaksiyonu

4.3.8. Oksidasyon / Fermantasyon Testi (O/F)

Değerlendirme 26°C'de 6 günlük bir inkübasyondan sonra yapılmış yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin orijinal kültürleri ve bölge izolatlarının tümü oksijenli (vasparsız) ve oksijensiz (vasparlı) ortamda gelişim göstererek tüplerin rengini sarıya çevirmişlerdir. Negatif kontrol olarak kullanılan *Erwinia amylovora* oksijensiz ortamda gelişim gösteremediğinden ortamın renginde değişim olmamıştır.

4.3.9. Jelatin Hidrolizasyonu Testi

Orijinal kültürler ve bölge izolatlarının ekim yapıldığı jelatin ortamlarında aşılama 14 gün sonra gözlenen sıvılaşma pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak alınan *P. corrugata* (GSPB 1224) kültürü de besi yerini sıvılaştırırken kontrol tüplerde bir sıvılaşma gözlenmemiştir.

4.3.10. Lesitinaz Üretimi



Orijinal *P. cichorii* kültürü aşılama 24-48 saat sonra koloni çevresinde parlaklık ve sütümsü bir gelişme göstermesine (Şekil 4.11.) karşılık yumuşak çürüklük *Erwinia*'larının orijinal kültürleri ve bölge izolatlarında bu gelişim gözlenmediği için negatif olarak değerlendirilmiştir.

Şekil 4.11. *P. cichorii* kültürünün lesitinaz üretimi sonucu kolonilerinin çevresinde oluşan parlaklık ve sütümsü gelişme

4.3.11. NaCl Toleransı

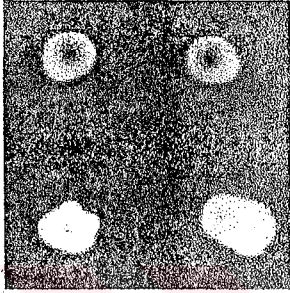
Nutrient Broth ortamına % 5 oranında NaCl eklenerek hazırlanan besi yerinde 18 gün inkübe edilen yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin orijinal kültürleri ve bölge izolatlarının tümü besi ortamında gelişmişlerdir. Yanılgıyı azaltmak amacıyla bulanıklık gösteren tüplerden besi ortamına yapılan çizimlerde bakteriyel gelişim gözlenmiştir. Besi ortamında gelişen bakteri kolonilerinden hazırlanan süspansiyon patates dilimlerine inokule edildiğinde tüm izolatlar pektolitik aktiviteden dolayı patates dilimlerinde çürüklüğe neden olmuşlardır.

4.3.12. Sukroz'dan Madde Azalması

Hazırlanan besi yerinde *E. c.* subsp. *caratovora* ve *E. chrysanthemi* orjinal kültürleri ile bölge izolatları turuncu zon oluşumu göstermezken *E. c.* subsp. *atroseptica* kültürü mavi zemin üzerinde turuncu zon oluşturmuştur.

4.3.13. Fosfataz Testi

Besi yerine nokta inokulasyonu şeklinde aşılaman orijinal kültürler ve bölge



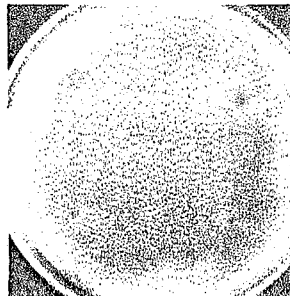
izolatları 26°C'de 48 saat geliştirildikten sonra petri kapağına 0.1 ml amonyum hidroksit damlatılmıştır. Bu işlem sonunda 7 bölge izolatının ve orijinal *E. chrysanthemi* kültürünün koloni rengi hızla pembe renge dönmüştür (Şekil 4.12.). Bu şekilde reaksiyon gösteren izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir .

Şekil 4.12. Üstte merkezi pembe olan OK2-Öza izolatının fosfataz pozitif kolonileri, altta İCL-1a izolatının fosfataz negatif kolonileri

4.3.14. İndol Testi

İndol test ortamında gelişen kültürler üzerine Kovaks ayracı eklendikten sonra 7 bölge izolatu ve orijinal *E. chrysanthemi* kültürü ile inokule edilmiş tüplerde vişne renkli bir katman olduğundan pozitif olarak kabul edilmiştir.

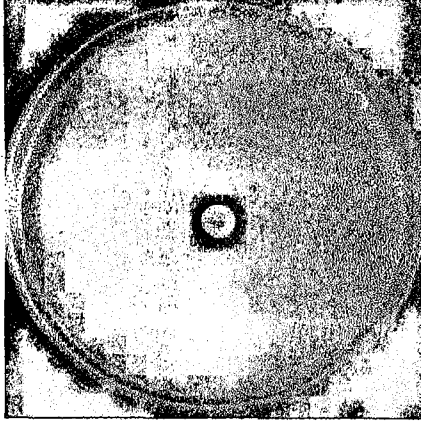
4.3.15. α -Metil -D-Glukozun Kullanımı



Pozitif kontrol olarak kullanılan *E. c.* subsp. *atroseptica* kolonileri hazırlanan ortam üzerinde kırmızımsı pembe renkli gelişmişlerdir (Şekil 4.13.). Kullanılan diğer orijinal kültürler ve bölge izolatları ortamda beyaz renkli koloniler oluşturduklarından negatif olarak değerlendirilmiştir.

Şekil 4.13. α -metil-D-glukozu kullanabilen *E. c.* subsp *atroseptica*'nın kırmızımsı pembe renkli kolonileri

4.3.16. Eritromisin Testi



Kurulan denemede pozitif kontrol olarak kullanılan *E. chrysanthemi* kültürü ve bölge izolatlarından 7 tanesi 15 µl eritromisin antibiyotiği içeren diskin çevresinde bir zon oluşturmuş (Şekil 4.14.) ve eritromisine duyarlı olarak kabul edilmişlerdir. Kullanılan diğer orijinal kültürler ve bölge izolatları ise disk çevresinde zon oluşturmadıklarından eritromisine dayanıklı olarak değerlendirilmişlerdir.

Şekil 4.14. Eritromisin antibiyotiğine duyarlı olan OK2-Öza izolatının oluşturduğu inhibisyon zonu

4.3.17. Metilen Kırmızısı

2. ve 7. günlerde yapılan değerlendirmede *E. chrysanthemi* ve *E. c.* subsp. *caratovara* kültürleri ile kullanılan bölge izolatlarında besi yeri üzerine ayraç eklendikten sonra ortamın rengi sarıdan kırmızıya dönüşmüş ve pozitif olarak değerlendirilmiştir. *E. c.* subsp. *atroseptica* ise negatif sonuç vermiştir.

4.3.18. Karbon Kaynaklarını Kullanma Testi

Bölge izolatları karbon kaynağı olarak laktoz ve trehalozu kullanmış, maltozu kullanamamıştır. Karşılaştırma kültürü olarak kullanılan *E. chrysanthemi* ve *E. c.* subsp. *caratovara* laktoz ve trehalozu kullanırken maltozu kullanamamıştır. *E. c.* subsp. *atroseptica* ise her üç karbon kaynağını kullanmıştır.

