

Tokat İlinde Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı'nın (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) Epidemiyolojisi*

Sabriye BELGÜZAR^{1**}

Yusuf YANAR¹

Yeşim AYSAN²

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Tokat, Türkiye

²Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana, Türkiye

**Sorumlu yazar: e-mail: sabriye.yazici@gop.edu.tr

Geliş Tarihi (Received): 14.05.2018

Kabul Tarihi (Accepted): 05.06.2018

Bu çalışma, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*)'in tohum, toprak ve bitki artıklarındaki yaşam süresini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Patojenin tohumdaki yaşam süresi için, rifampicin'e dayanıklı *Cmm* izolatu ile bulaştırılan tohumlar aylık periyotlarda besi yerlerine ekilerek, enfekteli tohum oranı belirlenmiştir. Ayrıca, tohumlardaki inokulumun hastalığı başlatma yeteneğini belirlemek amacıyla tohumlardan gelişen bitkilerde hastalık gözlemi yapılmıştır. *Cmm*'in topraktaki yaşam süresi için, *Cmm* ile bulaştırılan toprak, kutular içerisinde deneme alanına gömülmüş, yaz ve kış ayları boyunca alınan örneklerde bakteri yoğunluğu hesaplanmıştır. Bitki artıklarındaki yaşam süresi için, *Cmm* ile enfekteli bitki parçaları toprağa gömülmüş ve aylık periyotlarda örneklemeler yapılarak bakteri yoğunluğu hesaplanmıştır. Yapılan çalışma sonuçlarına göre, *Cmm* ile bulaştırılmış tohumlarda 0. gün %100'lük bir bulaşıklık belirlenirken, bu oran aylık periyotlarda düzenli olarak azalmıştır. En son 370. günde %17'lik bir bulaşıklık tespit edilirken, 400. günde etmene rastlanılmamıştır. Etmenin bulaşık topraklarda, yaz aylarında 15 gün, kış aylarında 30 gün canlı kalabildiği, toprakta bulunan bitki artıklarında ise 30 gün canlı kalabildiği belirlenmiştir. 12 aylık periyotta ilk ay patojen tespit edilirken, diğer aylarda etmen elde edilememiştir. Sonuç olarak, Tokat ilinde etmenin toprak ve bitki artıklarında canlılığını sürdürmediği, bulaşık tohumların birincil inokulum kaynağı oluşturduğu ve tohumlardaki inokulumun hastalığı başlatacak yeteneğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bundan dolayı hastalık ile mücadelede başlangıç inokulumunu azaltmak için temiz tohum kullanımı önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: Epidemiyoloji, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, inokulum kaynağı, domates bakteriyel solgunluk hastalığı.

*Bu çalışma ilk yazarın doktora tezinden üretilmiştir.

Epidemiology of Tomato Bacterial Wilt Disease (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in Tokat Province

This study was conducted to determine survival of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) in infested seed, soil, plant residue. Infected seeds rates were determined by plating seeds, which were infected with rifampicin-resistant *Cmm* isolate, on medium at monthly intervals. Also, seeds were planted and disease observations were made in plants to determine the ability of seed inocula to initiate disease. Infested soil was buried in test area within container and the bacterial density was calculated in samples taken during summer and winter months. *Cmm*-infected plant parts were buried in the soil and bacterial density was calculated by sampling in monthly periods. Based on the results of study, the survival rate of the pathogen in infested seed were decreased with increase in storage periods. The lowest survival rate of 17% was determined at the end of 370 day, but on the 400th day, *Cmm* was not recovered from infested seeds. It has been determined that pathogen could survive in infested soil for 15 and 30 days in summer and winter periods, respectively. Also, *Cmm* could survive for 30 days in plant residues in the soil. As a result, it has been determined that *Cmm* could not survive in soil and plant residues in Tokat province. However, it has been determined that the infested seeds are primary inoculum source and that inoculum in the seeds has ability to initiate disease. Therefore it is important to use clean seeds to reduce initial inoculum for disease management.

Keywords: Epidemiology, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, inoculum source, tomato bacterial wilt disease.

