

SAMSUN İLİ BAFRA İLÇESİ'NDE BEYAZ BAŞ LAHANA ALANLARINDA SİYAH DAMAR ÇÜRÜKLÜK ETMENİ *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV. *CAMPESTRIS* [(PAMMEL 1895) DOWSON 1939]'NİN BELİRLENMESİ

Hasan Murat AKSOY

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun

Sorumlu yazar: hmaksoy@omu.edu.tr

Geliş Tarihi: 20.06.2007

Kabul Tarihi: 16.11.2007

ÖZET: Bafra Ovası'nda 2003-2004 yılları arasında beyaz baş lahanaya yetiştirilen alanlarda siyah damar çürüklük etmeni olan *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in belirlenmesine yönelik bir survey çalışması yapılmıştır. Survey sonunda 10 adet izolat, *X. campestris* pv. *campestris* olarak teşhis edilmiştir. İzolatların tanısı için patojenite testi, tütünde aşırı duyarlılık testi ve biyokimyasal testler yapılmıştır. Hastalık şiddeti olarak en yüksek oran % 41.6 ile Kuşçular Köyü'nde tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, Lahana, Survey

OCCURRENCE OF BLACK ROT CAUSED BY *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* PV. *CAMPESTRIS* [(PAMMEL 1895) DOWSON 1939] IN WHITE HEAD CABBAGE (*BRASSICA OLERACEA* VAR. *CAPITATA*) GROWING AREAS IN BAFRA DISTRICTS OF SAMSUN PROVINCE

ABSTRACT: Survey to determine the causal agent of black rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) in white head cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) growing areas in Bafra Plain was conducted during the years of 2003-2004. In the survey, ten isolates were identified as *X. campestris* pv. *campestris*. Pathogenicity, tobacco hypersensitivity and biochemical tests were used for the diagnosis of the identified isolates. The highest disease severity rate (41.6%) was determined at Kuscular Village.

Keywords: *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, Cabbage, Survey

1. GİRİŞ

Lahana siyah damar çürüklük hastalığına *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson isimli bakteri neden olmaktadır. Bu hastalık, özellikle sıcak ve nemli periyotlarda lahanagillerin en tahripkar ve en büyük ürün kaybına neden olan hastalıklarından biridir (Franken et al., 1991; Vicente et al., 2001; Williams, 1980). Ekonomik kayıplara neden olduğu konukçuları arasında; lahanaya, karnabahar, brokoli, brüksel lahanası ve kanola yer alırken, diğer *Brassica* türleri ile haçlıgillere ait yabancı ot ve süs bitkilerinde de hastalık oluşturmaktadır (Bradbury, 1986).

Siyah damar çürüklük hastalığının belirtileri arasında; kotiledon yaprakların kenarlarında siyahlaşma ile birlikte sararma ve kuruma ve belirgindir. Hızlı gelişen bitkilerde enfeksiyon sonucunda yaprak damarları ile yaprak kenarı arasında yaygın sarı renk oluşumu görülür. Daha sonra bitkiler hastalıktan dolayı yeterince su alamadıkları için kloroz ortaya çıkar. Hastalığın tipik belirtisi yaprak kenarı boyunca V şeklinde lezyon oluşumudur. Kurak geçen koşullarda V şekilli lezyon gelişimi kuruyarak daha fazla yaprak yüzeyine yayılmaz. Aksi durumda ise yağmurlu, sıcak ve nemli koşullarda etmen; yaprak damarı, yaprak sapı ve gövdede çoğalıp gelişerek bu bölgeleri tahrip eder. Şiddetli enfeksiyonlarda yaprakların tamamında kuruma ve bunun sonucunda dökülme meydana gelir (Fahy and Persley, 1983; Lelliott and Stead, 1987; Ruissen and Gielink, 1994).

Samsun Tarım İl Müdürlüğü 2005 yılı verilerine göre Samsun ve yöresi, beyaz lahanaya toplam 2.916 hektarlık ekiliş alanına ve 87.628 ton üretim miktarına sahiptir. Bafra ilçesi ise 2500 hektarlık ekiliş alanı ve 75.000 ton üretim miktarı ile toplam ekiliş alanının % 85.73'nü ve üretim miktarının % 85.59'nu oluşturmaktadır.

