

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKDENİZ BÖLGESİ' NDE ÖRTÜALTI DOMATES ÜRETİMİNDE
KULLANILAN YAYGIN DOMATES ÇEŞİTLERİNİN DOMATES
BAKTERİYEL SOLGUNLUK VE KANSER HASTALIK ETMENİ *Clavibacter*
michiganensis subsp. *michiganensis*' E KARŞI DAYANIKLILIK
REAKSİYONLARININ BELİRLENMESİ

SERKAN UYAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

2011

**AKDENİZ BÖLGESİ' NDE ÖRTÜALTI DOMATES ÜRETİMİNDE
KULLANILAN YAYGIN DOMATES ÇEŞİTLERİNİN DOMATES
BAKTERİYEL SOLGUNLUK VE KANSER HASTALIK ETMENİ *Clavibacter
michiganensis* subsp. *michiganensis*' E KARŞI DAYANIKLILIK
REAKSİYONLARININ BELİRLENMESİ**

SERKAN UYAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**Bu tez 2008.02.0121.008 no' lu proje olarak Akdeniz Üniversitesi Bilimsel
Araştırmalar Proje Birimi tarafından desteklenmiştir.**

2011

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKDENİZ BÖLGESİ' NDE ÖRTÜALTI DOMATES ÜRETİMİNDE
KULLANILAN YAYGIN DOMATES ÇEŞİTLERİNİN DOMATES
BAKTERİYEL SOLGUNLUK VE KANSER HASTALIK ETMENİ *Clavibacter*
michiganensis subsp. *michiganensis*' E KARŞI DAYANIKLILIK
REAKSİYONLARININ BELİRLENMESİ

SERKAN UYAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu tez .../.../2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (.....) not takdir edilerek
Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hüseyin BASIM (Danışman)

Prof. Dr. Naci ONUS

Yrd. Doç. Dr. Cengiz İKTEN

ÖZET

AKDENİZ BÖLGESİ' NDE ÖRTÜALTI DOMATES ÜRETİMİNDE KULLANILAN YAYGIN DOMATES ÇEŞİTLERİNİN DOMATES BAKTERİYEL SOLGUNLUK VE KANSER HASTALIK ETMENİ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' E KARŞI DAYANIKLILIK REAKSİYONLARININ BELİRLENMESİ

Serkan UYAR

Yüksek Lisans Tezi Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hüseyin BASIM

OCAK 2011, 78 sayfa

Bu çalışmada, Akdeniz Bölgesi' nde örtü altında yaygın olarak yetiştirilen bazı domates çeşitlerinin bakteriyel Solgunluk ve Kanser hastalık etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' e karşı dayanıklılık reaksiyonları belirlenmiştir.

Araştırmada bitki materyali olarak Antalya İlindeki ticari domates fidesi üreten firmalardan temin edilen 93 farklı yerli domates çeşidine ait fideler kullanılmıştır. Fideler geliştirme odasında 18 saat ışıklandırma süresi ile 8 hafta süresince gündüz sıcaklığı 25 °C, gece sıcaklığı ise 18 °C sıcaklıkta geliştirilmiştir.

İnokulasyona hazır hale gelen bitkilere, Antalya' nın Aksu ilçesinden izole edilen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10 straini (1×10^8 cfu/ml) petiol kesilerek insulin iğnesi ile inokule edilmiştir. Bitkiler, hastalığın düzgün seyri için

geliştirme odalarına (Bitki Koruma Bölümü Kontrollü İklim Odaları) aktararak gündüz-gece sıcaklığı 26/18 °C' de gelişmeye bırakılmıştır.

Hastalık şiddetinin belirlenmesinde Bakteriyel Solgunluk ve Kanser Hastalık etmeninin tipik semptomu olan solgunluk ölçüt alınmıştır. Hastalığa ait semptomlar 17. günden itibaren gözlenmeye başlanmıştır. Yapılan çalışmada hastalığın bitki çeşitlerindeki seyri inokulasyon sonrası 28' inci günde yapılan kontrolle 1-5 skalasına göre analizi yapılmıştır.

Elde edilen veriler 1-5 skalasına göre değerlendirilmiştir. Çeşitlerin tamamında büyüme ucu öldüğü için değerlendirme skalasında 1. skala değerinde yer almıştır. Araştırma sonucuna göre test edilen 93 farklı domates çeşidinin tamamının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' e karşı dayanıksız olduğu tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Domates, Domates Bakteriyel Solgunluk ve Kanser Hastalığı, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, Dayanıklılık

JURİ: Prof. Dr. Hüseyin BASIM (Danışman)

Prof. Dr. Naci ONUS

Yrd. Doç. Dr. Cengiz İKTEN

ABSTRACT
THE RESISTANCE REACTIONS OF COMMON
TOMATO VARIETIES USED IN THE PRODUCTION OF GREENHOUSE
TOMATOES IN MEDITERRANEAN REGION OF TURKEY AGAINST *Clavibacter*
***michiganensis* subsp. *michiganensis* CAUSAL AGENT**
OF BACTERIAL CANKER and WILTING DISEASE OF TOMATO

Serkan UYAR

M. Sc. Thesis in Plant Protection

Adviser: Prof. Dr. Hüseyin BASIM

January 2011, 78 Pages

In this study, the resistance reactions of tomatoes grown commonly in greenhouse cultivation in Mediterranean Region of Turkey were determined against Bacterial Canker and Wilting of Tomato *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

In the research, 93 different domestic types of tomato seedlings provided by the commercial companies producing seedlings in Antalya province were used as plant producing materials. The seedlings were cultivated for 8 weeks with 18 hours of light and 18 °C at night exposure at 25 °C in growth chamber.

The plants have been inoculated with bacterial suspensions (1×10^8 cfu/ml) by infiltrating the bacteria into excised-petiole with 1 ml plastic syringe with a 27-gauge needle. The plants were kept at the temperature of 26 °C/18 °C day/night temperatures, respectively in growth chamber.

The wilting which is a typical symptom of Bacterial Wilting and Canker Disease was taken as a scale for indicating the intensity of disease. The symptoms of disease had been observed starting from the 17th day. In this study, the progress of disease in

the different varieties is evaluated by the observation done based on 1-5 scale in the 28th day after inoculation.

Based on the observation on the desiccation sites of the leaflets, the resistance reactions of the varieties were ranked in the 1st in the scale. In conclusion, it has been determined that all of the 93 different varieties were susceptible to *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.

KEY WORDS: Tomato, Tomato Bacterial Wilting and Cancer Disease, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, Resistance

COMMITTEE: Prof.Dr. Hüseyin BASIM (Adviser)

Prof.Dr. Naci ONUS

Asst.Prof.Dr. Cengiz İKTEN

ÖNSÖZ

Bu çalışma kapsamında Akdeniz Bölgesinde örtüaltında yaygın olarak yetiştirilen domates çeşitlerinin Bakteriyel Solgunluk ve Kanser hastalık etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' e karşı gösterdiği dayanıklılık seviyeleri belirlenmiştir. Çalışmanın tamamı Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki koruma Bölümü' nde gerçekleştirilmiştir.

Tez konunun belirlenmesinde, çalışmaların ve sonuçların değerlendirilmesinde değerli katkılarını esirgemeyen, bana karşı göstermiş olduğu sabır ve ilgiden dolayı sayın hocam Prof.Dr. Hüseyin BASIM' a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışmasını destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine, yabancı menşeli domates çeşitlerini temin etmemi sağlayan Tomato Genetics Resource Center' a, yine çalışmalarım boyunca bana her yönden destek olan arkadaşlarıma ve bu süreçte bana gösterdikleri özveri ve verdikleri destekten dolayı aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ	1
2.KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI	7
2.1 Patojenlere Karşı Bitkilerde Savunma ve Antioksidanlar	10
2.2 <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> (Smith) Davis et al., 1984 ile ilgili Bilgiler	31
2.3 <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> ile Konukçu Bitki Arasındaki Etkileşim	35
2.4 <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> ' in Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar	47
3.MATERYAL ve METOT	52
3.1. Çalışmada Kullanılan Bakteriyel Strain.....	52
3.2. Çalışmada Kullanılan Domates Çeşitleri ve Geliştirilmesi	52
3.3. Bitki Materyalinin Bakteriyel Patojen İle İnokulasyonu	55
3.4. Hastalık Şiddetinin Belirlenmesi	56
4.BULGULAR	57
4.1. Hastalığın Seyri ve Enfeksiyon Sınıfının Belirlenmesi	57
5.TARTIŞMA	62
6.SONUÇ	67
7.KAYNAKLAR	68
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

da	dekar
g	Gram
ha	hektar
IU	International Unit
kcal	Kilokalori
kDa	KiloDalton
mg	Miligram
°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

Kısaltmalar

ABA	Absisik Asit
APX	Askorbat peroksidaz
AVR	Avirülens
CAT	Katalaz
CHS	Şalkon sentaz
<i>Cmm</i>	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>
DHA	Dehidroaskorbat

DNA	Deoksiribonukleik Asit
EPS	Ekzopolisakkaritler
FAO	Birleşmiş Milletler Beslenme ve Tarım Örgütü
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	İndirgenmiş Glutatyona
GSSG	Glutasyon disülfid
GSSH	Okside glutasyonu
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HCL	Hidroklorik asit
HR	Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu
HRGPs	Hidroksiprolin glikoproteinler
ISR	Sistemik direnç
JA	Jasmonik Asit
LOX	Lipoksigenaz
MDHA	Monodehidroaskorbat'dan
NaOH	Sodyum Hidroksit
NO	Nitrik oksid
PAL	Fenilalanin amonyum liyaz
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PR	Patojenisiteye Bağlı Protein
ROS	Reaktif oksijen türleri
SA	Salisilik Asit

SAR	Sistemik Kazandırılmış Dayanıklılık
SOD	Süperoksit dismutaz
TMV	Tütün Mozaik Virüsü
USDA	Birleşik Devletler Tarım Bakanlığı
UV	Ultraviole

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Dünya Domates Üretimindeki Ülkelerin Toplam Üretimdeki Payları (%)	4
Şekil 2.1. HR Cevap Süresince Antioksidan Sisteminde Meydana Gelen Değişmeler.....	23
Şekil 2.2. Enzim Aktivitesi	26
Şekil 2.3. <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> ' in Erken Dönemde Domates Bitkisinde Oluşturduğu Solgunluk Belirtileri	33
Şekil 2.4. <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> ' in Bitkilerdeki Hastalık Döngüsü	34
Şekil 2.5. <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> Tarafından Enfekte Edilmiş Bir Domates Bitkisinin Ksilem Damarının Dikey Kesiti	38
Şekil 2.6. <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> Hastalığı Kapmış Bir Domates Bitkisinin Yatay Kesimi	40
Şekil 4.1. Hastalığın ilk Belirtisi	57
Şekil 4.2. <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> ile İnokule Edilen Bitkilerde Ortaya Çıkan Hastalık Belirtileri	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. 1987-2006 Yılları Arasında Türkiye’ De Yetiştirilen Sebze Miktarı	3
Çizelge 1.2. Dünya Genelinde 2000-2007 Yılları Arasında Üretilen Domates Miktarı....	4
Çizelge 2.1. Ortalama Büyüklükte (123 G) Olgun Bir Domates’ İn Kimyasal Yapısı	9
Çizelge 2.2. PR Proteinleri	16
Çizelge 2.3. Bitkilerde ROS Oluşumu, Lokalizasyonu ve Uzaklaştırılması	24
Çizelge 3.1. Çalışmada Kullanılan Domates Çeşitleri	53
Çizelge 4.1. <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> ile İnokule Edilen Domates Bitkilerinde İlk Hastalık Belirtisinin Gözlemlendiğine Kadar Geçen Süre	59

1.GİRİŞ

Dünya nüfusunun günden güne hızlı bir şekilde artması birçok sorunu ortaya çıkarmıştır. Bu sorunlardan bir tanesi de nüfusun beslenme ihtiyacının karşılanmasıdır. Günümüzde mevcut tarım alanlarının sınırlarının daralmış olması ve tarımsal arazilerin miktarının artırılmasının neredeyse imkânsızlaşması, bilim çevrelerini harekete geçirmiş ve birim alandan daha fazla ürün elde etme çabalarına sokmuştur.

Tahminlere göre global sebze üretimi son 10 yılda %56 artış göstererek 893.432.504 tona ulaşmıştır. 2010 yılında ise 1 milyar tona ulaşması beklenmektedir. 1995-2005 yılları arasında sebze ekilen alanlar %42 artmış, günümüzde 52 milyon hektar olmuştur (Anonim 2007-b).