Giriş

Dünya çapında domates üretimini kısıtlayan en önemli bakteriyel etmenlerden birisi olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) sistemik yayılan bir hastalık etmenidir. Domates bakteriyel solgunluk hastalığına sebep

olan *Cmm*, dünyada domates üretiminin yapıldığı hemen hemen her alanda görülmektedir (EPPO, 2017). Dünya'da olduğu gibi, ülkemizde de domates üretiminin yapıldığı alanlarda hastalık değişik oranlarda tespit edilmiştir (Çinar, 1980; Öktem ve Benlioğlu, 1993; Tokgönül, 1998; Sahin ve ark., 2002; Basım ve ark., 2004; Çetinkaya-Yıldız,

2007). Çalışmanın yürütüldüğü Tokat ilinde de hastalık domates üretim alanlarında epidemiyolojisi oluşturmuş olup, %2-100 arasında değişen oranlarda ürün kayıplarına neden olmuştur. 2011 ve 2012 yıllarında Tokat ilinde hastalığın bulunma oranı ise sırasıyla %52,02 ve %41,38 olarak belirlenmiştir (Belgüzar ve ark., 2016).

Cmm sistemik yayılan bir hastalık etmeni olması nedeniyle genelde infekteli tohumlarla taşınmakta, ayrıca hastalıklı bitki artıkları ve bulaşık topraklarla gelecek üretim sezonuna aktararak büyük ürün kayıpları meydana getirebilmektedir. Bilindiği gibi tohum, patojenlerin yaşamlarını devam ettirmeleri yönünden önemli bir kaynaktır. Diğer yandan, patojenlerin tohum aracılığı ile taşınmaları da dikkate alınması gereken bir olgudur. Tohum kökenli bir enfeksiyon inokulum için bir merkez görevini üstlenmekte ve epidemilere yol açabilmektedir (Erkan, 1998). Patojenlerin tohumda, vegetatif bitki kısımlarına veya toprağa oranla daha uzun süre canlı kalabildikleri bilinmektedir. Özellikle domates tohumlarında *Cmm* ile doğal bulaşıklılık ciddi bir tehlike oluşturmaktadır (Nedumaran ve Vidhyasekaran, 1982a, 1982b). Tohumdan fideye %0,01-0,05 (1000 fide başına 1-5 hastalıklı tohum) gibi düşük bir tohum bulaşma oranı bile, tarlada önemli bir epideminin başlangıcı olabilmektedir (Chang ve ark., 1991). Etmen iletim sistemi yardımıyla tohumları sistemik olarak enfekte etmekte ve embriyoda da bulunmaktadır (Bryan, 1930).

Cmm'in diğer bir inokulum kaynağı toprak olup, patojen toprakta belirli koşullarda yaşamını sürdürebilmektedir. Washington ve New York'da etmen 11 ay boyunca İtalya'da ise etmen toprakta dört yıl süreyle yaşayabilmektedir (Bryan, 1930; Ciccarone ve Carili, 1948). Buna ilaveten patojenin topraktaki yaşam süresi üzerinde nem, sıcaklık gibi çevre koşulları da etkili olabilmektedir (Bryan, 1930; Strider, 1967; Basu, 1970). *Cmm*'in primer inokulum kaynaklarından bir diğeri de bulaşık bitki artıklarıdır (Gleason ve ark., 1991; Chang ve ark., 1992; Fatmi ve Schaad, 2002). Toprak yüzeyinde kalan bulaşık bitki artıklarında etmen en az 24 ay boyunca canlı kalabilirken, toprağa gömülen bulaşık bitki artıklarında ise 7 ay boyunca canlılığını sürdürebilmektedir (Gleason ve ark., 1991).

Patojen ayrıca çeşitli yabancı otlarda, değişik malzemeler (fide saksısı, oluk, vb), sera konstrüksiyon malzemeleri ve çeşitli aletler üzerinde de yaşamını devam ettirebilmektedir (Gitiatis ve Beaver, 1990; Gleason ve ark., 1991; Gleason ve ark., 1993). Ayrıca küçük alanlarda

hastalık yayılımı rüzgar, yağmur, böcekler, kültürel işlemler esnasında kullanılan alet ve ekipmanlar ile insanlar tarafından olurken, geniş alanlarda yayılım tohum ve fidelerle olmaktadır.

Bu çalışma ile, Tokat ilinde *Cmm*'in tohum, toprak ve bitki artıklarındaki yaşam süresini belirlenmesi, hastalığın bölgemiz koşullarında epidemiyolojisi incelenerek hastalığı başlatma yeteneği olan ilk inokulum kaynaklarının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Materyal

Patojen izolat: Tokat ili domates üretim alanlarından izole edilen ve rifampicin antibiyotikine dayanıklı *Cmm* izolatı kullanılmıştır.

Domates tohumu ve fidesi: Laboratuvar ve sera koşullarında yürütülen çalışmalarda Alsancak RN F1 domates tohumu ve fidesi kullanılmıştır.