Bu çalışma, Bafra Ovasında sebze yetiştiriciliği yönünden domates ve biber bitkilerinden sonra üçüncü sırada gelen beyaz baş lahanaya bitkisinde önemli ürün kayıplarına neden olan siyah damar çürüklük etmeni, *X. campestris* pv. *campestris*'in tespiti amacıyla yapılmıştır.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Survey

Bu çalışmanın ilk bölümü, Samsun bölgesindeki lahanaya ekiliş alanlarında siyah damar çürüklük etmeninin belirlenmesi ikinci bölümü ise; elde edilen hastalıklı örneklerden, bakteriyel etmenlerin izolasyonu ve teşhisi için yapılan testlerden oluşmaktadır.

Survey sırasında her tarlada tesadüfi olarak 50 bitkide gözlem yapılarak hastalığın şiddeti belirlenmiştir.

Hastalık şiddetini belirlemek amacıyla 0-3 skalası kullanılmıştır (Vicente et al., 2001);

0:Sağlıklı bitki,

1:Hafif nekroz veya kloroz oluşumu,

2:Enfekteli siyahlaşmış yaprak damarlarında 1 cm²'den daha az lezyon oluşumu ile birlikte tipik V şekilli sararma veya nekrotik lezyon oluşumu,

3:Enfekteli siyahlaşmış yaprak damarlarında 1 cm²'den daha fazla lezyon oluşumu ile birlikte tipik V şekilli sararma veya nekrotik lezyon oluşumu

Bu skalaya Townsend - Heuberger formülü uygulanmıştır:

$$D = \frac{\sum (n \cdot V)}{Z \cdot N}$$

D: Hastalık oranı,

n: Bitki sayısı,

V: Skala değeri,

Z: En yüksek skala değeri,

N: Toplam bitki sayısı.

2.2. İzolasyon

Hastalıklı yapraklar % 0.5'lik sodyum hipokloritte 3 dakika süreyle bekletildikten sonra steril suda yıkanmış, steril bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrılarak % 0.85'lik NaCl'de 30 dakika inkube edilmiştir. Daha sonra elde edilen süspansiyondan öze yardımıyla yeast extract-dextrose calcium carbonate (YDC) agara çizim yapılarak, petriler 26-28 °C'de 24-48 saat süreyle inkube edilmiştir. Gelişim gösteren koloniler için tanılama testleri yapılmış, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in teşhis kriterleriyle uyum gösteren izolatlar seçilmiş, diğer izolatlar ise değerlendirme dışı bırakılmıştır (Randhawa and Schaad, 1984; Schultz and Gabrielson, 1986).

2.3. İzolatların Teşhisi

Yeast extract-dextrose calcium carbonate (YDC) agar üzerinde 26-28 °C'de 24-48 saat süreyle geliştirilen izolatlar, biyokimyasal testler, tütünde aşırı duyarlılık ve patojenite testlerine tabi tutulmuşlardır.

2.3.1. Gram boyama

Bu test için lamların ortasına bir damla steril su damlatıldıktan sonra, besi yerinde gelişen 24 saatlik kolonilerden bir öze ile alınarak, bu su damlası içerisinde karıştırılıp, lamlar üzerine yayılmış, daha sonra bakterilerin lamlara fikse edilmesi için lamlar hafif alevden geçirilip oda sıcaklığında bekletilerek iyice kuruması sağlanmıştır. Daha sonra kristal viyole çözletisinden lamlar üzerine dökülüp, 1 dakika beklenmiş, sonra çeşme suyu ile indirekt olarak yıkanıp, lamların üzeri hafifçe kurulanmıştır. İkinci olarak lamlar üzerine Lugol solüsyonu konup, 1 dakika sonra tekrar indirekt olarak çeşme suyu ile yıkanmış ve kurutma kağıdı ile hafifçe kurulanmıştır. Üçüncü aşamada % 95'lik etil alkol bulunan bir kaba lamlar batırılarak 30 saniye kadar beklenmiş ve birkaç saniye suda yıkandıktan sonra, tekrar hafifçe kurulanmıştır. Son aşamada ise lamlar üzerine safranin solüsyonunda 10 saniye süreyle zıt boyama

yapılmış, tekrar suda indirekt olarak yıkanıp, kurutma kağıdında kurulandıktan sonra izolatlar 100'lük objektifte incelenmiştir. İzolatlar mavi-mor renkte ise Gram (+), pembe-kırmızı renkte ise Gram (-) olarak değerlendirilmiştir (Schaad, 2001).