Akdeniz ülkelerinin toplam sera alanı 168.200 hektardır. Bunun yaklaşık 29.954 hektarı Türkiye’ de bulunmaktadır. Toplam sera varlığı bakımından Türkiye, İspanya (26.300 ha) ve İtalya’ nın (26.500 ha) önünde yer almaktadır. Ancak, Hollanda 10.500 hektarlık cam sera varlığı ve modern işletme yöntemleriyle seracılıkta önde gitmektedir. Yaklaşık 50 yılı aşkın bir geçmişi olan ülkemiz seracılığı çok hızlı bir gelişme ile 29.954 hektarlık alanda büyük bir sektör olmuştur. Özellikle, büyük sermayenin bir kısmının bu sektöre kayması ile son 10 yıl içerisinde sektörün büyüme hızı, tarımın diğer alanları ile karşılaştırıldığında çok ciddi bir ivme kazandığı ortaya çıkmaktadır. 1997 yılında 20.000 hektar olan toplam sera alanı %33’ lük artış ile 2001 yılında 29.954 hektara çıkmıştır ve artış devam etmektedir (Anonim 2007-a).

Türkiye’de örtüaltı yetiştiriciliği ilk defa 1940’ lı yıllarında Antalya da kurulan seralarda başlamıştır (Abak ve Ertekin 1985; Tekinel ve Baytorun 1990). Örtüaltı yetiştiriciliğinin ilk yirmi yılını kapsayan devrede gerek örtü altı (sera) alanlarının, gerekse sayılarının çok az olduğu görülmektedir.

Plastiğin 1970li yıllardan itibaren örtü materyali olarak kullanılması ile örtüaltı alanlarındaki gelişmeler hızlanmıştır. 1960 yılında 10 030 dekar olan toplam sera alanı yıllık ortalama % 10-15 artarak 1990 yılında 78 211 dekara ulaşmıştır (Karataş ve Beşiroğlu 1992).

Türkiye de 1996 yılı sonu itibariyle örtü altında sebze yetiştirilen alanlar 379 870 dekar olmuştur. Bunun 160 267 dekar alanı sebze yetiştirilen seralar, 219 603 dekar alan turfandacılık yapılan alçak ve yüksek plastik tünellerdir. Toplam sera alanının % 23' ü 36 899 dekar cam sera ve % 77'si olan 123 368 dekar plastik sera alanıdır. Türkiye'de cam seralarda yetiştirilen sebze türleri içinde birinci sırayı 16 603 dekar (% 48,2) ve plastik seralarda yetiştirilen sebze türleri içinde yine birinci sırayı 57 682 dekar (% 51,8) ile domates almaktadır.

1960' tan bugüne dünyada domates üretimi %300 artmıştır. Domates, dünyada en çok üretilen, tüketilen ve ticarete konu olan tarım ürünlerinin basında gelmesi, insan beslenmesinde vazgeçilmez ürünlerden olması ve gıda sanayinde dondurulmuş, konserve, salca, ketçap, tursu gibi çok çeşitli kullanım alanlarına sahip olması nedeniyle önemli sebzelerin basında gelmektedir. Domates dünyada birçok ülkede yetiştirilmekle birlikte, Türkiye uygun iklim koşulları nedeniyle domates üretiminde önemli ülkelerden biridir. Gıda sanayi içinde en önemli hammaddelerden biri olan ve çok geniş bir kullanım alanı bulunan domates ile ilgili sanayilerin basında, meyve ve sebze isleme sanayisi gelmektedir. Bu sanayinin tüm alt dallarında da domates hammadde olarak kullanılmaktadır. Bunlar: Meyve ve sebze konserve sanayisi, salca sanayisi, meyve suyu sanayisi, dondurulmuş meyve ve sebze sanayisi, kurutulmuş sebze ve meyve sanayisi ve diğer sanayilerdir (Keskin ve Gül 2004).

Ülkemiz, Birleşmiş Milletler Beslenme ve Tarım Örgütü (FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations) 2007 yılı verilerine göre 984.603 hektarlık alanda sebze üretimi yapılmaktadır. Bu alanın 270.000 hektarlık kısmında domates üretimi gerçekleştirilmektedir. FAO' nun 2005 yılı verilerine göre ülkemizde 6.625.510 dekar alanda yaklaşık 24,5 milyon ton sebze üretimi

yapılmakta ve 1.500.000 tonu sanayi tipi olmak üzere 9.824.877 ton ile bu ürünler içinde domates ilk sırayı almaktadır.

Türkiye İstatistik Kurumu' nun (TÜİK) 2006 yılı verilerine göre; sebze üretimi içinde, 9.854.877 ton üretim miktarıyla domates ilk sırada yer almaktadır. Domates'i 5.570.911 ton üretimle kavun ve karpuz, 1.842.175 ton üretimle biber, 1.799.613 ton üretimle hıyar ve 924.165 ton üretimle patlıcan izlemektedir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. 1987-2006 yılları arasında Türkiye'de yetiştirilen sebze miktarı (ton)

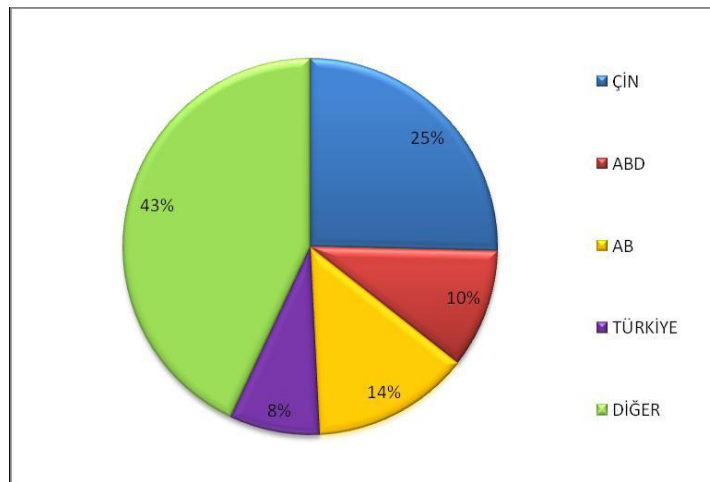
Yıllar	Domates	Kavun-Karpuz	Biber	Hıyar	Patlıcan
1987	5.000.000	5.350.000	750.000	800.000	710.000
1988	5.250.000	5.250.000	730.000	800.000	730.000
1989	5.750.000	4.500.000	853.000	800.000	720.000
1990	6.000.000	4.950.000	900.000	1.000.000	735.000
1991	6.200.000	5.700.000	920.000	1.010.000	750.000
1992	6.450.000	5.300.000	954.000	1.050.000	750.000
1993	6.150.000	4.900.000	965.000	1.050.000	750.000
1994	6.350.000	5.400.000	1.008.000	1.140.000	810.000
1995	7.250.000	5.400.000	1.080.000	1.250.000	750.000
1996	7.800.000	5.800.000	1.150.000	1.300.000	850.000
1997	6.600.000	5.550.000	1.130.000	1.400.000	847.000
1998	8.290.000	5.815.000	1.400.000	1.475.000	915.000
1999	8.956.000	5.725.000	1.462.000	1.650.000	976.000
2000	8.890.000	5.805.000	1.480.000	1.825.000	924.000
2001	8.425.000	5.795.000	1.560.00	1.740.00	945.00
2002	9.450.000	6.395.000	1.750.000	1.670.000	955.000
2003	9.820.000	5.950.000	1.790.000	1.780.000	935.000
2004	9.440.000	5.575.000	1.700.000	1.725.000	900.000
2005	10.050.000	5.795.000	1.829.000	1.745.000	930.000
2006	9.854.877	5.570.911	1.842.175	1.799.613	924.165

Birleşmiş Milletler Beslenme ve Tarım Örgütü (FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations) 2007 yılı verilerine göre Dünyada toplam domates üretim miktarı 126.090.702 tona ulaşmıştır (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2. Dünya genelinde 2000-2007 yılları arasında üretilen domates miktarları (ton)

Ülkeler/Yıllar	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Çin	22.324.767	24.116.211	27.153.121	28.842.743	30.143.929	31.618.462	32.540.040
AB	17.980.856	17.109.192	15.716.991	17.520.238	19.806.171	18.418.743	16.572.655
ABD	11.558.800	10.001.720	12.383.200	10.522.000	12.854.480	10.982.790	11.298.040
TÜRKİYE	8.890.000	8.425.000	9.450.000	9.820.000	9.440.000	10.050.000	9.854.877
DİĞER	47.585.129	46.764.243	49.876.602	50.649.297	53.288.815	55.153.684	56.730.439

Dünya genelindeki ülkelerin domates üretim miktarına bakıldığında Türkiye, Çin, Amerika Birleşik devletleri (ABD), ve Avrupa Birliği (AB) ülkelerinden sonra dördüncü sırada yer almaktadır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Dünya domates üretimindeki ülkelerin toplam üretimdeki payları (%) [FAO 2007]

Solanaceae familyasının *Lycopersicum* cinsine bağlı tek yıllık bir bitki olan Domates içerdiği çeşitli mineraller ve vitaminler ile önemli bir besin maddesidir. Domates, mevcut üretim potansiyeli ile ülke içindeki tkentinin yanı sıra, hem taze olarak ve hem de dilimlenmiş şekilde yapılan ihracatı nedeni ile ülkemiz ekonomisine büyük katkılar sağlayabilecek niteliklere sahip bulunmaktadır (Erkan vd 1992).

Domates yetiştiriciliği örtü altında ve açık alanda olmak üzere iki şekilde yapılır (Sevgican 1999). Ülkemizin tamamında domates yetiştiriciliği yapılmasına karşın, ekonomik anlamda domates yetiştiriciliğinin önemli olduğu bölgeler, başta Akdeniz Bölgesi olmak üzere Ege Bölgesi ve Marmara Bölgesi'dir (Keskin ve Dölekoğlu 2005).

Örtü altı tarımın gelişmesi ile kültürel işlemlerin yeteri oranda yapılmaması, uzun yıllar st üste aynı bitki kültürü yapılması, hastalıklı materyallerin üretim alanından uzaklaştırılmaması, sera havalandırmasının yanlış yapılışı, ilaçlı mücadelenin doğru zamanlarda uygulanmamasının sonucunda domates üretim alanlarında her yıl önemli oranda hastalık meydana gelmektedir. Dünyada ve Türkiye'de her yıl zararlılar, yabancı otlar ve hastalık etmenlerinin neden olduğu ürün kayıpları toplam üretim yaklaşık olarak % 35 kadardır. Fungal ve viral hastalık etmenlerinden başka, bakteriyel kökenli patojenler de verim ve ürün kalitesinde önemli düşüşler meydana getirmektedir. Domates üretimini ve verimini olumsuz yönde etkileyen birçok cinse dahil önemli bakteriyel hastalık etmenleri bulunmaktadır. Kültür bitkilerinin çoğunda olduğu gibi, domates yetiştiriciliğinde de birçok hastalık ve zararlı, üretimi tehdit eden unsurlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Üretim arttırılmasında verimli, kaliteli çeşit seçimi yanında domates üretim alanlarının hastalık ve zararlılardan korunmasının önemi büyüktür (Erkan vd 1992, zgz vd 1994). Dünyada bütün hastalık etmenlerinden dolayı olan verim kayıplarının yaklaşık 500 milyar dolar (USD) dolayında olduğu tahmin edilmektedir (Oerke vd 1994).

Antalya ve çevresindeki sera domateslerinde özellikle öz nekrozu, bakteriyel kanser, bakteriyel leke, bakteriyel benek ve yumuşak çürüklük etmenleri tarafından oluşturulan bakteriyel hastalıklar önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Basım ve Öztürk 2000). Bu hastalık etmenlerinden Domates Bakteriyel Solgunluk ve Kanser etmeni *Clavibacter michinagenesis* subsp. *michinagenensis* (Smith) Davis et al.,1984 (*Cmm*) önemli yer teşkil etmektedir.

Bu hastalık etmeninin tohum kökenli olması nedeni ile ülkemizde uygulanan karantina düzenlemeleri kapsamında iç ve dış karantina listesinde yer almaktadır. Özellikle yurt dışından ithal edilen üretim materyallerinin (tohum, fide) bu patojenler açısından incelenmesi zorunludur. Yine ülkemizde 308 sayılı Tohumluk Sertifikasyonuna bağlı yönetmelikte adı domates tohumlarında geçen bu etmeninin varlığı ve erken dönemde tespiti çok önemlidir. Bu patojenin tohum üzerinde kabul edilebilir limiti sıfırdır. Bu sebepten dolayı yurt dışından ithal edilen üretim materyalinin bu patojene karşı incelenmesi son derece önemlidir.

2. KURUMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

Lycopersicon esculentum, *Lycopersicon esculentum* Mill., *Lycopersicon esculentum* var. *esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum*, *Lycopersicum esculentum*, *Solanum esculentum*, *Solanum esculentum* Dunal, *Solanum lycopersicon*, *Solanum lycopersicum* L. gibi çeşitli şekillerde adlandırılan domates; Plantae âleminin Magnoliophyta bölümünün, Magnoliopsida sınıfındadır. Domates bu sınıf içinde Solanales takımının, Solanaceae familyası dâhilindedir. *Solanum* genusu içinde yer alan domates günümüzde taksonomik olarak *Solanum lycopersicum* olarak adlandırılmaktadır.

Kültürü yapılan domatesin anavatanının Güney Amerikanın orta ve güney kısımları olduğunu bildirmiştir (Jenkins 1948). Bugün kültürü yapılan domateslerin *L. hirsutum*, *L. peruvianum* ve *L. pimpinellifolium* dan faydalanılarak geliştirildiği, ana materyalin ise *L. peruvianum* olduğu bilinmektedir. *Lycopersicon* cinsinin bulunuş merkezi Güney Amerika'nın dar batı şerididir. Ekvatorla 30⁰ güney enlemi arasındaki dar batı şeridinin doğusu And Dağları, batısı ise Büyük Okyanusla çevrilidir. Avrupalıların Amerikayı keşfetmelerinden önce domates yetiştiriciliğine ait hiç bir bilginin bulunmaması Meksika'nın dünyaya yayılış merkezi olduğu tezini kuvvetlendirmektedir. Kiraz domateslerinin bugünkü kültür domateslerinin atası olduğu tartışma kabul etmemektedir. Domates ile daha önce gıda olarak kullanılan *Physalis alkekengi* (çilek domatesi) nin birbirine genel olarak benzemesi domatesinde besin maddesi olarak Meksika da ilk defa kullanıldığı tezini ortaya çıkarmıştır. Domates buradan Avrupa'ya Avrupa'dan da dünyanın diğer merkezlerine yayılmıştır. Domates Meksika dilinde Tomana olarak adlandırılmaktadır. Bunun dışında Cennet elması, Aşk elması, Peru elması gibi isimlerle de anılmaktadır.

L. esculentumun kromozom sayısı 12 olup *L. pimpinellifoliumla* kolayca melezlenir. *L. hirsitumla* çaprazlanabilirse de F1 döllerı kısırđır. *L. peruvianum* polenleri ile *L. esculentum* döllenirse genellikle Partenokarpik meyveler gelişir.

Bugün domates Kuzey ve Güney yarım kürede çok büyük alanlarda üretilmektedir. Domatesin ülkemize Adana'dan girdiği tahmin edilmektedir.

Domates, anavatanı Güney ve Orta Amerika olan, biber, patlıcan ve patates ile yakın akraba, tek yıllık, çift çenekli, otsu bir bitkidir. Bitkinin tırtıklı kenarlara sahip 5-9 yaprakçık barındıran pinnat yapraklarının boyu 10-25 santimetre arasında değişir. Bazı durumlarda tüylü yapıdaki yaprakçıkların boyları 8 santimetreye kadar çıkabilmektedir. Çiçekleri beş kolludur ve 1-2 santimetre çapında taç yapraklar bulundurur (Acquaah 2002). Domatesin küçük sarı meyveler veren atası *Lycopersicon cerasiforme*' nin ilk kez Aztekler tarafından Meksika' da kültüre alındığına dair deliller mevcuttur. Domatesi Avrupa' ya İspanyol kâşiflerin getirdiği düşünülmektedir (Anonim 2008-a).

Domatesin hasat edilen kısmı, rengi likopen birikimine bağlı olarak sarıdan koyu kırmızıya kadar değişen meyvesidir. Meyvenin şekli ve büyüklüğü domatesin çeşidine göre değişiklik göstermektedir. Meyvelerin çapları 2-15 santimetre arasındadır. Meyveler A, C vitaminleri ve potasyum açısından oldukça zengindir (Rhodes 2008) (Çizelge 2.1). Domatesin insanlar tarafından en fazla üretilen ve tüketilen tarımsal ürün olması (Anonim 2007-b), taze tüketilebilmesinin yanında pek çok farklı ürüne işlenebilirliği, yüksek vitamin ve mineral içeriği göz önüne alındığında insan sağlığı açısından önemi daha iyi anlaşılır.

Çizelge 2.1. Ortalama büyüklükte (123 g) olgun bir domatesin Birleşik Devletler Tarım Bakanlığı (USDA, United States Department of Agriculture) Milli Gıda Standart Referans Veritabanı' na göre kimyasal içeriği (Anonim 2008-c)

Genel Kompozisyonu		Mineral içeriği		Vitamin içeriği		Aminoasit içeriği	
Su	116,23 g	Kalsiyum	12 mg	C vitamini	15,6 mg	Triptofan	0,007 g
Enerji	22 kcal	Demir	0,33 mg	Tiamin	0,046 mg	Treonin	0,033 g
Protein	1,08 g	Magnezyum	14 mg	Riboflavin	0,023 mg	İzolösin	0,022 g
Toplam yağ	0,25 g	Fosfor	30 mg	Niasin	0,731 mg	Lösin	0,031 g
Doymuş	0,034 g	Potasyum	292 mg	Pantotenik asit	0,109 mg	Lizin	0,033 g
Tekli doymamış	0,038 g	Sodyum	6 mg	B-6 vitamini	0,098 mg	Metionin	0,007 g
Çoklu doymamış	0,102 g	Çinko	0,21 mg	Folat	18 µg	Sistin	0,011 g
Fitosterol	9 mg	Bakır	0,073mg	Kolin	8,2 mg	Fenilalanin	0,082 g
Kül	0,61 g	Mangan	0,14 mg	Betain	0,1 mg	Tirozin	0,017 g
Şeker	4,82 g	Flor	2,8 µg	β karoten	552 µg	Valin	0,022 g
Diyet lif	1,5 g			α karoten	124 µg	Arjinin	0,026 g
Glukoz	1,54 g			A vitamini	1025 IU	Histidin	0,017 g
Fruktoz	1,69 g			Likopen	3165 mg	Alanin	0,033 g
				E vitamini	0,66 mg	Aspartikasit	0,166 g
				K vitamini	9,7 µg	Glutamik asit	0,530 g
						Glisin	0,023 g
						Prollin	0,018 g
						Serin	0,032 g

2.1 Patojenlere Karşı Bitkilerde Savunma ve Antioksidanlar

Bitkiler patojen saldırılarından kendilerini korumak için birçok savunma mekanizmasına sahiptir. Bu savunma mekanizmaları bazı patojenler için caydırıcı bir rol oynar iken bazı patojenler için etkisiz kalmaktadır. Bunun sonucunda da hastalıklar ortaya çıkmaktadır.

Bakteriler, funguslar, virüsler ve nematodlar gibi birçok organizma için besin kaynağı olan bitkiler, patojenlerden soyutlanamazlar fakat kaçınılmaz olan patojen saldırılarını algılamak ve karşı koymak için evrim sürecinde uygun savunma stratejileri geliştirmişlerdir. Bitkiler patojen istilasına etkili bir biçimde durdurabilmek için yapılarında varolan fiziksel ve kimyasal engeller kadar, patojen atağı ile aktive olan, uyarılabilir savunma tepkilerini de kullanırlar.

Bitkiler farklı stres faktörlerine karşı aynı veya benzer savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bitkiler stresi ya tölere etmekte yada ondan kaçınmaktadırlar. Stres faktörleri yapısal ve metabolik hasarlara neden olmaktadır. Bu hasarlar tersinir ya da geri dönüşümsüz olabilirler. Bu yüzden bitkiler sekonder metabolitlerin yanı sıra başka savunma yolları geliştirmişlerdir. Bunlar dehidrin veya PR proteinleri gibi spesifik proteinler, fenilpropanaoid yolunun aktivasyonu, reaktif oksijen türlerin oluşumu, antioksidanların aktivasyonu, thionin, thaumatin, kitinaz, glukanaz gibi PR proteinleri, fitoaleksinler, düşük molekül ağırlıklı fenolikler, savunma enzimleri ve düşük sıcaklık, ağır metaller, ozmotik stres, ozon ve patojen gibi stres faktörlerine karşı sentezlenen diğer savunma faktörleri, programlanmış hücre ölümü olan HR, SAR vs.'dir (Plaz 2003).

Bitkilerin hastalık etmenlerine karşı oluşturdukları savunma mekanizmaları genel dayanıklılık, özel dayanıklılık ve antioksidanlar adı altında 3 başlık şeklinde incelenir.

Genel dayanıklılık; Birçok bitki türü bazı hastalıklara karşı doğal olarak dayanıklılık gösterirler. Genelde bir bitkide hastalık oluşturabilen bir etmen başka bir bitkide herhangi bir hastalık oluşturmayabilir. Bu durum genel dayanıklılık veya temel dayanıklılık olarak adlandırılmaktadır. Bu tip dayanıklılık uzun ömürlüdür. Genel dayanıklılığın mekanizması birçok durumda bitkide patojen sporlarının gelişmesini, hücre ve dokuları enfekte etmesini önleyici olmasından kaynaklanmaktadır. Bitkideki kütikula, hücre çeperinin yapısı, fenolik bileşiklere ya da hastalık etmeni tarafından uyarılabilecek bir savunma sistemine sahip olması, o bitkinin hastalığa karşı dayanıklı olmasını sağlamaktadır (Özcan vd 2001).

Özel dayanıklılık; Konukçu bitkiler hastalıkların oluşturacağı zararlar engel olmak için dayanıklılık genlerini geliştirmişlerdir. Dayanıklılık geninin ürünü olan proteinler hastalık etmeninin bitkiye girmesi sırasında salgıladığı sinyal moleküllerini tanıma yeteneğine sahiptirler. Bu tanıma işlemi bitkinin savunma sisteminin harekete geçirilmesi bakımından zorunludur. Sonuçta bitki savunma mekanizmasının uyarılması antimikrobiyal etkiye sahip birçok proteinin bitkide üretilmesine neden olmaktadır (Özcan vd 2001).

Genel dayanıklılık ile özel dayanıklılık arasındaki en önemli fark, genel dayanıklılığın özel dayanıklılığa oranla çok daha uzun ömürlü olmasıdır.

Bitki kendisini patojen saldırısından koruyabilmek için şu özelliklere sahip olmalıdır:

- Bitki patojenin kendisini konukçu olarak tanımasına fırsat vermemelidir .
- Bitki patojenin içeri sızmasını önleyici silahlara sahip olmalıdır.
- Bitki içeriye girmeyi başarmış patojenlerin gelişmesini önleyebilecek donanıma sahip olmalıdır.

Bitki patojen tarafından etkilense bile patojenin daha fazla yayılarak tüm bitkiyi öldürme olasılığını en aza indirebilecek sistemlere sahip olmalıdır (Özcan vd 2001).

Yaralanma, patojenik olmayan organizmaların yanısıra virü lent olmayan ve virü lent patojenlerle enfeksiyon sonrasında bitkilerde genel olarak bir savunma cevabı meydana gelmektedir. Virü lent olmayan bir patojen ile enfeksiyon sonrasında virü lent patojenler ve nonpatojenlerle interaksiyonda meydana gelmeyen hipersensitif bir cevap (HR) oluştururlar. Bu yüzden farklı iki sinyal yolu meydana gelmektedir. Bunlardan biri çeşitli uyarımlara karşı oluşan genel bir savunma cevabı ve diğ eri avirü lent patojenlere karşı oluşan HR'dir.

Bitkilerde savunma cevaplarının bir bölümü çeşitli fonksiyonel gruplara ayrılmaktadır (Baron vd 1995). İlk olarak Fenilalanin amonyum liyaz (PAL), Şalkon sentaz (CHS) ve Şalkon izomeraz gibi fenilpropanoid metabolizmasıdır. Bu metabolizmanın birçok son ürünü gibi fitoaleksinler, hücre duvarı yapısına katılan lignin gibi doğrudan antimikrobiyal etki göstermektedir. Fenilpropanoid ürünleri farklı biyotik ve abiyotik uyarımlara karşı bitki savunmasında farklı rollere sahiptirler.

Konukçu bitkiler hastalıkların oluşturacağı zararlar engel olmak için dayanıklılık genlerini geliştirmişlerdir. Dayanıklılık geninin ürünü olan proteinler hastalık etmeninin bitkiye girmesi sırasında salgıladığı sinyal moleküllerini tanıma yeteneğine sahiptirler. Bu tanıma işlemi bitkinin savunma sisteminin harekete geçirilmesi bakımından zorunludur. Sonuçta bitki savunma mekanizmasının uyarılması antimikrobiyal etkiye sahip birçok proteinin bitkide üretilmesine neden olmaktadır (Özcan vd 2001).

