



T.C.  
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİTKİSEL ÜRETİM VE TEKNOLOJİLERİ ANABİLİM DALI

BİTKİSEL EKSTRAKTLARIN DOMATES BAKTERİYEL KANSER HASTALIĞI  
(*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL  
ETKİLERİ

NİDA ÜNLÜ

Haziran 2018



T.C.  
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİTKİSEL ÜRETİM VE TEKNOLOJİLERİ ANABİLİM DALI

BİTKİSEL EKSTRAKTLARIN DOMATES BAKTERİYEL KANSER HASTALIĞI  
(*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)  
ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL ETKİLERİ

NİDA ÜNLÜ

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Eminur ELÇİ

Haziran 2018

Nida ÜNLÜ tarafından Dr. Öğr. Üyesi Eminur ELÇİ' nin danışmanlığında hazırlanan “Bitkisel Ekstraktların Domates Bakteriye Kanser Hastalığı (*Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*) Üzerine Antibakteriyel Etkileri” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

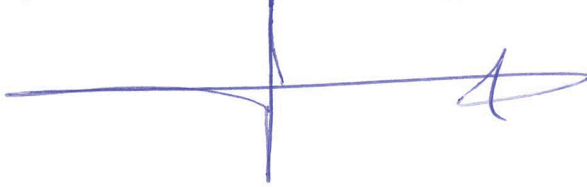
Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Eminur ELÇİ, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Çiğdem ULUBAŞ SERÇE, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Sibel DERVİŞ, Mardin Artuklu Üniversitesi



**ONAY:**

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından ....../...../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ....../...../20.... tarih ve ..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

**Doç. Dr. Murat BARUT**  
**MÜDÜR**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Nida ÜNLÜ

## ÖZET

### BİTKİSEL EKSTRAKTLARIN DOMATES BAKTERİYEL KANSER HASTALIĞI (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ÜZERİNE ANTİBAKTERİYEL ETKİLERİ

ÜNLÜ, Nida

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Anabilim Dalı

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Eminur ELÇİ  
Haziran 2018, 57 sayfa

*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) dünyada karantinaya tabi olan ve domates bitkisinde bakteriyel kanser hastalığına sebep olan önemli bir bakteridir. Organik tarım uygulamalarında hastalıklarla mücadelede bitkisel ekstraktlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, sarı kantaron (*Hypericum perforatum*), okaliptus (*Eucalyptus citriodora*), karanfil (*Dianthus caryophyllus* L), anason (*Pimpinella anisum*) ve hardal (*Brassica nigra*) uçucu yağlarının kültür ortamında Cmm üzerine antibakteriyel etkinliğini belirlemektir. Bu amaçla, Mersin ilinden toplanan 28 adet domates örneğinden izole edilen bakteri izolatları morfolojik, fizyolojik ve moleküler tanı yöntemleri ile incelenmiş, yedi tanesinin Cmm ile enfekteli olduğu teşhis edilmiştir. Uçucu yağların Cmm üzerine etkileri *in vitro* koşullarda disk difüzyon metodu ile araştırılmış ve sonra en etkin miktar belirleme çalışması antibiyogram disklerinin petri kapağına yapıştırılması yöntemi ile belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, Cmm bakterisi üzerine okaliptus yağının etkili olduğu, en etkili miktarın 25 µl yağ ve 23 mm inhibisyon zon çapı olduğu tespit edilmiştir ve bitki uygulamaları yapılmıştır. Bu sonuçlara göre, okaliptus yağının Cmm gelişimini inhibe ettiği ve bakteri ile mücadelede kullanılabileceği ortaya konulmuştur.

*Anahtar Sözcükler:* Domates, bakteriyel kanser, PCR, sekanslama, uçucu yağ, disk-difüzyon, okaliptus, mücadele

## SUMMARY

### ANTIBACTERIAL EFFECTS OF PLANT EXTRACTS ON TOMATO BACTERIAL CANCER DISEASE (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)

ÜNLÜ, Nida

Nigde Ömer Halisdemir University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Plant Production and Technologies

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Eminur ELÇİ

June 2018, 57 pages

*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) is an important bacteria which subjected to quarantine list in the world and causes bacterial cancer disease in tomato. Plant extracts are widely using for management of diseases under organic agriculture practices. This study was conducted to determine the antibacterial activity of cilantro oil (*Hypericum perforatum*), eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*), clove (*Dianthus caryophyllus* L.), anise (*Pimpinella anisum*) and mustard (*Brassica nigra*) oils on Cmm. In this study, morphological, physiological and molecular diagnostic assays were performed on 28 suspicious samples collected from Mersin province and as a result seven of them were detected as Cmm. The most effective essential oil on Cmm was determined by disc-diffusion method under *in vitro* conditions and the inhibition zone diameters were measured. After determination, the most effective quantity was applied by sticking the antibiogram discs to the petri dishes and applied on plant surfaces. It was found that eucalyptus oil was effective on Cmm and the most effective dose was 25 µl with 23 mm inhibition zone. Based on these results, it can be concluded that eucalyptus essential oils can be used for management of control strategies on Cmm.

**Keywords:** Tomato, bacterial cancer, PCR, sequencing, essential oil, disc-diffusion, eucalyptus, disease management

## ÖN SÖZ

Çalışmamın, tez konusunun belirlenmesinden sonuçlanmasına kadar her aşamasında desteğiyle bana yardımcı olan, bilimsel gelişimime tecrübe ve önerileriyle katkıda bulunan danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Eminur ELÇİ' ye en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, hastalıklı bitki örneklerinin toplanması konusunda desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Çiğdem ULUBAŞ SERÇE' ye ve pozitif bakteri örneğinin temini için Prof. Dr. Yeşim AYSAN' a (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji anabilim dalı) teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezimin moleküler kısmında benden yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Qurat-ul-Ain SAJİD' e, tez çalışmalarım sırasında zamanını ve desteğini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Öğr. Gör. Elif CANPOLAT' a ve Arş. Gör. Keziban Sinem TULUKOĞLU KUNT' a en içten teşekkürlerimi sunarım. Bu süreçte manevi desteklerini esirgemeyen ve bu günlere gelmemde her zaman ve her konuda beni destekleyen sevgili ailem, Osman, Cennet ve Burhan, Fatma Seda ve Elif ÜNLÜ' ye sonsuz teşekkür ederim.



## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
SUMMARY .....	v
ÖN SÖZ .....	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ .....	x
SİMGE VE KISALTMALAR .....	xi
BÖLÜM I GİRİŞ .....	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER .....	3
2.1 Domates .....	3
2.2 Domates Bakteriyel Kanser Hastalık Etmeni .....	7
2.3 Uçucu Yağlar .....	15
2.4 Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etkinliği .....	17
BÖLÜM III MATERYAL METOT .....	23
3.1 Materyal .....	23
3.1.1 Bitki materyali .....	23
3.1.2 Uçucu yağlar .....	23
3.1.3 Bitki patojeni .....	23
3.1.4 Kullanılan besiyerler .....	23
3.2 Metot .....	24
3.2.1 Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması .....	24
3.2.2 Domates bakteriyel kanser hastalığı etmeninin izolasyonu .....	24
3.2.3 Domates bitkilerinin yetiştirilmesi .....	25
3.2.4 Patojenite testi .....	26
3.2.5 Cmm izolatlarının moleküler tanısı .....	27
3.2.6 Bitkisel uçucu yağların antibakteriyal etkisinin saptanması .....	28
3.2.6.1 Disk difüzyon tarama yöntemi .....	28
3.2.6.2 Uçucu yağın en etkili miktarının belirlenmesi .....	29
3.2.7 Uçucu yağların farklı kombinasyonlarının domateste Cmm'ye etkisi .....	29
BÖLÜM IV BULGULAR VE TARTIŞMA .....	31

4.1 Hastalıklı Domates Bitkilerinin Toplanması .....	31
4.2 Domateste Bakteriyel Kanser Hastalığı Etmeninin İzolasyonu.....	32
4.3 Patojenite Testi .....	34
4.4 Cmm İzolatlarının Moleküler Tanısı .....	35
4.5 Bitkisel Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkisinin Saptanması.....	37
4.5.1 Disk difüzyon tarama yöntemi.....	37
4.5.2 Uçucu yağın en etkili miktarının belirlenmesi .....	38
4.6 Uçucu Yağların Farklı Kombinasyonlarının Domateste Cmm'ye Etkisi .....	40
BÖLÜM V SONUÇLAR.....	43
KAYNAKLAR .....	45
ÖZGEÇMİŞ .....	57



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Dünyada başlıca önemli ülkelerin domates üretim alanı ve üretim miktarı .	4
Çizelge 2.2. Türkiye’de ihracatı yapılan önemli bitkisel ürünler .....	5
Çizelge 4.1. Domates bitkilerinden elde edilen izolatlar ve izole edildikleri yerler.....	33



## FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Fotoğraf 2.1. Sağlıklı domates bitkisinin görünümü .....	3
Fotoğraf 2.2. Domates bitkisinde Cmm' in yapraklarda oluşturduğu simptomlar .....	9
Fotoğraf 3.1. Örneklerin yüzey dezenfeksiyonu.....	25
Fotoğraf 3.2. Çizgi ekim yöntemi .....	25
Fotoğraf 3.3. Viyolde gelişen domates fideleri.....	26
Fotoğraf 3.4. Saksılara şaşırtilan domates fideleri.....	26
Fotoğraf 3.5. Domates bitkisine gövdeden steril kürdan ile bakteri inokulasyonu .....	27
Fotoğraf 3.6. Bakteri inokule edilen bitkilerin polietilen torba içerisindeki görüntüsü..	27
Fotoğraf 3.7. Domates bitkilerine uçucu yağ uygulanması .....	30
Fotoğraf 4.1. Domates bitkisinde bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı etmeninin bitkide yaptığı belirtiler.....	32
Fotoğraf 4.2. Besiyerinde gelişen sarı koloniler .....	33
Fotoğraf 4.3. Domates bitkilerinde yapılan patojenite testi sonucunda bitki gövdesinde inokulasyon yapılan bölgede oluşan gövde çatlamaşı .....	34
Fotoğraf 4.4. Domates bitkisinde patojenite testi sonucunda bitkide oluşan solgunluk.	35
Fotoğraf 4.5. PCR sonucu jel analizi görüntüsü .....	36
Fotoğraf 4.6. DNA dizi analizi sonuçları.....	36
Fotoğraf 4.7. 16S rDNA BLAST analizi .....	36
Fotoğraf 4.8. Okaliptus yağının pozitif kontrol üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu.	37
Fotoğraf 4.9. Okaliptus yağının uygulanan farklı dozlarının engelleme zon görüntüsü	39
Fotoğraf 4.10. Okaliptus uçucu yağının bitkiye uygulanması .....	40
Fotoğraf 4.11. Bakteri uygulanıp 48 saat sonra uçucu yağ uygulanan domates bitkilerinin 15 gün sonraki görüntüsü.....	41
Fotoğraf 4.12. Uçucu yağ uygulanıp üzerine bakteri solusyonu uygulanan domates bitkisinin 15 gün sonraki görüntüsü.....	42

## SİMGE VE KISALTMALAR

### Simgeler

mm	Milimetre
g	Gram
mL	Mililitre
m	Metre
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
g (rpm)	Yerçekimi (Dakika Başına Dönüş Sayısı)
µl	Mikrolitre
nm	Nanometre
pH	Alkalilik ve asitlik faktörü

### Kısaltmalar

FAO	Food and Agricultural Organization
KB	King's medium B
NA	Nutrient Agar
DNA	Deoksiribonükleikasit
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pv	Pathovar
Cmm	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>
NB	Nutrient Broht
DMSO	Dimethylsulphoxide

## BÖLÜM I

### GİRİŞ

Domates, patlıcangiller familyasından, meyvesi yenen tek yıllık ve kazık köklü bir bitki olup anavatanı Amerika'nın orta ve güney bölümleridir. Dünya üzerinde ilk yetiştirildiği bölge olarak And Dağları ile Peru, Ekvator ve Bolivya bölgelerinin arasında kalan bölgede yetiştiriciliği yapıldığı bilinmektedir. Ilıman kuşakta bulunan ülkemizin bütün bölgelerinde domates yetiştiriciliği yapılabilmesine rağmen Karadeniz Bölgesi'nin çok fazla yağış alan bazı alanlarında yetiştiriciliği yapılamamaktadır (Akat, 2008). Domates genellikle taze şekilde tüketilebilmesinin yanı sıra salça, konserve, ketçap, turşu vb. ürünler yapılarak da tüketilebilmektedir (Kabaş vd., 2010).

Giderek artan dünya nüfusunun tükettiği birçok gıda maddesine hammadde olan domatesin dünyada ve ülkemizde üretimi giderek artmaktadır. Ülkemiz, üretilen domates miktarı ile diğer dünya ülkeleri arasında dördüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2016). Domates, ülkemizde salçalık ve sofralık olarak üretilmektedir. Sofralık domates üretimi özellikle Akdeniz, Ege ve Marmara bölgelerinde önemli derecede yapılmaktadır. Salçalık domates ise özellikle Ege ve Doğu Marmara bölgelerinde yoğun şekilde yetiştirilmektedir (TÜİK, 2017).

Domates yetiştiriciliği sırasında karşılaşılan hastalık ve zararlılar ciddi sorunlar oluşturmaktadır. Gerek örtü altı gerekse açık koşullarda yetiştirilen domateslerde kalite ve ürün kaybında biyotik ve abiyotik faktörler önemli derecede etki etmektedir. Etkisi açısından en önemli biyotik etmenler bakteriler, funguslar, virüsler ile nematodlar, kemirgenler, sümüklü böcekler gibi zararlılardır (Aktaş, 2015). Domates bitkisinde hastalığa neden olan bakteriyel etmenler incelendiğinde; Domates Bakteriyel Benek hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*), Domates Bakteriyel Leke Hastalığı (*Xanthomona campestris* pv. *vesicatoria*), Domates Gövde Öz Nekrozu (*Pseudomonas corrugata*), Domateslerde Bakteriyel Yaprak Çürüklüğü (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*), Domates Bakteriyel Kanser ve Solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) hastalıkları ilk sıralarda yer almaktadır (Akat, 2008). Domates Bakteriyel Kanser ve Solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) (Cmm) Hastalığı, bakteriyel hastalıklar içinde önemli ekonomik kayba ve bitkide önemli

tahribata neden olan hastalıklar içinde önemli bir sırada yer almakta olup karantinaya tabii bir patojendir (Çetinkaya Yıldız, 2007).

Cmm domates bitkisinde sistemik olarak yayılan bir hastalık etmeni olduğu için genel olarak enfekteli tohumlarla taşınmaktadır. Sonraki yıl üretim yapılan alanlara enfekteli topraklar ve hastalıklı bitki artıkları ile taşınarak önemli derecede ürün kaybına neden olmaktadır (Belgüzar vd., 2016a). Bitkide en önemli belirtisi olan solgunluk ilk olarak yaşlı yapraklarda başlar. İletim demetleri aracılığıyla taşınan hastalık ksilemden sonra floeme geçerek iletim demetlerinde kahverengileşmeye neden olmaktadır (Çetinkaya Yıldız ve Aysan, 2008). Domates yetiştirilen alanlarda Cmm ile mücadele etmek için bir çok çalışma yapılmıştır. Dayanıklı bitki çeşidi geliştirilememesi, etkili bir kimyasal maddenin bulunmayışı ve bakteriyel etmenlerin kimyasallara kısa sürede duyarlılık kazanması gibi etmenlerden dolayı hastalık günümüzde önemini kaybetmemiştir. Hastalıkla mücadele de etkili bir kimyasal mücadele yöntemi bulunmamasından dolayı kültürel, fiziksel ve ekolojik mücadele yöntemleri önerilmektedir. Dünyada ve ülkemizde hastalık ve zararlılarla mücadele etmek için çok miktarda kimyasal madde kullanılması insan, bitki, çevre sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sebep olmasından dolayı kimyasal mücadeleye alternatif olan ekolojik mücadele yöntemlerini karşımıza çıkarmaktadır. Bu bağlamda hastalık ve zararlılarla mücadelede fiziksel, kültürel, mekanik, biyolojik ve organik mücadele yöntemleri esas alınmaktadır (Yılmaz, 2014). Bu mücadele yöntemleri arasında ekolojik dengeye zarar vermeyen ve doğada kolay kaybolabilen uçucu yağlar ön plana çıkmaktadır (Yılmaz vd., 2014). Uçucu yağların yapısında bulunan bileşenlerden dolayı bakteriyel hastalıklar kolay bir şekilde dayanıklılık geliştirememekte ve bu bileşenlerin bazıları hastalıklar üzerinde antimikrobiyal etki göstermektedir (Çelik ve Çelik, 2007). Uçucu yağların Cmm üzerine antibakteriyel etkisinin konu alan çalışmalar bulunmaktadır (Basım vd., 2000; Daferera vd., 2003; Iacobellis vd., 2005; Kızıl ve Uyar, 2006; Soylu vd., 2005; Yılmaz vd., 2014).

Bitkisel ekstraktların biyolojik mücadelede antibakteriyel özelliğinden dolayı kullanılmasına rağmen yapılan literatür çalışmalarında Cmm hastalık etmenine karşı mücadelede çok az çalışma yapılmıştır. Bu nedenden dolayı yapılan bu çalışmada Cmm hastalık etmenine karşı mücadelede bitkisel ekstraktların kullanım etkinliğinin saptanması amaçlanmıştır.