Sonuç olarak yapılan testlerin sonuçlarına göre 24 adet bölge izolatının 7'si *E. chrysanthemi*, 17'si *E. c.* subsp. *caratovara* olarak tanımlanmıştır. Diğer araştırmacıardan alınan İsrail-2a, ME-ÖZ ve Patates1 izolatı *E. c.* subsp. *caratovara*, AB-ID3a izolatı ise *E. chrysanthemi* olarak tanımlanmıştır. Elde edilen bulgular De Boer ve Kelman (2001) tarafından bildirilen sonuçlarla uyum içindedir. Tanılama testi sonuçları toplu halde Çizelgede 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Domateste yumuşak çürüklüğe neden olan *Erwinia* izolatları ile yapılan fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçları

ÇALIŞMADA KULLANILAN İZOLATLAR	KING B ORTAMINDA FLORESAN PİGMENT	YDC AGAR ORTAMINDA MAVİ HALKA ÜRETİMİ	KOH (Gram reaksiyon)	LEVAN OLUŞUMU	OKSİDAZ	PATATESDE PEKTOLİTİK AKTİVİTE	ARGİNİN DEHİDROLAZ	TÜTÜN TESTİ	O/F TESTİ	JELATİN	HİDROLİZASYONU TESTİ	LEPİTİNAZ ÜRETİMİ	NaCl TOLERANS	SUKROZDAN MADDE AZALMASI	FOSFOTAZ	İNDOL TESTİ	α-METİL-D-GLUKOZUN KULLANIMI	ERİTROMİSİN TESTİ	METİLEN KIRMIZISI	LAKTOZ'DAN ASİT ÜRETİMİ	MALTOZ'DAN ASİT ÜRETİMİ	THREHALOZ'DAN ASİT ÜRETİMİ	
AE-1a	NF	.	.	+	.	+	+	F	F	+	+	.	+	R	+	+	+	+	+
AK-ÖZ3	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	S	+	+	+	+	+
AS-1b	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	R	+	+	+	+	+
AU-1a2	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	R	+	+	+	+	+
AY-ÖZ	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	S	+	+	+	+	+
CEİL-1a2	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	R	+	+	+	+	+
FU-ÖZ	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	S	+	+	+	+	+
HAC-ÖZ1b	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	R	+	+	+	+	+
HC-ID	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	R	+	+	+	+	+
HCO3-ÖZ3b	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	R	+	+	+	+	+
HD-ÖZ1b	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	R	+	+	+	+	+
HÖ-ID	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	R	+	+	+	+	+
İbc-ka1b	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	S	+	+	+	+	+
İCL-1a	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	R	+	+	+	+	+
MC 3a	NF	.	.	+	.	+	.	F	F	+	+	.	+	R	+	+	+	+	+

MKY-1	NF	-	-	+	+	-	+	F	+	+	-	-	R	+	+	+	-	+
MK ÖZ	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	R	+	+	+	-	+
MUSEİL 1	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	R	+	+	+	-	+
MO-ÖZ	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	R	+	+	+	-	+
MS-ÖZ 2	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	R	+	+	+	-	+
MY-ÖZ 1a	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	R	+	+	+	-	+
OK2-ÖZ a	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	+	S	+	+	+	-	+
RU-ID3	FN	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	R	+	+	+	-	+
Yakup serin	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	S	+	+	+	-	+
Patates -1*	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	R	+	+	+	-	+
AB-ID 3a Rif*	NF	+	+	+	+	-	+	F	+	+	-	+	S	+	+	+	-	+
ME-ÖZ Rif*	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	R	+	+	+	-	+
İsraël Rif**	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	F	+	+	+	-	+
GSPB 415***	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	+	S	+	+	+	-	+
GSPB 30/77***	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	R	+	+	+	-	+
GSPB 2131***	NF	-	+	+	+	-	+	F	+	+	-	-	R	+	+	+	-	+

* İzolatlar Yrd.Doc. Yeşim AYSAN'dan temin edilmiştir.

** Kültür Dr. G. Kritzman'dan (Plant Protection Department, Volcani Center ISRAEL) temin edilmiştir.

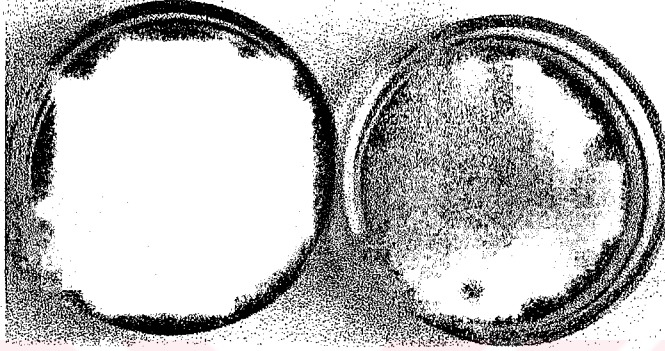
*** Kültürler Dr. K. Rudolph'dan (Plant Protection Department Georg-August University Göttingen-Germany) temin edilmiştir.

NF: Non floresan, F: Fermentatif, S: Sensitive (Duyarlı) R: Resistant (Dayanıklı)

4.4. *E. chrysanthemi* izolatlarının Biovarlarının Tespiti

4.4.1. Karbon Kaynaklarını Kullanma Testi

E. chrysanthemi'nin 7 izolatı karbon kaynağı olarak melibioz, rafinoz ve mannitol'u kullanırken D (-) arabinoz, D (-) tartarat ve inulin'i kullanmamıştır. *P. viridiflava* (GSPB 1685) kültürü D (-) tartarat'ı kullanarak besi yerinin rengini vişne rengine çevirmiştir (Şekil 4.15.).



Şekil 4.15. Solda *P. viridiflava* kültürünün D (-) tartarat'ı kullanarak ortamının renginin değiştiği, sağda D (-) tartarat'ı kullanamayan OK2-ÖZa izolatının gelişimi

4.4.2. Arginin Dehidrolaz Testi

E. chrysanthemi'nin 7 izolatı arginin dehidrolaz testi sonucunda negatif sonuç vermiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan *P. corrugata* (GSPB 1224) kültüründe ise ortamın renginin vişne rengine dönüşmesi pozitif olarak kabul edilmiştir.

4.4.3. Sıcaklık Denemesi

24 saat boyunca 39°C'de (± 1 °C) tutulan *E. chrysanthemi*'nin 7 izolatı King B besi yerine çizildiğinde koloni gelişimi gözlenmiştir. Kontrol amacıyla elde edilen izolatlara yapılan KOH, oksidaz ve patatesteki pektolitik aktivite testleri ile bunların yumuşak çürüklük *Erwinia* türleri olduğu desteklenmiştir.

Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi yapılan bu çalışma sonucuna göre domatesten izole edilen *E. chrysanthemi* izolatları biovar 6 olarak belirlenmiştir. Biovar 6 daha önce Dickey ve Victoria (1980) tarafından muzdan ve Le Guern ve ark. (1992) tarafından hindibağdan izole edilmiştir. Domatesten izole edilen *E. chrysanthemi* izolatlarını Victoria ve Granada (1981) biovar 4, Wick ve Shrier (1990) biovar 3 olarak saptamıştır.

Çizelge 4.3. *Erwinia chrysanthemi* İzolatlarının Biovarlarını Saptama Test Sonuçları

İzolatlar	Melibioz	İnulin	Mannitol	Raffinoz	D (-) Arabinoz	Arginin Dehidrolaz	D (-) Tartarat	39°Cde gelişme
Biovar1*	+	+	+	+	-	+	+	-
Biovar2*	-	-	+	-	+	-	-	+
Biovar3*	+	-	+	+	+	-	-	+
Biovar4*	+	-	-	+	+	-	+	+
Biovar5*	+	+	+	+	-	+	-	+
Biovar6*	+	-	+	+	-	-	-	+
Biovar7*	-	+	+	-	-	+	+	-
Biovar8*	+	-	+	+	+	+	-	+
Biovar9*	-	+	+	-	-	-	+	-
GSPB 415	+	-	+	+	-	-	-	+
<i>E. chrysanthemi</i>								
AB-İD 3a	+	-	+	+	-	-	-	+
AK-ÖZ3	+	-	+	+	-	-	-	+
AY-ÖZ	+	-	+	+	-	-	-	+
İbc-ka-1b	+	-	+	+	-	-	-	+
FU ÖZ	+	-	+	+	-	-	-	+
OK2-ÖZa	+	-	+	+	-	-	-	+
Yakup Serin	+	-	+	+	-	-	-	+

* :Test sonuçları Samson ve ark., (1989), Janse and Ruissen (1988) ve Ngwira and Samson,(1990)'dan alınmıştır.