İkinci savunma cevabı hidroksiprolin-zengin glikoproteinler (HRGPs)'in sentezi ve peroksidazlardır. Bu savunma genlerinin ürünleri patojenin

yayılmasını engelleyen yapısal bariyerlerin sentezlenmesinde görev yapmaktadırlar.

Üçüncü savunma cevabını ise Kitinaz, Glukanaz, Pektinaz enzim sentezleri oluşturmaktadır. Bu enzimler savunma cevaplarının uyarılmasında görev yapan bitki hücre duvarından endogenik elisitörlerin (uyarıcı) serbest kalmasını ve fungusun hücre duvarının parçalanmasını sağlamaktadırlar.

Son olarak çeşitli bitki patojen sistemlerinde lipoksigenaz (LOX) aktivitesinde meydana gelen artıştır. LOX ürünleri jasmonik asit gibi patojen ve yaralanmalara karşı oluşan genel cevaplardandır (Baron vd 1995).

Ayrıca bitki dokularının UV, yaralanma, don vs. streslere maruz bırakılması da fitoaleksinin sentezlenmesine neden olmaktadır (Kodame ve Li 1992).

Bitkiler ve patojenler arasındaki interaksyonda ya başarılı bir şekilde enfeksiyon yada başarılı bir şekilde direnç meydana gelmektedir (Mansfield vd 1999). Direnç sırasında virus, bakteri veya funguslar ile enfeksiyon sonucunda enfekte olmuş hücrelerin etrafında bir dizi lokalize cevaplar meydana gelmektedir. Bu cevaplara hücre ölümüne neden olan oksidatif stres de dahildir. Bu şekilde patojenler ölü hücrelerde hapsolmakta ve enfeksiyon bölgesinden bitkinin diğer bölgelerine yayılmaları engellenmiş olmaktadır. Ayrıca lokal cevaplar sırasında hücrelerin hücre duvarlarının yapısında değişimler meydana gelmekte böylece patojenin hücre içine girişi de engellenmektedir. Fitoaleksinin, PR (Patojen ile bağlantılı proteinler) proteinleri gibi antimikrobiyal bileşiklerin *de novo* sentezi ile de patojenlerin hücreleri enfekte etmesi sırasında patojene karşı bir direnç oluşturulmaktadır. Enfeksiyon sonrasında oluşan sinyaller ile henüz enfekte olmamış bitki bölgelerinde gen ekspresyonu da uyarılarak lokal cevapların oluşması sağlanmaktadır.

Sistemik direnç (saldırıya uğrayan bitkinin enfeksiyon bölgesinden uzak dokularda savunma kapasitesini artırması) sırasında fitoaleksinin ve PR proteinlerinin üretimi gerçekleşmektedir. Fitoaleksinler lokal cevapların başlıca antimikrobiyal bileşikleri iken PR proteinleri hem lokal hem de sistemik direnç sürecinde meydana gelmektedirler (Mansfield vd 1999).

Uyarılabilir bitki savunma mekanizması fitoaleksinler, litik enzimler, okside olan maddeler, hücre duvarı lignifikasyonları ve patojenite ile ilgili birkaç proteini de kapsayan antimikrobiyal maddeleri içermektedir.

Bitkilerde antimikrobiyal bileşikler genel olarak iki gruba ayrılmaktadır; Fitoantisipin ve fitoaleksinler (Mansfield vd 1999). Fitoantisipinler enfeksiyon öncesinde bitkilerde var olan veya enfeksiyon sonrasında da meydana gelen düşük molekül ağırlığına sahip olan antimikrobiyal bileşiklerdir. Fitoaleksinler ise bitkiler abiyotik strese veya mikroorganizmalara maruz kaldıktan sonra bitkilerde hem sentezlenen hem de biriken düşük molekül ağırlığına sahip antimikrobiyal bileşiklerdir. Fitoaleksinler enfeksiyon bölgesinde birikirler ve *in vitro* ortamda bakteri, fungus gelişimini inhibe etmektedirler. Bu yüzden fungus ve bakteri tarafından meydana gelecek olan hastalıklara karşı savunma bileşikleri olarak kabul edilmektedirler.

PR proteinleri bitkilerde patojen enfeksiyon sonucu veya buna benzer stres koşullarında sentezlenen proteinlerdir. Sistemik direnç oluşturmaktadırlar. PR proteinleri patojenin saldırısını, yayılmasını, çok yönlülüğünü sınırlandırmakta ve yaralanma, incinme, yüksek osmotik basınç gibi diğer stres koşullarında da oluşturmaktadırlar. PR proteinlerinin ilk kez TMV (Tütün Mozaik Virüsü) ile enfekte edilen tütün yapraklarında yapılan çalışmada hipersensitif bir reaksiyon sonucunda meydana geldiği tespit edilmiştir (Lonn vd 1999).

PR proteinleri ilk olarak enfeksiyon sonrasında yüksek bitkilerde keşfedilmiştir. PR proteinlerinin şimdiye kadar 14 familyada 40 türü bulunmuştur (Lonn vd 1999) (Çizelge 2.2). Bu proteinler interselüler alanlarda lokalize olan

asidik PR proteinleri ve genellikle vakuolde intraselüler alanlarda biriken fonksiyonel olarak asidik PR proteinlerine benzeyen fakat farklı moleküler ağırlıklarına ve aminoasid dizilerine sahip bazı proteinler olmak üzere iki büyük gruba ayrılmaktadır (Legrand vd 1987).

PR proteinleri sistemik dirençte bir marker olarak kabul edilmektedir. Fitoaleksinler gibi *in vitro* ortamlarda antibakteriyal ve antifungal aktiviteye sahiptirler (Legrand vd 1987).

Birçok çalışma ile başlıca iki sinyal yolu olduğu tespit edilmiştir (Rojo ve Solanao 2003). Patojen saldırılarına karşı direnç yolu olan SA' e bağlı sistemik direnç ve herbivorlara karşı etkili olan JA' e bağlı direnç.

Bitkiler herbivor ve hastalıkların etkisini azaltabilmek için de çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Böcek veya patojen saldırıları bitkilerde savunma mekanizmalarını harekete geçirecek olan endojenik hormonların birikimine neden olmaktadır. SA, JA ve Etilen gibi spesifik bitki hormonları çoğu patojen ve zararlı böceklere karşı sentezlenmektedirler. Patojenle enfeksiyon sonucunda savunma mekanizmalarını harekete geçirecek olan sinyaller oluşmakta ve buna bağlı olarak da lokal ve sistemik antimikrobiyal savunma oluşmaktadır. Üç bitki hormonu SA, JA ve etilen hormonları patojenle enfeksiyon sonrası bitkilerde sinyal olarak görev yapmaktadırlar (Rojo ve Solanao 2003).

SA, JA ve etilen patojen enfeksiyonu veya herbivorların oluşturduğu yaralanmayla birikirler ve uzak ya da kısmen birlikte savunma bağlantılı genleri aktive etmektedirler. Direnç genleri transkriptleri, enfekte hücrede ve çoğunlukla etrafındaki hücrelerde birikirler. Bu genler PR proteinleri olarak adlandırılan kitinaz, glukanaz, defensin, peroksidaz ve fitoaleksin sentez yolunda yer alan enzimleri kodlamaktadırlar (Rojo ve Solanao 2003).

Eksojen uygulanan SA'in, gen ekspresyonu ve fitoaleksinler ile aralarında PR proteinlerinin de yer aldığı birçok proteinin sentezini uyardığı bildirilmiştir. SA birikimi, bitki dokularında patojene karşı hem lokal savunma tepkilerinin oluşturulmasında, hem de Sistemik kazanılmış direnç (SAR)'in kurulmasında gereklidir. Tütün yaprakları TMV inoküle edildiğinde, SA içeriğinin 180 kat arttığı bulunmuştur. SA'e bağlı bir direnç yolu olan SAR en fazla uyarılan dayanıklılık mekanizması olarak kabul edilmektedir. SA bitkilerde hareketli bir molekül olmasına karşın, SAR için mobil bir sinyal olma özelliği göstermemektedir. Uzun mesafe taşınabilen sinyallerin (lipid türevli sinyaller) algılanması, enfekte olmamış dokularda SA birikimine neden olur; bunun sonucu olarak da aralarında PR genlerinin de yer aldığı savunma genlerinin aktivasyonu gerçekleşmektedir (Heil 2002).

Çizelge 2.2 Farklı PR proteinleri (Lonn vd 1999)

PR Proteinleri	Üye tipi	Özellikleri
PR-1	Tütün PR-1a	Bilinmiyor
PR-2	Tütün PR-2	B-1,3 Glukanaz
PR-3	Tütün P,Q	Kitinaz I, II ,IV,V, VI,VII
PR-4	Tütün R	Kitinaz tip I,II
PR-5	Tütün S	Thaumatimn benzeri
PR-6	Domates inhibitörl	Proteinaz İnhibitörü
PR-7	Domates P ₆₉	Endoproteinaz
PR-8	Salatalık Kitinaz	Kitinaz III
PR-9	Tütün (lignin oluşumu peroksidaz)	Peroksidaz
PR-10	Maydanoz-PR1	Ribonukleaz benzeri
PR-11	Tütün sınıf V kitinaz	Kitinaz tip I
PR-12	Turp R _s – AFP3	Defensin
PR-13	Arabidopsis THI2-1	Thionin
PR-14	Arpa LTP4	Lipid- transfer protein

Bitkiler patojenden kaynaklanan bazı molekülleri (elisitörleri) algılayarak savunma tepkilerini başlamaktadırlar. Bu tür biyotik uyarıcılar, glikoproteinlerin dahil olduğu proteinler, polifenoik yağ asitleri, kitin ve β -1,3 glukanlardan türevlenen fragmentler gibi patojenlerden kaynaklanan ve spesifik olmayan elisitörlerdir (Heil 2002).

Savunma tepkimelerinin ilk ve önemlisi, direnç genleri tarafından spesifik patojenlerce kodlanan avirulens (Avr) proteinlerin algılanmasıdır (Heil 2002). PR genleri ile oluşturulan savunma tepkisi (aynı zamanda gen için-gen direnci), saldırı bölgesinde bulunan hücrelerde hızlı nekrozların (hipersensitif tepki veya HR) ortaya çıkmasına neden olmakta ve patojenin o bölgede etkin bir şekilde sınırlandırılması ile sonuçlanmaktadır. Yani bitkilerde patojen interaksyonu süresince HR'nin dahil olduğu birçok savunma mekanizmaları aktif hale gelmektedir.

HR hastalıklara direnç sağlamak için hızlı bir hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır. Programlanmış hücre ölümünde enfeksiyon bölgesinde ve çevresinde hücre ölümü gerçekleştirilerek patojenin yayılması engellenmektedir (Heil 2002).

Biyolojik olarak, birkaç uyarılmış sistemik savunma sistemi detaylı olarak tanımlanmıştır (Heil 2002). Bunlar nekrotik patojenler tarafından tetiklenen SAR patojen olmayan rizobakter strainlerinin köklerde kolonize olmasıyla aktive olan uyarılmış sistemik direnç (ISR) ve böceklerin beslenmesine bağlı olarak ortaya çıkan doku hasarlarıyla uyarılan yara uyarımlı savunma sistemlerini kapsamaktadır. Uyarılmış savunma tepkileri, iç bağlantıları sinyal transdüksiyon yolları ağı ile düzenlenmektedir.

Patojenler de bitkilerin bu savunma mekanizmalarına karşın bitki dokuları içerisinde ilerlemelerini sağlayacak sistemler geliştirmişlerdir (Mariana vd 2005). Bunlardan birisi hücre duvarının yapısında bulunan yapısal bileşikleri

parçalayan hidrolitik enzimler (Kitinaz, Pektinaz, Selülaz, Hemiselülaz, Ligninaz) bir diğeri ise toksinlerdir.

Bitkiler ise patojenin bu virülens faktörlerine karşı önemli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bunlar içinde Antioksidanlar, Fenolikler, Fitoaleksinler, Savunma peptitleri ve proteinleri, HR, SA, JA vs. bulunmaktadır.

Antioksidanlar; Serbest radikaller (Hidroksil radikali, süperoksit radikalleri vs.) oksidatif fosforilasyon sonucu meydana gelirler ve oksidatif hasarlara neden olmaktadırlar. Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi enerji üretimi ve pek çok diğeri metabolik işlevde temel oluşturur. Ama zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olmaktadır. Normal koşullar altında bu serbest radikallerin yıkımı ve üretimi bitki hücresi içinde düzenlenmektedir. Buna rağmen çevresel stresler (yüksek ışık yoğunluğu, herbisitler, patojen saldırılar, kuraklık, tuzluluk, hava kirliliği vs.) sonucunda serbest radikaller ile antioksidan sistemin aktivitesi arasında denge bozulmakta ve protein denaturasyonu, lipid peroksidasyonu, DNA mutasyonlarını içine alan oksidatif hasarlar meydana gelmektedir (Poontariga vd 2003).

Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri (ROS)'de denilmektedir (Çavdar 1997) .

Bu yüksek aktiviteye sahip bileşikler (serbest radikaller) kirli havalarda, radyasyonda (ışınım), bitki koruma ilaçlarında, bozulmuş gıdalarda ve normal metabolik süreçte bulunurlar. Serbest radikaller hücrelere saldırıp tahrip etmektedirler. İlk saldırıda öncelikli olarak yeni bir serbest radikal oluşmakta ve kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlamaktadır.

Reaktif oksijen türleri redüksiyon ve oksidasyon olayları sırasında kloroplast, mitokondri gibi hücre organellerinde elektron taşınımı sonucu bitki hücrelerinde düşük düzeylerde meydana gelmektedirler (Mehdy 1994).

ROS aslında patojen ve herbivor saldırılarına karşı bitkinin savunma cevabında önemli bir yere sahip olan bileşiklerdir. Oksidatif yaralanma, aktif programlanmış hücre ölümü ve PR proteinleri gibi antimikrobial savunma süresince meydana gelmektedirler. Son yıllarda patojen-bitki interaksyonu üzerinde yapılan çalışmalarda reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerini ortadan kaldıran Askorbat peroksidaz, Katalaz gibi enzimlerin etkili olduğu ortaya konmuştur. Bitki dokularının patojenle inokulasyonu veya hücre kültürlerine mikrobiyal uyarıcıların uygulanması Hidrojen Peroksit (H_2O_2)'in hızlı bir şekilde oluşturulması ile karakterize edilen oksidatif yaralanmaya neden olmaktadır. H_2O_2 hipersensitif hücre ölümü için bölgesel sinyal olarak görev yapmaktadır. Herbivorlar sonucu meydana gelen yaralanma sonucu sistemin meydana gelmektedir. Sistemin plazma membranında bulunan reseptörlere bağlanarak hücre içine sinyal göndermektedir. Sinyal sonucu JA sentezlediği, JA ve H_2O_2 'de domates yapraklarındaki mezofil hücrelerindeki savunma genlerini uyardığı tespit edilmiştir (Low vd 1994 , Lamb vd 1997 , Bolwell 1999).

Reaktif oksijen türlerinin etkileri uzun süreli olarak kabul edilmekte ve canlılarda hastalıklara, yaşlanmaya neden olmaktadır. ROS geçici olarak meydana geldikleri gibi enzimatik olarak da meydana gelmektedirler. ROS'nin enzimatik kaynakları hem ekstraselüler hem de intraselülerdir. Büyük ROS kaynakları hücre duvarlarında bulunan peroksidazlar ve aminoksidazlar, plazma membranında bulunan NADP oksidaz, mitokondri, kloroplast, peroksizomlarda bulunan intraselüler oksidaz ve peroksidazlardır (Çizelge 2.3) (Bolwell 2002).

Bitkilerde hastalık etmenin oluşturduğu sinyalin algılanması bitkinin savunma mekanizmasını aktif hale getirmektedir. Bitki savunmasında aktif oksijen olarak adlandırılan ürünler bitki hücresi tarafından üretilmeye başlanır.

Reaktif oksijen ürünleri arasında H_2O_2 ve süperoksit anyonları sayılabilir. Aktif oksijen türevleri bitkide en az dört değişik role sahiptir (Özcan vd 2001).

Reaktif oksijen türleri ilk olarak hipersensitif hücre ölümüne neden olmaktadır. Hipersensitif, bitkinin sadece patojenin enfekte ettiği bölgedeki hücrelerini öldürmesi olayıdır. Hücre ölümü patojenin sadece enfeksiyonun olduğu bölgede lokalize olmasına neden olmakta ve bu şekilde hastalığın yayılması önlenmektedir.

Reaktif oksijen türevlerinin ikinci bir fonksiyonu hastalık etmenine karşı doğrudan öldürücü etkide bulunmasıdır. Bilindiği gibi H_2O_2 yaraların enfekte olmasını önlemek ve çevreyi mikroplardan arındırmak için kullanılmaktadır (Özcan vd 2001).

Reaktif oksijenin bir başka fonksiyonunda lignifikasyonda rol oynamasıdır. Lignin oluşumu bitkilerde enfeksiyondan sonra hücre duvarının sağlamlaştırılması bakımından önemlidir. Bitkide lignin yapılması da hidrojen peroksit yapımını gerektirir. Gereksinim duyulan hidrojen peroksit bitki hücresinde enfeksiyona tepki olarak üretilen H_2O_2 'dir (Özcan vd 2001).

Reaktif oksijen türlerinin diğer bir rolü de bitkide sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır. Hastalık etmeninin enfeksiyonu sonucunda bitki hücresinde üretilen H_2O_2 veya öteki aktif oksijen bileşikleri bitkinin dayanıklılık sistemini uyarıcı etkide bulunmaktadır. Reaktif oksijen sadece enfekte olmuş bölgelerdeki genleri uyarmakla kalmaz, aynı zamanda sistemik doku olarak bilinen ve bitkinin hastalık tarafından henüz etkilenmediği bölgelere giderek oradaki genlerin de aktif hale gelmesini sağlamaktadır. Bu olay SAR olarak bilinir. SAR sistemi uyarılmış bitkide, bundan sonraki enfeksiyonlara karşı dayanıklılık son derece artar. Bu olay bir yerde bitkinin aşılınması ile eşdeğerdir (Chen vd 1994 ve Neuenschwander vd 1995).

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir (Çavdar vd 1997).

Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Enzimatik olmayan antioksidanlar vitamin A, C, E, KoenzimQ10, Selenyum, Çinko gibi mineraller, Melatonin hormonu, Kareteneoidler; Likopen, α -Karoten, β -Karoten, Lutein, Zeaksantin, Astaksantin, Flavonoller; Quercetin, Rutin, Tanninlerdir. Enzimatik antioksidan grubunda ise Katalaz (CAT) [H_2O_2 'nin moleküler oksijene dönüşümünü katalizler], Askorbat peroksidaz (APX) [H_2O_2 'nin su ve monodehidroaskorbata dönüşümünü katalizler], Glutatyon redüktaz (GR) [okside glutatyonu (GSSH) indirgenmiş Glutatyona (GSH) katalizler] ve Glutatyon peroksidaz [hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzim], Glutatyon S-transferaz [başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar] bulunmaktadır.

Patojenle enfeksiyon sırasında elisitör ve reseptör arasındaki interaksiyon sonucunda hızlı iyon akışları ve oksidatif stres meydana gelmektedir. Erken cevap oluşması için dolaylı yoldan heterotrimerik G proteine ihtiyaç vardır. G proteinleri plazma membranında lokalize olmuştur ve bitkide patojene karşı savunma sırasında hem Ca kanallarının aktivasyonunu hem de membrana bağlı NADPH oksidaz'ın aktivasyonunu uymaktadır (Xing vd 1997).

Bitkilerde ve diğer aerobik organizmalarda enerji üretimi sırasında oksijen gereklidir. O_2 'nin H_2O 'ya indirgenmesi süresince ROS meydana gelmektedir. ROS birçok hücrel kompartımda meydana gelebilirler. Stres koşullarında kuraklık, tuz stresi, ozon, yüksek ve düşük sıcaklıklar, ayrıca kalvin döngüsünde NADP'nin indirgenmesi, elektron transferi, lipid katabolizması, fotosolunum olaylarında oluşmaktadır (Uranova vd 2002).

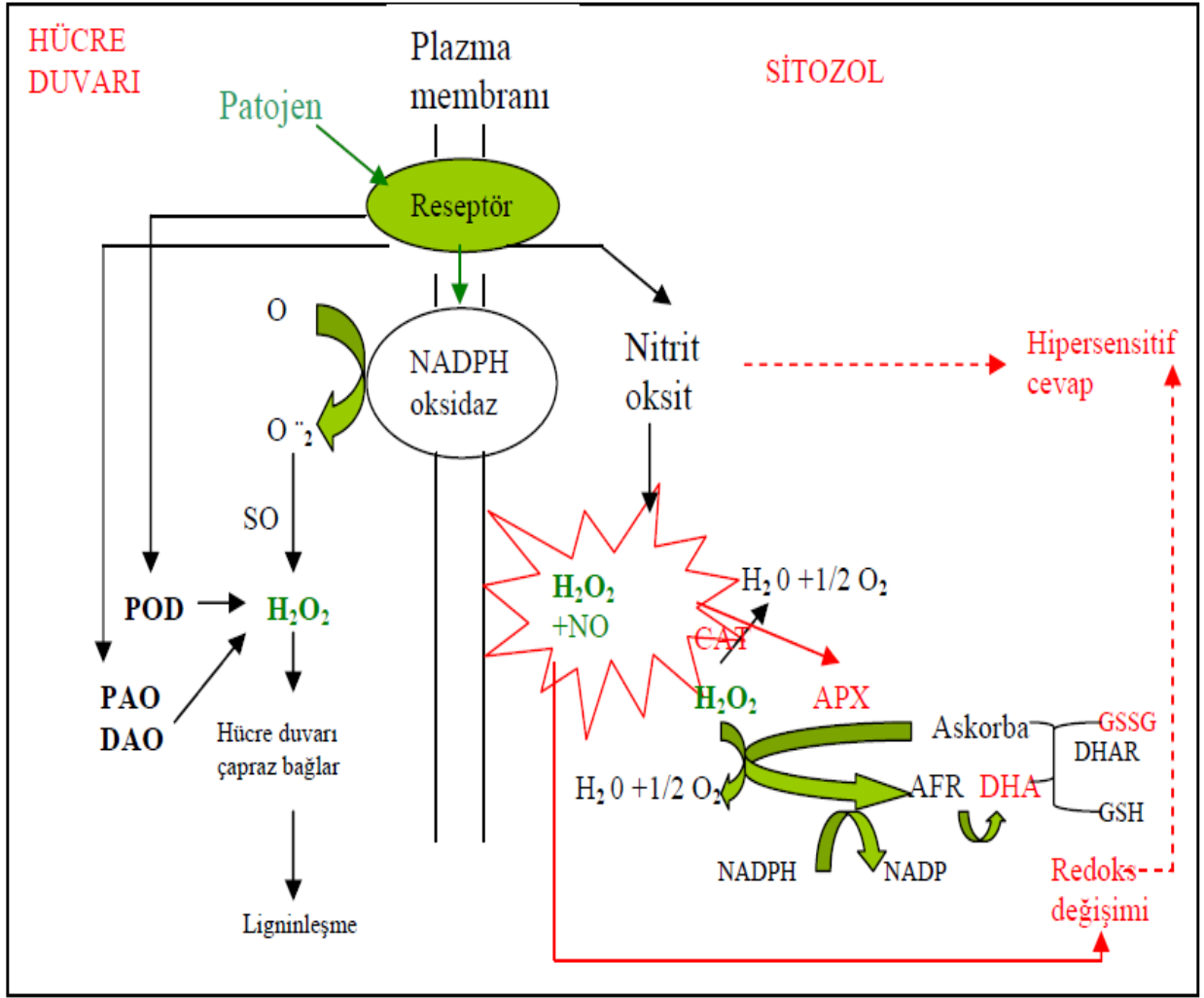
Bitki hücrelerinde ROS kloroplast, mitokondri, plazma membranı, apoplastik alanlarda meydana gelmektedir. Peroksizomlarda da normal metabolizma süresince süperoksit radikalleri meydana gelmektedir. Meydana gelen ROS Süperoksit dismutaz (SOD) ve GR gibi antioksidan savunma sistemi tarafından etkisiz hale getirilmektedir (Palma 2002).

Yüksek sitotoksik özelliğe sahip olan ROS'ların oluşumu ve birikimi bitki hücresinde sıkı kontrol altındadır. Bitkiler hücreleri oksidatif hasardan savunma mekanizmaları ile korumaktadırlar. Bitki savunmasında ROS 'lar sinyal olarak da görev yapmaktadırlar: Örneğin H_2O_2 SA'ı uyararak savunmada görev yapan PR-1 proteinlerinin sentezinden sorumlu olan PR-1 genlerini uyarmaktadırlar. Ayrıca H_2O_2 bitki savunmasında önemli bir yere sahip olan Glutasyon peroksidaz, GR gibi antioksidanların sentezinden sorumlu olan genler için de bir uyarıcı olarak görev yapmaktadır (Levine vd 1994). Yani ROS türleri hücre hasarlara neden olmalarına karşın bitkilerde sinyal molekülü olarak da görev yapmaktadırlar. Düşük konsantrasyonlarda savunma ile ilgili genlerin uyarılmasında, savunma cevaplarının oluşmasında görev yapmasına karşın yüksek konsantrasyonlarda hücre hasarlarına, hücre ölümlerine neden olmaktadır.