Besi yeri: Nutrient Broth Yeast Extract (NBY; 8 g Nutrient Broth, 2 g Yeast Extract, 2 g K₂HPO₄, 0,5 g, KH₂PO₄, 2,5 g Glucose, 1000 ml Distile Su) ve Pseudomonas Agar F (PSF; 10 g Proteose Peptone, 10 g Tryptone, 10 ml Gliserin, 1,5 g K₂HPO₄, 1,5 g MgSO₄.7H₂O, 15 g Agar, 1000 ml Distile Su) besi yerleri kullanılmıştır (Saygılı ve ark., 2006).

Yöntem

Çalışmada ilk olarak *Cmm* izolatı rifampicin antibiyotikine dayanıklı hale getirilmiştir. Bunun için; PSF besi yerinde 72 saat geliştirilen YY-2 kodlu *Cmm* izolatından bir öze dolusu alınarak 20 ml NBY sıvı besi yerine aktarılmış ve 150 rpm hızda çalışan çalkalayıcıda 72 saat geliştirilmiştir. %70'lik alkol kullanılarak hazırlanan 25 mg l⁻¹ dozunda rifampicin soğuk sterilizasyon yapılarak bakteri süspansiyonuna eklenmiştir. 72 saat sonra bu süspansiyondan 25 mg l⁻¹ rifampicin içeren PSF besi yerine çizim yapılmıştır. Gelişen kolonilerden alınarak 20 ml NBY besi yerinde tekrar geliştirilmiştir. Üç gün süreyle bu ortamda inkübasyona bırakılan bakteri süspansiyonu üzerine 50 mg l⁻¹ rifampicin eklenmiş ve altıncı güne kadar inkübasyona devam edilmiştir. Altıncı günün sonunda buradan alınan bakteri süspansiyonu 50 mg l⁻¹ rifampicin içeren PSF besi yerine aktarılmıştır. Bu işlemler 75 ve 100 mg l⁻¹ rifampicin dozları için tekrarlanmıştır. Elde edilen 100 mg l⁻¹ rifampicine dayanıklı izolat ile Gram reaksiyon testi ve patojenite testi yapılarak *Cmm* olup olmadığı belirlenmiştir.

***Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in bulaşık tohumda yaşam süresinin belirlenmesi**

Yürütülen çalışmada, Alsancak RN F1 çeşidi domates tohumları kullanılmıştır. İlk olarak tohumlar %1'lik NaOCl çözeltisinde 3 dk bekletilerek yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulmuştur. Daha sonra tohumlar, 100 mg l⁻¹ rifampicin'e dayanıklı patojen izolatı ile inokule edilmiştir. 100 mg l⁻¹ rifampicin'e dayanıklı izolat 600 nm'de 0,2 absorbans değerine ayarlanmış olup, tohumlar 1,2x10⁸ hücre ml⁻¹ yoğunluğundaki süspansiyonda ilk olarak 3 saat vakum yöntemi takiben 1 saat daldırma yöntemi kullanılarak inokule edilmiştir. Enfekteli tohumlar bir gece boyunca steril kabinde kurutulduktan sonra, kese kağıtları içerisinde oda sıcaklığında saklanmıştır. Çalışma boyunca tesadüf olarak seçilen 100'er adet tohum ilk inokulasyon gününü takip eden 33, 66, 100, 129, 160, 193, 220, 249, 280, 310, 340, 370, 400 ve 430. günlerde 100 mg l⁻¹ rifampicin içeren PSF besi yerine ekilmiş olup, besi yerinde tohum etrafında gelişen koloniler sayılarak enfekteli tohum %'si belirlenmiştir (Hankin ve Sands, 1977).

Daha sonra tohumlardaki inokulumun hastalığı başlatacak yeteneğe sahip olup olmadığını belirlemek amacıyla tohumlar toprak, kum ve torf karışımı içeren viyollere ekilmiştir. Ekilen tohumlarda 7 gün sonra çıkışlar başlamıştır. Gelişen fidelerde domates bakteriyel solgunluk hastalığına ait belirtiler gözlenmiş olup, 100 mg l⁻¹ rifampicin içeren PSF besi yerine yeniden izolasyon yapılmıştır.

***Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in bulaşık toprakta yaşam süresinin belirlenmesi**

Çalışmada, ilk olarak 100 mg l⁻¹ rifampicin'e dayanıklı izolata ait inokulum 600 nm'de 0,2 absorbans değerine ayarlanmış olup, 1,2x10⁸ hücre ml⁻¹ yoğunluğundaki süspansiyon ile toprak inokule edilmiştir. 100 mg l⁻¹ rifampicin'e dayanıklı *Cmm* izolatı ile inokule edilen toprak 25 litrelik teneke kutular içerisinde konularak deneme alanına gömülmüştür. Çalışma 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. İnokulasyon tarihinden itibaren yaz ve kış ayları boyunca haftalık olarak, bulaştırılan toprağın 0-15 cm derinliğinden örnekler alınmıştır. Alınan örneklerden seyreltme serileri hazırlanarak 100 mg l⁻¹ rifampicin içeren PSF besi yerine yayma ekim yapılmıştır. Her seyreltme için 3 adet petri kabı kullanılmıştır. 28 °C'de 72 saat inkübasyona

birakılan petrilerde gelişen koloniler sayılmış ve bakteri yoğunluğu belirlenmiştir.