4.5. *Erwinia chrysanthemi*'nin Toprak, Bitki Artığı Ve Tohumdaki Epifitik Yaşam Süresinin Saptanması

4.5.1. Rifampisin'e Dayanıklı *Erwinia chrysanthemi* İzolatının Elde Edilmesi

E. chrysanthemi olduğu tanılanan bir bölge izolatu (AB-ID 3a) 100mg/l rifampisine dayanıklılık kazandırılmıştır.

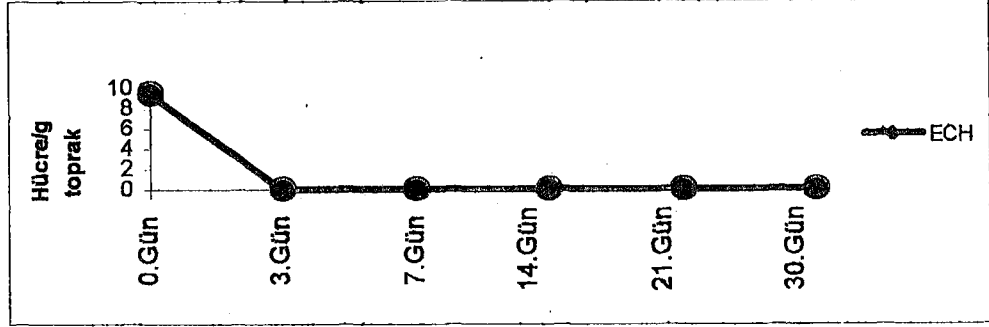
4.5.2. En İyi İnokulasyon Yönteminin Belirlenmesi

Bitkinin gövdesine bakteri süspansiyonu verildiğinde (Yöntem 1) bitkinin iletim demeti ve öz kısmında inokulasyon yerinde 0.5- 4.0 cm arasında değişen değerlerde renk bozulması saptanmıştır. Patojen bitki köklerinden verildiğinde ise (Yöntem 2) bitkinin iletim demetinde kök kısmından başlayan ve 0.7 ile 2.1 cm arasında değişen değerlerde renk bozulmaları gözlenmiştir.

Bu değerlere baktığımızda *E. chrysanthemi* domates bitkisine gövdeden inokule edildiğinde, kök inokulasyonuna göre daha hızlı ilerlemektedir. Bu veriler doğrultusunda *E. chrysanthemi*'ye karşı domateste patojenite testinde gövde inokulasyonu yöntemi tercih edilmiştir.

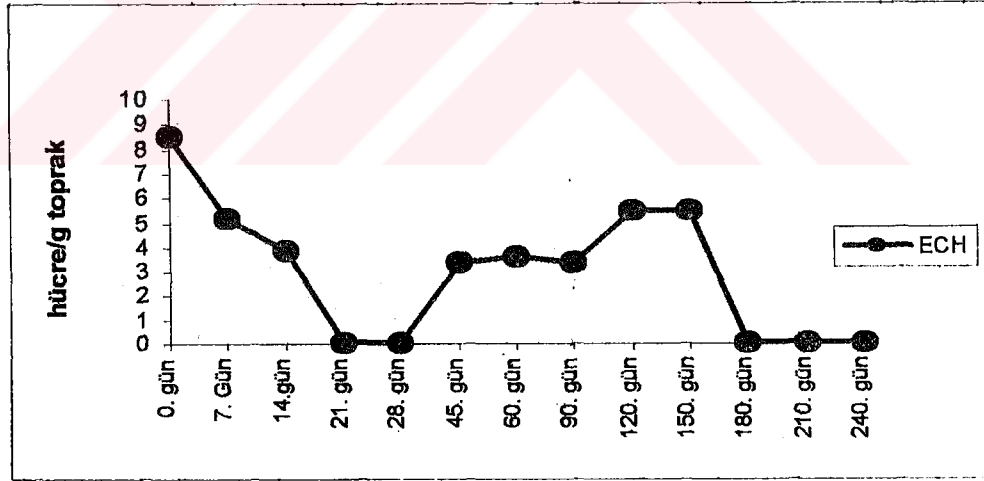
4.5.3. *Erwinia chrysanthemi*'nin Toprakdaki Yaşam Süresinin Saptanması

AB-İD 3a Rif izolatu ile Temmuz 1999 tarihinde bulaştırılmış topraktan 3, 7, 14, 21 ve 30 gün sonra yapılan izolasyonlarda patojen saptanamamıştır (Şekil 4.16.). Yaz ayları boyunca domatesin olmadığı dönemde patojenin toprakta yaşamını sürdürmediği kanısına varılmıştır. Benzer şekilde Burr ve Schroth (1977) ile Benlioğlu (1991) yumuşak çürüklük *Erwinia* türlerinin konukçu bitki olmadığı toprakta uzun süre yaşamını devam ettiremediğini bildirmektedir. Bakterilerin topraktaki yaşamında değişik sıcaklıklar ve toprak yapısı etkili olmaktadır (Saygılı ve ark., 1985). Araştırmamızı kurduğumuz aynı deneme alanı içerisinde önceki yıllarda *P. syringae* pv. *tomato* ile yapılan bir çalışmada etmenin pH'sı 7.57 olan killi yapıdaki toprakta yaşamını devam ettiremediği bildirilmiştir (Aysan ve Çınar, 1998).



Şekil 4.16. *E. chrysanthemi*'nin yaz aylarında topraktaki popülasyonu

Eylül 1999 tarihinde 2.6×10^8 hücre/g toprak yoğunluğundaki patojen ile inokule edilen topraktan 7 gün sonra yapılan izolasyonda bakteri yoğunluğu 1.4×10^5 olarak saptanırken 14 gün sonra bakteri popülasyonu 7×10^3 'e düşmüştür 21 ve 28 gün sonra ise patojen topraktan geri izole edilememiştir. 45. gün 2×10^3 , 60. gün 3.5×10^3 , 90. gün 2×10^3 , 120. gün 3×10^5 , 150. gün ise 2.8×10^5 hücre/ml yoğunlukta bakteri topraktan izole edilmiştir. Daha sonraki 4 ay boyunca yapılan izolasyonlarda *E. chrysanthemi*'nin varlığı saptanamamıştır (Şekil 4.17.).



Şekil 4.17. *E. chrysanthemi*'nin kış aylarında topraktaki popülasyonu

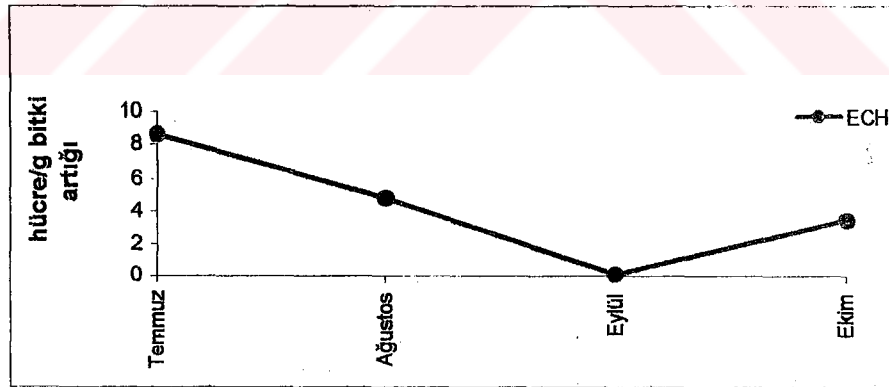
Toprağın *E. chrysanthemi* ile inokule edilmesinden 21 ve 28 gün sonra yapılan izolasyonlarda patojenin izole edilememesi bu dönemde patojenin petri teknikleri ile izole edilecek yoğunluğun altında kaldığı düşüncesini akla getirmektedir (Aysan ve ark. 1997). Jones ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada kullanılan petri teknikleri ile düşük

konsantrasyonlardaki bakterilerin izole edilemeyeceğini bildirmişlerdir (Jones ve ark. 1981)

Sonuç olarak *E. chrysanthemi*'nin Doğu Akdeniz Bölgesinde pH'sı 7.57 olan killi yapıdaki toprakta domatesin bulunduğu kış aylarında yaklaşık 6 ay yaşamını devam ettirdiği saptanmıştır. Perombelon ve Kelman (1980) yumuşak çürüklük *Erwinia*'larının topraktaki yaşamının toprak sıcaklığı ile direkt bağlantılı olduğunu bildirmektedir. Toprak içerisindeki yoğun *E. chrysanthemi* popülasyonunun metrelerce uzaktaki alanlara su ile yayıldığını belirtmişlerdir.