## BÖLÜM II

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1 Domates

Domates (*Solanum lycopersicum* L.), patlıcangiller (*Solanaceae*) familyasından, yaprakları tüylü, çiçek yapısı salkım şeklinde olan genelde kırmızı meyvesi için üretilen tek yıllık bir bitkidir. Önceleri zehirli olduğu düşünüldüğü için tüketilmeyen domatesin anavatanı Orta ve Güney Amerikadır (Kabaş vd., 2010). Günümüzde kültür bitkisi olarak yetiştirilen domateslerin ana materyali *L. peruvianum* olduğu ama *L. pimpinellifolium*, *L. hirsutum* ve *L. peruvianum* çeşitlerinden de yararlandığı bilinmektedir (Vural vd., 2000). Domatesin Anadolu'daki geçmişi ortalama 150 yıl olup I. Dünya Savaşı dönemlerinde etkinliğinin arttığı bilinmektedir (Demiray ve Tülek, 2008).

Kuvvetli bir kök yapısı olan domates dallanmış bir kazık kök sistemine sahiptir (Fotoğraf 2.1.). Yaprakları tüylü yapıda olan domates kendine döllen bir bitkidir (Vural vd., 2000). İklim seçiciliği çok olmayan domatesin sıcak ve ılıman iklimleri sevdiği bilinmektedir. Yüksek hava nemini sevmeyen domatesin sıcaklık isteği ise gündüz 9-26 °C, gece 14-18 °C olup bu sıcaklıklarda gelişiminin en üst seviyeye çıktığı bilinmektedir. Toprak isteği fazla seçici olmayan domates su tutma kapasitesi yüksek, humuslu, besin değeri yüksek ve pH'ı 5,5-7,0 olan toprakları sevmektedir (Kabaş vd., 2010).



**Fotoğraf 2.1.** Sağlıklı domates bitkisinin görünümü



Tam olarak olgunlaşmış bir domates meyvesinin % 90-95'ini su oluşturmaktadır. Bunun yanında karbonhidratlar (glikoz, früktoz, sakkaroz), organik asitler, inorganik bileşenler, likopen ve  $\beta$ -karoten, alkolde çözünemeyen katı bileşikler (proteinler, selüloz, pektin, polisakkaritler), amino asitler, fenolik bileşenler, askorbik asit ve uçucu bileşikler domates meyvesinin yapısında bulunmaktadır (Petro-Turza, 1986).

Domates bünyesinde A, C, B1 ve B6 vitaminleri, kalsiyum, potasyum barındırması bakımından dünyada ve ülkemizde oldukça fazla tüketilen, üretilen ve gıda sanayisinde de önemli yer tutan besin maddelerinden birisidir (Akat, 2008). Domates ve domatesten yapılan ürünlerin barındırdığı zengin bileşenlerin insan sağlığı üzerinde de önemli bir yere sahip olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Özellikle prostat kanseri gibi bazı kanser türlerini ve kardiyovasküler hastalıkları önlemede önemli derecede etkili olduğu bulunmuştur (Çapanoğlu ve Boyacıoğlu, 2010).Yapısında bulunan fenolik bileşiklerden likopen ile karotenoidler gibi antioksidan maddelerden dolayı epitel kanserlerine karşı da koruyucu bir etki gösterdiği bildirilmektedir (Muratore vd., 2008).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (Food and Agriculture Organisation of the United Nations: FAO) bildirdiğine göre dünyada ve ülkemizde yaş sebze ürünlerinin en önemlilerinden biri olan domatesin, dünyada 177.042.359 ton üretim miktarının 12.600.000 tonu ülkemizde üretilmektedir (FAO, 2016). Ülkemiz, üretilen domates miktarı ile dünyada Çin, Hindistan, ABD'den sonra dördüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2016). Dünyada başlıca önemli ülkelerin domates üretim alanı ve üretim miktarı Çizelge 2.1. de verilmiştir. Bu değerlere bakıldığında üretim alanı ile alınan verimin doğru orantılı olamadığı sonucuna varılmaktadır. Sebebi ise iklim, toprak kalitesi, bitki besleme gibi etkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

**Çizelge 2.1.** Dünyada başlıca önemli ülkelerin domates üretim alanı ve üretim miktarı (FAO, 2016)

ÜLKE	ÜRETİM ALANI (ha)	ÜRETİM MİKTARI (ton)
ÇİN	1.003.992	59.423.811
HİNDİSTAN	760.000	18.399.000
ABD	188.270	13.038.410
TÜRKİYE	144.410	12.600.00
MISIR	199.712	7.943.285
İTALYA	103.940	6.437.572
İRAN	159.123	6.372.633
İSPANYA	54.203	4.671.807

Domates, ülkemizde salçalık ve sofralık olarak üretilmektedir. Sofralık domates üretimi 8.789.719 ton olup; özellikle Akdeniz ve Ege bölgelerinde önemli derecede üretim yapılmasıyla beraber büyük çoğunluğu Antalya, Mersin, Tokat, Muğla, Çanakkale, Bursa, İzmir, Manisa illerinde üretilmektedir. Salçalık domates ise 3.960.281 ton olup özellikle Ege ve Doğu Marmara bölgelerinde yoğun şekilde yetiştirilmektedir ve illere bakıldığında Bursa, Manisa, İzmir, Balıkesir, Şanlıurfa, Çanakkale, Antalya, Muğla, Adana illerimizde üretim yapılmaktadır (TÜİK, 2017). Domates ihracatı da ülkemize büyük katkılar sağlamaktadır ve bu yönüyle ele alındığında kiraz, üzüm, limon, mandalina, portakal, biber, elma, patates, fındık, gibi ihracat ürünlerinin 1.246.147 tonla başında yer almaktadır (TÜİK, 2016). Türkiye’de ihracatı yapılan önemli bitkisel ürünler Çizelge2.2. de verilmiştir.

**Çizelge 2.2.** Türkiye’de ihracatı yapılan önemli bitkisel ürünler (TÜİK, 2016)

<b>İhraç Edilen Ürün</b>	<b>İhraç Edilen Ürün Miktarı (ton)</b>
Domates	1.246.147
Üzüm	1.231.444
Elma	754.055
Mandalina	716.653
Portakal	715.546
Fındık	519.332
Limon	502.584
Patates	428.754
Kiraz	91.068
Biber	198.014

Ülkemiz ılıman iklim kuşağında bulunmasından dolayı birçok sebze çeşidi yetiştirilebilmektedir. Bunların içinde en önemlilerinden biri olan domates hem açık arazide hem de örtü altında yetiştirilebilmektedir (Sarikoç Çıtırıkaya, 2010). Domatesin 90-150 gün gibi kısa vejetasyon süreci olan hızlı gelişen bir bitki olması Mayıs-Ekim aylarında tarlada, Ekim-Haziran ayları arasında ise örtü altında yetiştiriciliğinin yapılmasına olanak sağlamaktadır. Artan dünya nüfusunun besin ihtiyacını karşılamada önemli bir yeri olan domatesin iklim seçiciliğinin az olması, kolay bir şekilde yapılabilen ticaretinden dolayı dünyada ve ülkemizde ekonomi üzerindeki etkisi oldukça fazladır.

Dünyada ve ülkemizde domates üretimi patatesten sonra en çok üretilen sebze domateştir. Bu kadar çok üretilen ve tüketilen, taze ve işlenmiş olarak bir çok alanda kullanılan bu sebzenin yetiştiriciliği sırasında karşılaşılan hastalık ve zararlılar ciddi sorunlar

oluşturmaktadır. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de gereğinden fazla kimyasal kullanımı çevre sağlığı ve ekolojik dengede kötü sonuçlara neden olduğu gibi canlılar üzerinde de olumsuz sonuçlara neden olmaktadır. Bu bağlamda doğal dengeye, insan ve çevre sağlığına duyarlı üretim yöntemlerinden organik tarım karşımıza çıkmaktadır. Organik tarım birçok bitki üzerinde uygulanmaktadır ama tüketim miktarına ve kullanım alanlarının yaygınlığına baktığımızda domates en önemlilerinden biri olmaktadır. Kullanılan kimyasallar domateste ki yararlı maddelerin gücünü azaltmaktadır bu yüzden organik tarıma yönelim artmaktadır. Organik tarımda toprak canlılığı verime çok fazla etki eder. Organik domates yetiştiriciliğinde ürün kalitesini arttırmak ve bitkiden yüksek verim almak için; kaliteli tohum kullanımı, sağlıklı fide kullanımı, toprak hazırlığı ve gübreleme, dikim yeri hazırlama ve dikim gibi uygulamalar önemli yer tutar. Organik tarımda bitkinin hastalık ve zararlılara karşı direncini etkileyen en önemli faktör strestir. Bitkiyi stresten korumak için hastalıktan arı fide ve tohum kullanılması hastalıkla mücadelede ilk önlem olarak önerilir. Toprağın pH'ını bitkinin isteği doğrultusunda tutmak için iyi bir toprak işleme ve dengeli gübreleme, üretim yapılan alana hava giriş çıkışının iyi olması ve bitkinin iyi ışık alması için sıra aralıklarının düzgün şekilde ayarlanması ve özellikle yeşil gübrelemeye önem verilmesi diğer önlemler olarak önerilir (Özer, 2016).

Gerek örtü altı gerekse açık koşullarda yetiştirilen domateslerde kalite ve ürün kaybında biyotik ve abiyotik faktörler önemli derecede etki etmektedir. Etkisi açısından en önemli biyotik etmenler yabancı otlar, bakteriler, funguslar, virüsler (hastalık etmenleri), nematodlar, kemirgenler, akarlar, sümüklü böcekler (hayvansal organizmalar)' dir (Aktaş, 2015). Domates yetiştiriciliğini kısıtlayan bazı hastalıklar aşağıda sıralanmıştır.

Virüs hastalıkları; domates mozaik virüs hastalığı (*Tomato mosaic virus*), domates lekeli solgunluk virüs hastalığı (*Tomato spotted wilt virus*), hıyar mozaik virüs hastalığı (*Cucumber mosaic virus*), domates sarı yaprak kıvrıcılık virüsü hastalığı (*Tomato yellow leaf curl virus*)' dir.

Fungal hastalıklar; külleme hastalığı (*Leveillula taurica*), erken yanıklık hastalığı (*Alternaria solani*), domateste kurşuni küf hastalığı (*Botrytis cinerea*), domates mildiyösü hastalığı (*Phytophthora infestans*), domates yaprak küfü hastalığı (*Cladosporium fulvum*), kök boğazı yanıklığı hastalığı (*Phytophthora capsici*) ve fidelerde kök çürüklüğü

(çökerten) hastalığı (*Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Sclerotinia* türleri)'dir.

**Bakteriyel hastalıklar:** domateste bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*), domates bakteriyel benek hastalığı *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*), domates bakteriyel kara leke hastalığı (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*), domates bakteriyel solgunluk hastalığı (*Ralstonia solanacearum*), domateste stolbur (*Phytoplasma* türleri) ve domates öz (gövde) nekrozu hastalığı (*Pseudomonas corrugata*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas cichorii*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas mediterranea*, *Erwinia carotovora*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, subsp. *Atroseptica* ve *Erwinia chrysanthemi*)'dir (Scortichini, 1994). Bu hastalıklar içinde önemli ekonomik kayba ve bitkide önemli tahribata neden olan domates bakteriyel kanser ve solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) hastalığıdır (Çetinkaya Yıldız, 2007).

## 2.2 Domates Bakteriyel Kanser Hastalık Etmeni

Domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı ilk olarak ABD'nin, Michigan eyaletinde, 1909 yılında saptanmış ve domates yetiştiriciliğinin yapıldığı hemen her bölgede görülmüştür (Gleason vd., 1993). Güney Amerika'dan dünyanın diğer bölgelerine yayılan Cmm hastalık etmeninin varlığı Azerbeycan, Çin, Hindistan, İran, İsrail, Türkiye (Asya ülkeleri); Mısır, Kenya, Tunus, Uganda (Afrika ülkeleri); Kolombiya, Amerika Birleşik Devletleri (Kuzey Amerika ülkeleri); Arjantin, Brezilya, Ekvator, Peru, Uruguay (Güney Amerika ülkeleri) gibi ülkelerde rapor edilmiştir (EPPO, 1992). Tokgönül (1998)'ün çalışmasına göre ilk olarak İç Anadolu bölgesinde (Bremer vd., 1952) saptandıktan sonra, Güney Doğu Anadolu (Bremer vd., 1952), Marmara (Karahana, 1965) ve Ege bölgesinde (Karaca ve Saygılı, 1977), Doğu Akdeniz (Çınar, 1980), Elazığ, Diyarbakır ve Mardin'de (Ulukuş, 1982), Ankara ve Eskişehir'de (Öktem, 1985), Doğu Anadolu bölgesinde (Şahin vd., 2002), Batı Akdeniz bölgesinde (Basım vd., 2004), İzmir (Özdemir, 2005), Adana ve Mersin (Çetinkaya Yıldız, 2007), Tokat (Belgüzar vd., 2016a)' ta hastalık tespit edilmiştir.

Cmm Prokaryota alemi, *Firmicutes* bölümü, *Thallobacteria* sınıfı, *Microbacteriaceae* familyası, *Clavibacter* cinsi içerisinde yer almaktadır (Agris, 2005). Etmen ilk önce

*Bacterium michiganense*, *Aplanobacter michiganense*, *Pseudomonas michiganense*, *Phytomonas michiganensis*, *Mycobacterium michiganensis*, *Corynebacterium michiganense* olarak adlandırılmış ve en son 1980'de Cmm olarak adlandırılmıştır. Domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalık etmeni bakterisi *Solanaceae* familyasından olan biber (*Capsicum annum* L.) ve patlıcanda (*Solanum melongena*) da hastalık oluşturabilmesine rağmen en çok kalite ve verim kaybına sebep olduğu kültür bitkisi domatesdir (Forster ve Echandi, 1973; Gleason vd., 1993). Cmm'nin domateste başlıca hastalık belirtileri; yanıklık, bitkide tek taraflı solgunluk (Fotoğraf 2.2.a), yaşlı yapraklarda solma (Fotoğraf 2.2.b), gövdede renk değişimidir (Tireng Karut, 2011).

Bitkiye giriş yoluna göre Cmm hastalık etmenin belirtileri değişiklik göstermektedir. Sistemik enfeksiyon belirtileri, hastalık etmeni tohum veya herhangi bir nedenden dolayı açılan yaralardan doğrudan iletim demetleri içerisine taşınırsa ortaya çıkabilmektedir. Enfekte olmuş bitkide ilk belirti solgunluktur (Çetinkaya Yıldız, 2007). Sistemik olarak hastalandırılan bitki eğer genç fide döneminde ise hızla solar ve çöker, yaşlı bitkilerde ise solgunluk belirtileri yavaş gerçekleşir. Hastalıklı gövde kesildiği zaman iletim demetlerinin başlarda sarımsı (Fotoğraf 2.2.d) bir renk aldıkları, daha sonra kahverengiye döndükleri gözlenir. Ksilemden kolayca parankima hücrelerine ve floeme yayılan hastalık etmeni enfekteli gövdede başlangıçta sarı, daha sonra açık kahverengi rengine dönen çizgiler şeklinde belirti oluşturur. Zamanla koyulaşan bu çizgilerde nadiren çatlama ile son bulur. Eğer hastalık etmeni doğal açıklıklar veya tüylerin kırılması ile açılan yaralardan giriş yapmışsa, ilk olarak yapraklarda küçük lekelenmeler ve nekrozlar (Fotoğraf 2.2.c) ile belirti oluşturmaya başlar. Oluşan lekeler zamanla genişler yaprağı hatta tüm gövdeyi kaplayabilir. Taze olarak tüketilen domateslerde kalite çok önemli olduğundan, meyvelerde "Kuş Gözü" lekesi olarak bilinen hastalık belirtisi meyvenin pazar değerini düşürür. Kuşgözü lekeleri başlangıçta kabarık, küçük ve yuvarlak olup, sonra etrafları beyaz bir hale ile çevrilir ve zamanla kahverengileşir. Hastalık bitkide zamanla ilerledikçe meyve iletim demetlerinde sarılaşma ve kahverengileşme görmek mümkündür (Çetinkaya Yıldız, 2007).



a



b



c



d

**Fotoğraf 2.2.** Domates bitkisinde Cmm' in yapraklarda oluşturduğu belirtiler tek taraflı solgunluk (a), yaşlı yapraklarda solgunluk (b), oluşan nekrotik lekeler (c), iletim demetlerinde kahverengileşme (d)

Cmm sistemik yayılan bir hastalık etmeni olduğu için genel olarak tohumlarla taşınmaktadır. Bitki artıklarında ve toprakta bir buçuk yıla kadar yaşayabilen Cmm (Fatmi ve Schaad, 2002); enfekteli toprak, topraktaki enfekteli bitki artıkları, yabancı otlar, enfekteli tohumlar, etmen ile temas eden her türlü alet (tohum ekme makinesi, budama makinesi, aşılama makinesi vd.) ile taşınabilmektedir (Gleason vd., 1991). Bir sonraki üretim döneminde bu yollarla taşınarak önemli derecede ürün kaybına neden olmaktadır (Belgüzar vd., 2016a). Enfekteli tohumlar ile yayılan bir hastalık etmeni olduğu için ülkemizde uygulanmakta olan karantina düzenlemeleri dahilinde iç ve dış karantina kapsamındadır. İthalatla yabancı ülkelerden satın aldığımız fide ve tohum gibi

bitki üretim materyallerinin hastalıkla bulaşık olup olmadığını anlamak için detaylı incelemeler yapılması şarttır. Türkiye’de 308 sayılı Tohumluk Sertifikasyonuna bağlı yönetmelikte domates tohumları ile ilişkili kısımda üzerinde durulan hastalık etmeninin erken dönemde bitkide tanısı oldukça önemlidir. Tohumda kabul derecesi sıfır olmasından dolayı ithal edilen tohum ve fidelerin bu hastalık etmeni karşı dikkatli şekilde incelenmesi büyük önem arz etmektedir (Uyar, 2011).