Patojenle enfeksiyon sonucunda bitki hücresinde oksidatif strese neden olan Nitrik oksid (NO) ve ROS meydana gelmektedir. Bu ROS patojenin hücre içine girişini engellediği gibi Hipersensitif cevap (HR)'ın oluşumunda görev yapan savunma sistemlerindeki enzimlerin (SOD, APX vs.) aktifleşmesi ve dolayısıyla ROS'lerinin etkisiz hale getirilmesi, GSSG oluşumu, ligninleşmenin meydana gelmesi, patojenlerin enfeksiyonu sonucunda NO meydana gelmesi ki NO programlanmış hücre ölümü süresince askorbat peroksidazın ifade edilmesinde dolayısıyla askorbat ve glutasyonun azalması gibi olaylarda anahtar olarak görev yapmaktadır (Şekil 2.1.) (Gara vd 2003).

Stres koşulları altında hücreleri korumak ve ROS düzeylerini kontrol altında tutabilmek için bitki dokuları ROS'ni ortadan kaldıran SOD, CAT,

Peroksidaz, Askorbat Peroksidaz vs. çeşitli enzimler ve düşük moleküler ağırlığa sahip antioksidanları (Askorbat, Glutasyon, Fenolik Bileşikler, Tokoferoller vs.) içermektedirler (Blokhina 2000).



Şekil 2.1. HR cevap süresince Antioksidan sisteminde meydana gelen değişimler

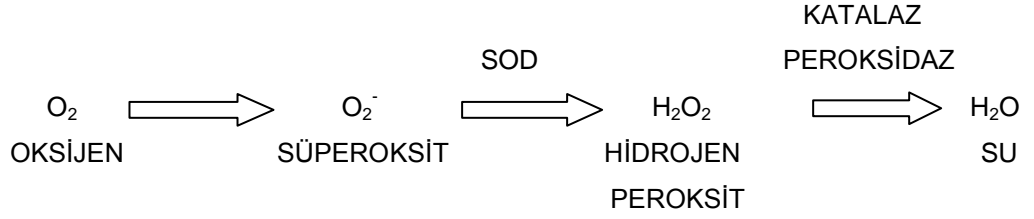
Çizelge 2.3. Bitkilerde ROS oluşumu, lokalizasyonu ve uzaklaştırılması (Mitler 2002)

Mekanizma	Lokalizasyon	Başlıca Reaktif oksijen türleri Oluşum (ürün)
Fotosen. ET ve PSI-II	Kloroplast	O_2^-
Solunum ET	Mitokondri	O_2^-
Glikolat Oksidaz	Peroksizom	H_2O_2
NADPH oksidaz	Plazma Membranı	O_2^-
Yag asidi β - oksidasyonu	Peroksizom	H_2O_2
Oksalat Oksidaz	Apoplast	H_2O_2
Ksantin Oksidaz	Peroksizom	O_2^-
Peroksidaz ,Mn ve NADH	Hücre Duvarı	H_2O_2, O_2^-
Amino oksidaz	Apoplast	H_2O_2
Parçalama		
Süperoksit dismutaz	Kloroplast,Sitozol, mitokondri,Apoplast	O_2^-
Askorbat peroksidaz	Kloroplast,Sitozol, mitokondri,Apoplast	H_2O_2
Katalaz	Peroksizom	H_2O_2
Glutatyon Peroksidaz	Sitozol	$H_2O_2, ROOH$
Peroksidaz	Hücre duvarı, Sitozol, Vakuol	H_2O_2
Askorbik Asit	Kloroplast,Sitozol,mitokondri, Apoplast	H_2O_2, O_2^-
Glutatyon	Kloroplast,Sitozol,mitokondri, Apoplast	H_2O_2
α -Tokoferol	Membranlar	$ROOH, O_2^-$
Karetenoidler	Kloroplast	O_2^-

O_2^- ve H_2O_2 'in verimli bir şekilde yıkımı için çeşitli antioksidan enzimlerin aktivasyonu gerekmektedir. Bitki hücrelerinin farklı kompartimanlarında meydana gelen süperoksit SOD tarafından H_2O_2 'e dönüştürülmektedir. Kloroplast gibi organellerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan askorbat hızlı bir şekilde O_2^- 'e indirgenmektedir. H_2O_2 thiol gruplarını hızlı bir şekilde okside eden güçlü bir oksidanttır. Fotosentez thiol-düzenleyici enzimlerle bağlantılı olduğu için H_2O_2 'in kloroplastlarda birikimine izin verilmemesi gerekmektedir (Noctor 1998).

CAT H_2O_2 'i su ve moleküler oksijene dönüştürmektedir. Bu enzimin substrata ilgisi düşük olmasına karşın yüksek katalitik aktiviteye sahiptir. Bunun için de H_2O_2 'i bağlayan iki aktif bölgeye sahiptir. Ayrıca katalazın yokluğu kloroplastlarda kalvin döngüsünde thiol-düzenleyici enzimlerin korunmasının engellenmesine neden olmaktadır. H_2O_2 'in yıkılmasında alternatif diğer bir yol ise hücrelerin tümünde bulunan peroksidazların aktivasyonu ile gerçekleştirilebilmekte ve H_2O_2 'in suya indirgenmesini sağlamaktadır (Şekil 2.2) (Beyer 1994).

Hayvanlarda peroksidazlar glutatyon (GSH)'un oluşumunda ve H_2O_2 'in detoksifikasyonunda önemlidir. Yani CAT ve Peroksidaz ROS 'ların detoksifiye edilmesinde görev yapmaktadırlar. H_2O_2 'i elemine ederler ve hücrelerde H_2O_2 konsantrasyonun düzenlenmesinde görev yaparlar. Patojenin enfeksiyonu sonucu meydana gelen H_2O_2 'in birçok etkisi bulunmaktadır (Noctor 1998). Birincisi peroksidaz aktivitesinin uyarılması ile patojenin penetrasyonu engellenmektedir. İkincisi konukçu üzerinde oksidatif stres meydana getirdiği gibi patojen üzerinde de stres oluşturmaktadır. Üçüncüsü ise sistemik direncin oluşumunu sağlayan bir sinyal olarak görev yapmaktadır.



Şekil 2.2 Enzim Aktivitesi

Bitki hücrelerinde H_2O_2 'in detoksifikasyonunda en önemli indirgen substrat askorbattır. APX askorbatı H_2O_2 ve suya parçalamaktadır. Askorbik asit, Süperoksit anyonu, singlet oksijen ve H_2O_2 gibi ROS'ların geniş bir bölümünü elemine etmekte ve zincir kırıcı olarak görev yapmaktadırlar (Beyer 1994). Primatlar hariç bütün hayvanlarda askorbik asit sentezlenmektedir. Bitkilerde Askorbat hem fotosentetik hem de fotosentetik olmayan dokularda milimolar konsantrasyonlarda birikebilir. Yapraklar klorofilden daha fazla askorbat içermektedir. Askorbat en önemli antioksidanlardan biridir ve doğrudan hidroksil radikalleri, süperoksit ve singlet oksijen ile reaksiyona girmektedir. Fotosentezin düzenlenmesinde, ışığa karşı korumada önemli olmasının yanısıra prostetik grup olarak metal iyonu bulunduran enzimlerin aktivitelerinin korunmasında da önemli bir role sahiptir.

APX enzimi yüksek bitkilerde keşfedilmiştir. Vakuol, hücre duvarı, sitozol de bulunan Guiacol peroksidaz gibi birçok enzimden farklı olarak organellerde lokalize olmuştur. APX izoenzimleri dört farklı hücresel kompartımanda lokalize olmuştur. Kloroplastlarda stromatal APX (sAPX) ve tilakoid membrana bağlı APX (tAPX), peroksizom (mikrobodiy) membranına bağlı APX (mAPX) ve sitozolik APX (cAPX). Beşinci bir APX izoenzimi mitokondri membranına bağlı olarak (mitAPX) bulunmuştur (Shigeoka vd 2002).

GSH ise güçlü bir hücresel reaktantdır ve peroksitleri ortadan kaldırmaktadır (Meister 1988). Hayvan dokularında, bitkilerde ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunan bir antioksidandır. Canlılarda

yüksek düzeylerde (0.1mM- 10 mM) bulunurlar ve düşük molekül ağırlığına sahip peptid ve tiol bulundurlar.

GSH hücreleri toksik ROS'lere karşı korumanın yanısıra katalitik - metabolik olaylarda ve taşımada da fonksiyonları bulunmaktadır. Protein ve nükleik asit sentezi sırasında meydana gelen reaksiyonlara katılmakta, serbest radikalleri ve peroksitleri detoksifiye etmektedirler. Bazı enzimler için kofaktör olarak, sisteinin transportunda ve depolanmasında görev yapmaktadır. İntraselüler alanlarda sentezlenir ve hücre dışında hücre membranındaki belirli enzimler tarafından yıkımı başlatılır. GSH'ın oksidatif hasara, toksik bileşiklere ve radyasyona karşı hücreleri korumak için hücresele düzeylerinde artış olduğu metodlarla tespit edilmiştir. GSH peroksidazlar tarafından glutatyon disülfid (GSSG)'e dönüştürülmektedir.

GSH peroksidazlar da oksidasyona karşı hücre membranlarını ve hücre proteinlerini korumaktadırlar. GSH peroksidaz dört altüniteden meydana gelmektedir ve her biri selenyum atomu içermektedir. Diğer bir peroksidaz GSH-S-transferazdır. Bu enzimde organik peroksitlerin indirgenmesinde görev yapmaktadır (Meister 1988).

H_2O_2 'i uzaklaştırmak için meydana gelen bir dizi reaksiyon Askorbat-Glutatyon döngüsü olarak bilinmektedir. Yapraklarda ve dokularda askorbat okside olduğunda daima Monodehidroaskorbat'dan (MDHA) Dehidroaskorbat (DHA) meydana gelmektedir. DHA GSH'ı substrat olarak kullanan DHA Redüktaz'ın aktivasyonu ile askorbata indirgenmektedir. Bu reaksiyon sonucunda GSSG meydana gelmektedir. GSSG NADPH tarafından tekrar GSH'a dönüştürülmektedir. Bu sırada NADPH'dan kopan elektronlar kullanılarak H_2O_2 suya indirgenmektedir (Noctor 1998).

Hidroksil radikali (OH^\cdot) yüksek reaktif bir özelliğe sahip olduğundan (oksidatif stres altında hücresele hasarların ana sebebi) enzimatik bir şekilde kontrol edilmesi oldukça zor bir serbest radikaldir. Yaşayan organizmalar bu

radikalden SOD ile kaçınmaya çalışmaktadırlar. Bu enzim aerobik olan tüm organizmalarda bulunmaktadır (Bowler vd 1992). Enzimin metal kofaktörlerine göre üç tipi bulunmuştur. Bunlardan FeSOD (prokaryotik organizmalarda, kloroplast stromasında) ve MnSOD (prokaryotik organizmalarda ve ökaryotların mitokondrisinde) yapısal olarak benzerlik göstermesine karşın Cu/ZnSOD (sitozolda ve kloroplastlarda) diğer ikisinden farklı bir yapıya sahiptir. Bu enzimler H_2O_2 'e olan farklı duyarlılıklarına göre lokalize olmaktadır (Bannister vd 1989). SOD, süperoksidin H_2O_2 'e dismutasyonunu katalize eden bir metaloenzimdir. Süperoksit radikallerinin dismutasyonu ile ya da direkt olarak oluşan hidrojen peroksit ile Glutasyon peroksidaz (GPx) ve CAT enzimleri tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir. Normal koşullarda hücrede oluşan H_2O_2 'in detoksifikasyonunda esas olarak bir selenoenzim olan GPx fonksiyona sahiptir. CAT'ın H_2O_2 oluşumunun arttığı durumlarda önemli etkinliğinin olduğu kabul edilmektedir. SOD, GPx ve CAT enzimlerinden ayrı olarak E ve C vitamini de hücre içi antioksidan özelliğe sahiptir. Her ikisi de hücre membranlarındaki lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kıran antioksidanlardır (Çavdar vd 1997).

Polifenoller serbest radikalleri ortadan kaldırmada etkisiz hale getirmede güçlü ve ideal bir kimyaya sahiptirler, *invitro* ortamda tokoferol ve askorbat dan daha etkili antioksidanlar olarak gösterilmektedirler. Polifenollerin antioksidan özellikleri hidrojen ve elektron donörleri olarak ve zincir kırıcı olarak görev yapmalarıdır. Yapılan araştırmalar fenoliklerin bitki hücrelerinde H_2O_2 'i etkisiz hale getirmekte etkili olduğunu göstermiştir(Takahama vd 1997).