4.5.4. *E. chrysanthemi*'nin Topraktaki Bitki Artıklarında Yaşam Süresinin Saptanması

E. chrysanthemi ile bulaşık bitki artıklarından Temmuz 1999 tarihinde yapılan izolasyonda patojen popülasyonu 3.2×10^8 olarak belirlenmiştir. Bir ay sonra yapılan izolasyonda bakteri yoğunluğu 4.8×10^4 hücre/g bitki artığına düşmüş, Eylül ayında ise patojen izole edilememiştir. Üç ay sonra yapılan izolasyonda ise bakteri popülasyonunun tekrar 2.0×10^3 hücre/g bitki artığı yoğunluğa yükseldiği saptanmıştır (Şekil 4.18.).

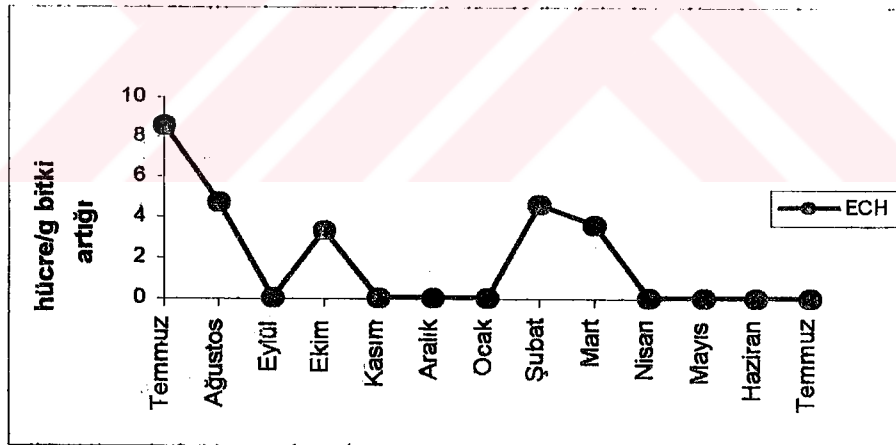


Şekil 4.18. *E. chrysanthemi*'nin topraktaki bitki artıklarında yaz dönemindeki popülasyonu

Doğu Akdeniz Bölgesi iklim koşullarında *E. chrysanthemi* Eylül ayında yapılan izolasyonlarda bitki artıklarından elde edilememiş ancak Ekim ayında yapılan

izolasyonlarda saptanmıştır. Patojenin Ekim ayında yapılan izolasyonlarda saptanması bizi etmenin yaz döneminde bitki artıklarında yaşamını sürdürdüğü fakat kullandığımız tekniklerle düşük inokulum yoğunluğundaki patojeni izole edemediğimiz sonucuna götürmektedir (Aysan ve ark., 1997).

Patojenin kış ayları boyunca bitki artıklarındaki yaşam süresinin izlendiği çalışmada 3.2×10^8 *E. chrysanthemi* hücresi ile inokule edilerek toprağa gömülen bitki artıklarından bir ay sonra yapılan izolasyonlarda bakteri popülasyonu 4.8×10^4 hücre/gram bitki artığı seviyesine düşmüş, iki ay sonra ise patojen izole edilememiştir (Şekil 4.19.). Üç ay sonra yapılan izolasyonlarda etmenin popülasyonu 2.0×10^3 hücre/gram bitki artığı değerine yükselmiş 4, 5 ve 6. aylarda ise patojen inokuleli bitki artıklarından izole edilememiştir. 7. ay yapılan izolasyonlarda patojen yoğunluğu 3.6×10^6 hücre/g bitki artığı olarak saptanmış 8. ayda ise popülasyon yoğunluğu 3.6×10^3 hücre/g bitki artığına düşmüştür. 9, 10, 11 ve 12. aylarda yapılan izolasyonlarda ise patojen belirlenememiştir.



Şekil 4.19 *E. chrysanthemi*'nin topraktaki bitki artıklarında kış dönemindeki popülasyonu

Doğu Akdeniz Bölgesi iklim koşullarında bulaşık bitki artıklarında *E. chrysanthemi* popülasyonunun gösterdiği dalgalanmalar Eylül, Kasım, Aralık ve Ocak aylarında izole edilebilecek yoğunluğun altında kalmış olabileceği varsayımını çağrıştırmaktadır. Sekizinci aya kadar yapılan izolasyonlarda patojenin bazı aylarda

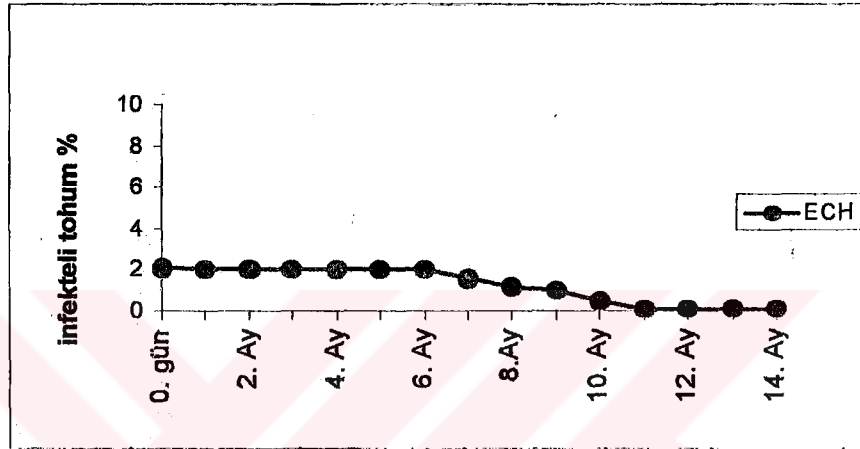
saptanamayıp daha sonrasında belirlenmesi bizi etmenlerin kış döneminde bitki artıklarında yaşamlarını devam ettirdikleri fakat kullandığımız tekniklerle düşük yoğunluktaki patojenleri izole edemediğimiz sonucuna götürmektedir. Sekizinci aydan sonra yapılan izolasyonlarda patojenin izole edilememesi patojenin bulaşık bitki artıklarında kış döneminde yaklaşık 8 ay boyunca canlılığını koruyabildiğini göstermektedir. Burr ve Schroth (1977) yumuşak çürüklük *Erwinia* grubunun üyesi olan *E. c. subsp caratovora* ve *E. c. subsp atroseptica*'nın bitki kökleri ile birlikte toprakta yaşamlarını devam ettirdiğini bildirmektedir. Perombelon ve Kelman (1980) yumuşak çürüklük *Erwinia*'larının hasattan hemen sonra toprakta kalan bitki artıklarında ve patates yumruları üzerinde kışı geçirdiklerini ve şiddetli kış soğuklarında ölmeden bir sonraki mevsime kadar canlılıklarını devam ettirdiklerini bildirmişlerdir. Perombelon (1992) tarlada çürümüş patates yumrularının *E. chrysanthemi* için en önemli infeksiyon kaynağı olduğunu ve özellikle toprak neminin yağış, aşırı sulama ve toprağın zayıf drenajı gibi nedenlerle uzun süre devam etmesi durumunda yumru çürümesine ortam hazırlandığını saptamıştır.