Hastalıkla mücadelede; hastalıktan ari tohum ve fide kullanımı başta olmak üzere kültürel mücadele yöntemi, uç alma, koltuk kırma, yaralanmalar ve dolu zararından dolayı oluşan açıklıklardan bulaşmayı önlemek için bakırlı preparatlar önerilmesi gibi kimyasal mücadele yöntemi, tohumlarda her hangi bir hasara yol açmadan hastalık etmenini yok etmek için kullanılan sıcak hava uygulaması gibi fiziksel mücadele yöntemi ve en önemli mücadele yöntemi olarak kullanılan biyolojik mücadele yöntemi gibi yöntemler günümüzde kullanılmaktadır (Tireng Karut, 2011). Cmm ile mücadelede etkili bir kimyasalın olmaması ve günümüzde ticari kaygılardan dolayı izin verilenden daha fazla miktarda kullanılan kimyasalların kötü sonuçlarından dolayı kimyasal mücadeleye alternatif uygulamalar kullanılmaktadır (Belgüzar vd., 2016a).

Ülkemizde domates yetiştiriciliğinin yaygın olduğu alanlarda çeşitli zamanlarda survey çalışmaları yürütülmüştür. Öktem ve Benlioğlu (1993), yaptıkları çalışmada Afyon, Ankara, Bolu, Burdur, Çankırı, Eskişehir, Isparta, Kayseri, Kırşehir, Nevşehir, Yozgat, Zonguldak illerinden 354 hastalıklı bitki örneği toplamışlardır. Afyon hariç diğer illerde toplam 56 tane Cmm izolatu elde etmişlerdir. Benzer şekilde, Kahveci ve Gürcan (1993), Antalya’nın ilçelerinde Elmalı, Kaş, Manavgat, Serik, Korkuteli, Kumluca, Alanya’da yaptıkları araştırmalar sonucu Cmm hastalık etmenini bulmuşlardır. (Aksoy, 2002), çalışmada Samsun İlinin 8 ilçesinde toplam 1037.9 dekar alan gezilerek Samsun’da domateslerin bakteriyel bitki hastalıkları ile enfeksiyon durumunu belirlenmiştir. Toplanan bitki örneklerinin %0.64’ünün Cmm ile enfekteli olduğu saptanmıştır. Özdemir (2005)’in yaptığı çalışmada İzmir ilinde domates yetiştirilen alanlarda meyvelerde Cmm hastalık etmenini saptamıştır. Belgüzar vd. (2016a), yapılan çalışmada Tokat ilinin yoğun şekilde domates yetiştiriciliği yapılan bölgelerinde surveyler yapmışlardır. Survey sonucunda toplanan hasta bitki örneklerinden elde edilen izolatların morfolojik, fizyolojik, serolojik, moleküler testleri ile tanılamışlardır. 2011 yılında 99. 2012 yılında

163 tane bakteri izolatu elde etmişler ve bu izolatların 135 tanesini Cmm olarak tanılamışlardır.

Cmm bakterisi ile ülkemizde biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması amacıyla farklı çalışmalar yürütülmüştür. Tokgönül ve Çınar (1999), domates yetiştirilen alanlardaki sağlıklı bitki kök kısımlarından ve birçok madde içeren orman toprağından aldıkları örneklerden 90 tane antagonistik özelliğe sahip olabilecek bakteri (79 adet Actinomycetes, 9 adet fluorescent Pseudomonas, 2 adet Bacillus) izole etmişlerdir. Bu bakterilerin antagonistik özelliğinin varlığını *in vitro* ve *in vivo* koşullarda enfekteli domates tohumlarını kullanarak araştırmışlardır. *In vitro* tohum uygulaması sonucuna göre 27 adet bakterinin petride hastalık etmenini engellediğini rapor etmişlerdir. Bu antagonist bakterilerden Actinomycetes'in Pseudomonas ve Bacillus'a göre daha yüksek etkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Bu antagonist bakterilerden en etkili 7 tanesini seçip *in vivo* koşullarda hastalıklı tohumları hem temiz toprakta hem de hastalık bulaştırılan topraklarda geliştirmişlerdir. Sonuç olarak temiz toprakta hastalık etmeninin gelişimi % 45,5-%100 oranında elde edilirken hastalıklı toprakta % 64,5- % 100 oranını elde etmişlerdir.

Cmm mücadelesinde antagonist kullanımı üzerine diğeri bir çalışmada ise Çetinkaya Yıldız (2007), Adana, Mersin, Antalya, Artvin, Bursa ve İzmir illerinden 57 bakteri izolatının domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni olan Cmm olduğunu bulmuştur. PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacter) kullanımını araştırmak için 499 tane bakteri izolatını 39 farklı toprak örneğinden bulmuştur. Fosforu çözme, azotu bağlama özelliklerine sahip 30 izolat PGPR için seçilmiş ve bunlardan da Cmm'ye karşı 8 izolat etkili olmuştur. Bu çalışma sonucunda PGPR izolatları kullanılmış bitkilerde hastalık oranının düştüğü saptanmıştır. Bu çalışmanın devamı niteliğinde Çetinkaya Yıldız ve Aysan (2014); Mersin, Hatay, Adana, Muğla, Osmaniye illerinden alınan 39 farklı toprak örneğinden 499 tane PGPR olabilecek bakteri izole etmiştir. Bu bakterilerden 30 izolat seçip sonra onların içinden de 8 izolat seçmiştir. Cmm' ye karşı etkinliğini araştırmak için *in vivo* saksı çalışmaları yapmıştır. İki izolatın olumlu sonuç verdiğini bildirmiştir.

Diğeri bir biyolojik mücadele olanakları araştırmasında, Akat (2008), domates köklerinden izole edilen kök bakterilerinin Cmm'ye karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda denemeyi amaçlamıştır. Ege Bölgesindeki domates, fasulye, zeytin ürünlerinin



yetiştirildiği sağlıklı alanlardan izole edilen 49 adet bakterinin antagonistliğini test etmek üzere kullanmıştır. Bu bakteriyel antagonistlerin % 40'ı in vitro testlerde Cmm'yi engellemiştir. Florasan *Pseudomonaslar*'ın en etkili antagonistler olduğunu görmüştür. İn vivo denemesi için on bir izolat seçilmiştir ve iki farklı dönemde tekrar edilmiştir. İlk denemede on bir antagonistin dördü domates tohumlarına uygulandığında Cmm' yi % 54-86 oranında azalttığı sonucuna varmıştır. Tohum uygulamasına ilaveten fide dikimi öncesi köklere uygulama yapılması sadece tohum uygulamasına göre daha iyi sonuçların elde edildiğini saptamıştır.

Tireng Karut (2011), özellikle tohumla taşınan domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığının organik tarımda mücadelesinde; sıcak su, üzüm sirkesi, elma sirkesi, serenade, antagonist bakteri, ISR 2000, sodyum hipoklorit, laktik asit denemeleri yaparak tohum üzerinde etkilerine bakmıştır. Sodyum hipoklorit, sıcak su, elma sirkesi, laktik asit ve üzüm sirkesi tohumdaki bulaşıklığı % 31-100 oranında azalttığı gibi tohumda bulunan bakteri popülasyon yoğunluğunu % 77-100 oranında azalttığını saptamıştır. Ancak bu uygulamaların hepsi tam sonuç vermemiştir. Üzüm sirkesi ve elma sirkesinin en başarılı tohum uygulaması olduğunu rapor etmiştir.

Kasselaki vd. (2011), çalışmalarında özellikle tohumla taşınan Cmm hastalık etmenine karşı alternatif mücadele yöntemlerini araştırmışlardır. Daha önce tohumla taşınan hastalıklara karşı kullanılmayan antagonist *Bacillus spp.* ve asitlendirilmiş nitrit, kompost ekstraktı yöntemlerinin etkinliği açısından incelemişlerdir. Sonuç olarak 300 mmol l-1 acidified nitrit'te on dakika bekletilen tohumların hastalık etmeninden % 98 oranında temizlendiği, kompost ekstraktlarının ve Copper hydroxide'in bazı *Bacillus spp.* türlerine karşı tohumu dezenfekte etme oranının % 100 olduğunu saptamışlardır.

Özyılmaz ve Benlioğlu (2015), antagonist bakterilerin tohum uygulamalarındaki etkisini anlamak için öncelikle yapay olarak domates tohumlarını Cmm ile bulaştırmışlardır. On dakika süspansiyon olmuş bakteride bekletilen tohumdaki bakteri sayısı ve enfekteli tohumdan elde edilen fidedeki bakteri sayısı sayılmıştır ve değerler elde etmişlerdir. Sonuç olarak in vitro ve in vivo koşullarda test edilen 7 antagonist bakterinin üçü in vivo koşullarda Cmm etmenini engellemiştir, altı tanesi ise in vitro koşullarda başarılı olduğu saptanmıştır.

Biyolojik mikroorganizmaların kullanımı yanısıra ülkemizde bazı biyolojik maddelerin Cmm etmenine olan etkileri de araştırılmıştır. Soylu vd. (2003), acibenzolar-S-methyl (ASM)'i Cmm hastalığına karşı domates fidelerinin direncini arttırmak için uygulamışlardır. ASM uygulanan bitkilerde Peroxidase (POX) ve glutathione peroxidase (GPX) enzimleri, dayanıklılığa önemli bir etkisi olan enzimler olarak belirlemişlerdir. ASM uygulanan bitkilerde bu enzimlerin arttığını görmüşlerdir. Sonuç olarak ASM ile muamele edilen bitkilerin hastalık etmenine karşı bir direnç oluşturduğunu belirlemişlerdir.

Benzer şekilde biyolojik maddelerin yanısıra gübrelemenin de etkileri araştırılmıştır. Soykan (2010), Auxigro, EM1, Herbageen, ISR-2000, Messenger, Protamin Cu, Regalia gibi organik-inorganik gübrelerin ve bitki aktivatörünün Cmm'ye karşı etkinliğine bakmıştır. Hazırlanan preparatlar yapraktan, kökten ve her iki bitki organından birlikte olacak şekilde verilmiştir. Serada sadece ISR-2000, Messenger, Auxigro, Herbageen ve Regalia preparatları; açık alanda ise ISR-2000'in etkinlik gösterdiğini saptamıştır. Uygulama kök ve yapraktan birbirini tamamlar nitelikte yapıldığında hastalığa karşı savaşta daha etkili olduğunu saptamıştır.

Basım vd. (2004), Cmm' nin de içinde bulunduğu 13 bakteriyel bitki patojenine (*Agrobacterium tumefaciens*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Agrobacterium vitis*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Pseudomonas corrugata*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Ralstonia solanacearum*, and *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*) karşı polen ve propolis ekstraktlarının etkisini disk difüzyon yöntemi ile araştırmışlardır. 1/5 polen ekstraktına karşı en hassas patojen bakterinin *Agrobacterium tumefaciens* olduğunu belirlemişlerdir. 1/10' lik propolis ekstraktına karşı en hassas bakterinin ise *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* olduğunu tespit etmişlerdir. Polen oranı 1/100, propolis oranı ise 1/1000'e düşürüldüğünde antibakteriyel etkinin en aza indiğini rapor etmişlerdir. Bu çalışma bitki patojen bakterileri üzerine polen ve propolis ekstraktlarının denendiği ilk çalışma olduğunu bildirmişlerdir.

Cmm ile mücadele en etkili yol bakteriye dayanıklı çeşitlerin yetiştirilmesidir. Bu amaçla, Kabaş vd. (2010) domatesin Cmm' ye dayanıklılığını belirlemek ve dayanıklı olanları

islah programlarına dâhil etmek için yurt dışından getirilen LA2157 ve LA407 dayanıklı yabancı türler ile BATEM 1, 2, 3 olan üç saf hat kullanmışlardır. Hastalığı bitkiye bulaştırmak için gövdeye enjeksiyon yöntemi seçmişlerdir.  $10^7$  hücre/ml yoğunlukta süspanse edilmiş bakteriler bitkiye inoküle edilmeden önce 2-3 yapraklı fideler olana kadar sera koşullarında yetiştirmişlerdir. Bu işlemler sonucunda yurt dışından gelen iki materyalin hastalığa karşı dayanıklı olduğunu saptamışlardır. BATEM 1, 2, 3 hatlarının hastalığa karşı hassas olduğunu rapor etmişlerdir.

Cmm dayanıklılığı konusunda diğer bir çalışma, Uyar (2011) tarafından Akdeniz bölgesinde yaygın olarak yetiştirilen bazı domates çeşitlerinin Cmm' ye karşı dayanıklılığını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmasında 93 farklı yerli domates çeşidini ve Antalya' nın Aksu ilçesinden izole edilen Cmm izolatını ( $1 \times 10^8$  cfu/ml) kullanmıştır. Gündüz-gece sıcaklığı  $26/18$  °C olan iklim odalarında yetiştirdiği domates fidelerine insülin iğnesi ile hastalık etmenini bulaştırmıştır. Hastalık belirtilerinin 17. günden itibaren görülmeye başlandığını ve kullandığı 93 çeşidinde Cmm' ye dayanıksız olduğunu bildirmiştir.

Bayan (2011), Cmm ile mücadele dayanıklı çeşit kullanmanın çok önemli olduğunu bildirmişler ve hassas bir domates çeşidi olan NCEBR3 domates tohumları üzerinde kimyasal mutasyon oluşturularak dayanıklı mutant domates bitkileri elde etmişlerdir. Elde edilen bu bitkilere Cmm hastalık etmenini inoküle etmişlerdir ve ilk hafta her gün, 14, 21 ve 28 gün sonra bitkilerden alınan yapraklardan ekstrakt elde edilerek fenolik bileşikler p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit, rutin, kuersetin, naringenin, kaemferol ve klorjenik asit miktarları belirlenmiştir. Daha önce hep meyvede analiz edilen bu bileşiklerin bitki yapraklarında da üretildiği tespit edilmiştir. Ayrıca mutant bitkilerde bazı bazı fenolik bileşiklerin miktarlarının hassas NCEBR3 domates ve kontrollere göre çok fazla miktarda oluşturulduğu saptanmış olup bunun bitkilerin dayanıklılığından dolayı olduğunu rapor edilmiştir.

Çalış vd. (2013), de çalışmalarında Cmm mücadelesinde kimyasal ve kültürel mücadele yöntemleri yetersiz olup en uygun yöntem dayanıklı çeşit kullanımı olduğunu bildirmişlerdir. Orijinal domates hattı olan EBR3 kimyasal mutasyona uğratılmış ve Cmm 2' ye karşı dayanıklılık sağlayan M3-9 ve M3-15 hatlarını elde etmişlerdir.

Rivas-Cáceres vd. (2018), Meksika’da toplam sebze üretiminin % 78’ ini domatesin oluşturduğunu ama domates üretiminin Cmm hastalığının ortaya çıkması ile kötü bir şekilde etkilendiğini bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada gümüş nanoparçacıklarının bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına karşı bakterisit olarak kullanılmasını araştırmışlardır. Doz artışının öldürme gücüne bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak gümüş nanopartiküllerinin Cmm’ye karşı önlem ve mücadelede önemli bir inhibitör ve bakterisit olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

### **2.3 Uçucu Yağlar**

Doğada bulunan birçok bitki türü çok uzun zamanlardan günümüze kadar tedavi amaçlı kullanılmıştır. Şifalı bitkiler olarak bilinen bir çok bitki türü dünyada olduğu gibi ülkemizde de birçok kez denenerek bulunmuş ve hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır (Benli ve Yiğit, 2005). Kökleri ile toprağa tutunarak hareketsiz bir şekilde canlılıklarına devam eden bitkiler diğer organizmalarla karşılaştırıldıklarında dışarıdan gelen tehditlere karşı daha fazla savunmasızdırlar. Hayvanlarda bulunan bağışıklık mekanizması kendilerine enfekte olan mikroplara karşı bir savunma sistemidir. Bu mekanizma bitkilerde bulunmadığı için farklı kimyasallarla dolu salgı tüyleri, dikenler, delinemeyecek kadar sert olan kabuklar ve ürettikleri sekonder metabolitler gibi bazı morfolojik ve mekanik savunma mekanizmaları bulunmaktadır (Benli ve Yiğit, 2005; Kocaçalışkan, 2006; Wink ve Schimmer, 2010). Bunun yanında bitkiler ürettikleri bazı sekonder metabolitlerle savunma mekanizmalarını daha güçlü hale getirmeye çalışmaktadırlar.