Topraktaki bitki artıklarında *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in yaşam süresinin belirlenmesi

Sera koşullarında yetiştirilen 5-6 yapraklı domates bitkileri 100 mg l⁻¹ rifampicin'e dayanıklılık kazandırılmış *Cmm* izolatı ile inokule edilmiştir. İnokule edilen bitkiler sera koşullarında 15 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda solgunluk semptomu gösteren bitki gövdeleri 2-3 cm'lik parçalar halinde kesilmiş ve 10 g olacak şekilde tartılarak gövde parçaları tülbent içerisine konularak toprağın 15 cm derinliğine gömülmüştür. Toprağa gömüldükten bir ay sonra örneklem işlemi başlamıştır. Her ay içinde bitki artığı bulunan tülbent çıkartılmış, Nutrient Broth sıvı besi yerinde 150 rpm hızda 3 saat çalkalanmıştır. Bir tülbent veya süzgeç ile süzülen süspansiyon, 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek pellet elde edilmiştir. %0,85'lik NaCl eriyiği içerisinde seyreltilen pelletten 100 mg l⁻¹ rifampicin içeren PSF besi yerine ekim yapılarak izolasyon gerçekleştirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

***Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in bulaşık tohumdaki yaşam süresi**

Yapılan çalışmada, kullanılan yöntemle göre, her ay *Cmm* ile bulaştırılmış 100 adet tohum tesadüfi olarak seçilerek 100 mg l⁻¹ rifampicin içeren PSF besi yerine yerleştirilmiş ve tohumların etrafında gelişen koloniler gözlenmiştir. 460 gün boyunca yürütülen çalışmada, bulaştırmanın yapıldığı ilk gün (0. gün) tohumların hepsinin etrafında sarı renkli koloni gelişimi görülmüştür. Çizelge 1'de görüldüğü gibi, ilk ay yani 33. günde yapılan izolasyonda 89 tohumda, 66. günde yapılan izolasyonda 91 tohumda, 100. günde 89 tohumda, 129. günde 93 tohumda, 160. günde 85 tohumda, 193. günde 79 tohumda, 220. günde 63 tohumda, 249. günde 76 tohumda, 280. günde 46 tohumda, 310. günde 42 tohumda, 340. günde 30 tohumda, 370. günde 17 tohumda koloni gelişimi görülmüştür. Daha sonraki günlerde yapılan izolasyonlarda ise koloni gelişimine rastlanılmamış olup patojen elde edilememiştir.

Çizelge 1. Bulaşık domates tohumlarında patojenin yaşam süresi

Table 1. Lifetime of pathogen in infested tomato seeds

Tarih	<i>Cmm</i> ile bulaşık tohum %'si
0.gün	100
33. gün	89
66. gün	91
100. gün	89
129. gün	93
160. gün	85
193. gün	79
220. gün	63
249. gün	76
280. gün	46
310. gün	42
340. gün	30
370. gün	17
400. gün	0
430. gün	0
460. gün	0

Yapılan çalışma doğrultusunda, tohumlardaki inokulumun hastalığı başlatacak yeteneğe sahip olup olmadığını belirlemek amacıyla *Cmm* ile bulaşık tohumlar toprak, kum ve torf karışımı içeren viyollere ekilmiştir. Ekilen tohumlarda ortalama 7 gün sonra çıkışlar başlamıştır. İlk 2 ayda (33. gün ve 66. gün) ekilen tohumlardan gelişen fidelerde domates bakteriyel solgunluk hastalığına ait belirtiler gözlenmemiş olup, 5-6 yapraklı dönemdeki fidelerden yapılan izolasyonlarda da bakteri elde edilememiştir. Daha sonraki aylarda ekilen tohumlardan gelişen fidelerde ise solgunluk belirtileri belirgin bir şekilde görülmüştür. Yapılan izolasyonlarda elde edilen izolatin Gram pozitif olduğu belirlenmiş olup, etmenin *Cmm* olduğu saptanmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda, *Cmm*'in domates tohumlarında birincil inokulum kaynağı oluşturduğu ve hastalığın tohum kökenli olduğu saptanmıştır.