Sonuç olarak bölgemiz koşullarında *E. chrysanthemi* iki domates üretim sezonu arasında seraların boş kaldığı yaz döneminde ve ayrıca üretimin devam ettiği kış döneminde bulaşık bitki artıklarında yaşamını devam ettirerek hastalık için potansiyel bir inokulum kaynağı oluşturmaktadır.

4.5.5. *E. chrysanthemi*'nin Tohumlardaki Patojenitesi Ve Yaşam Süresinin Saptanması

E. chrysanthemi'nin 10^8 hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan süspansiyon ile bulaştırılan tohumlardan inokulasyon sonrasında tesadüfen seçilen 100 adet tohumun hepsinin patojen ile bulaşık olduğu saptanmıştır. 220. güne kadar her ay yapılan izolasyonlarda tohumların %93–100 arasında değişen değerlerde patojen ile bulaşık olduğu saptanmıştır. 220. günden sonra patojen popülasyonunda periyodik bir düşüş gözlenmiştir. 370. gün yapılan izolasyonlarda ise etmen belirlenememiştir (Şekil 4.20.). Benzer şekilde Mc Intre ve ark. (1978) depolanmış tütün tohumlarından *E. c. subsp*

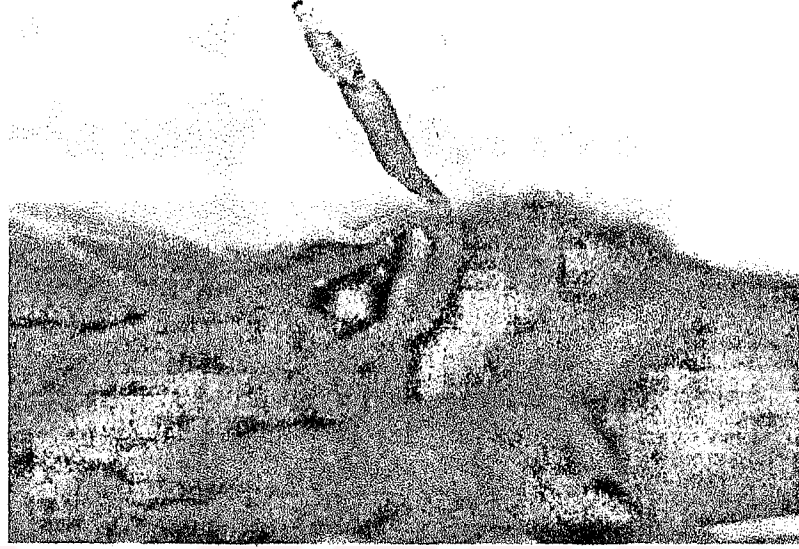
caratovora'yı 8 ay boyunca geri izole etmişlerdir Doğu Akdeniz bölgesinde domates üretimi Ağustos ayının 15'inden sonra başlayıp Mayıs ayına kadar sürmektedir. Bu süre içerisinde iki ürün domates yetiştirilmektedir. Seraların sadece Temmuz ve Ağustos aylarında boş kaldığı dikkate alındığında etmenin tohumlardan 11 ay boyunca geri izole edilebilmesi bulaşık tohumların inokulum kaynağı olarak kabul edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.



Şekil 4.20. *E. chrysanthemi*'nin bulaşık tohumdaki yaşam süresinin saptanması

Tohumların patojen ile bulaşma oranını belirlemek amacıyla 100 mg/l rifampisin içeren King B besi yerine yapılan ekimden 24 saat sonra bütün tohumların etrafında bakteri kolonilerinin geliştiği gözlenmiştir. Plastik kaplar içerisine ekilen tohumlarda ise 2-3 gün sonra tohum çıkışının başladığı gözlenmiş tohum ekiminden 9-11 gün sonra gelişen kotiledonlarda ise koyu kahverengi-siyah renkli yuvarlak lekeler saptanmıştır (Şekil 4.21.). Lekelerden 100mg/l rifampisin içeren King B besi yerine yapılan izolasyonlarda patojenin geliştiği gözlenmiştir. Elde edilen izolatin gram negatif olduğu, oksidaz negatif sonuç verdiği ve patatestte yumuşak çürüklük oluşturduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak bulaşık tohumlardan gelişen fidelerde hastalığın saptanması patojenin tohum kökenli olabileceğini göstermektedir



Şekil 4.21. *E. chrysanthemi* ile bulaşık tohumdan gelişen fidelerin kotiledon yapraklarında oluşan lekeler

4.6. Tohum Kökenli İnokulumu Baskı Altına Almada Tohum Uygulamalarının Etkisi

Domates tohumlarından *E. chrysanthemi*'yi elimine edebilmek amacıyla yapılan tohum uygulamaları % 100 ile % 48 arasında değişen değerlerde etkili olmuştur. 50 ppm streptomisin'e 15 ve 30 dakika, 100 ppm streptomisin'e 10, 15 ve 30 dakika, 0.6 M HCl'e 30 ve 60 dakika, % 1 NaOCl'ye 4 ve 5 dakika, % 0.5 ve % 1'lik 8-hydroxyquinoline 3 dakika, % 0.2'lik bakır asetat'a 3 dakika, 50 ve 55°C sıcak suya 20 ve 30 dakika daldırma ve bronopol ile muamele uygulamalarından % 100 başarı elde edilmiştir. %1 NaOCl'ye 3 dakika daldırma %98, 100 ppm streptomisin'e 5 dakika daldırma %88, 50 ppm streptomisin'e 10 dakika daldırma %80, 50 ppm streptomisin'e 5 dakika daldırma ise %48 oranında tohumlardan patojeni elimine etmiştir (Çizelge 4.4.).

Petri de yapılan çimlenme testinde tohumlar %96 ile %0 arasında değişen değerlerde çimlenmişlerdir. 50 ve 100 ppm dozlarındaki streptomisin'e 5 dakika daldırılan tohumlar %96 oranında çimlenirken, 0.6M HCl'ye 30 dakika ve % 1 NaOCl'ye 3 dakika daldırma uygulamaları sonucunda bu oran % 92 olmuştur. %0.2'lik

bakır asetat'a 3 dakika 50°C'deki sıcak suya 20 dakika ve 100 ppm streptomisin'e 15 dakika daldırma uygulamalarında petride ki tohumların %88'i çimlenmiştir. 50 ppm streptomisin'e 15 dakika, 100 ppm streptomisin'e 10 ve 30 dakika, % 1'lik NaOCl' ye 4 dakika daldırma sonucunda tohumlar %84 oranında çimlenmişlerdir. 50 ppm streptomisin'e 10 dakika ve 0.6M HCl'ye 60 dakika daldırma uygulamaları sonucunda tohumların%80'ninde çimlenme gözlenmiştir. 50 ppm streptomisin'e 30 dakika, 55°C'deki sıcak suya 20 ve 30 dakika daldırma ve bronopol ile muamelede tohumların % 76'sı çimlenmiştir. % 1'lik NaOCl'ye 5 dakika ve 50 °C sıcak suya 30 dakika daldırma uygulamalarında tohumların %72'sinde çimlenme gözlenmiştir. % 0.5 ve % 1.0 8-hydroxyguinoline 3 dakika daldırmada petrideki tohumların hiçbirinde çimlenme gözlenmemiştir (Çizelge 4.4.).