Vitamin E yağda çözünen zincir kırıcı bir antioksidandır. Vitamin E terimi bir grup tokoferol ve tokotrienoller için kullanılmaktadır. Bu grup içine giren tokoferoller ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$) ve dört tokotrienol ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$) antioksidan aktiviteye sahiptir. Bunlardan α tokoferol doğada en bol bulunan Vitamin E'dir ve yüksek biyolojik aktiviteye sahiptir. Tokoferoller ROS'nin özellikle singlet oksijen ve OH^\cdot radikalini etkisiz hale getiren detoksifiye etme özelliğine sahip antioksidatif bir fonksiyon

taşımaktadır. Vitamin E lipid peroksidasyonunu engellemekte ve diğer oksidatif reaksiyonlar sırasında meydana gelen radikallerin etkisini önlemektedir. Bunların yanısıra hücrel sinyal olarak da görev yapmaktadır (Flohe vd 1999).

Likopen ve karoten gibi karetenoidler de antioksidan özelliği göstermektedirler. Likopen sekiz izopren biriminden oluşan kırmızı karetenoid pigmentidir. Domateste, karpuz, üzüm vs. meyvelerde bulunur. Singlet oksijenin vereceği zararı engelleyen bir antioksidantır. Karoten fotosentez için önemli olan fotosentetik pigmenttir. Kimyasal olarak sekiz izopren biriminden oluşan bir terpendir (Mascio 1989).

Antioksidanlar üzerinde araştırmalar, yapılan en önemli savunma mekanizmalarından biridir.

Soğuk ve sıcak şoka maruz bırakılmış *Cucumis sativus* (Salatalık) fidelerinde yapılan çalışmalarda bitkide bu strese karşı antioksidan savunma sisteminin kullanıldığı, soğuk şok uygulanmış fidelerde antioksidan enzimlerin aktivitelerinde azalma olduğu sıcak şok uygulanmış bitkilerde ise enzim aktivitelerinde bir artış olduğu belirlenmiştir (Kang vd 2001).

Farklı NaCl (Tuz) konsantrasyonları uygulanan *Citrus* (turunçgiller)'da antioksidan bir savunma oluştuğu SOD, GR, APX gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde belirgin değişimler olduğu gözlenmiştir (Arbona vd 2003).

Antioksidant aktivite değişimleri oksidatif stres oluşturan fungal patojen *B. cinerea Pers.* ile enfekte edilmiş domates bitkisinde reaktif oksijen türevlerinin meydana geldiği ve bunların detoksifiye edildiği yaprak peroksizomlarında da incelenmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda SOD, katalaz gibi enzimlerin aktivitelerinde artış olduğu belirlenmiştir (Kuzniak vd 2000).

Antioksidant bakımından zengin olan dut kültürlerinde tuzluluğun antioksidant enzimler üzerindeki etkileri incelenmiş ve 50, 100 ve 150mM tuz uygulanmış dut kültürlerinde 150 mM tuz konsantrasyonunda SOD, peroksidaz, glutatyon redüktaz enzimlerinin aktivitelerinde diğer konsantrasyonlara nazaran artış olduğu saptanmıştır (Harinasuf vd 2003).

ABA' in farklı konsantrasyonları mısır fidelerinin yapraklarına uygulanarak antioksidantlarda nasıl değişimler olduğu saptanmaya çalışılmıştır (Jiang vd 2001). Mısır fidelerine 10 ve 100µM ABA uygulandığında O_2 ve H_2O_2 ' in düzeylerinde artış olduğunu saptamış ve buna takiben SOD, CAT, APX ve GR enzimlerinin aktivitelerinde ve α -Tokoferolün miktarında artış olduğunu tespit etmişlerdir. 100µM ABA uygulamasını takiben 24 saat içinde lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunda bir artış olmadığı gözlenmiştir. 1000µM ABA uygulamasında ise aşırı miktarda O_2 , H_2O_2 ve H_2O_2 ' in oluşumunda çok önemli olan katalitik Fe içeriğinde artış olduğu görülmüştür. 1000µM ABA uygulamasında antioksidant enzimlerin aktivitelerinde, α -Tokoferol içeriğinde artış olduğu fakat bu etkinin 100µM ABA uygulaması kadar uzun sürmediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar düşük ABA konsantrasyonunun oksidatif hasara karşı antioksidant savunmayı meydana getirdiğini, ABA'nın yüksek konsantrasyonlarında aşırı miktarda ROS oluştuğunu ve bununda bitki hücrelerinde oksidatif hasarın oluşmasına neden olduğunu göstermektedir (Jiang vd 2001).

İnsan ve hayvanlarda olduğu gibi bitkilerin de zararlıların saldırılarından kendilerini korumak için çeşitli savunma sistemlerine sahip olduğu bilinmektedir. Bunlar bitkideki morfolojik engeller ve bazı biyokimyasal olaylar arasında değişen bir dizi faktörlerdir. Bitkilerdeki biyokimyasal olaylardan sonra sentezlenen sekonder metabolitler, bitki-zararlı ilişkilerinde önemli rol oynarlar. Zararlılar üzerinde davranışsal ve fizyolojik etkilere sahip olan bu metabolitler çok değişik kategorilerde sınıflandırılmaktadır. Bunların en önemlilerinin alkaloidler, glikozidler, fenoller, terpenoidler, taninler ve saponinler olduğunu

belirtilmiştir. Tarımda bu maddeler, zararlılara karşı yüzyıllardan beri doğrudan veya dolaylı olarak da kullanılmaktadır (Günçan vd 2004).

HR ile birlikte, hücre duvarlarında değişmeler, kalloz, fenolik polimerler, lignin, suberin, hidroksi prolince zengin glikoproteinler ve en önemlisi antimikrobiyal bileşikler, fitoaleksinler sentezlenmekte ve enfeksiyon noktalarında lokazile olmaktadır. Bitki patojene karşı oluşturduğu böyle bir tepkiyle, patojenin besin alımını engelleyerek gelişmesini durdurduğu gibi bundan sonra olabilecek ikincil enfeksiyonlardan da kendini korumaktadır (Tör 1998). Bunun dışında JA, ABA, SA ve etilen de gibi hormonlar da savunma da görev almaktadırlar.

Görüldüğü gibi bitkiler, içerisinde buldukları ortamı diğer canlılarla (patojen ve simbiyontlar gibi) paylaşmak ve hatta onlarla zaman zaman rekabet etmek zorundadırlar. Bunun içinde yaşadıkları alan ve şartlar ne olursa olsun, içinde buldukları çevreyi tanıma ve o ortama adapte olma işlevini çeşitli moleküler ve fizyolojik olaylar sayesinde gerçekleştirmektedirler (Tör 1998).

Ülkemizde ve dünyada önemli bir beslenme kaynağı olan domatesin verimini azaltan ve Pazar değerini düşüren pek çok bakteriyel, fungal ve viral hastalık etmenleri mevcuttur. Bu hastalık etmenlerinden bir tanesi' de Bakteriyel kanser ve solgunluk hastalık etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' tir.

2.2 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al., 1984 ile İlgili Bilgiler

Gram pozitif bakterileri de içeren çok sayıda bitki patojeni bakteri morfolojik olarak coryneform şekillidir. Bu sebepten dolayı Gram pozitif bakteriler daha önceleri göstermiş oldukları morfolojik özellikler nedeni ile *Corynebacterium* cinsi içerisinde sınıflandırılmıştır. Kemotaksonomik ve daha ileri moleküler tekniklerin gelişmesi ile birlikte *Corynebacterium* cinsi içerisinde

yer alan birçok bitki patojeni bakteri türü arasındaki farklılık ortaya çıkarılmış, buna bağlı olarak bakteriler birkaç yeni cins oluşturacak şekilde yeniden sınıflandırılmıştır. Günümüzde bakteriler hücre duvarı ve 16S rDNA dizilerine göre sınıflandırılmaktadır (Çetinkaya 2007).

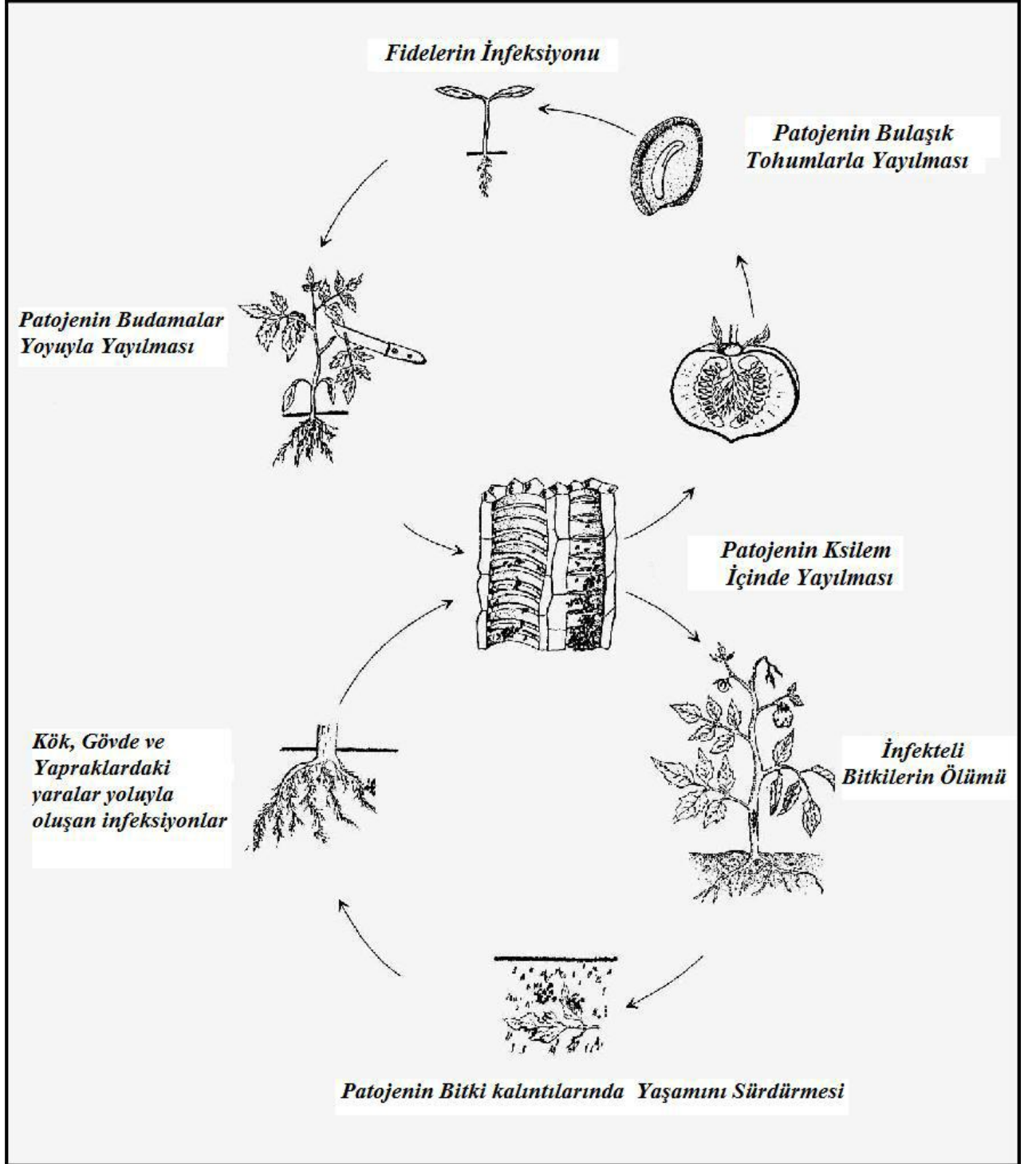
Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* gram pozitif bir bakteri olduğu ve çeşitli besi ortamlarında düzensiz yapıda şekiller oluşturduğundan dolayı 1930-1980 yılları arasında *Corynebacterium michiganense* olarak sınıflandırıldı. 1980 yıllarında hücre duvarı yapısı ile ilgili bilgilerin ortaya çıkması ile *Clavibacter* cinsi olarak yeniden sınıflandırıldı (Davis vd 1984).

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* tarafından domates de sebep olunan bakteriyel kanser nemli hava koşullarında domates yetiştiriciliğinde önemli bir problemdir. Bu hastalık bakterinin iletim demeti içerisinde sistemik olarak hareket etmesinden dolayı tahrip edicidir (Pine vd 1955). Tahmini bölgesel ürün kaybı yıllık %10 (Hibberd 1992) ile %84 arasında meydana gelmektedir (Gleason 1993). Kontrol edilen bakteriyel kanser çalışmalarında %11 den %99 a kadar ürün kaybı nitelendirilebilir (David vd 2001). Sistemik infeksiyon tohumla bulaşmalara yol açabilir; bu nedenle, tohum endüstrisi hibrit tohum partilerinin testlerini gayretle değiştirmek için yatırım yapmalıdır. Bakteriyel kanserin önemine rağmen, şu sıralar onaylanmış bir kontrol yoktur (Gleason vd 1993).