2.3.2. KOH testi

Test için 1-2 damla % 3'lük KOH solüsyonu lamlar üzerine konmuş, YDC besi ortamında 24 saatlik geliştirilen bakteriyel izolatların kolonileri öze (loopful) yardımıyla alınıp, lam üzerindeki % 3'lük KOH solüsyonunda bir süre karıştırılarak yavaşça yukarı doğru kaldırılmıştır. %3'lük KOH solüsyonunun viskoz bir durum alıp; öze yukarı doğru yavaşça kaldırıldığında iplik gibi uzaması şeklindeki reaksiyonun pozitif, bakteriyel süspansiyonun sümüksü değil de sulumsu yapıda olması ve iplik gibi uzamaması durumunda ise reaksiyonun negatif olduğu sonucuna varılmıştır (Fahy and Persley, 1983).

2.3.3. Oksidatif fermentatif testi

Karbonhidratların oksidatif veya fermentatif kullanımları ile ilgili farklı ortamlar kullanılmaktadır. Bu test Ayers et al. (1919)'a göre yapılmıştır. Her bakteriyel izolat için iki tüp kullanılmıştır. Her iki tüpe bir öze dolusu aynı bakteriyel izolat'dan batırılmış, daha sonra bu tüplerden bir tanesinin üzeri % 3'lük agar ile örtülerek hava ile teması kesilmiştir. Daha sonra izolatlar 26-28 °C'de inkube edilmiş ve 7-14 gün sonra renk değişimi gözlenmiştir.

2.3.4. 35 °C'de gelişme

Yeast salts (YS) broth'da geliştirilen izolatlar, su banyosu içerisinde 35 °C'de 10-12 gün süreyle inkube edilmiştir (Schaad 2001).

2.3.5. Nişastanın hidrolizi

İzolatlar nutrient starch agar (NSCAA)'da 26-28 °C'de 24-48 saat süreyle geliştirilmiştir. Ortam renginin koyu mavi-siyah renge dönüşmesi ve kolonilerin etrafındaki açık bölgelerin oluşması reaksiyonun pozitif, açık bölgelerin oluşmaması ise reaksiyonun negatif olduğu şeklinde değerlendirilmiştir (Schaad 2001).

2.3.6. Esculin'in hidrolizi

İzolatlar esculin broth [YS broth + ferric ammonium citrate 0.05 % (w/v) and esculin 0.1 % (w/v)] ortamına konarak çalkalayıcıda 26-28 °C'de 28 gün süreyle inkube edilmiştir. Esculinin hidrolize olması ve ortamın ultra viole ışık altında floresan özellik göstermeyişi, reaksiyonun pozitif olduğu şeklinde değerlendirilmiştir (Schaad 2001).

2.3.6. Karbonhidratlardan asit oluşturma

Bu test için Ayers et al. (1919)'ın besi ortamı kullanılmıştır. Karbonhidrat kaynağı olarak olarak arabinose, glukoz ve mannose kullanılmıştır. Asit üretimi inokulasyondan 7-14 gün sonra kaydedilmiştir (Sands, 1990; Schaad, 2001).

2.3.7. Tütünde aşırı duyarlılık testi

YDC'de 26-28 °C'de geliştirilen 24-48 saatlik izolatların steril saf su ile 10^8 - 10^9 hücre/ml'lik konsantrasyonunda süspansiyonları hazırlanmıştır. Daha sonra süspansiyonlar bir hipodermik iğne ile sağlıklı tütün (*Nicotiana glutinosa*) yaprağının hücreler arasına enjekte edilmiş ve 26-28 °C'de 48-96 saat süreyle inkube edilmiştir. Yapraktaki nekrotik leke oluşumu, pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Klement et al., 1990).

2.3.8. Patojenite testi

YDC üzerinde 26-28 °C'de 24-48 saat süreyle geliştirilen izolatların % 0.85'lik NaCl çözeltisinde 10^8 to 10^9 hücre/ml'lik süspansiyonları hazırlanmış ve 4 – 6 haftalık lahana bitkilerinin yaprak saplarına ve her bir yaprağa 10 defa olmak üzere, bakteriyel süspansiyona daldırılmış steril iğne batırılarak inokulasyon yapılmıştır. İnokulasyon için bitki başına

3 yaprak seçilmiş ve 3-4 hafta sonra belirtilerin oluşup oluşmadığı gözlenmiştir (Vincente et al., 2001).