Uygulamaların etkinliği ve çimlenme %'leri dikkate alındığında ve *E. chrysanthemi* nin neden olduğu domates yumuşak çürüklüğüne karşı 0.6M HCl'ye 30 dakika ve % 1'lik NaOCl'ye 3 dakika daldırma uygulamalarının etkili olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.4. Çeşitli tohum uygulamalarının *E. chrysanthemi* ve tohum çimlenmesi üzerine etkisi

Tohum Uygulamaları	Süre (Dakika)	<i>E. chrysanthemi</i> 'ye Etki % 'si	Çimlenme % 'si
Kontrol		0 a	100 a
Streptomisin (50 ppm)	15	100 b	84 e
Streptomisin (50 ppm)	30	100 b	76 g
Streptomisin (100 ppm)	10	100 b	84 e
Streptomisin (100 ppm)	15	100 b	88 d
Streptomisin (100 ppm)	30	100 b	84 e
Bronopol		100 b	76 g
0.6 M HCl	30	100 b	92 c
0.6 M HCl	60	100 b	80 f
NaOCl (%1)	4	100 b	84 e
NaOCl (%1)	5	100 b	72 h
8-hydroxyquinoline (%0.5)	3	100 b	0,0 i
8-hydroxyquinoline (%1.0)	3	100 b	0,0 i
%0.2 Bakır asetat	3	100 b	88 d
50 ^o C Sıcak su	20	100 b	88 d
50 ^o C Sıcak su	30	100 b	72 h
55 ^o C Sıcak su	20	100 b	76 g
55 ^o C Sıcak su	30	100 b	76 g
NaOCl (%1)	3	98 c	92 c
Streptomisin (100 ppm)	5	88 d	96 b
Streptomisin (50 ppm)	10	80 e	80 f
Streptomisin (50 ppm)	5	48 f	96 b

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

“Doğu Akdeniz Bölgesi Plastik Domates Seralarında Gövde Nekrozuna Neden Olan *Erwinia chrysanthemi*'nin Tanısı, Bivarlarının Belirlenmesi ve Epidemiyolojisi Üzerine Araştırmalar” isimli bu yüksek lisans çalışmasında elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Mersin ili Erdemli, Kocahasanlı ve Limonlu ilçelerinde örtü altında yetiştirilen, gövde nekrozu semptomu gösteren domates bitkilerinden yapılan izolasyonlarda 24 adet yumuşak çürüklük *Erwinia* türü izole edilmiştir. Bu izolatların 17 tanesi *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* ve 7 tanesi *Erwinia chrysanthemi* olarak tanımlanmıştır. Doğu Akdeniz Bölgesinde saptanan *E. chrysanthemi* izolatlarının çeşitli karbon kaynaklarını kullanma, arginin dehidrolaz reaksiyonu ve farklı sıcaklıklarda gelişme yeteneklerine göre biovar 6 olduğu yapılan çalışma sonucunda saptanmıştır.

Bu yüksek lisans tezinde domatesteki solgunluk ve gövde çürüklüğüne neden olan *E. chrysanthemi*'nin epidemiyolojisi üzerine araştırmalar yapılarak tohum, toprak ve bulaşık bitki artıklarındaki yaşamı araştırılmıştır. Doğu Akdeniz Bölgesinde yaz aylarında patojenin toprakta yaşamını devam ettiremediği ancak bu dönemde bulaşık bitki artıklarında bir sonraki mevsime kadar varlığını sürdürdüğü saptanmıştır. Turfanda domates üretim mevsimi olan kış ayları boyunca patojen topraktan ve bitki artıklarından izole edilmiştir. Ayrıca bulaşık tohumlarda etmen yaklaşık 11 ay canlılığını korumuştur. Bulaşık tohumlardan gelişen fidelerin kotiledon yapraklarında hastalık semptomlarının belirlenmesi etmenin tohumla taşınabileceğini göstermektedir. Bu bilgiler doğrultusunda hastalığın ortaya çıkışında tohumların ve bitki artıklarının primer rol oynadığı saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar hastalığın mücadelesinde bizlere önemli ipuçları vermektedir.

Domates tohumlarından *E. chrysanthemi*'yi elemine edebilmek amacıyla çeşitli tohum uygulamalarının etkinlikleri test edilmiştir. Uygulamaların etkinliği ve çimlenme %'leri dikkate alındığında *E. chrysanthemi*'nin neden olduğu gövde nekrozu hastalığına karşı 0.6 M HCl'ya 30 dakika ve %1'lik NaOCl'ya 30 dakika daldırma uygulamalarının başarılı olduğu saptanmıştır.

KAYNAKLAR

- ABDALLA, M. Y., 2001. Sudden Decline of Date Palm Trees Caused by *Erwinia chrysanthemi*. Plant Diseases 85:24-26.
- ALIPPI, A. M., DAL BAO, E., RONCO, R. B., and CASANOVA, P. E., 1997. Tomato as a New Host of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* In Argentina. Plant Diseases 81(2); 230.
- ALIVIZATOS, A. S., 1985. Bacterial Wilt of Tomato In Greece Caused by *Erwinia chrysanthemi* Plant Pathology 34: 638-639.
- ARSENJEVIC, M., 1978. Erwinia Soft Rot Bacteria Originating from Pepper and Tomato Fruits. Proc. Int. Conf. Plant Path. Bact., Angers (France) 531-537.
- AYERS, S. H., RUPP, P., and JOHNSON, W. T., 1919. A Study of The Alkali-Forming Bacteria In Milk. U.S. Dept. Agric. Bull., 782.
- AYSAN, Y., ÇINAR, Ö., and RUDOPPL, K., 1997. Effect of Soil Solarization on the Survival of Bacterial Speck on The Tomato Plant Debris in Soil. Second International Conference on Soil Solarization and Integrated Management of Soilborne Pests. 16-21 March 1997, Aleppo, Syria.
- AYSAN, Y., ve ÇINAR, Ö., 1998. Domates Bakteriyel Leke Hastalığı Etmeni *Pseudomonas syringae* pv *tomato*'nun Tohum, Toprak ve Bitki Kalıntısındaki Yaşamı ve Primer İnfeksiyonlardaki Rolü. Türkiye VIII. Fitopatoloji kongresi Bildirileri. 21-25 Eylül 1999, Ankara.384-389.
- AYSAN, Y., 2001. Bacterial Stem Necrosis of Tomato in the Greenhouse in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. 11th Congress of the Mediterranean Phytopathology Union and 3rd Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologica, Evora- Portugal 301-303.
- AYSAN, Y., ve ÇINAR, Ö., 2001. Doğu Akdeniz Bölgesi Domates Seralarında Bakteriyel Gövde Hastalığının Yaygınlığı ve Bu Seralarda Yapılan Gözlemler. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi, Tekirdağ 51-56.