Bu çalışma sonuçları yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Etmenin tohumda kalıcılığı ile ilgili yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde; Grogan ve Kendrick'in 1953'de, Thyr'in ise 1969'da yaptıkları çalışmalarda *Cmm* ile bulaşık domates tohumlarının hastalığın en önemli inokulum kaynağı olduğu ve etmenin tohumda taşınma oranının %0,25 ile %100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Etmenin tohumdan fideye taşınması epidemiyolojide çok önemli bir yer tutmaktadır. Tohumdan fideye %0,01 oranında taşınan *Cmm* tarlada önemli bir epidemiyolojik başlangıç olabilir (Chang ve ark., 1991). Bunlara

ilaveten Byran (1930), doğal enfekteli tohumlarda bakterinin tohuma geçiş oranının %1-5, yapay enfekteli tohumlarda ise %21-40 oranında olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *Cmm* tohumları tohum kabuğu veya tohum zarından geçerek enfekte etmektedir, tohum zarının en içte bulunan hücrelerine doğru hareket etmektedir (Patino-Mendez, 1964).

***Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in bulaşık topraktaki yaşam süresi**

Cmm'in topraktaki yaşam süresinin saptanması amacıyla yürütülen denemede, toprağın 0-15 cm derinliğinden örnekler alınarak yapılan izolasyonlarda yazlık periyotta, Haziran ayında başlayan çalışma Eylül ayında sonlandırılmıştır. İnokulasyonun yapıldığı gün patojenin $3,2 \times 10^6$ hücre g^{-1} populasyonunda toprağa kolonize olduğu belirlenmiştir. Haftalık izolasyonlarda 7. gün $2,1 \times 10^6$ hücre g^{-1} yoğunluğunda, 15. gün 1×10^6 hücre g^{-1} yoğunluğunda patojen elde edilmiştir. İnokulasyondan sonra 15. günden itibaren yapılan izolasyonlarda ise patojene rastlanılmamıştır (Çizelge 2.).

Ekim 2012 tarihinde başlatılan çalışmada ise, patojenin kış ayları boyunca topraktaki yaşam süresi incelenmiştir. İnokulasyonun yapıldığı gün patojenin $7,5 \times 10^6$ hücre g^{-1} populasyonunda toprağa kolonize olduğu belirlenmiştir. Çalışma boyunca yapılan izolasyonlar sonucu, patojen

toprakta 28. güne kadar canlı kalabilmiştir (Çizelge 3.). Daha sonra yapılan izolasyonlarda *Cmm* elde edilememiştir.

Çalışmada kullanılan yöntemle göre, etmen yaz aylarında yaklaşık 15 gün, kış aylarında ise yaklaşık 30 gün canlı kalabilmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar Trevors ve Finnen (1990) tarafından yapılan çalışma ile benzerlik göstermektedir. Yapılan çalışmada, steril olmayan organik maddeler içeren kumlu, killi yapıdaki toprağa *Cmm* inokule edilmiş, daha sonra yapılan izolasyonlarda 30. güne kadar patojen %90 elde edilirken, 30. günden sonra %10'dan daha az oranda elde edilebilmiştir.

Etmenin toprakta daha uzun süre canlı kalabildiği çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir (Bryan, 1930; Strider, 1967). Fakat yapılan çalışmalarda etmenin kalıcılığı üzerinde çeşitli faktörlerin etkili olabileceği de vurgulanmaktadır. Örneğin; Byran (1930) *Cmm*'in inokulum kaynaklarından birinin toprak olduğunu ve patojenin toprakta belirli koşullarda yaşamını sürdürdüğünü saptamıştır. Yapılan çalışmada, Washington ve New York'da etmenin 11 ay boyunca enfekteli toprakta canlı kalabildiğini belirlemiştir.

Çizelge 2. Yaz boyunca *Cmm*'in bulaşık topraktaki yaşam süresi

Table 2. Lifetime of *Cmm* in infested soil during summer

Tarih	<i>Cmm</i> (hücre g ⁻¹ toprak)
0.gün	3,2x10 ⁶
7. gün	2,1x10 ⁶
15. gün	1x10 ⁶
21. gün	0
28. gün	0
35. gün	0
42. gün	0
49. gün	0
56. gün	0
62. gün	0

Çizelge 3. Kış boyunca *Cmm*'in bulaşık topraktaki yaşam süresi

Table 3. Lifetime of *Cmm* in infested soil during winter

Tarih	<i>Cmm</i> (hücre g ⁻¹ toprak)
0.gün	7,5x10 ⁶
7. gün	2,3x10 ⁶
15. gün	0,3x10 ⁵
21. gün	0,16x10 ⁴
28. gün	0,3x10 ⁴
35. gün	0
42. gün	0
49. gün	0
56. gün	0
62. gün	0