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

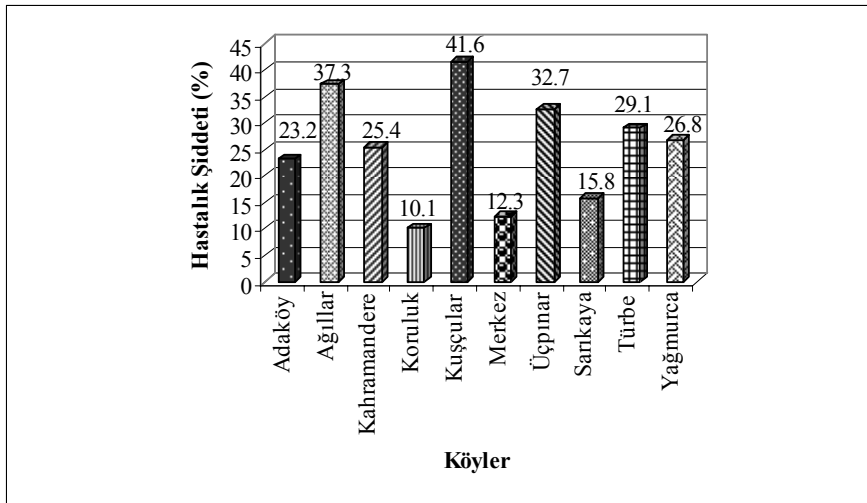
3.1. Hastalık Şiddeti

Bu çalışmada, Bafra İlçesinin Adaköy, Ağıllar, Kahramandere, Koruluk, Karpuzlu, Kaygusuz, Kuşçular, Merkez, Üçpınar, Sarıkaya, Türbe ve Yağmurca Köylerindeki beyaz baş lahana yetiştirilen tarlalarda lahana siyah damar çürüklük hastalığının şiddeti tespit edilmiştir (Şekil 1).

Şekil 1'den de anlaşılacağı gibi hastalık şiddeti en fazla % 41.6 oranla Kuşçular Köyünde, en az % 10.1 oranla Koruluk Köyünde görülmüştür.

3.2. İzolatların teşhisi

Yapılan testler sonucunda *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'e ait 10 izolat elde edilmiştir (Çizelge 1).



Şekil 1. Siyah damar çürüklüğünün hastalık şiddeti

Çizelge 1. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in teşhisi için yapılan biyokimyasal testler

İzolat Numarası	GB*	KOH	O/F	YDC	35	NH	EH	TAT	PT	Karbonhidratlardan Asit Üretme		
										Ar	Gl	Ma
BAd32	-	+	Ok	Ms	+	+	+	+	+	+	+	+
BAğ4	-	+	Ok	Ms	+	+	+	+	+	+	+	+
BKa11	-	+	Ok	Ms	+	+	+	+	+	+	+	+
BKo19	-	+	Ok	Ms	+	+	+	+	+	+	+	+
BKu8	-	+	Ok	Ms	+	+	+	+	+	+	+	+
BM27	-	+	Ok	Ms	+	+	+	+	+	+	+	+
BÜç30	-	+	Ok	Ms	+	+	+	+	+	+	+	+
BSa43	-	+	Ok	Ms	+	+	+	+	+	+	+	+
BTü5	-	+	Ok	Ms	+	+	+	+	+	+	+	+
BYa7	-	+	Ok	Ms	+	+	+	+	+	+	+	+

*GB: Gram Boyama; O/F: Oksidatif-fermentatif testi; Ok: Oksidatif; YDC: Yeast dextrose calcium carbonate agar; Ms: Mukoid ve sarı renk oluşumu; 35: 35°C'de gelişme; NH: Nişastanın hidrolizi; EH: Esculinin hidrolizi; Ar: Arabinose, Gl: Glukoz, Ma: Mannose; TAT: Tütünde aşırı duyarlılık testi; PT: Patojenite testi; +: Pozitif, -: Negatif

Çizelge 1'e göre YDC'de geliştirilen tüm izolatlar, Gram (-), çubuk şeklinde, aerobik olup, nişastanın hidrolizi, esculinin hidrolizi, 35°C'de gelişme ve tütünde aşırı duyarlılık testlerine pozitif reaksiyon vermişlerdir. Ayrıca arabinose, glukoz ve mannose'dan asit üretmişlerdir. Kolonileri ise mukoid, kabarık, düzgün yüzeyli ve sarı renkli gelişme göstermiştir. Patojenite testi sonucunda bitkilerin yapraklarında nekrotik merkezli, siyah damarlı, V şekilli sarı lezyon oluşumu gözlenmiştir.

İzolatların tanılayıcı test kriterleri, Fahy and Persley (1983), Lelliott and Stead (1987) ve Schaad et al. (2001)'a göre yapılmıştır. Kriterlere kesin uygunluk gösteren izolatlar dikkate alınmış, uygunluk göstermeyenler ise değerlendirme dışı bırakılmıştır. Hastalığın incelenen tüm köylerde bulunması, çevre koşullarının hastalık gelişimine elverişli olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu düşünce, diğer çalışmalarla uygunluk göstermektedir (Bain, 1955; Tewari et al., 1979; Dickson and Hunter, 1987; Ruissen and Gielink, 1994; Buell and Sommerville, 1995; Hansen and Earle, 1995).