- AYSAN, Y., ÜLKE, G., ve ÇINAR, Ö., 2002. Domates Tohumlarında *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya Karşı Tohum Uygulamaları. Türkiye 1. Tohumculuk Kongresi. 11-13 Eylül 2002, Bornova, İzmir
- BALESTRA, G. M., and IMPIGLIA, A., 1996. Occurrence of *Erwinia chrysanthemi* on *Dieffenbachia maculata* in Syria. *Phytopathology Medit.*, 1996 (35) 127-128.
- BARZIC, M. R., SAMSON R., and TRIGALET, A., 1976. Pourriture bacterienne de la Tomate Cultivee en Serre, *Annales de Phytopathologie*, 8: 237-240.
- BASIM H., ve ÖZTÜRK, Ş. B., 2000. Antalya ve Çevresindeki Sera Domateslerinde Görülen Bakteriyel Hastalıklar ve Çözüm Önerileri. III. Tarım Sempozyumu, 11-13 Eylül Isparta 2000, 199-202 .
- BENLİOĞLU, K., 1991. Bolu, Nevşehir ve Niğde İllerinde Patates Üretim Alanlarında *Erwinia* spp.'nin Yaygınlık Oranları, Tanınması ve İnokulum Kaynakları Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi Bornova İzmir.
- BRADBURY, J. F., 1984. Guide to Plant Pathogenic Bacteria. CAB. International Mycological Institute, Kew, 72-76.
- BURKHOLDER, W.H., MCFADDEN, L. A., and DIMOCK, A. W., (1953). A Bacterial Blight of Chrysanthemums. *Phytopathology* Vol.:43. 522-526
- BURR, T. J., and SCHROTH, M. N., (1977). Occurrence of Soft Rot *Erwinia* spp. in Soil and Plant Material. *Phytopathology* 67: 1382-1387.
- CARROLL, N. B., EDHANDI, E., and SHOEMAKER, P. B., (1992). Pith Necrosis of Tomato in Western North Carolina: Etiology and Influence of Cultural Practices on it is Incidence and Severity. North Carolina Agricultural Research Service. Technical Bulletin 300: 1-24.
- CAZORLA, F. M., PEREZ-GARCIA, A., RIVERA, M. E., CODINA, J. C., TORES, J. A., and VICENTE, A., 2000 Bacterial Diseases of Tomato In Southern Spain: Application of a Detected Tissue Assay to Evaluate Bacterial Pathogenicity. *EPPO Bulletin* 30: 351-356.
- CHELLEMI, D. O., DANKERS, H. A., HILL, K., CULLEN, R. E., SIMONE, G. W., GOOCH, M. D., ALLINGHAM, J. E., 1998. Occurrence of Bacterial Stem Rot

- Caused by *Erwinia chrysanthemi* on Field Grown Tomato In Florida. Plant Diseases 82 (7) 831.
- COTHER, E. J., and SIVASITHAMPARAM, K., 1983. *Erwinia*: the 'caratovora' group 87-106. In: Plant Bacterial Diseases a Diagnostic Guide (P. C. Fahy and G. J. Persley, Edts.) Academic Press. 393 Pp.
- ÇINAR, Ö. 1977. Akdeniz Bölgesi Domateslerinde Bakteriyel Bir Hastalık. Bitki 4(2): 282-288.
- _____, 1980 Bakteriyel Domates Solgunluğu Hastalığı Etmeni (*Corynebacterium michiganense* (E.F.S))'nin Tanımı Savaş Yöntemleri ve Etmene Karşı Dayanıklı Domates Çeşitleri Üzerine Araştırmalar. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 139. Bilimsel Araştırma ve İnceleme Tezleri: No 31-36s.
- _____, ve AYSAN, Y., 1995. Doğu Akdeniz Bölgesi Domates Seralarında Yumuşak Çürüklük Etmeni *Erwinia* Türlerinin Tespiti. Türkiye VII. Fitopatoloji Kongresi. 26-29 Eylül, Adana, 426-428.
- DE BOER, S. H., and KELMAN, A., 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria (N. W. Schaad, J. B. Jones and W. Chun, Edts.) 56-72
- DİE: DEVLET İSTATİSTİK ENSTİTÜSÜ, 1999. Tarımsal Yapılar ve Ürcümlü, DİE. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Matbaası, ANKARA
- DHANTVANTARI, B. N., and DRIKS, V. A., 1987. Bacterial Stem Rot of Greenhouse Tomato: Etiology, Spatial Distrubution and the Effect of High Humdity. Phytopathology 77: 1457-1483
- DICKEY, R. S., (1979). *Erwinia chrysanthemi*: a Comparative Study Phenotypic Properties of Strains from Several Hosts and Other *Erwinia* Species. Phytopathology 69: 324-329.
- _____, and VICTORIA, J. I. 1980. Taxonomy and Amended Description of Strains of *Erwinia* Isolated from *Musa paradisiaca* Linnaeus. Int. J. Sys. Bacterio. 30, 129-130.

- _____, 1981. *Erwinia chrysanthemi*: Reaction of Eight Plant Species to Strains from Several Hosts and to Strains of Other *Erwinia* Species. *Phytopathology* 64: 324-329.
- DUVEILLER, E., FUCIKOVSKY, L., and RUDOLPH, K., 1997. The Bacterial Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Diseases Management Mexico, D.A. CIMMYT.
- FAHY, P. C., and PERSLEY G. J., 1983. *Plant Bacterial Diseases a Diagnostic Guide*. Academic Press. London, 110-11.
- FARRAR, J. J., NUNEZ, J. J., DAVIS, R. M., 2000. Influence of Soil Saturation and Temperature on *Erwinia chrysanthemi* Soft Rot of Carrot. *Plant Diseases* 84: 665-668.
- GITAITIS, R., SUMNER, D., GAY, D., SMITTLE, D., McDONALD, G., MAW, B., JOHNSON III, W. C., TOLLNER, B., and HUNG, Y., 1997. Bacterial Streak and Bulb Rot of Onion: I. A Diagnostic Medium for the Semiselective Isolation and Enumeration of *Pseudomonas viridiflava*. *Plant Diseases* 81: 897-900.
- GOTO, M., 1979. Bacterial Foot Rot of Rice Caused by a Strain of *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology* 69. 213-216.
- HANKIN, L., and SANDS, D. C., 1977. Microwave Treatment of Tobacco Seed to Eliminate Bacteria on The Seed Surface. *Phytopathology* 67: 794-795.
- HILDEBRAND , D.C., SCHROTH, M.N., and THOMSON, S.V., 1978. Nutritional Properties Usefull for Identification of Soft Rot *Erwinia* Species. Proc.4th Int. Conf. Plant Pathogenic Bacteria, Angers, 561-562.
- HSU, S., and TZENG, K., 1981. Species of *Erwinia* Associated With Soft Rot Diseases of Plants In Taiwan. Proceeding Of The Fifth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Agust 16-23, Cali, Colombia 9-18.
- JANSE, J. D., and RUISSSEN, M. A., 1988. Characterization and Classification of *Erwinia chrysanthemi* Strains from Several Host in the Netherlands. *Phytopathology* 78: 800-808.

- _____, and SCHEEPENS, T., 1989. Further Biochemical and Serological Classification of *Erwinia chrysanthemi* Strains. Proc. 7th. Int. Conf. Plant Path. Bact. Budapest, Hungary, 1989 779-787.
- JONES, J. B., MCCARTER, S. M., and SMITLEY, D. R., 1981. A Vacuum Infiltration Tecniqe for Detecting *Pseudomonas tomato* in Soil and Plant Tissue. Phytopathology 71: 1187-1190.
- KARACA, İ., ve SAYGILI, H., 1982. Batı Anadolunun Bazı İllerinde Domates ve Biberde Görülen Bakteriyel Hastalıkların Oranı, Etmenleri ve Konukçu Çeşitlerinin Duyarlılığı Üzerine Araştırmalar. III. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 12-15 Ekim, Adana, 182-192.
- KELMAN, A., DICKEY, R. S., 1989. Detection of Bacteria in Seed and Other Planting Material (A. W. Saettler, N.W. Schaad and D.A. Roth, Edts.). The American Phytopathological Society. Minnesota, USA. 76-92
- KING, E. O., WARD, M. K., and RONEY, D.E., 1954. Two Simple Media for the Diagnosis of Bacterial Demostration of Pyocianin and Fluoresin. J. Lab. Clin. Med., 44: 301-337.
- KLEMENT, Z., and GOODMAN, 1967. The Hypersensitive Reaction to Infection by Bacterial Plant Pathogens. Annual Review of Phytopathology 5: 17-44.
- KOVACS, N., 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the Oxidas Reaction, Nature. 70: 703.
- KRITZMAN, G., 1993. A Chemi-thermal Treatment for Control of Seedborne Bacterial Pathogens of Tomato. Phytoparasitica 21(2): 101-109.
- LELLIOT, R. A., and STEAD, D. E., 1987. Media and Methods. In: Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. Oxford London Edinburg. 216
- _____, and DICKEY, R. S. 1984. Genus VII: *Erwinia*. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (N. R Krieg edt.) Williams and Wilkins, Baltimore, 471.
- LE GUERN, I., TIRILLY, Y., and LE PICARD, D., 1992. Bacterial Rot of Wilt Loof Chicory Roots Caused by *Erwinia chrysanthemi* Plant Pathology (1992) 41, 228-231.