Ciccarone ve Carili (1948)'de yaptıkları çalışmada İtalya'da etmenin toprakta dört yıl süreyle yaşayabildiğini belirlemişlerdir. Buna rağmen Grogan ve Kendrick (1953) ise yaptıkları çalışma sonucunda tarla toprağında yaşayan patojenin epidemi oluşumunda önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, etmenin toprakta kalıcılığı üzerinde sıcaklık ve nemin bunun yanında diğer saprofit mikroorganizmaların da

etkisinin olabileceği düşünülmektedir. *Cmm*'in topraktaki yaşam süresi üzerinde lokasyonun, pH'nın, mikrobiyal antagonizmin, sıcaklığın ve nemin etkisinin olduğu çeşitli çalışmalarla da belirlenmiştir (Bryan, 1930; Strider, 1967; Basu, 1970). Yapılan bir çalışmada, inokulasyondan 8 ay sonra hava ile kurutulmuş topraktan etmen geri izole edilemezken, 2 °C'deki nemli toprakta 18-30 ay süre ile canlı ve virulent kalabildiği saptanmıştır (Strider, 1967). Basu (1970), topraktaki %2,7 ile 21

arasındaki nem değişikliğinin patojenin canlılığını etkilediğini belirlemiştir. Bunun yanında bazı araştırmacılar toprakta etmenin canlılığını devamlı sürdürdüğünü, topraktan izole edilmese bile daha sonraki üretim sezonunda oluşan bitkilerde hastalığa neden olabileceğini belirlemişlerdir (Bryan, 1930; Strider, 1967; Basu, 1970).

***Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in topraktaki bitki artıklarında yaşam süresi**

Toprakta bulunan bulaşık bitki artıklarında patojenin yaşam süresini belirlemek amacıyla yürütülen çalışma, Temmuz 2013'de başlamış olup 12 ay boyunca sürdürülmüştür. Temmuz ayından itibaren yapılan izolasyonlarda Ağustos ayında bitki artığının patojenin $7,9 \times 10^8$ hücre ml^{-1} popülasyonu ile inokule olduğu belirlenmiştir. Kullandığımız yöntemlere göre, ilk ay patojenin elde edilmesine rağmen, daha sonraki günlerde Eylül, Ekim, Kasım, Aralık, Ocak, Şubat, Mart, Nisan, Mayıs, Haziran aylarında yapılan izolasyonlarda patojen izole edilememiştir. Tanıyı kuvvetlendirmek amacıyla yapılan izolasyonlarda elde edilen izolatın Gram pozitif olduğu belirlenmiş olup, etmenin *Cmm* olduğu saptanmıştır. Bu durumda patojenin 30 gün canlı kalabildiği belirlenmiştir.

Tokat ili koşullarında *Cmm*'in topraktaki bitki artıklarında yaşam süresini belirlemek amacıyla yürütülen bu çalışmada, elde edilen sonuçlar patojenin domates yetiştiriciliğinin yapılmadığı dönemlerde toprağa karıştırılan bitki artıklarında canlılığını sürdüremediğini ortaya koymaktadır. Benzer şekilde Ülke (2003) Adana'da yaptığı çalışmada, domates öz nekrozu etmenleri *Pseudomonas cichorii* ve *Pseudomonas corrugata*'nın yaz ayları boyunca domatesin olmadığı dönemde yaşamlarını sürdüremediklerini ortaya koymuştur. Yine Yıldız (2002), çalışmasında Doğu Akdeniz Bölgesi'nde *Erwinia chrysanthemi*'nin konukçu bitkisi domatesin olmadığı yaz aylarında yaşamını toprakta sürdüremediğini, ancak kış aylarında etmenin toprakta yaklaşık 6 ay yaşamını devam ettirebildiğini saptamıştır.

Bakterilerin topraktaki yaşamında değişik sıcaklıkların ve toprak yapısının etkili olduğu Basu (1970) tarafından bildirilmiştir. Basu (1970) yaptığı çalışmada, *Cmm*'in bulaşık domates yapraklarında toprak sıcaklığı -20 °C iken en az 36 hafta canlı kalabildiğini bildirmiştir. Patojen toprak sıcaklığı $5-35$ °C iken 3 haftadan daha fazla canlı kalamamıştır.