Sekonder metabolitler; sayıları oldukça fazla olan glikozitler, alkaloidler, peptitler, aminler, siyanojenik alkaloidler, protein olmayan aminoasitler ve glikosinolatlar gibi azot içeren ve terpenler, poliketidler, fenolikler, saponinler, poliasetilenler, uçucu yağlar (esansiyel yağlar) gibi azot içermeyen bileşiklerdir (Facchini, 2001). Bitkide savunma amaçlı kullanılan sekonder metabolitler bitkinin belli kısımlarında sentezlenerek uzun süreli depo edilebilmektedir (Hartmann, 2007; Karlovsky, 2008). Sekonder metabolitlerin en önemlilerinde biri olan uçucu yağlar; bitkinin protoplazma, hücre çeperinin özel bir tabakasında, salgı kanallarında, salgı hücrelerinde, salgı tüylerinde ve salgı ceplerinde sentezlenmektedir. Özellikle savunma amaçlı sentezlenen uçucu yağlar atıkların atılması, bitkide su kaybının azalması, tozlaşma işleminin tam olarak

yapılabilmesi gibi faktörler de diğer sentezlenme nedenleri arasındadır (Bozarı vd., 2013). Uçucu yağlar bulunduğu familyaya göre ya bitkinin belirli organlarında yaprak, taç yaprak, meyve sapı, meyve, kabuk, kök, çim, kozalak, tohum, sakız, odunsu doku gibi ya da bitkinin tüm organlarında bulunabilirler (Ceylan, 1996).

Tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağlar geçmişten günümüze kadar çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Bu kullanım alanlarının başında tıp, bitkisel yağ elde etme, güzel kokusundan dolayı kozmetik endüstrisi (sabun, parfüm, esans), eczacılık, boya, pestisit ve insektisit elde edilmesi gibi alanlar gelmektedir (Ayanoglu vd., 2000). Oda sıcaklığında sıvı halde bulunan, keskin bir kokusu ve yağimsı bir yapısı olan uçucu yağlar, ışığa ve havaya hassas olup suda çözünmezler buna karşın organik çözücülerde kolayca çözünebilen bir yapıya sahiptir. Şifalı bitkiler olarak bilinen tıbbi ve aromatik bitkilerden uçucu yağ elde etmek için distilasyon, organik çözücülerle veya sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyon ve soğuk sıkım gibi yöntemler kullanılmaktadır (Çelik ve Çelik, 2007).

Ülkemizin de içinde yer aldığı Akdeniz ülkeleri uçucu yağ bakımından zengin bitkilerin bulunduğu bir bitki florasına sahiptir (Dağcı vd., 2002). Başta *Lamiaceae* familyası olmak üzere *Rutaceae*, *Lauraceae*, *Euphorbiaceae*, *Apiaceae*, *Pinaceae*, *Rosaceae* ve *Asteraceae* gibi bitki familyaları uçucu yağ açısından oldukça zengin olup yağ elde etmek için kullanılmaktadır (Lukas vd., 2009). Ülkemiz farklı iklim bölgesinin kesişme noktalarından biri olması nedeniyle bitki tür ve çeşitleri bakımından oldukça zengindir. Ülkemizin, dünya pazarında baharat ve çay üretmek için kullanılan bitkilerin ihracatında önemli bir yeri olmasının yanında bu pazarda birinci sırada kullanılan *Lamiaceae* familyası bitkilerinin gen merkezidir (Kocabas ve Karaman, 2001; Özkan, 2007). Doğada otsu ve çalı formunda bulunan *Lamiaceae* familyası tek ya da çok yıllık aromatik bitkilerden olup dünya üzerinde hemen her yerde yetişebilmektedir. Dünyada yaklaşık olarak 3200 tür ve 200 cins bulunan (Bozarı vd., 2017) bu familyanın Türkiye’de 45 cinsi, 256’sı endemik olan toplam 574 tür yetişmektedir (Büyükkartal vd., 2011; Kahramanoğlu ve Uygur, 2010). Uçucu yağ verimi oldukça fazla olan *Lamiaceae* familyasının bilinen en önemli cinsleri *Thymbra*, *Thymus*, *Melissa*, *Origanum*, *Mentha*, *Teucrium*, *Ballota*, *Salvia*, *Lamium*, *Stachys*, *Satureja*, *Ajuga*, *Prunella*, *Marrubium* ve *Sideritis*’ dir (Kocabas ve Karaman, 2001; Özkan, 2007).

## 2.4 Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etkinliği

Genellikle renksiz ve açık renkli olan uçucu yağlar alternatif tıp başta olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. Suda sürüklenebilen uçucu yağların yapısında bulunan bileşenleri bulunmasından sonra bu bileşenlerin etmenlere karşı etkinliğinin olup olmadığını belirlemek için birçok çalışma yapılmıştır (Altundağ, 2007). Uçucu yağların antimikrobiyal etkinliklerini belirlemek için agar difüzyon yöntemi, disk difüzyon yöntemi ve broth dilüsyon yöntemi kullanılmaktadır (Oussalah vd., 2006; Öztürk vd., 2002).

Günümüzde bitki hastalık ve zararlıları ile mücadelede kullanılan kimyasalların insan ve çevre sağlığı üzerinde oluşturduğu olumsuz etkilerden dolayı kimyasal mücadeleye alternatif uygulamalar ön plana çıkmaktadır (Belgüzar vd., 2016b). Doğada kolay bir şekilde parçalanan ve bitkilerde kalıcılığı olmayan uçucu yağların antimikrobiyal etkileri araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Al-Reza vd., 2010; Mondal ve Khalequzzaman, 2009). Bitki hastalık ve zararlıları ile mücadelede bitkilerden elde edilen ekstraktların ve uçucu yağların kullanılmasıyla ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar içinde özellikle domateste en önemli bakteriyel hastalık olan Domates Bakteriyel Kanser hastalığı da yer almaktadır.

Daferera vd. (2003), kekik, gritotu, biberiye, lavanta, ada çayı, yarpuz ve mercanköşk bitkilerinden elde ettikleri uçucu yağları *Cmm*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani* var. *coeruleum* üzerine etkisinin olup olmadığını test etmişlerdir. Yağların kimyasal bileşimini gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) yöntemi ile elde etmişlerdir. Sonuç olarak *Cmm*, *B. cinerea*, *F. solani* var. *coeruleum*' un gelişmesi üzerine kekik, mercanköşk ve gritotu bitkisel yağlarının 85–300 mg/ml yoğunlukta engelleyici etkiye sahip olmasına rağmen lavanta, biberiye, ada çayı, yarpuz bitkilerinin yağlarının hastalık etmenini engelleme etkisinin daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir.

Şahin vd. (2003), Türkiye' nin Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetişen tek yıllık bir bitki olan Çibriska' dan (*Satureja hortensis*) elde ettikleri ekstraktı, klinik ve bitki patojeni olan 55 adet bakteriye karşı disk difüzyon yöntemi ile denemişlerdir. Deneme sonunda metanol ile hazırlanan bitki ekstratının klinik bakterilere karşı oldukça güçlü bir etki göstermesine

rağmen bitki patojeni olan bakterilere (*Clavibacter*, *Pseudomonas* ve *Xanthomonas*) karşı deneme sonuçlarının ekonomik önemde olmadığını bildirmişlerdir.

Altundağ ve Aslım (2005), yaptıkları çalışmada bitki patojen bakterisi olan Cmm ve patojen funguslardan *F. solani* var. *coeruleum*, *B. cinera*'a karşı *Thymus capitatus*, *Origanum vulgare*, *O. Dictamnus*, *O. majorana*, *Rosmarinus officinalis*, *Lavandula angustifoli* ve *Salvia fruticosa* bitkilerinden elde ettikleri uçucu yağları denemişlerdir. Sonuç olarak bu uçucu yağların bu hastalık etmenlerini büyük oranda engellediğini tespit etmişlerdir.

Kızıl ve Uyar (2006), çalışmada kekiğin farklı türleri olan *Tyhmbra spicata*, *Origanum onites*, *Satureja hortensis*, *Thymus kotschyanus* bitkilerinin uçucu yağları kullanılmıştır. Uçucu yağların bileşenlerinin belirlendiği çalışmada 5, 10 ve 15 µg dozlar kullanılmıştır. Disk difüzyon metodu ile su ve hexane bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi belirlenmiştir. Uçucu yağların hepsi Cmm, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ve *Macrophomina phaseoli*' ye karşı etkili olurken *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*' a etki göstermemiştir. Sonuç olarak Gram pozitif bakterilerin Gram negatif bakterilere karşı bu yağlara daha duyarlı olduklarını saptamışlardır.

Soylu vd. (2006), gıda (*Salmonella* Thyphimirium, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*) ve bitki patojenlerine (*Salmonella enteritidis*, *P. syringae* pv. *tomato*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *E. caratovora*, Cmm ve *A. tumefaciens*) karşı dereotu (*Anethum graveolens* L.) yaprakları ve rezene tohumlarından (*Foeniculum vulgare* Mill) elde edilen uçucu yağların etkinliğini incelemişlerdir. Sonuç olarak dereotunun Cmm'ye karşı engelleyici bir etkisi olduğunu saptamışlardır.

Balestra vd. (2009), domates yetiştiriciliği yapılan arazilerde ve seralarda hastalığa neden olan Cmm, *P. syringae* pv. *tomato*, *X. vesicatoria* bakterilerini incelemişlerdir. %1 oranında sarımsak (*Allium sativum*)'in dışından ve %30 oranında incir (*Ficus carica*)'in meyvesinden elde edilen bitkisel ekstraktlarını etmenin  $10^6$  and  $10^8$  cfu ml<sub>-1</sub> populasyon yoğunluğunda *in vitro* test uygulamaları yapmışlardır. Bakteriyel yoğunluğu  $10^6$  cfu ml<sub>-1</sub> olan ekstraktın hastalığı engellemede en iyi etkiyi gösterdiğini saptamışlardır. *In vivo* testlerde ise bakterinin  $10^5$  cfu ml<sub>-1</sub> yoğunluğunu kullanılmışlardır ve % 58 oranında sarımsak, % 30, oranında incir ekstraktının hastalığı azalttığını tespit etmişlerdir. Sonuç

olarak domates yetiştirme alanlarında Cmm, *P. syringae pv. tomato*, *X. vesicatoria* bakterileri ile mücadelede bitkisel ekstraktların (incir, sarımsak) antibakteriyel olarak kullanılabilceğini rapor etmişlerdir.

Kotan vd. (2010), *Satureja*, *Achillea* ve *Thymus* bitki türlerinden elde ettikleri uçucu yağ ve farklı çözenlerde hazırladıkları bitki ekstraktlarını 25 tane bitki patojeni bakteriye karşı antibakteriyel etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada antibakteriyel etki denemesi disk difüzyon yöntemine göre yapılmıştır. GC ve GC-MS yardımıyla uçucu yağların ve ekstraktların kimyasal bileşenlerinin de belirlendiği çalışmada, Cmm üzerine *T. Fallax* türünden elde edilen ekstrakt %80, uçucu yağın ise % 62.5 oranında etkili olduğu ve *S. spicigera*, *T. fallax* oils, carvacrol ve thymol' un bakteriyel etmenler üzerinde kullanılabilceğini aynı zamanda tohum dezenfektanı olarak da etkili olduklarını bildirmişlerdir. Thymol (% 40.86 -GC), *p*-cymene (% 5.95), carvacrol (% 43.62), and borneol (% 2.49)' un en önemli bileşenleri olduğu tespit etmişlerdir.

Sarıkoç Çıtırıkaya (2010), tohum kökenli ve önemli bir bitki bakteri patojeni olan Cmm'nin tohumdan bitkilere taşınması ve oluşan enfeksiyonların durumunu araştırmıştır. Denemeler *in-vitro* koşullarda tohum ve fide gelişimi gözlenerek yürütülmüştür. Tohumlar bakteri süspansiyonunda bekletilip toprağa ekilmiş ve 5-6 yapraklı dönemde ölmeye başlamıştır. Fide uygulamalarında ise gövdeden steril kürdan yardımı ile inokulasyon yapılmış ve bitki ölümü iki ay kadar bir zamanda gerçekleşmiştir.

Kotan vd. (2013), çalışmada Çibriska (*Satureja hortensis* L.) bitkisinden elde edilen uçucu yağı, ekstraktları ve çibriskanın iki önemli bileşeninin (carvacrol ve thymol) bitki patojen bakterilerine karşı tohum dezenfektanı olarak kullanılma potansiyelini belirlemişlerdir. Disk difüzyon, MIC ve seri dilüsyon metodlarını kullanarak antibakteriyel testlemeleri yapmışlardır. Cmm, *X. axanopodis pv. vesicatoria* bakterileri ile bulaşık tohumların kullanıldığı çalışmada uçucu yağ, carvacrol and thymol güçlü bir antibakteriyel etki gösterirken ekstraktların (n-hexane, chloroform, acetone and methanol) zayıf etki gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Görmez vd. (2014), bu çalışmada *Origanum rotundifolium* uçucu yağını 20 adet bitki patojen bakteriye karşı disk difüzyon yöntemi ile denemişlerdir. 500 µl/ml' den 7.81 µl/ml' ye kadar farklı konsantrasyonlarda uyguladıkları uçucu yağ patojen bakterilere



karşı 7-45 mm inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. GC-MS ile uçucu yağın bileşenleri belirlemişlerdir. Önemli bir bakteriyel patojen olan Cmm' ye karşı antibakteriyel etki gösterdiğini saptamışlardır.

Yılmaz vd. (2014), Cmm üzerine ticari 34 uçucu yağ agar kuyu difüzyon yöntemi ile denemişlerdir. Bu yağlardan 18 tanesinin % 67 ve daha yüksek oranda engelleyici bir etki gösterdiği sonucuna varmışlardır. Uçucu yağların antibakteriyel etkisinin olup olmadığına gelişmenin olmadığı bölgelerin çaplarını ölçüp, agar kuyu difüzyon yöntemi ile karar vermişlerdir. Antibakteriyel etkiyi ticari sabit yağların hiçbiri göstermezken uçucu yağların tamamının gösterdiği sonucuna varmışlardır. Kekik, nane gibi *origanum* türlerinin en etkili olan bitkisel yağlar olduğu sonucuna varmışlardır.

Yılmaz (2014), çalışmada Cmm ile enfekteli tohumlarda mücadelede bazı ticari uçucu yağlar kullanılmıştır. Tohum uygulamasında Cmm' ye en etkili uçucu yağ *Origanum vulgare* olarak tespit edilmiştir. Çalışmada domates tohumlarına uçucu yağ film kaplama uygulaması yapılmıştır fakat depo koşullarında fazla bir etkisi belirlenememiştir. Ümit var bir yöntem olarak görülmekte olup çalışmalara devam edilmesi gerektiği rapor edilmiştir.

Ergün (2015), çalışmada sarımsak (*Allium tuncelianum*) etanol ekstraktı 9 petojene karşı denenmiştir. Ekstraktın *in vitro* testlerde % 0-1.5 dozu fungal etmenlerin misel oluşumunu, bakteriyel etmenlerin (*P. syringae* pv. *tomato* ve Cmm) koloni gelişimini engellediği tespit edilmiştir. Yapılan *in vivo* denemelerde ise toprağa önce sarımsak ekstraktı uygulanıp iki gün sonra fideye Cmm bulaştırılmış ve hastalık gelişimini önemli derecede engellendiği saptanmıştır.

Belgüzar vd. (2016b), Cmm üzerinde Kekik (*Thymus vulgaris* L.) bitkisinden çıkartılan uçucu yağ ve bitki ekstraktını bitkinin antibakteriyel etkisini *in vitro* koşullarda çalışmalar yaparak belirlemişlerdir. Petri kapağına yapıştırılan kurutma kağıdına uçucu yağ emdirme, agar kuyucuk difüzyonu ve besi yerine katılması gibi 3 yolu uçucu yağ çalışmasında kullanmışlardır ve 5, 10, 15 ve 20 µl/ml olarak dört farklı dozda uygulamalar yapmıştır. Pseudomonas Agar F (PSF) besi yerine % 0.5, % 1, % 2, % 4 ve % 8 konsantrasyonundaki su ekstraktını eklemişlerdir. Ekstraktların katıldığı besiyerlerine süspanse edilmiş Cmm ekmişlerdir. İki tekrar yapılarak 28°C'de 3 günlük inkübe

etmişlerdir. Sonucunda ise Kekik (*Thymus vulgaris* L.) eklenen besi yerlerinde Cmm azalmıştır ve % 8'lik konsantrasyonda tamamen durduğu sonucuna varmışlardır. Petri kapağına yapıştırılmış kurutma kağıtlarına uçucu yağın emdirilmesi uçucu yağlarda en etkili yöntem olduğunu belirlemişlerdir. Su ekstraktında ise 20 µl/ml'lik dozun Cmm'yi engellemede başarılı olduğunu tespit etmişlerdir.

Yanar vd. (2016), çalışmada *Lippia citriodora*, *O. syriacum*, *O. vulgare*, *O. onites*, *Mentha piperita*, *M. dumetorum*, *M. Spicata* bitkilerinin uçu yağlarının Cmm ve *Botrytis cinerea* üzerine etkileri in vitro koşullarda uçucu yağ besiyerine katma yöntemi ile denemişlerdir. PDA ve King B besiyerleri kullanılan çalışmada uçucu yağların 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 µl/ml dozları denenmiştir. Cmm üzerine *O. vulgare* ve *L. citriodora*'nin 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 µl/ml dozları, *O. syriacum* ve *O. onites*'in 0.3, 0.4 ve 0.5 µl/ml dozları etkili bulunmuştur.