- MARIANO, R. L., and MC CARTER, S.M., 1992. *Pseudomonas syringae* pv *tomato*, *Pseudomonas syringae* pv *syringae*, *Pseudomonas viridiflava* Survival of on Seeds and Epiphytic Growth on Tomato, Seedlings from Contaminated Seeds. *Summa Phytopathologica*, 18: 242-254.
- MALATHRAKIS, N. E., and GOUMAS, D. E., 1987. Bacterial Soft Rot of Tomato in Plastic Greenhouses in Crete. *Ann. Appl. Biol.* 111: 115-123.
- Mc INTYRE, J. L., SANDS, D. C., and TAYLOR, G. S., 1978. Overwintering, Seed Disinfestation and Pathogenicity Studies of the Tobacco Hollow Stalk pathogen, *Erwinia caratovora* subsp. *carotovora*. *Phytopathology* 68: 435-440.
- MISAGHI, I., and GROGAN, R.G., 1969. Nutritional and Biochemical Comparison of Plant Pathogenic and Saprophytic Fluorescent Pseudomonads. *Phytopathology*, 59: 1436-1450.
- NGWIRA, R., and SAMSON, R., 1990. *Erwinia chrysanthemi*: Description of Two New Biovars (bv 8 and 9) Isolated from Kalanchoe and Maize host Plants. *Agronomie* 10: 341-345
- PEROMBELON, M. C. M., and KELMAN. A., (1980). Ecology of the Soft Rot Erwinias. *Ann. Rev. Phytopathology* 1980 18: 361-387.
- _____, M. C., BURNETT, E. M., MELVIN, J. S., and BLACK, S., 1989. Preliminary Studies on The Control of Potato Blackleg by A Hot Water Treatments of Seed Tubers (E. C. Tjamos and C. H. Beckman edts.). *Vascular Wilt Diseases of Plants. NATO ASI:Series, Vol. II* 28 557-572.
- _____, and HYMAN, L. J., 1989. Survival of Soft Rot Coliforms, *Erwinia carotovora* subsp *carotovora* and *Erwinia carotovora* subsp *atroseptica* in Soil in Scotland. *Journal Of applied Bacteriology* 66. 95-106.
- _____, 1992. Blackleg Development and Control in the Mediterranean Region. *Proceeding of the Symposium on "Advanced Patato Production in Hot Climates"* 1992 Nahal-Oz-Israel. 46-54.

- _____, and SOLMOND, G. P. S., 1995. Bacterial Soft Rot. In: Pathogenesis and Host Specificity and Molecular Bases. Vol. I, Prokaryotes (U. S. Singh, R. P. Singh, and K. Komoto eds) Oxford UK. Pergamon Press, Pp 321.
- RIIODES, M. E., 1959. The Characterization of *Pseudomonas fluorescens*. J. Microbiology, 21. 221-263.
- SAMSON, R., and NASSAN-AGHA, N., 1978. Biovars and Serovars Among 129 Strains of *Erwinia chrysanthemi* Proc. 4th Int. Conf. Plant.Path. Bact. Angers, 1978.
- _____, POUTIER, F., SAILLY, M., and JOUAN, B., 1987. Characterization of *Erwinia chrysanthemi* Strains from Potato and other Hosts Using Biovars and Serogroups. Bulletin OEP/EPPO Bulletin 17: 11-16.
- _____, NGWIRA, N., and RIVERA, N., 1989. Biochemical and Serological Diversity of *Erwinia chrysanthemi*. Proc. 7th. Int. Conf. Plant Path. Bact. Budapest, Hungary 1989. 895-900.
- SANDS, D. C. 1990. Physiological Criteria-determinative Tests. In Methods in Phytobacteriology. (Z. Klements, K. Rudolph and D. C. Sands, Edts.).
- SAYGILI, H., KÖSEOĞLU, T., ve DEMİR, G., 1985. Batı Anadolu Bölgesi Domates Ekim Alanlarında Hastalık Etmeni Olan Bakterilerin Toprakta Yaşam Durumları ve Kullanılan Suni Gübrelerin Bu Etmenlere Etkileri Üzerine Araştırmalar. Doğa Bilim Dergisi, D2 9(3): 367-383.
- SPEIGHTS, D. E., HALLIWELL, R. S., HORNE, C. W., and HUGES, A. B., 1967. A Bacterial Stem Rot of Greenhouse Grown Tomato Plants. Phytopathology 57: 902-904.
- STAPP, C., 1958. Pflanzeuropathogene Bakterien, Verlag Paul Parey Berlin und Hamburg, 55-56
- STEFANOVA, M., OVIES, J., and RODRIQUES, I., 1984. Detection and Serological Study of *Erwinia chrysanthemi* on Tomato (Cuba). Review of Plant Pathology 77: 1457-1483.

- TANII, A., and BABA, T., 1971. Bacterial Plant Diseases in Hokkaido. II. Bacterial Stem Rot Potato Plant Caused by *Erwinia chrysanthemi* Burkholder et.al. (*Pectobacterium carotovorum* var *chrysanthemi*). Hokkaido Perfect Agric. Exp. Stn. Bull. 24: 1-10
- THOMSON, S. V., MILDEBRAND, D.C., and SCHROTH, M. N., 1981. Identification and Nutritional Differentiation of the *Erwinia* Sugar Beet Pathogen from Member of *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. Phytopathology 71, 1037-1042.
- TOKGÖNÜL, S., 1995. Akdeniz Bölgesi Örtü Altında Yetiştirilen Domateslerde Sorun Olan Bakteriyel Hastalıklar. Türkiye VII. Fitopatoloji Kongresi. 26-29 Eylül Adana 402-406.
- TOKGÖNÜL, S. ve ÇINAR, Ö., 1998. Domateste Tohum Uygulamalarının Bakteriyel Solgunluk Hastalığına (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.) Etkileri Üzerinde Çalışmalar. VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi. 452-453. 21-25 Eylül, İzmir, Türkiye.
- ÜSTÜN, N., ve SAYGILI, H., 2001. Pith Necrosis on Greenhouse Tomatoes in Aegean Region of Turkey. 11th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union and 3rd Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologica, Evora- Portugal 70-73.
- VICTORIA, J. I., and GRANADA G. A., 1981. Soft Rot of Tomatoes Induced by *Erwinia chrysanthemi* in Colombia. Proc. 5th Int. Conf. Plant. Pathology Bact. Cali., 22-26.
- WICK, L. R., and SHIER, R., 1990. Tomato Pith Necrosis Caused by *Erwinia chrysanthemi*. Plant Diseases. 74: 615.
- YOUNG, J. M. DYE, D. W., BRADBURY, J. F., PANAGOPOULOS, C. G., and ROBBS C. F. 1978. A Proposed Nomenclature and Classification for Plant Pathogenic Bacteria. N.Z.J. Agric Res 21, 153-177.

YUNGCHUN, C., MINMEI, L., and WENINN, L., 2000. The Causal Organism and Preliminary Control Test of Bacterial Soft Rot of *Oncidium*. Review of Plant Pathology:79 (5) 510.



ÖZGEÇMİŞ

1977 Adana doğumluyum. İlk orta ve lise öğretimimi Adana'da tamamladım. 1994 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde lisans öğrenimime başladım ve 1998 yılında mezun oldum. Aynı yıl Ç. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsünde yüksek lisans çalışmama başladım. 2001 yılından beri Bitki Koruma bölümünde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk annesiyim.