Bu araştırma Bafra Ovası için siyah damar çürüklüğü hastalık etmeni (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson)'nin tespitine yönelik ilk araştırma olması yönünden önem kazanmaktadır. Hastalığın lahanada ve diğer cruciferlerin en önemli hastalıklarından biri olması ve üretim bölgelerinde % 90'a kadar varan zararlara neden olabilmesi nedeniyle mücadelesi büyük önem taşımaktadır. Hastalıkla mücadele önerileri arasında kültürel önlem olarak; sertifikalı tohum kullanılması, hastalığın görüldüğü bölgelerde Crucifera familyası dışındaki kültür bitkileri ile en az 3 yıllık ekim nöbeti uygulanması, kimyasal önlem olarak ise; hastalıklı fidelik toprakları (PCNB %18 Toz veya PCNB %10 + Captan %10 Toz 40 g/m²)'nin dezenfekte edilmesi tavsiye edilebilir.

4. KAYNAKLAR

Ayers, S.H., Rupp, P. and Johnson, W.T., 1919. A study of the Alkali-Forming Bacteria in milk. United States Department of Agriculture Bulletin, 782.
Bain, D., 1955. Resistance of cabbage to black rot. *Phytopathology*, 45, 35-37.
Bradbury, J.F., 1986. Guide to Plant Pathogenic Bacteria. (CAB) International, Wallingford, UK.
Buell, R. and Sommerville, S.C., 1995. Expression of defense-related and putative signaling genes during tolerant and susceptible interaction of *Arabidopsis*

with *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Molec. Plant Mic. Interact.*, 8, 435-443.
Dickson, M.D. and Hunter, J.E., 1987. Inheritance of resistance in cabbage seedlings to black rot. *HortScience*, 22, 108-109.
Fahy, P.C. and Persley, G.C., 1983. *Plant Bacterial Diseases A Diagnostic Guide*. Academic Press London, 110-111.
Franken, A.A.J.M., Zilverentant, J.F., Boonekamp, P.M. and Schots, A., 1992. Specificity of polyclonal and monoclonal antibodies for the identification of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Neth. J. Pl. Path.* 98: 81-94.
Hansen, L.N. and Earle, E.D., 1995. Transfer of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* into *Brassica oleracea* L. By protoplast fusion. *Theor. Appl. Genetics*, 91, 1293-1300.
Klement, Z., Mavridis, A., Rudolph, K., Vidaver, A., Perombelon, M.C.M., Moore, L.W., 1990. Inoculation of Plant Tissues. (Methods in phyto bacteriology). Akademiai Kiado Budapest, 95-124 pp.
Lelliott, R.A. and Stead, D.E., 1987. *Methods for Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants (Methods in Plant Pathology)*. Oxford, U.K., 216 pp.
Randhawa, P.S. and Schaad, N.W., 1984. Selective isolation of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* from crucifer seeds. *Phytopathology* 74:268-272.
Ruissen, M.A. and Gielink, A.J., 1994. The development of black rot in cabbage as a result of differences in guttation between cultivars and the relation of guttation to infectiousness (In Proc. of the 8th International Conference on Plant pathogenic Bacteria), June 9-12, Versailles, France, 767-777.
Sands, D.C., 1990. Physiological Criteria – Determinative Tests (Methods in Phyto bacteriology). Akademiai Kiado Budapest, 133-143 pp.
Schaad, N.W., 2001. *Identification Schemes (Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria)*. Third Edition, The American Phytopathological Soc., St. Paul, Minesota, 1-16 pp.
Schultz, T. and R.L. Gabrielson, 1986. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in Western Washington crucifer seed fields: occurrence and survival. *Phytopathology*. 76: 1306-1309.
Tewari, R.N., S.S. Chatterjee and V. Swarup, 1979. Inheritance of resistance to black rot (*Xanthomonas campestris*) in cabbage. *Vegetable Science*, 6, 27-36.
Vicente, J. G., J. Conway, S.J. Roberts, and J.D. Taylor, 2001. Identification and origin of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* races and related pathovars. *Phytopathology* 91:492-499.
Williams, P.H. 1980. Black rot: A continuing threat to world crucifers. *Plant Disease*. 64(8): 736-742.