Uçucu yağların bitki tohumları üzerine denendiği çalışmalarda ise Groot vd. (2005), tohum kökenli bakteriyel ve fungal hastalıklar üzerinde 30 farklı uçucu yağ denemişlerdir. Denenen yağlardan kekik yağının en yüksek etkiyi *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerine olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, % 0.25'lik kekik yağını lahana tohumlarına yarım saatliğine uyguladıklarında bakterilerin azaldığını belirlemişlerdir. Ancak yağ konsantrasyonunun %0.25'in üzerine çıkması ve 4 saat süreyle uygulanması durumunda tohumun çimlenme gücünün olumsuz etkilendiğini bildirmişlerdir.

Mırık ve Aysan (2005), turp (*Raphanus raphanistrum*), nane (*Mentha piperita*), soğan (*Allium cepa*), sarımsak (*Allium sativum*), marata (*Clematis marata*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), zakkum (*Nerium oleander*), okaliptüs (*Eucalyptus*), menengiç (*Pistacia terebinthus*), yalancı karabiber (*Schinus* sp.), ve çam (*Pinus sylvestris*) bitkilerinin sulu ekstraktlarını iki yöntem ile *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'ya karşı domates ve biber tohumlarında antibakteriyel etkilerini in vitro ve in vivo denemeleriyle araştırmışlardır. Birinci yöntemde sulu okaliptüs ve sarımsak ekstraktları otoklavlayarak in vivo kuşullarında koşullarda denemişlerdir. İkinci yöntemde ise filtre kâğıdından süzerek uygulamışlardır. Her iki yöntemde de okaliptüs ve sarımsak ekstraktları hastalık etmenini azaltmada çok etkili olmuş ve en iyi tohum uygulaması olarak bulunmuştur. İn vivo ortamda yapılan denemede ise enfekteli tohumlar sarımsak

ve okaliptüs ekstraktlarında bir süre bekletilerek toprağa ekilmiştir ve 0-5 sıklası yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda sarımsak ekstraktının % 77, okaliptüs ekstraktının ise % 96 oranında fidelerde hastalığı engellediğini rapor etmişlerdir.

(Eriş, 2006), çalışmasında origanum, rezene, lavanta bitkilerinden uçucu yağ elde edilerek gaz kromatografi-kütle spektroskopisi (GC-MS) ile uçucu yağların bileşenleri belirlemiştir. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora*, *Xanthomonas axanopodis* subsp. *vesicatoria*, *Agrobacterium tumefaciens* ve *Cmm* gibi domates bakteriyel hastalık etmenlerine karşı agar disk difüzyon yöntemi ile denemiştir. GC sonucunda carvacrol %79.8 (Origanum), camphor %20.2 (Lavanta) ve *trans*-anethole %82.8 (Rezene) en yüksek değerli üç bileşen olarak tespit etmiştir. *Origanum* uçucu yağı oluşturduğu 9.3 mm-35.6 mm inhibisyon zon çapı ile en etkili uçucu yağ olarak tespit etmiştir. Bu tür doğal bileşenleri tohum dezenfektanı olarak kullanılabilceğini bildirmiştir.

## BÖLÜM III

### MATERYAL METOT

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Bitki materyali

Araştırmada Cmm bakterisine hassas olduğu bilinen domates tohumları ile biyolojik çalışmalar yürütülmüştür. Hassas çeşit olarak H2274 tohumları Aşgen Tarım A.Ş. firmasından temin edilmiştir.

##### 3.1.2 Uçucu yağlar

Çalışmada sarı kantaron (*Hypericum perforatum*), okaliptus (*Eucalyptus citriodora*), karanfil (*Dianthus caryophyllus* L.), anason (*Pimpinella anisum*) ve hardal (*Brassica nigra*) yağı olarak toplam 5 adet ticari uçucu yağ kullanılmıştır. Bu yağlardan sarı kantaron, okaliptus, karanfil yağı Doğanın Bahçesi (Üsküdar/İstanbul) firmasından; anason ve hardal yağı ise Ege Lokman (Bakır/Kırkağaç/Manisa) firmasından temin edilmiştir.

##### 3.1.3 Bitki patojeni

Çalışmada kullanılan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatları Mersin ilinin yaygın olarak domates yetiştirilen bölgelerinden toplam 9 araziden sonbahar (Ekim) ve ilkbahar (Mart) mevsimlerinde olmak sörveyler yapılmıştır. Sörvey arazilerinde bulunan solgunluk ve iletim demetlerinde kahverengileşme simptomu gösteren domates bitkilerinden örnekler toplanarak, bakteri izolasyonları ve teşhisler yapılarak temin edilmiştir. Kontrol Cmm izolatı Çukurova Üniversitesi-Fitopatoloji laboratuvarından Prof. Dr. Yeşim AYSAN'dan temin edilmiştir.

##### 3.1.4 Kullanılan besiyerler

Çalışmada Nutrient Agar (8.0 g Nutrient Broth (Difco), 2.0 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.5 g Glucose, 1000 ml distile su), King B (Proteose Peptone 20.0 g, Gliserin 10.0 ml,

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.5 g, MgSO<sub>4</sub>7H<sub>2</sub>O 1.5 g, Agar 15.0 g, Distile Su 1000.0 ml) ve Nutrient Broth (Nutrient broth 8.0 g, Distile Su 1000.0 ml) besiyerleri kullanılmıştır Çalışmada % 70'lik alkol, % 1'lik NaOCL, % 30' luk gliserol, fizyolojik tuzlu su (%0.85'lik NaCL çözeltisi) gibi çözeltilerde kullanılmıştır (Çetinkaya Yıldız, 2007).

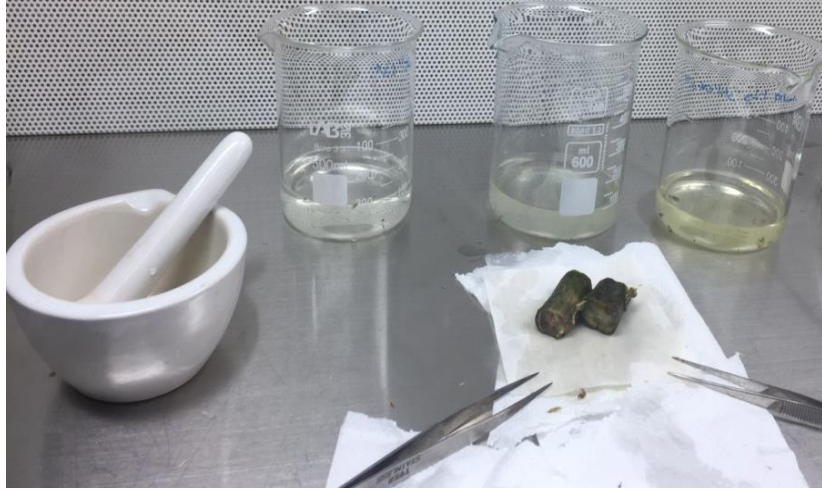
## **3.2 Metot**

### **3.2.1 Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması**

Mersin ilindeki domates yetiştiriciliği yapılan seralar ve araziler incelenerek bitkide solgunluk ve iletim demetlerinde kahverengileşme simptomu gösteren domates bitkilerinden örnekler alınmıştır. Alınan örnekler ıslak kâğıt havluya sarılarak şeffaf polietilen torba içerisine yerleştirilmiştir. Örnek torbalarının içine kurşun kalem ile yazılan örnek etiketi de eklenerek soğutucu termos içerisinde muhafaza edilerek laboratuvar ortamına getirilmişlerdir.

### **3.2.2 Domates bakteriyel kanser hastalığı etmeninin izolasyonu**

Araziden toplanan şüpheli bitkinin iletim demetlerinden hastalıklı ve sağlıklı kısmı içeren 2-3 mm büyüklüğünde bitki parçaları alınıp önce % 70'lik alkol içerisinde 2 dakika bekletilip steril pens ile alınmıştır. Steril saf su ile durulanmış ve steril kurutma kağıdında kurutulmuştur. Ardından aynı işlem % 1'lik NaOCL solusyonu ile de yapılarak bitki doku parçalarının yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır (Fotoğraf 3.1.). Parçalar steril havanda fizyolojik tuzlu su (% 0.85'lik NaCL çözeltisi) ile homojenize edilip NA (Nutrient Agar) ve King B besi yeri içeren petrilere çizgi ekim yöntemiyle ekilmiştir (Fotoğraf 3.2.). 25 °C'deki inkübatörde 2-3 gün inkübe edildikten sonra gelişen koloniler incelenip açık sarı renkli koloni morfolojisine sahip olanlar saflaştırılmıştır. Saflaştırılan izolatlar çalışmalarda kullanılmak üzere % 30' luk gliserol içerisinde -20 °C'de buzdolabında saklanmıştır.



**Fotoğraf 3.1.** Örneklerin yüzey dezenfeksiyonu



**Fotoğraf 3.2.** Çizgi ekim yöntemi

### **3.2.3 Domates bitkilerinin yetiştirilmesi**

Patojenite testi için H-2274 çeşidi domates fideleri kullanılmıştır. İçinde 3:2 oranında toprak ve torf karışımı bulunan plastik viyollere tohum ekimi yapılmıştır (Fotoğraf 3.3). Fideler 15-20 günlük olduğunda 1:3 oranında perlit ve torf karışımı içeren saksılara (8.5x8.5 cm) şaşırtılmıştır (Fotoğraf 3.4.). Şaşırtılan bitkiler 25 °C sıcaklık, % 70-80 nem ve 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık koşullardaki iklim odasında çalışmalarda kullanılmak üzere geliştirilmiştir.



**Fotoğraf 3.3.** Viyolde gelişen domates fideleri



**Fotoğraf 3.4.** Saksılara şaşırtılan domates fideleri

### **3.2.4 Patojenite testi**

Şüpheli domates bitkilerinden izole edilen bakteri izolatları, 3-5 yapraklı dönemde bulunan domates fidelerine (H2274) gövdeden steril kürdan yardımıyla 3 tekrarlı olarak inokule edilmiştir (Fotoğraf 3.5.). Çalışmada 36-48 saat kültürde gelişen bölge izolatları, pozitif kontrol olarak Cmm referans izolatu ve negatif kontrol olarak steril su kullanılmıştır. İnokule edilen bitkiler iklim odasına yerleştirilerek (16 saat ışık, 8 saat karanlık, 25°C sıcaklık) ve yüksek nem sağlamak amacıyla 24 saat süreyle ıslak polietilen torba içerisinde tutulmuştur (Fotoğraf 3.6.). İnokulasyondan bir gün sonra fideler nem çemberinden alınıp günlük olarak semptom gelişimi açısından incelenmiştir.

İnokulasyondan 8-10 gün sonra enfekteli fidelerde oluşan solgunluk belirtileri ve iletim demetlerinde oluşan kahverengiliklere göre, hastalık var/yok olarak değerlendirilip, izolatların patojen olup olmadığı belirlenmiştir. Kuvvetli semptom veren bitkilerden izolasyonlar yapılarak elde edilen izolatlar ile tanı çalışmaları yapılmıştır.



**Fotoğraf 3.5.** Domates bitkisine gövdeden steril kürdan ile bakteri inokulasyonu



**Fotoğraf 3.6.** Bakteri inokule edilen bitkilerin polietilen torba içerisindeki görüntüsü

### 3.2.5 Cmm izolatlarının moleküler tanısı

Bakteri DNA'sı ticari kit olan "Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Microprep Kit – ZymoResearch-D6007" yardımı ile izole edilmiştir. Bakteri süspansiyonundan 1 ml steril



ependorf tüpüne alınıp 14.000 dev/dak.'da 20 dakika santrifüj edilmiştir. Pelletin üzerine %1'lik SDS+TAE buffer'dan 100 µl eklenip karıştırılarak ve 50 °C'deki su banyosunda 3 saat inkübe edilmiştir. Her bir tüpe 50 µl 7.5 M amonyum asetat eklenerek 14.000 dev/dak.'da 10 dakika santrifüj yapılarak amonyum asetat artıklarının altta toplanması sağlanmıştır. Üst faz yeni bir ependorf tüpüne aktarılarak üzerine soğuk isopropanol eklenmiştir. Tüpler derin dondurucuda 45 dak bekletilip 10.000 dev/dak.'da 10 dakika santrifüj edilmiştir. %70'lik alkolle yıkandıktan sonra 50 µl distile su (ddH<sub>2</sub>O) içerisinde -20°C'de muhafaza edilmiştir. PCR; toplam hacim 25 µl olacak şekilde 5 µl 5× PCR buffer, 1 µl 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 µl 10 mM dNTPs, 0,5 µl primer seti (10 µM), 0,2 µl Taq polimeraz (500 unite/µl), içeren reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Kullanılan primer dizileri Dreier vd. (1995) bakteriye özgü CMM5: 5'-GCGAATAAGCCCATATCAA-3'; CMM6: 5'-CGTCAGGAGGTTTCGCTAATA -3'-614 bp primeri ile 16S rDNA primeri 27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; 1492R:5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'- 1465 bp şeklindedir. PCR reaksiyonları 35 döngü 94°C 30 s, 54°C 45 s, ve 72°C 1 dk.; ve 72°C 10 dk. olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.6 Bitkisel uçucu yağların antibakteriyel etkisinin saptanması**

Kullanılacak olan beş adet ticari uçucu yağların antibakteriyel etkisi disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Araştırmada teşhisi ve patojenisite testi yapılmış dört adet Cmm izolatı ve pozitif kontrol olarak referans izolat kullanılmıştır.

#### **3.2.6.1 Disk difüzyon tarama yöntemi**

Uçucu yağların antibakteriyel etki çalışmalarında çok kullanılan metotlardan biridir (Heatley, 1944). Bu metoda göre 5-6 mm'lik disklere her bir uçucu yağdan 20 µl emdirilmiştir. 10<sup>7</sup> hücre/ml konsantrasyonda 100 µl bakteri süspansiyonundan alınarak besiyerlerine ekim yapılmıştır. Uçucu yağ emdirilen disk (Whatman® Antibiotic Assay Discs) ilk olarak ekim yapılan besiyerinin orta kısmına konularak denenmiş daha sonra petri kapağının ortasına yapıştırma yöntemi ile denenmiştir. Belirli bir süre inkübasyondan sonra oluşan inhibasyon zonu kumpas yardımı ile mm olarak ölçülmüştür. Minimum inhibasyon konsantrasyonu yani, etki gösterdiği en uygun uçucu yağ belirlenmiştir. Çalışmalar üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

### 3.2.6.2 Uçucu yağın en etkili miktarının belirlenmesi

Disk difüzyon tarama yöntemi ile belirlenen en etkin uçucu yağın etkin miktarının belirlenmesi için; 5 µl, 10 µl, 15 µl, 20 µl ve 25 µl miktarlarda belirlenmiş olan uçucu yağ miktarları kullanılmıştır. 24 saatlik taze Cmm bakteri kültürden  $10^7$  hücre/ml konsantasyonda solüsyon hazırlanarak 100 µl süspansiyon alınıp besiyeri üzerine drigalski ile ekimi yapılmıştır. Ekim yapılan petrilerin kapaklarına yerleştirilen antibiyogram disklerine (Whatman® Antibiotic Assay Discs) belirtilen miktarlarda uçucu yağ emdirilmiştir, negatif kontrol olarak steril saf su kullanılmış ve 48 saat sonra oluşan inhibisyon zonu ölçülmüştür (Azaz vd., 2004). Çalışmalar üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Belirlenen en etkin uçucu yağ miktarı domates fidelerine uygulanmıştır.

### 3.2.7 Uçucu yağların farklı kombinasyonlarının domatesteki Cmm'ye etkisi

Petri denemeleri sonucunda antimikrobiyal etki gösteren uçucu yağ dört adet Cmm izolatu ve pozitif kontrol üzerinde denenmiştir. Çalışmada H 2274 domates çeşidi kullanılmıştır. 16 saat ışık, 8 saat karanlık, 25 °C sıcaklık, % 70-80 nispi neme ayarlanan büyüme odasında içinde 1/3 oranında perlitli torf olan saksılara domates tohumları ekilmiştir. Domates fidelerinin 3-4 gerçek yapraklı döneme geldiğinde denemeye geçilmiştir. Çalışmada uçucu yağ ve bakteri süspansiyonun iki farklı kombinasyonu denenmiştir. Birinci uygulama; bitkiye önce fizyolojik su içerisinde 48 saatlik taze kültüründen  $10^7$  hücre/ml yoğunlukta hazırlanan bakteri süspansiyonu herhangi bir yara açılmadan püskürtme yöntemi ile bitkiye uygulanmış ve 48 saat polietilen torbada bekletilmiştir. 48 saat sonra domates bitkisine petri çalışmaları ile etkisi belirlenmiş olan uçucu yağın en etkili miktarı % 10' luk DMSO' da seyreltilerek el pülvarizatörü ile bitkiye püskürtülerek uygulanmıştır (Fotoğraf 3.7.). İkinci kombinasyonda ise bitkiye önce uçucu yağ uygulanmış üzerine bakteri solüsyonu uygulanmıştır. Negatif kontrolde ise bitkiye steril saf su uygulanmıştır. İnokule edilen bitkiler 26°C'de yaklaşık %60-70 nisbi nem içeren iklim odası koşullarında tutularak 1, 3, 5, 7, 10 ve 15. günlerde oluşan belirtiler gözlenerek hastalık gelişimi değerlendirilmiştir (Chaldecott ve Preece, 1983). Uygulanan iki yöntem kıyaslanarak sonuca varılmıştır.