Bunun yanında, yapılan çalışmalarda çeşitli araştırmacılar *Cmm*'in bitki artıklarındaki yaşam süresinin coğrafik bölgeye, bitki artıklarının toprak yüzeyinde veya toprak içerisinde gömülü olmasına bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir (Gleason ve ark., 1991; Chang ve ark., 1992; Fatmi ve Schaad, 2002). Fatmi ve Schaad (2002) tarafından yapılan çalışmada, ABD'nin California, Ohio eyaletlerinde ve Fas'da çalışılan tüm lokasyonlarda toprak yüzeyine bırakılan domates gövdelerinde, gömülenlere oranla organizma daha uzun süre canlılığını korumuştur. Toprak yüzeyine bırakılan domates gövdelerinde patojen Ohio, California ve USA'da 314 gün, MelkZhar'da 194 gün, Ait Melloul ve Fas'da 132 gün canlılığını sürdürmüştür. Toprağa gömülenlerde ise patojen Ohio'da 314., California'da 240., MelkZhar ve Ait Melloul'da 60. güne kadar canlılığını sürdürmüştür. Çalışma sonuçları, bitki artıklarında *Cmm*'in yaşam süresinin oldukça uzun olduğunu ve coğrafik lokasyonun ve toprağa bırakılma pozisyonunun etkili olduğunu göstermektedir. Gleason ve ark. (1991) toprak yüzeyinde kalan bulaşık bitki artıklarında etmenin en az 24 ay boyunca canlı kalabildiğini fakat toprağa gömülen bulaşık bitki artıklarında sadece 7 ay boyunca canlılığını sürdürdüğünü belirlemişlerdir. Ayrıca araştırmacılar kışı bulaşık bitki artıklarında geçiren epifitik *Cmm* popülasyonunun primer inokulum kaynağı olarak rol oynayabileceğini bildirmişlerdir.

Sonuç

Cmm'in tohum, toprak ve bitki artıklarındaki epifitik yaşam süresinin saptanması ve ilk inokulum kaynaklarının belirlenmesi üzerine yürütülen bu çalışmada, *Cmm*'in domates tohumlarında birincil inokulum kaynağı oluşturduğu ve tohumlardaki inokulumun hastalığı başlatacak yeteneğe sahip olduğu belirlenmiştir. Kullanılan yöntemlere göre, *Cmm* ile bulaştırılmış tohumlarda etmen 370. güne kadar canlılığını sürdürmüştür. *Cmm*'in topraktaki yaşam süresinin saptanması amacıyla yürütülen denemede ise, etmenin yaz aylarında yaklaşık 15 gün, kış aylarında ise yaklaşık 30 gün canlı kalabildiği saptanmıştır. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlara göre, etmenin toprakta kalıcılığı üzerinde sıcaklık ve nem bunun yanında diğer saprofit mikroorganizmaların da etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Toprakta bulunan bulaşık bitki artıklarında patojenin yaşam süresini belirlemek amacıyla yürütülen çalışmada ise, bulaşık bitki artıklarında etmen bir ay canlı kalabilmiştir. Bölgemizde yapılan gözlemlerde