**Fotoğraf 3.7.** Domates bitkilerine uçucu yağ uygulanması

## BÖLÜM IV

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 4.1 Hastalıklı Domates Bitkilerinin Toplanması

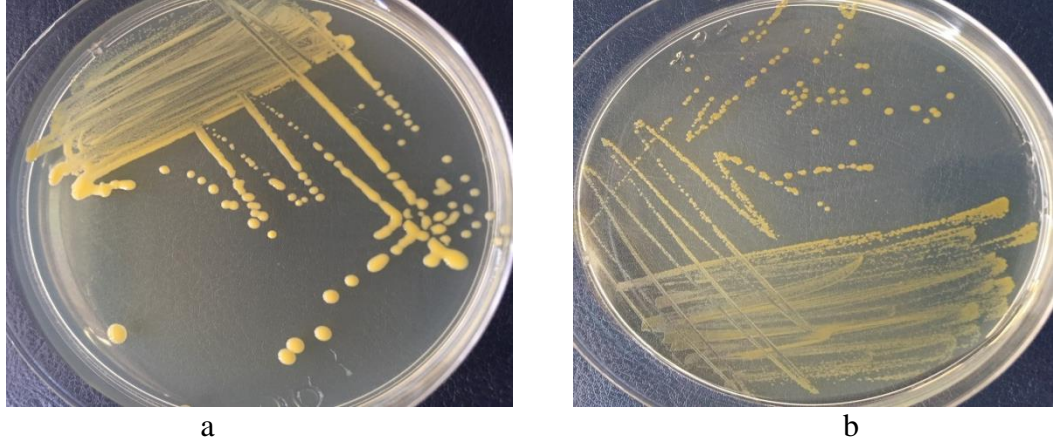
Mersinin Erdemli (Kocahasanlı, Püstüllü, Kızıl En) ve Silifke (Delikkaya, Ovacık) ilçelerinde yapılan arazide sörveyleri sonucunda domates yetiştiriciliği yapılan 4 adet tarladan ve 5 adet seradan yan dallarda tek taraflı solgunluk ve yanıklık (Fotoğraf 4.1.a), bitki yapraklarının solarak içe kıvrılma (Fotoğraf 4.1.b), yaşlı yapraklarda solma (Fotoğraf 4.1.c), bütün bitkide görülen solgunluk ve gövdede kahverengileşme (Fotoğraf 4.1.d) semptomları gösteren bitki örnekleri toplanmıştır. Domates yetiştirilen alanlarda en önemli bakteriyel hastalık etmenlerinden biri olan domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığının özellikle tohumla taşınabildiği gibi toprakta kalan hastalıklı bitki artıkları, hastalıklı fideler, arazi ekipmanları gibi etmenlerle de taşınabilmektedir. Üretim arazisine bir kere bulaşan hastalık etmeni sonraki üretim sezonlarında da önemli derecede hastalık yapabilmektedir. Hastalık etmeninin ülkemizde varlığı yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Belgüzar vd., 2016a; Çetinkaya Yıldız, 2007; Tokgönül, 1998; Ulukuş, 1982). Çetinkaya Yıldız (2007) Mersin ve Adana illerinde yaptığı arazi sörveylerinde domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda Cmm hastalık etmenini morfolojik ve moleküler testlerle tanılamıştır. Bu çalışmadan yola çıkılarak arazi sörveyleri Mersin ilinde yürütülmüştür.



**Fotoğraf 4.1.** Domates bitkisinde bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı etmeninin bitkide yaptığı belirtiler tek taraflı solgunluk (a), bitki yapraklarının solması ve içe bükülmesi (b), yaşlı yapraklarda solgunluk (c), bitkide genel solgunluk ve iletim demetlerinde kahverengileşme (d)

#### **4.2 Domateste Bakteriyel Kanser Hastalığı Etmeninin İzolasyonu**

Domates yetiştirilen arazi ve seralardan toplanan Cmm ile enfekteli bitkiler laboratuvar ortamına getirilmiştir. Yapılan izolasyonlardan 2-3 gün inkübasyon döneminden sonra Nutrient Agar besiyerinde sarı renkli düzgün kenarlı (Fotoğraf 4.2.a), King B besiyerinde sarı renkli ve pürüzsüz koloniler (Fotoğraf 4.2.b) gelişmiştir. Mersin ilinin Erdemli ve Silifke ilçelerinden elde edilen 28 adet bakteri izolatından (Çizelge 4.1.) 7 adet izolat Cmm olarak olarak tanımlanmış, saflaştırma yapılarak bu tez çalışmasında kullanılmıştır.



**Fotoğraf 4.2.** Besiyerinde gelişen sarı koloniler King B besiyerinde (a), Nutrient Agar besiyerinde (b)

**Çizelge 4.1.** Domates bitkilerinden elde edilen izolatlar ve izole edildikleri yerler

Sıra No	İzolatların Kod Adı	İzole Edildiği Yerler
1	1	Delikkaya/ Silifke
2	2	Ovacık/ Silifke
3	3	Delikkaya/ Silifke
4*	4-1	Delikkaya/ Silifke
5	5	Delikkaya/ Silifke
6	6	Püstüllü/ Erdemli
7*	7z	Püstüllü/ Erdemli
8*	8.2	Püstüllü/ Erdemli
9*	9-1z	Püstüllü/ Erdemli
10*	10-1	Kızıl En/ Erdemli
11	11	Kızıl En/ Erdemli
12	12	Kızıl En/ Erdemli
13	13	Kızıl En/ Erdemli
14	14	Kızıl En/ Erdemli
15	15	Kızıl En/ Erdemli
16	16	Kızıl En/ Erdemli
17	17	Kızıl En/ Erdemli
18*	18	Kızıl En/ Erdemli
19	19	Kocahasanlı/ Erdemli
20*	20-1	Kocahasanlı/ Erdemli
21	21	Kocahasanlı / Erdemli
22	22	Kocahasanlı / Erdemli
23	23	Kocahasanlı / Erdemli
24	24	Kocahasanlı / Erdemli
25	25	Kocahasanlı / Erdemli
26	26	Kocahasanlı / Erdemli
27	27	Kocahasanlı / Erdemli
28	28	Kocahasanlı / Erdemli

\*Tabloda işaretlenmiş izolat numaraları Cmm pozitif izolatları göstermektedir

### 4.3 Patojenite Testi

Elde edilen toplam 28 adet bölge izolatu ve referans kültür ile yapılan patojenite testlerinde 7 izolat inokulasyondan sonraki 8-15 gün içinde domates fidelerinde inokulasyon bölgesinde kahverengilikler, yapraklarda tek taraflı solgunluk (Fotoğraf 4.4.b), bitkide genel solgunluk (Fotoğraf 4.4.a), iletim demetlerinde ve özde kahverengileşme ve ilerleyen dönemlerde çatlama (Fotoğraf 4.3.) gibi hastalık belirtileri oluşturmuştur. Negatif kontrol olarak saf su ile inokule edilen fidelerde herhangi bir hastalık belirtisi gözlenmemiştir. Tipik hastalık belirtisi gösteren bitkilerden tekrarlanan izolasyonlar sonucu 7 izolat tekrar elde edilmiştir.



**Fotoğraf 4.3.** Domates bitkilerinde yapılan patojenite testi sonucunda bitki gövdesinde inokulasyon yapılan bölgede oluşan gövde çatlama

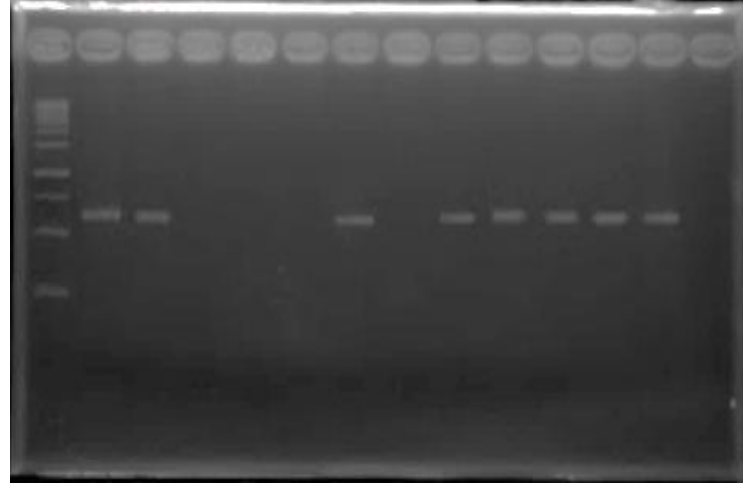


**Fotoğraf 4.4.** Domates bitkisinde patojenite testi sonucunda bitkide oluşan solgunluk genel solgunluk (a), yaprakta oluşan tek taraflı solgunluk (b)

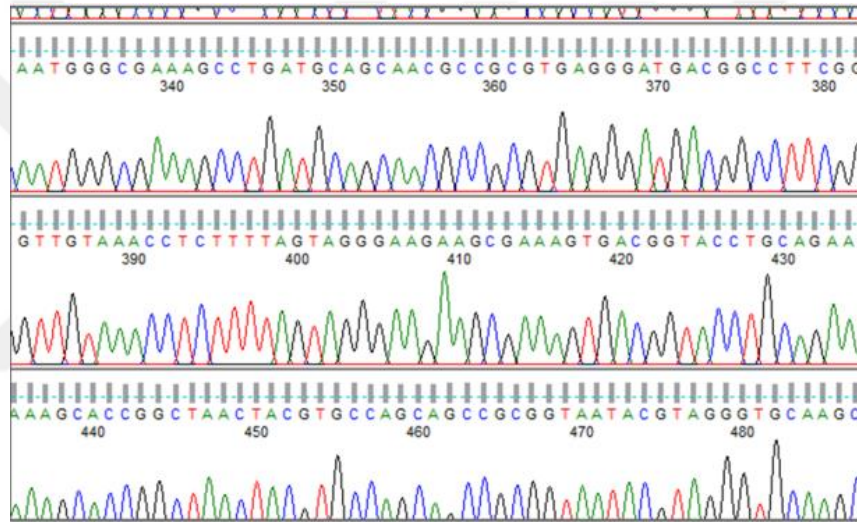
#### 4.4 Cmm İzolatlarının Moleküler Tanısı

Bakterilerin DNA'ları izole edilmiş, saflık ve miktar tayinleri nanadrop spektrofotometrede ölçülmüştür. OD<sub>260/280</sub> değerinin 1.75-2.0 arasında olması gerekmektedir. DNA konsantrasyonları sonuçları, DNA'ların genomik çalışmalar için uygun olduğunu göstermiştir. İzolasyon kiti ile elde edilen DNA'lar % 1 agaroz içeren jellerde yürütülmüş ve jel görüntüleme cihazında fotoğraf çekimleri gerçekleştirilmiştir. DNA örneklerinin, Cmm spesifik primerler ile 16S rDNA primerleri kullanılarak ilgili bölgeleri çoğaltılmıştır. İzolatların dizi analizi Sentegen Biotech. Firması (Ankara) tarafından gerçekleştirilmiştir. Elde edilen diziler NCBI BLAST veri tabanında karşılaştırılarak kesin tanı sonuçları çıkarılmıştır (Çizelge 4.2.). Dizi analizi sonuçları Fotoğraf 4.5.b' de verilmiştir. Sonuçlara göre izolatların 7 adeti Cmm olarak tanımlanmıştır.





**Fotoğraf 4.5.** PCR sonucu jel analizi görüntüsü



**Fotoğraf 4.6.** DNA dizi analizi sonuçları

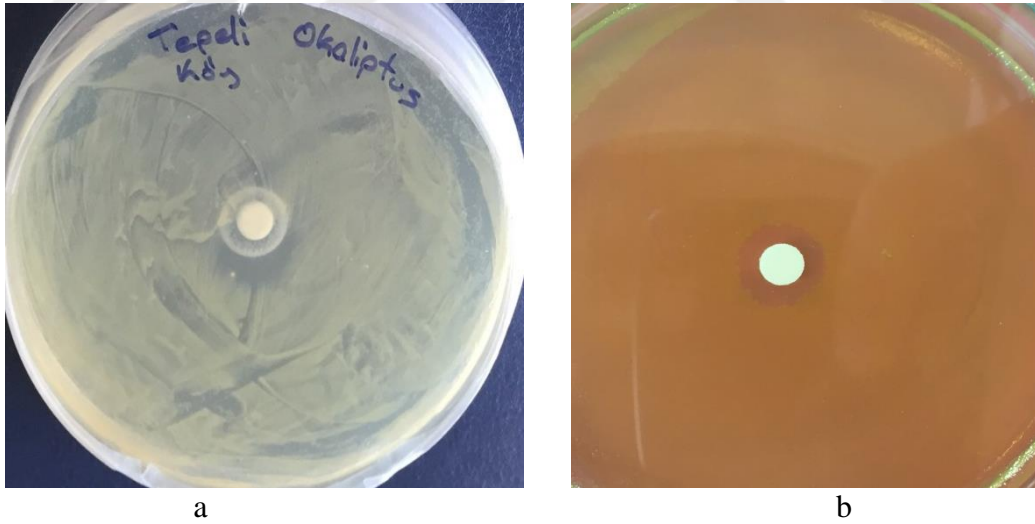
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<a href="#">Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis strain MS1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MF370397.1</a>
<a href="#">Clavibacter sepedonicus strain 2499 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035772.1</a>
<a href="#">Clavibacter sepedonicus strain 2498 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035771.1</a>
<a href="#">Clavibacter sepedonicus strain 2497 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035770.1</a>
<a href="#">Clavibacter sepedonicus strain 2496 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035769.1</a>
<a href="#">Clavibacter sepedonicus strain 2495 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035768.1</a>
<a href="#">Clavibacter sepedonicus strain 2494 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035767.1</a>
<a href="#">Clavibacter sepedonicus strain 2493 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035766.1</a>
<a href="#">Clavibacter sepedonicus strain 2492 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035765.1</a>
<a href="#">Clavibacter sepedonicus strain 2491 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035764.1</a>
<a href="#">Clavibacter sepedonicus strain 2490 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035763.1</a>
<a href="#">Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis strain 2023 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035762.1</a>
<a href="#">Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis strain 2022 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035761.1</a>
<a href="#">Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis strain 2021 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	944	944	100%	0.0	100%	<a href="#">MH035760.1</a>

**Fotoğraf 4.7.** 16S rDNA BLAST analizi

## 4.5 Bitkisel Uçucu Yağların Antibakteriyel Etkisinin Saptanması

### 4.5.1 Disk difüzyon tarama yöntemi

Araştırmada, yapılan literatür taramalarına göre daha önce çok az kullanılmış olan sarı kantaron, okaliptus, karanfil, anason ve hardal yağı olarak toplam 5 adet uçucu yağ kullanılmıştır. Bu yağlar önce disk difüzyon yöntemi ile denenmiştir. Deneme sonucunda beklenen zon çapı gelişmemesinden ve sadece kontakt etki gözlemlendiğinden (Fotoğraf 4.6.b) dolayı ikinci uygulama olan steril diskin petri kapağına yapıştırılması yöntemi ile her diske 20 µl yağ emdirilerek yapılmıştır. Nutrient Agar besiyeri kullanılarak yapılan bu deney sonucunda ise kullanılan yağların pozitif kontrol bakteri üzerinde antibakteriyel etkisinin olup olmadığı tespit edilmiştir. Kullanılan yağlardan sarı kantaron, hardal, karanfil ve anason yağları bakteri gelişiminde herhangi bir etki göstermemişler ve beklenen gelişme inhibisyonu zonunu oluşturamamışlardır. Ana bileşeni 1-8- cineol olan (Quatrin vd., 2017) okaliptus yağı ise çapı 23 mm olan zonlar oluşturarak en etkili yağ olarak tespit edilmiştir (Fotoğraf 4.6.a). Bu sonuca göre sonraki çalışmalara devam edilmiştir.



**Fotoğraf 4.8.** Okaliptus yağının pozitif kontrol üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonu petri kapağına yapıştırma (a) disk difüzyon (b)

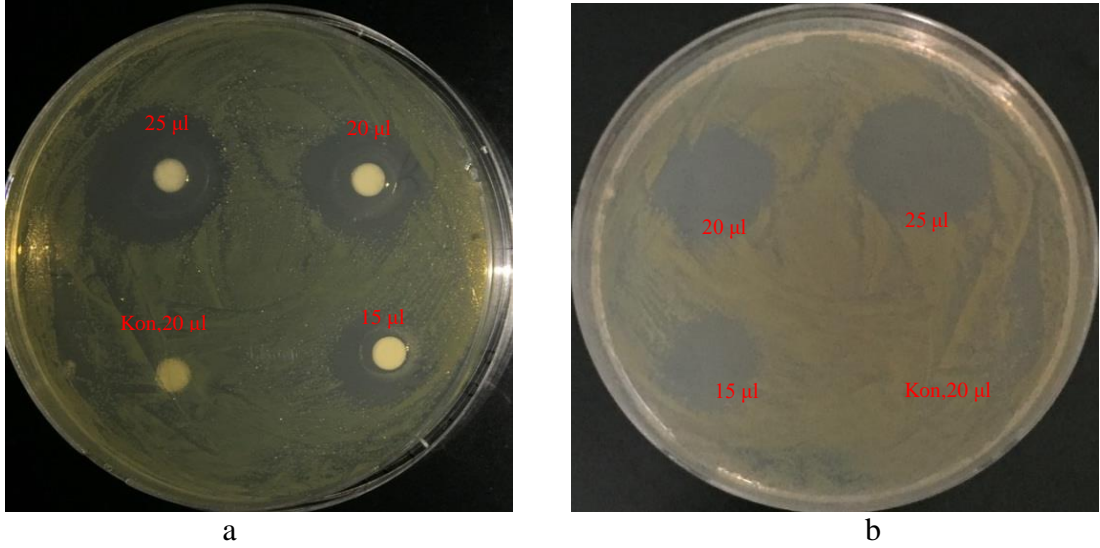
Günümüzde bakteriyel hastalık etmenleri ile mücadelede kullanılan yöntemler hala yetersiz kalmaktadır. Bakterilerin kolay bir şekilde dayanıklılık kazanması bunun en önemli sebeplerinden bir tanesidir. Cmm üzerine uçucu yağların etkinliğinin araştırıldığı

çalışmalar bulunmaktadır (Basım vd., 2000; Daferera vd., 2003; Kızıl ve Uyar, 2006; Soyly vd., 2006; Şahin vd., 2004; Yılmaz, 2014).

Yapılan çalışmalarda; Eriş (2006) disk difüzyon yöntemi ile origanum, rezene, lavanta uçucu yağlarını kullanmış ve en etkili yağın 9.3-35.6 mm zon ile origanum bitki türü olduğunu, Altundağ (2007) Cmm'ye karşı kullandığı *Sideritis erythrantha* subsp. *erythrantha* ve *Origanum minutiflorum* uçucu yağlarının farklı dozlarını kullanmış ve 1/5 konsantrasyonda birinci yağda 4 mm, ikinci yağda 33 mm zon çapı elde etmiş, Arıcı vd. (2011), tarafında yapılan çalışmada okaliptüs uçucu yağında içinde bulunduğu 8 adet uçucu yağ bazı patojen funguslar ve bakteriler üzerinde denemişlerdir. Yapılan çalışmanın sonucunda okaliptüs yağının uygulanan diğer yağlardan daha yüksek antimikrobiyal etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir. Nashwa ve Abo-Elyousr (2012), okaliptüs, reyhan, zakkum, sarımsak ekstraktlarını *Alternaria solani*'ye karşı *in vitro* ve *in vivo* denemelerle antimikrobiyal etkinliğini belirlemişlerdir. *in vitro* koşullarda %1 ve %5' lik dozlarda uygulanan okaliptüs ekstraktının %1' lik dozunda 6.3 cm, %5' lik uygulama dozunda ise 6.5 cm fungus misellerini engellediğini rapor etmişlerdir. Yılmaz (2014) çalışmasında 20 adet ticari uçucu yağ kullanarak kekiğin türleri olan *Origanium vulgare* (37 mm), *Origanium onites* (35 mm) ve tarçın (*Cinnamomum zeylanicum* L., 22 mm) uçucu yağlarının Cmm üzerine etkili olduğunu bildirmiştir. Oyman (2017) *Ocimum basilicum* var. *album*(L) Benth, *Lavandula angustifolia* subsp. *angustifolia*, *Melissa officinalis*, *Thymus vulgaris* L., *Mentha piperita*, *Salvia officinalis* uçucu yağlarının antimikrobiyal etkinliğini belirlemek için disk difüzyon metodunu kullanmış ve sonuç olarak Gram pozitif ve Gram negatif bazı bakterilerde bu yağların etkili olduğunu rapor etmiştir.

#### **4.5.2 Uçucu yağın en etkili miktarının belirlenmesi**

Pozitif kontrolde antimikrobiyal etki gösteren okaliptus uçucu yağın laboratuvar ortamında Cmm üzerine en etkili miktarının belirlenmesi için; uçucu yağın 5 µl, 10 µl, 15 µl, 20 µl ve 25 µl'lik miktarları kullanılmıştır. 5 µl ve 10 µl yağ emdirilen diskler engelleme zonu oluşturmamıştır. 15 µl (15-16 mm), 20 µl (17-20mm) ve 25 µl (23-25 mm) yağ emdirilen diskler zon oluşturmuş (Fotoğraf 4.7.(a,b)) olup en büyük zon çapını 25 µl yağ emdirilen disk göstermiştir.



**Fotoğraf 4.9.** Okaliptus yağının uygulanan farklı dozlarının engelleme zon görüntüsü uygulama yapılan petrinin kapağının kapalı şekli (a), petri kapağının açılmış şekli (b)

Basım vd. (2000), domateste önemli derecede hastalık yapan bazı bakteriyel etmenlere karşı karabaş kekiğinden (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*) elde edilen uçucu yağın etkinliğini incelemişlerdir. Sonuç olarak farklı dozlarda uygulanan kekik uçucu yağının Cmm üzerinde 91 mg/ml doz oranının etmeni engellediği tespit etmişlerdir. Daferera vd. (2003) kekik, gritotu, biberiye, lavanta, ada çayı, yarpuz ve mercanköşk bitkilerinden elde ettikleri uçucu yağları Cmm ve bazı bitki patojen bakteriler üzerine farklı dozlarda denemiş ve yağ dozu arttıkça bakteri gelişiminin azaldığını saptamışlardır. Aynı zamanda Şahin vd. (2004), Cmm'ye karşı *Origanium vulgare* 33 mm zon çapı, clevenger cihazı ile uçucu yağı elde edilen lavanta uçucu yağının disk difüzyon yöntemi ile uygulandığı ve 23.7 mm inhibisyon zon çapı ile Cmm üzerine etkili olmuş ve uygulanan 5 µl/ml dozunun Cmm gelişimini tamamen durdurduğu bildirilmiştir (Eriş, 2006). Altundağ ve Aslım (2005), yaptıkları çalışmada agar kuyu difüzyon yöntemi ile farklı dozlarda kekik uçucu yağının bitki patojen bakterilerine karşı kullanmışlardır. Kekik uçucu yağının patojen bakterilere karşı antibakteriyel etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Kızıl ve Uyar (2006), kekik bitkisinin farklı türlerinden elde ettikleri uçucu yağları disk difüzyon metodu ile Cmm'in de içinde olduğu farklı bitki patojenleri üzerine antibakteriyel etkinliğinin olup olmadığını araştırmışlardır. 5, 10 ve 15 µl dozlarında uygulanan uçucu yağların 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde zon çapları ölçülmüş ve Cmm'e karşı etkili olduğunu saptamışlardır. Görmez vd. (2014), *Origanum rotundifolium* (mercanköşk) bitki uçucu yağını elde ederek GC-MS yöntemi ile uçucu yağların bileşenlerini belirlemiştir. 20 bitki patojeni üzerinde farklı dozlarda disk difüzyon yöntemi ile uygulanan uçucu yağın

ortalama 7-48 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Belgüzar vd. (2016b), kekik bitkisinden ele ettikleri uçucu yağ (5, 10, 15 ve 20 µl/ml) ve su ekstraktın (% 0.5, % 1, % 2, % 4 ve % 8) farklı dozlarını uçucu yağ 3 farklı yöntemde (besiyerine katılması, petri kapağına yapıştırma) uygulamışlardır. Kekik uçucu yağının 20 µl/ml'lik dozunun Cmm'i engellediğini bildirmişlerdir. Verilen bu bilgilere göre uçucu yağların bakteriyel bitki patojenleri üzerinde etkili olduğunu ve elde edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında birbirleri ile paralellik gösterdiği saptanmıştır. Cmm üzerine disk difüzyon metodu ile yapılan bu çalışmada okaliptus uçucu yağı etkili bulunmuş ve Cmm ile yapılan mücadele yöntemlerinde kullanılabilceği tespit edilmiştir.

#### 4.6 Uçucu Yağların Farklı Kombinasyonlarının Domateste Cmm'ye Etkisi

Okaliptus (*Eucalyptus citriodora*) bitkisinin uçucu yağı doz etki belirleme yöntemi ile etkin doz olarak bulunan 25 µl dozu ve Cmm izolatının taze kültürden  $10^7$  hücre/ml yoğunlukta hazırlanan bakteri süspansiyonları ve uçucu yağ bitkiye iki farklı kombinasyon ile uygulanmıştır. Negatif kontrol olarak steril saf su kullanılmıştır. Uçucu yağın çözündürülmeden direk bitkiye verildiğinde bitkinin tamamen öldüğü gözlenmiş ve bunun üzerine uçucu yağı 1/5 oranında çözündürmek için % 10'luk Dimethylsulfoxide (DMSO) kullanılmıştır. Büyütme kabininde yetiştirilen ve 3-4 gerçek yapraklı dönemde olan domates fideleri kullanılmıştır. Uygulamadan sonraki 8-15 gün bitkiler gözlemlenmiştir.



**Fotoğraf 4.10.** Okaliptus uçucu yağının bitkiye uygulanması

İki farklı kombinasyonun birincisinde domates fidelerine önce bakteri süspansiyonu uygulanıp 48 saat sonra uçucu yağ uygulanmış olan denemede 8-15 günlük sürede yapılan gözlemler sonucu uçucu yağın bitkide bakteri gelişimini engellemediği, ikinci uygulamada ise önce uçucu yağ püskürtülüp 48 saat polietilen torbada tutulduktan sonra bakteri süspansiyonu uygulanmış ve 8-15 günlük sürede yapılan gözlemlere göre hastalık etmeninin belirtileri bitkide gözlemlenmemiştir. Pozitif kontrol bitkilerinde hastalık belirtileri görülürken negatif kontrol bitkilerinde herhangi bir semptom gelişmemiştir.

Cmm izolatının bitkiye uygulanması üzerine yapılan literatür taramasında pek fazla bilgiye ulaşılamamıştır. Altundağ (2007), *Origanum minutiflorum* bitkisinin uçucu yağını *Xanthomonas vesicatoria* üzerinde denemiş ve önce uçucu yağ 48 saat sonra bakteri süspansiyonu uyguladığı çalışmada daha az hastalık semptomu oluştuğunu rapor etmiştir. Nashwa ve Abo-Elyousr (2012), okaliptüs bitkisinde yer aldığı 5 bitki ekstraktını *Alternaria solani*'ye karşı püskürtme yöntemi ile uygulamıştır. Sera denemeleri sırasında sarımsak ekstraktının %5' lik, pıtrak ekstraktının %1 ve %5' lik konsantrasyonunun hastalığı engellemede en yüksek etkiyi gösterdiğini ve diğer bitki ekstraktının ise daha az bir etki gösterdiğini bildirmişlerdir.



**Fotoğraf 4.11.** Bakteri uygulanıp 48 saat sonra uçucu yağ uygulanan domates bitkilerinin 15 gün sonraki görüntüsü



**Fotoğraf 4.12.** Uçucu yağ uygulanıp üzerine bakteri solusyonu uygulanan domates bitkisinin 15 gün sonraki görüntüsü

## BÖLÜM V

### SONUÇLAR

Domates taze olarak tüketiminin yanında birçok gıda ürünü olarakta tüketilmektedir. Giderek artan dünya nüfusunun besin ihtiyacını karşılamada domatesin önemli bir yeri olduğu gibi ticari boyuttada oldukça önemlidir. Bu konumda olan domatesin hastalık ve zararlılardan arı üretilmesi gerekmektedir. Domateste bakteriyel kanser hastalığına neden olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ' in tanılanması ve daha önce hiç kullanılmamış ve çok az kullanılmış olan sarı kantaron (*Hypericum perforatum*), okaliptus (*Eucalyptus citriodora*), karanfil (*Dianthus caryophyllus* L), anason (*Pimpinella anisum*) ve hardal (*Brassica nigra*) yağlarının antibakteriyel etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar ve bazı sonuçlara dayalı getirilen öneriler aşağıda maddeler halinde sunulmuştur;

- Mersin ilinde yoğun bir şekilde domates yetiştiriciliği yapılan bölgelerde yapılan surveyler sonucunda toplam 28 adet şüpheli domates bitki örneği toplanmış ve yapılan izolasyonlar sonucu 7 adet izolatın Cmm olduğu tespit edilmiştir.
- *In-vitro* koşullarda disk difüzyon metodu ile yapılan petri denemeleri sonunda sarı kantaron, karanfil, anason ve hardal yağlarının Cmm üzerine herhangi bir antibakteriyel etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.
- Okaliptus yağı ise disk difüzyon yöntemi ile yapılan petri denemelerinde öncelikle kontrol bakteri üzerinde denendiğinde 20 µl dozda zon oluşturarak en etkili uçucu yağ olarak bulunmuştur. Uygulanan miktarlardan 15 µl' de 16 mm, 20 µl' de 19 mm ve 25 µl' de 23 mm inhibisyon zon çapı elde edilmiştir. Yapılan çalışmaya göre uçucu yağın uygulama miktarı arttıkça antibakteriyel etkinin de arttığı saptanmıştır. İlerde uygulanan miktarlar arttırılarak Cmm üzerine etki eden en yüksek yağ miktarını belirlemek için çalışmalara devam edilmelidir.
- Domates bitkisinde büyüme kabinlerinde yapılan denemeler sonucunda bitkiye önce bakteri solusyonu püskürtülüp ardından uçucu yağ püskürtülerek yapılan denemede 25 µl' lik etkili miktar 1/5 oranında %10' luk DMSO ile hazırlanan okaliptus yağı miktarı Cmm hastalığını engelleyememiştir. Bu nedenle uçucu yağın bitkiye uygulanma yöntemi ve uygulanan yağ miktarı üzerinde daha fazla çalışma yapılması önerilmektedir. Uçucu yağların tohum ve toprak üzerine farklı



şekillerde uygulanması üzerine daha gelişmiş bir çalışma yapılması domates bitkisinde hastalık gelişimi üzerine etkili olabileceği düşünülmektedir.

- Domates bitkisine önce uçucu yağ uygulanıp ardından bakteri uygulanan çalışmada ise bitkide hastalık oluşumu engellenmiştir. Bu sonuçlara göre sonraki çalışmalarda uygulama yapılan bitkilerden reizolasyon yapılarak bitkide hastalık olup olmadığına bakılabilir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre okaliptus uçucu yağının belirlenen antibakteriyel etkinliğinden ve *in vivo* koşullarda bitkiye uygulanmasında başarılı olmasından dolayı organik tarımda yada kimyasal kullanımını azaltmayı hedefleyen diğer yetiştirme tekniklerinde Cmm' e karşı etkili bir mücadele yöntemi olabileceği saptanmıştır.



## KAYNAKLAR

- Agrios, G. N., Plant Pathology, *Elvesier Academic Press*, London, UK, 2005.
- Akat, S., Domates Bakteriyel Leke veya Kanser (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) Hastalığı'na Karşı Biyolojik Mücadele Yöntemleri, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, s. 3-5, 2008.
- Aksoy, H. M., Tomato bacterial diseases and their distribution in Samsun province, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, s. 15-18, 2002.
- Aktaş, S., Domates öz nekrozuna neden olan etmenlere karşı PGPR ve biyojan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, s. 7-8, 2015.
- Al-Reza, S. M., Rahman, A., Ahmed, Y. and Kang, S. C., "Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L", *Pesticide Biochemistry and Physiology* 96(2), 86-92, 2010.
- Altundağ, Ş., Labiatae familyasına ait bazı endemik türlerin önemli bitki patojeni bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, s. 7, 2007.
- Altundağ, Ş. and Aslım, B., "Kekiğin bazı bitki patojeni bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisi", *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 3(07), 12-14, 2005.
- Ayanoğlu, F., Mert, A. and Kaya, A., "Hatay florasında yetişen karabaş lavantanın (*Lavandula stoechas* subsp. *stoechas* L.) çelikle köklendirilmesi üzerine farklı lokasyonların ve hormon dozlarının etkisi", *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 24, 607-610, 2000.

Azaz, A. D., Irtem, H. A., Kurkcuođlu, M. and Baser, K. H. C., "Composition and the *in vitro* antimicrobial activities of the essential oils of some *Thymus* species", *Zeitschrift für Naturforschung C* 59(1-2), 75-80, 2004.

Balestra, G. M., Heydari, A., Ceccarelli, D., Ovidi, E. and Quattrucci, A., "Antibacterial effect of *Allium sativum* and *Ficus carica* extracts on tomato bacterial pathogens", *Crop Protection* 28(10), 807-811, 2009.

Basım, E., Basım, H., Dickstein, E. R. and Jones, J. B., "Bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on greenhouse-grown tomato in the Western Mediterranean Region of Turkey", *Plant Disease* 88, 1048-1059, 2004.

Basım, H., Yegen, O. and Zeller, W., "Antibacterial effect of essential oil of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria", *Journal of Plant Diseases and Protection* 27, 279-284, 2000.

Bayan, Y., Domates Bakteriyel Kanser Hastalığı (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'na dayanıklı ve hassas bitkilerde fenolik maddelerin araştırılması', Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tokat, s. 43-46, 2011.

Belgüzar, S., Yanar, Y. and Aysan, Y., "Intensity of bacterial wilt disease of tomato in Tokat and identification of disease agent (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)", *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 33(2), 34-40, 2016a.

Belgüzar, S., Yılar, M., Yanar, Y., Kadiođlu, İ. and Dođar, G., "*Thymus vulgaris* L.(Kekik) ekstrakt ve uçucu yağının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerine antibakteriyel etkisi", *Turkish Journal Weed Science* 19(2), 20-22, 2016b.

Benli, M. and Yiğit, N., "Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi", *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 3(8), 1-8, 2005.

Bozarı, S., Agar, G., Aksakal, O., Erturk, F. A. and Yanmis, D., "Determination of chemical composition and genotoxic effects of essential oil obtained from *Nepeta nuda* on *Zea mays* seedlings", *Toxicology and Industrial Health* 29(4), 339-348, 2013.