Cmm'in görüldüğü üretim sezonundan sonraki sezonlarda da hastalığın yeniden ortaya çıktığı saptanmıştır. Enfekteli bitki artıklarının bulunduğu üretim alanlarında *Cmm*'in ortaya çıkması, patojenin toprakta veya bitki artıklarında az yoğunlukta da olsa canlılığını sürdürebileceği durumunu düşündürmektedir. Bu durumda patojen kendisine toprakta veya bitki artıklarında yaşamını sürdürebilecek bir yer bulabilmektedir. Böylece etmen toprakta veya bitki artıklarında yaşamlarını sürdürerek bir sonraki üretim sezonunda inokulum kaynağını oluşturmaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi (Proje No: 2011/102) tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Basım, E., H. Basım, E.R. Dickstein and J.B. Jones, 2004. Bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on greenhouse-grown tomato in the Western Mediterranean Region of Turkey, Plant Disease, 88:1048.
- Basu, P.K. 1970. Temperature an important factor determining survival of *Corynebacterium michiganense* in soil. Phytopathology 60, 825-827.
- Belgüzar, S., Y. Yanar, ve Y. Aysan, 2016. Tokat İlinde Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı'nın Yaygınlığı ve Etmenin (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) Tanılanması. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 33(2), 34-40.
- Bryan, M.K. 1930. Studies on Bacterial Canker of Tomato. Journal of Agricultural Research, 41, 825-851.
- Chang, R.J., S.M. Ries and J.K. Pataky, 1991. Dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by practices used to produce tomato transplants. Phytopathology, 81, 1276-1281.
- Chang, R.J., S.M. Ries and J.K. Pataky, 1992. Local sources of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in the development of bacterial canker on tomatoes. Phytopathology, 82, 553-560.
- Ciccarone, A. and A. Carilli, 1948. Osservazioni di campo su *Corynebacterium michiganense* (Smith) Jensen e considerazioni su un possibile caso di sua sopravvivenza nel terreno. Bollettino Della Stazione Di Patologia a Vegetale 6, 277-80.
- Çetinkaya-Yıldız, R. 2007. Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.)'nin Tanılanması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler İle Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması. (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Adana.
- Çınar, Ö. 1980. Bakteriyel Domates Solgunluğu Hastalığı (*Corynebacterium michiganense* (Erwin. F. Smith) Jensen)'nin Tanımı, Savaş Yöntemleri ve Etmene Karşı Dayanıklı Domates Çeşitleri Üzerine Araştırmalar. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 139-Bilimsel Araştırma ve İnceleme Tezleri.
- EPPO 2017. European and Mediterranean Plant Protection Organization-IMI, <https://gd.eppo.int/taxon/CORBMI/distribution>
- Erkan, S. 1998. Tohum Patolojisi. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 9 s, İzmir.
- Fatmi, M. and N.W. Schaad, 2002. Survival of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in infected tomato stem under field conditions in California, Ohio and Morocco. Plant Pathology, 51:149-154.
- Gitaitis, R.D. and R.W. Beaver, 1990. Characterization of fatty acid methyl ester content of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Phytopathology, 80, 318-321.
- Gleason, M.L., E.J. Braun, W.M. Carlton and R.H. Peterson, 1991. Survival and dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomatoes. Phytopathology, 81:519-1523.
- Gleason, M.L., R.D. Gitaitis and M.D. Ricker, 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in Eastern North America. Plant Disease, 77:1069-1076.
- Gragon, R.G. and J.B. Kendrick, 1953. Seed transmission mode of overwintering and spread of bacterial canker of tomato caused by *Corynebacterium michiganense*. Phytopathology, 43,473.
- Hankin, L. and D.C. Sands, 1977. Microwave treatment of tobacco seed to eliminate bacteria on the seed surface. Phytopathology, 67, 794-795.
- Nedumaran, S. and P. Vidhyasekaran, 1982a. Seed-borne infection of *Corynebacterium michiganense*. Indian Phytopathology-Phytopathology Notes, 35:510.
- Nedumaran, S. and P. Vidhyasekaran, 1982b. Techniques to detect *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense* infection in tomato seed. Indian Phytopathology- Phytopathology Notes, 35:143-144.
- Öktem, Y.E. ve K. Benlioğlu, 1993. Orta Anadolu Bölgesi'nde domates ekim alanlarında bakteriyel hastalıklar üzerinde ön çalışmalar. Bitki Koruma Bülteni, 33 (1-2).
- Patino-Mendez, G. 1964. Studies on The Pathogenicity of *Corynebacterium michiganense* (E. F. Smith) Jensen and Its Transmission into Tomato Seed. Davis, CA, USA: University of California.
- Sahin, F., H. Uslu, R. Kotan and M.F. Dönmez, 2002. Bacterial canker, caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*, on tomatoes in eastern Anatolia region of Turkey. Plant Pathology, 51, 399.
- Saygılı, H., F. Şahin ve Y. Aysan, 2006. Fitobakteriyoloji. Meta Basım Matbaacılık, İzmir, 530s.
- Strider, D.L. 1967. Survival studies with the tomato bacterial canker organism. Phytopathology, 67:1067-1071.
- Thyr, B.D. 1969. Assaying tomato seeds for *Corynebacterium michiganensis*. Plant Disease Reporter 5, 858-60.
- Tokgönül, S. 1998. Ticari Domates Tohumlarında Bakteriyel Solgunluk Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'nin Saptanması ve Etmene Karşı Mücadele Olanakları Üzerinde

- Araştırmalar. (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Adana.
- Trevors, J.T. and R.J. Finnen, 1990. Introduction and recovery of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from agricultural soil. *Plant and Soil*, 126:141-143.
- Ülke, G. 2003. Domates Öz Nekrozu Etmenleri *Pseudomonas cichorii* ve *Pseudomonas corrugata*'nın Tanısı, Epidemiyolojileri ve Entegre Mücadelesi Üzerinde Araştırmalar. (Doktora tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Adana.
- Yıldız, R. 2002. Doğu Akdeniz Bölgesi Plastik Seralarında Gövde Nekrozuna Neden Olan *Erwinia chrysanthemi*'nin Tanısı, Biovarının Belirlenmesi ve Epidemiyolojisi Üzerinde Araştırmalar. (Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Adana.