Bozarı, S., Çakmak, B. and Kurt, H., "*Satureja hortensis* bitkisinin uçucu yağlarının *Hordeum Vulgare* L. tohumları üzerine genotoksik etkileri", *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi* 20(3), 185-192, 2017.

Bremer, H., Karel, G., Bıyıkoglu, K., Göksel, N. and Petrak, F., "Türkiye'nin parazit mantarları üzerinde incelemeler (Schizomycetes, Oomycetes, Ascomycetes)", *İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Mecmuası* 17, 145-160, 1952.

Büyükkartal, H. N., Kahraman, A., Çölgeçen, H., Doğan, M. and Karabacak, E., "Mericarp micromorphology and anatomy of *Salvia hedgeana*", *Acta Botanica Croatica* 70(1), 65-80, 2011.

Ceylan, A., Tıbbi Bitkiler-II, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, İzmir, 1996.

Chaldecott, M. A. and Preece, T. F., "The use of a tomato cotyledon test to identify *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*", *Plant Pathology* 32(4), 441-448, 1983.

Çalış, Ö., Saygı, S., Çelik, D. and Bayan, Y., "Domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına dayanıklılık ve ters genetik", *Mediterranean Agricultural Sciences* 26(1), 5–10, 2013.

Çapanoğlu, E. and Boyacıoğlu, D., "Domatesin gelişimi sırasında antioksidan bileşiklerinde meydana gelen değişimler", *Akademik Gıda Dergisi* 8(1), 44-48, 2010.

Çelik, E. and Çelik, G. Y., "Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri", *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 5(2), 1-6, 2007.

Çetinkaya Yıldız, R., Domates bakteriyel solgunluk hastalık etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'nin tanınması ve bitki büyüme düzenleyici

rizobakteriler ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması, Doktora Tezi, **Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana, s. 2007.

Çetinkaya Yıldız, R. and Aysan, Y., "Domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al)'nin izolasyonu, geleneksel, serolojik ve moleküler yöntemlerle tanınması", **Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi** 19(1), 114-122, 2008.

Çetinkaya Yıldız, R. and Aysan, Y., "Domates bakteriyel solgunluk hastalığının bitki büyüme düzenleyici kökbakterileri ile biyolojik mücadelesi", **Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi** 5(1), 9-22, 2014.

Çınar, Ö., Bakteriyel domates solgunluk hastalığı (*Corynebacterium michiganense* (Erwin. F. Smith) Jensen)'nin tanımı, savaş yöntemleri ve etmene karşı dayanıklı domates çeşitleri üzerine araştırmalar, Bilimsel Araştırma ve İnceleme Tezleri, **Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları**, Adana, s. 139, 1980.

Daferera, D. J., Ziogas, B. N. and Polissiou, M. G., "The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*", **Crop Protection** 22(1), 39-44, 2003.

Dağcı, E. K., İzmirli, M. and Dığrak, M., "Kahramanmaraş ilinde yetişen bazı ağaç türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması", **Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi** 5(1), 38-46, 2002.

Demiray, E. and Tülek, Y., "Domates kurutma teknolojisi ve kurutma işleminin domatesteki bazı antioksidan bileşiklere etkisi", **Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi** 3, 9-20, 2008.

Dreier, J., Bermpohl, A. and Eichenlaub, R., "Southern hybridization and PCR for specific detection of phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*", **Phytopathology** 85(4), 462-468, 1995.

EPPO, "*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* - test methods for tomato seeds", **EPPO/EPPO Quarantine procedures No. 39** 22, 219-224, 1992.

Ergün, T., Investigation of allium tuncelianum extracts against some important pathogens in tomato and peppe, Yüksek Lisans Tezi, **Fen Bilimleri Enstitüsü**, Isparta, s. 18-20, 2015.

Eriş, M., Bitki uçucu yağ ve bileşenlerinin domates bakteriyel hastalık etmenleri üzerine olan antibakteriyel potansiyellerinin *in vitro* koşullarda araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, **Fen Bilimleri Enstitüsü**, Hatay, s. 41-42, 2006.

Facchini, P. J., "Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications", **Annual Review of Plant Biology** 52(1), 29-66, 2001.

FAO, Agriculture, vegetable production, <http://faostat.fao.org>, 26.04.2018.

Fatmi, M. and Schaad, N. W., "Survival of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in infected tomato stems under natural field conditions in California, Ohio and Morocco", **Plant Pathology** 51(2), 149-154, 2002.

Forster, R. L. and Echandi, E., "Relation of age of plants, temperature and inoculum concentration to bacterial cancer development in resistant and susceptible *Lycopersicum* spp", **Phytopathology** 63, 773-777, 1973.

Gleason, M. L., Braun, E. J., Carlton, W. M. and Peterson, R. H., "Survival and dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomatoes", **Phytopathology** 81(12), 1519-1523, 1991.

Gleason, M. L., Gitaitis, R. D. and Ricker, M. D., "Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in eastern North America", **Plant Disease** 77(11), 1069-1076, 1993.

Görmez, A., Bozari, S., Yanmis, D., Gulluce, M., Agar, G. and Sahin, F., "The use of essential oils of *Origanum rotundifolium* as antimicrobial agent against plant pathogenic bacteria", **Journal of Essential Oil Bearing Plants** 19(3), 656-663, 2014.

Groot, S. P. C., Van der Wolf, J. M., Jalink, H., Langerak, C. J. and Van den Bulk, R. W., "Challenges for the production of high quality organic seeds", *Seed Testing International* 127, 12-15, 2005.

Hartmann, T., "From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism", *Phytochemistry* 68(22-24), 2831-2846, 2007.

Heatley, N. G., "A method for the assay of penicillin", *Biochemical Journal* 38(1), 61, 1944.

Iacobellis, N. S., Lo Cantore, P., Capasso, F. and Senatore, F., "Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils", *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(1), 57-61, 2005.

Kabaş, A., Ünlü, A., İlbi, H., Oğuz, A. and Zengin, S., "BATEM domates hatlarının bakteriyel kanser ve solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'a dayanıklılık durumlarının belirlenmesi", *VIII. Sebze Tarımı Sempozyumu*, Van, 23-26 Haziran, 2010.

Kahramanoğlu, İ. and Uygur, F. N., "Trifluralin'in azaltılmış dozlarının kırmızı köklü tilki kuyruğu [*Amaranthus retroflexus* L. (Amaranthaceae)]'nun gelişimine etkisi", *Bitki Koruma Bülteni* 50(4), 213-221, 2010.

Kahveci, E. and Gürcan, A., "Antalya ilinde domateslerdeki bakteriyel hastalık etmenlerinin tespiti", *Bitki Koruma Bülteni* 33, 147-151, 1993.

Karaca, G. and Saygılı, H., "Domateslerde bakteriyel hastalıklar", *İzmir Bölge Zirai Mücadele ve Karantina Başkanlığı* 1, 1977.

Karahan, O., Domates Solgunluk Hastalığının (*Corynebacterium michiganense* (E.F.Sm) Jensen) Mücadele Metodunun Tespiti Üzerine Çalışmalar:104 -811 No' lu Proje Raporu, *Ankara Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü*, Ankara, 1965.

Karlovsky, P., Secondary Metabolites in Soil Ecology, *Springer*, UK, 2008.

Kasselaki, A. M., Goumas, D., Fuchs, J., Leifert, C. and Tamm, L., "Effect of alternative strategies for the disinfection of tomato seed infected with bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)", *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences* 58(3-4), 145-147, 2011.

KızıL, S. and Uyar, F., "Antimicrobial activities of some thyme (*Thymus*, *Staureja*, *Origanum* and *Thymbra*) species against important plant pathogens", *Asian Journal of Chemistry* 18(2), 1455-1461, 2006.

Kocabas, Y. Z. and Karaman, S., "Essential oils of Lamiaceae family from south east Mediterranean region (Turkey)", *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4(10), 1221-1223, 2001.

Kocaçalışkan, D., Bitki Fizyolojisi, *Bizim Büro Basımevi*, Ankara, 2006.

Kotan, R., Cakir, A., Dadasoglu, F., Aydin, T., Cakmakci, R., Ozer, H., Kordali, S., Mete, E. and Dikbas, N., "Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria", *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90(1), 145-160, 2010.

Kotan, R., Dadasođlu, F., Karagoz, K., Cakir, A., Ozer, H., Kordali, S., Cakmakci, R. and Dikbas, N., "Antibacterial activity of the essential oil and extracts of *Satureja hortensis* against plant pathogenic bacteria and their potential use as seed disinfectants", *Scientia Horticulturae* 153, 34-41, 2013.

Lukas, B., Schmiderer, C., Franz, C. and Novak, J., "Composition of essential oil compounds from different Syrian populations of *Origanum syriacum* L. (Lamiaceae)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(4), 1362-1365, 2009.

Mirik, M. and Aysan, Y., "Effect of some plant extracts as seed treatments on bacterial spot disease of tomato and pepper", *The Journal of Turkish Phytopathology* 34(1-2-3), 9-16, 2005.



Mondal, M. and Khalequzzaman, M., "Ovicidal activity of essential oils against red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)", *Journal of Bio-Science* 17, 57-62, 2009.

Muratore, G., Rizzo, V., Licciardello, F. and Maccarone, E., "Partial dehydration of cherry tomato at different temperature, and nutritional quality of the products", *Food Chemistry* 111(4), 887-891, 2008.

Nashwa, S. M. and Abo-Elyousr, K. A., "Evaluation of various plant extracts against the early blight disease of tomato plants under greenhouse and field conditions", *Plant Protection Science* 48(2), 74-79, 2012.

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. and Lacroix, M., "Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat", *Meat Science* 73(2), 236-244, 2006.

Oyman, B. U., Essential oil analysis of some plant species and antimicrobial activities, Yüksek Lisans Tezi, *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, s. 13-15, 2017.

Öktem, Y. E., "Domates bakteriyel solgunluğu (*Corynebacterium michiganense*)'nun Ankara İlindeki yayılışı, etmeninin toprak ve bitkiden izolasyonu ile bitki artıklarında yaşama süresi üzerine çalışmalar", *Türkiye'de Sertifikalı ve Kontrollü Tohumluk Üretim ve Dağıtım Sorunları Sempozyumu*, İzmir, 8-10 Şubat 1985.

Öktem, Y. E. and Benlioğlu, K., "Orta Anadolu Bölgesinde domates ekim alanlarında bakteriyel hastalıklar üzerine araştırmalar", *Bitki Koruma Bülteni* 33(1), 5-10, 1993.

Özdemir, Z., "First Report of Fruit Infections of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, on Processing Tomato in Turkey", *Plant Pathology Journal* 4(2), 143-145, 2005.

Özer, H., "Organik domates yetiştiriciliği", *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi* 2(1), 43-53, 2016.

Özkan, G., Türkiye’de Lamiaceae (Labiatae) familyasına ait baharat veya çeşni olarak kullanılan bazı bitkilerin fenolik bileşenleri ile antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi, Doktora tezi, **Fen Bilimleri Enstitüsü**, Konya, s. 4, 2007.

Öztürk, B., Karabay, N. Ü. and Gökgünneç, L., "Türkiye’de doğal yayılış gösteren bazı *Menta L.* taxonlarından elde edilen uçucu yağların karşılaştırmalı antimikrobiyal etkileri", **14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı**, Eskişehir, 29-31 Mayıs, 2002.

Özyılmaz, Ü. and Benlioğlu, K., "Domates bakteriyel kanser hastalığı (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.)’na karşı antagonist bakteriler ile biyolojik mücadele", **Doğu Karadeniz II. Organik Tarım Kongresi**, Rize, 6-9 Ekim, 2015.

Petro-Turza, M., "Flavor of tomato and tomato products", **Food Reviews International** 2(3), 309-351, 1986.

Quatrin, P. M., Verdi, C. M., de Souza, M. E., de Godoi, S. N., Klein, B., Gundel, A., Wagner, R., de Almeida Vaucher, R., Ourique, A. F. and Santos, R. C. V., "Antimicrobial and antibiofilm activities of nanoemulsions containing *Eucalyptus globulus* oil against *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida* spp", **Microbial Pathogenesis** 112, 230-242, 2017.

Rivas-Cáceres, R. R., LuisStephano-Hornedo, J., Jorge, L., Rocio, V., Del Aguila, P., Yañez-Ocampo, G., Mora-Herrera, M. E., Díaz, L. M. C., Cipriano-Salazar, M. and Alaba, P. A., "Bactericidal effect of silver nanoparticles against the propagation of *Clavibacter michiganensis* infection in *Lycopersicon esculentum* Mill", **Microbial Pathogenesis** 115, 358-362, 2018.

Sarıkoç Çıtırıkaya, B., Domateslerde (*Lycopersicon lycopersicum L.*) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in enfeksiyon modeli üzerinde araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, **Fen Bilimleri Enstitüsü**, İzmir, s. 26, 2010.

Scortichini, M., "Considerations on the appearance of *Pseudomonas corrugata* as a new plant pathogen", **Plant Pathogenic Bacteria** 1, 149-154, 1994.

Soykan, Ö., Bazı bitki aktivatörleri ile organik ve inorganik gübrelerin domateste bakteriyel solgunluk hastalığına etkisi, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana, s. 17, 2010.

Soylu, S., Baysal, Ö. and Soylu, E. M., "Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-S-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato seedlings", *Plant Science* 165(5), 1069-1075, 2003.

Soylu, S., Soylu, E. M. and Akdemir Evrendilek, G., "Dereotu (*Anethum graveolens* L.) ve rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) uçucu yağlarının gıda ve bitki kaynaklı patojen bakteriler üzerine antibakteriyel etkilerinin incelenmesi", *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Bolu, 24-26 Mayıs, 2006.

Soylu, S., Soylu, E. M., Baysal, O. and Zeller, W., "Antibacterial activities of the essential oils from medicinal plants against the growth of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*", *1st Symposium Biocontrol of Bacterial Plant Diseases*, Germany, 23-26 October, 2005.

Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Agar, G. and Özer, H., "Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey", *Food Control* 15(7), 549-557, 2004.

Şahin, F., Karaman, I., Güllüce, M., Ögütçü, H., Şengül, M., Adıgüzel, A., Öztürk, S. and Kotan, R., "Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L", *Journal of Ethnopharmacology* 87(1), 61-65, 2003.

Şahin, F., Uslu, H., Kotan, R. and Donmez, M. F., "Bacterial canker, caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, on tomatoes in eastern Anatolia region of Turkey", *Plant Pathology* 51(3), 389-399, 2002.

Tireng Karut, Ş., Organik tarımda domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'ne karşı kullanılabilir tohum uygulamaları, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana, s. 25, 2011.

Tokgönül, S., Ticari domates tohumlarında bakteriyel solgunluk etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'nin saptanması ve mücadele olanakları üzerine araştırmalar, Doktora Tezi, **Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana, s. 30-33, 1998.

Tokgönül, S. and Çınar, Ö., "Domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ile mücadelede antagonist bakterilerin kullanım olanakları", **Türkiye 4. Biyolojik Mücadele Kongresi**, Adana, 26-29 Ocak, 1999.

TÜİK, Bitkisel üretim istatistikleri, [www.tuik.gov.tr](http://www.tuik.gov.tr), 26.04.2018.

TÜİK, Bitkisel üretim istatistikleri, [www.tuik.gov.tr](http://www.tuik.gov.tr), 26.04.2018.

Ulukuş, İ., Elazığ, Diyarbakır ve Mardin illerinde domates ve biberlerde bakteriyel hastalıkların surveyi, belirtileri, etmenlerin tanısı ve en önemlisine karşı korunma çareleri üzerine araştırmalar, Doktora tezi, s. 1982.

Uyar, S., Akdeniz Bölgesinde örtüaltı domates üretiminde kullanılan yaygın domates çeşitlerinin domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalık etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'e karşı dayanıklılık reaksiyonlarının belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, **Fen Bilimleri Enstitüsü**, Antalya, s. 7-9, 2011.

Vural, H., Eşiyok, D. and Duman, İ., Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme), **Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi**, Bornova, İzmir, 2000.

Wink, M. and Schimmer, O., "Molecular modes of action of defensive secondary metabolites", **Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites** 39, 21-161, 2010.

Yanar, Y., Belgüzar, S. and Telci, İ., "*Origanum* spp., *Mentha* spp. ve *Lippia* sp. türlerine ait uçucu yağların *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Botrytis cinerea*'ya karşı antimikrobiyal etkisi", **Turkish Journal of Weed Science** 19(1), 18-25, 2016.

Yılmaz, M., Bazı uçucu yağların domates bakteriyel kanser ve solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) etmeninin kontrolündeki etkinliğinin belirlenmesi

ve bu yağların film kaplamada kullanımı, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Antalya, s. 112-119, 2014.

Yılmaz, M., Kavak, S. and Baysal, Ö., "Bazı ticari sabit ve uçucu yağların domates bakteriyel kanser ve solgunluk etmeni üzerine antibakteriyel etkileri", *Derim* 31(1), 50-60, 2014.



## ÖZGEÇMİŞ

Nida ÜNLÜ 10.01.1993 yılında Silifke/MERSİN’de doğdu. İlk ve orta öğretimini Kırıbası Köyü/SİLİFKE, lise öğretimini Silifke/MERSİN’de tamamladı. 2011 yılında girdiği Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünden Haziran 2015’te mezun oldu. 2017 yılında Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Bölümüne Araştırma Görevlisi olarak atandı.