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* domates' de bakteriyel solgunluk' a sebep olmaktadır. İnfeksiyondan sonra, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* NCPPB382 domates bitkisinin kısılemi içerisinde sistemik olarak yayılır. Stoma, gövde, yapraktaki doğal açıklıklardan, doğal veya yapay olarak kökten veya bulaşık tohumlarla çeşitli infeksiyon biçimleri tanımlanmıştır (Strider 1969). Hidatodlar vasıtasıyla infeksiyon daima gözlemlenmiştir (Carlton vd 1998).



Şekil. 2.3. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' in erken dönemde domates bitkisinde oluşturduğu solgunluk belirtileri (Basım 2007)



Şekil 2.4. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' in bitkilerdeki hastalık döngüsü (Eichenlaub vd 2006)

2.3 *Clavibacter michiganensis* ile Konukçu Bitki Arasındaki Etkileşimler

Bir gram-pozitif bakteri olan *Clavibacter michiganensis*'in bulaşması, zirai açıdan önemli çeşitli bitkilerde bakteriyel solgunluğa neden olmaktadır. Aslında, *C. michiganensis* alfaalfa (Adi yonca - *C. michiganensis* subsp. *insidiosus*), mısır (*C. michiganensis* subsp. *nebraskensis*), patates (*C. michiganensis* subsp. *sepedonicus*) ve domates (*C. michiganensis* subsp. *michiganensis*) için bazı alt türler ile birlikte en tehlikeli patojen olarak değerlendirilmektedir. Bunlardan son ikisi, özellikle de domateste bakteriyel kanser ve solgunluğun etken ajanı olan *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* uluslararası karantina yönetmeliklerine tabidir. Bu organizma, tüm temel yetiştiricilik alanlarında çok ciddi ürün zararlarına neden olan (Shirakawa vd 1991) ve Avrupa Birliği Bitki Sağlığı mevzuatına göre (European Unione 1995) karantina kapsamındaki bir organizmadır. Son dönemde yapılan 16S rRNA analizi ile incelenmesiyle, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*'in alt türlerinin tamamının belirli bir monofiletik grup oluşturduğu ortaya çıkarılmıştır. (Lee vd 1992).

Konukçu bitki enfeksiyonu genellikle yaralar halinde kendini gösterir. Bunu ksilem damarlarının invazyonu takip eder. Ksilem damarlarının invazyonu sistemik bir damar hastalığına yol açar (Wallis 1977). Bir süre sonra bitkiler solgunluk semptomları geliştirir ve tamamen bozulabilir. Bitki gelişiminin daha geç bir evresinde ortaya çıkarak latent (uyur) bir enfeksiyonla sonuçlanan enfeksiyonlar da tahrip edici niteliktedir. Çünkü hastalığın yayılmasına neden olan kontamine tohumlar, ya da patates örneğinde olduğu gibi, enfekte tüberler (yumru kök) üremektedir.

Hastalığın antibiyotikler ya da bakır bileşikleriyle kimyasal kontrolü pek etkili değildir ve ayrıca ciddi çevresel sorunlara neden olabilmektedir. Ayrıca, hastalığa karşı dirençli kültür bitkisi çeşidi geliştirme çabaları şu ana kadar başarılı olamamıştır. Bu nedenle hastalığın önlenmesi ancak test sonuçlarında *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* barındırmadığı görülen sertifikalı

tohumların kullanılmasıyla mümkündür (Chang vd 1991, Mansfeld 1997). Neyse ki son zamanlarda, kontamine tohumları ve transplantları taramak için oldukça hassas ve yüksek derecede özgün yöntemler geliştirilmiş bulunmaktadır (Dreier vd 1995, Santos vd 1997).

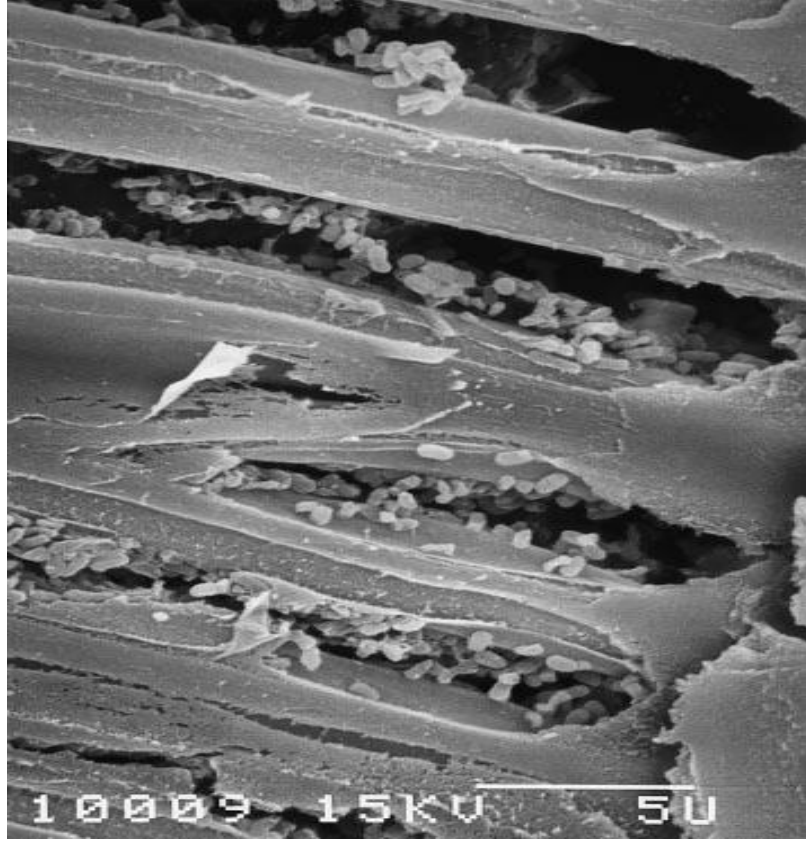
Yukarıda da ifade edildiği gibi *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* bulaştığı bitkilerde oldukça yüksek titreli bir damar hastalığına neden olmaktadır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, örneğinde ise domatesteki titreler, 10^9 bakteri/bitki dokusu gramı seviyelerine ulaşabilmektedir (Metzus vd 1993). Bakteri öncelikli olarak ksilem damarlarında konumlandığı için su naklinin fiziksel olarak bozulumu olasıdır. Bunun sonucunda hastalığın bulaştığı bitkinin solgunlaşmasına etkisi olabilir (Şek. 2.5 ve 2.6).

Toprak ve bitki ile ilişkili bakterilerin büyük çoğunluğu gibi *Clavibacter michiganensis* de ekzopolisakkaritler (EPS) üretir. Bunlar birden çok önemli biyolojik işlevi belirlemektedir. EPS'ler dehidrasyona karşı bir koruma olarak, bakteri çevresinde bir su doygun matris üretirler (Leigh ve Coplin 1992). Bakteriyel EPS'ler çoğunlukla asidik olduklarından, mineral ve besinleri yoğunlaştırmakla birlikte toksik bileşikleri bağlayan iyon değiştiriciler olarak da hareket edebilirler. Özellikle bitki hücreleri ile patojenik etkileşim bağlamında, EPS bitkinin savunma sisteminin patojeni teşhis etmesini engelleyebilir, aglutinin ya da lektinleri bloke edebilir ve fitoaleksinin ya da reaktif oksijen türlerini detoksifiye edebilir. (Bradshaw vd 1981, Romeiro vd 1981, Young ve Sequeira 1986; Kiraly vd 1997). Dahası, EPS abiyotik ve biyolojik yüzeylere tutunuma aracılık eder ve konukçu bitkinin enfeksiyonunu ve kolonizasyonunu ilerletebilir ki bunlar da hastalık gelişiminin birer ön şartıdır (Tharaud vd 1994, Bempohl vd 1996; Saile vd 1997).

Asitik *Clavibacter* EPS'nin moleküler ağırlığı 1 - 10MDa aralığındadır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *insidiosus* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in ESP'leri bir birinin aynısı olup asetat ve pirüvat yan gruplarıyla bezenmiş 2:1:1 oranında fruktoz, galaktoz ve glükozdan oluşmakta

iken *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*'un EPS'i bunlara ilaveten manoz bulundurmaktadır (Denny 1995). Viskoz olup yüksek moleküler ağırlığa sahip bulunan EPS, ksilem damarları içindeki bakterilerin titresi ile birlikte çok ciddi su gerilimine neden olabilir (Van Alfen vd 1987) ve bu nedenle de hastalık gelişimine dahil oldukları ileri sürülmektedir (Fulkerson 1960, Rai ve Strobel 1968, Denny 1995). Dahası, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* prüfiye edilmiş EPS domates epikotil kesilerinde solgunluğu tetiklediğinden (Bulk vd 1989), izole kloroplastların thylacoid membranının parçalanmasına neden olduğundan (Kramer ve Leistner 1986) ve domates protoplastlarında minicall yenilenmesini engellediğinden (Bulk vd 1990) bir fitotoksin (bitki toksini) olarak yorumlanmıştır. Böylelikle, ilk bakışta, EPS üretimi ile beraber konukçu bitkinin sistemik kolonizasyonu *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* hastalığı kapmış olan bitkinin neden solgunluk hastalığı geliştirdiği sorusuna yeterli bir cevap getiriyor gibi görünmektedir.

Ne yazık ki EPS'nin *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* patojenliğinde gerçekten nasıl bir rol oynadığı sorusuna cevap verebilecek herhangi bir EPS" mutantı bulunmamaktadır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in kimyasal mutajenez yoluyla ayrıştırılan EPS- mutantları, (ki bunlar vahşi tip EPS miktarının yalnızca %10'unu üretmektedir), domates bitkilerinde virülans açısından değişmemiştir (Bermphohl vd 1996), Bu da, bu sistemde, EPS'nin çok da önemli bir patojenlik etkeni olmayabileceğini göstermektedir. Bermphohl vd (1996) tarafından gerçekleştirilmiş olan araştırma, oldukça ilginç bir şekilde, EPS'nin şeker bileşiminindeki varyasyonların domotas bitkilerinin kolonizasyonunun becerilememesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu da, EPS'nin kimyasal yapısının konukçunun teşhis etmesi ve enfeksiyonun erken safhaları üzerinde bir etkiye sahip olabileceğini işaret etmektedir.



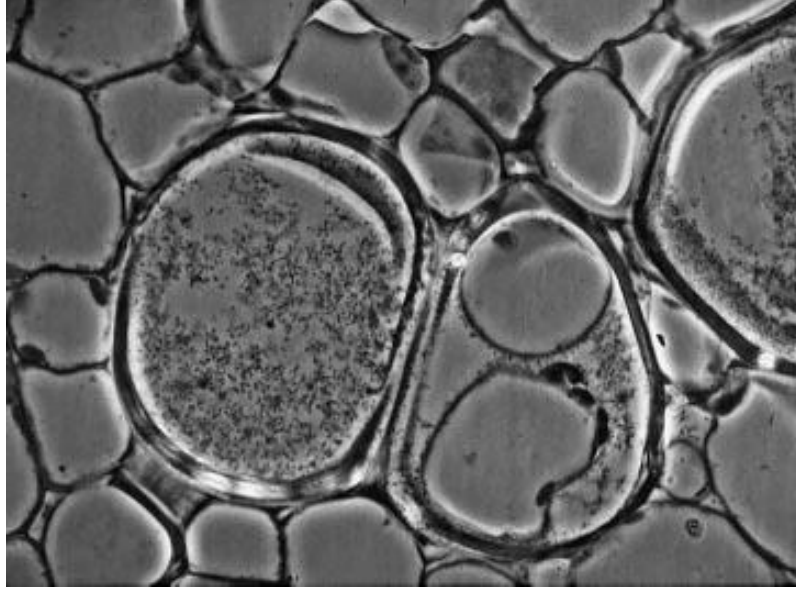
Şekil.2.5 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* tarafından enfekte edilmiş bir domates bitkisinin ksilem damarının dikey kesiti. Bakteriler ksilem damarının lümenini doldurmuş durumdadır. Taramalı bir elektron mikroskobu kullanılarak çekilmiştir.

Hücre dışı enzimler, özellikle de selüloz ve pektinazlar gibi bitki hücre duvarlarına saldırabilme ve bu duvarları aşındırabilme yetisine sahip olanlar, çeşitli *Clavibacter michiganensis* cinsleri tarafından üretilmektedir. Morfolojik araştırmalar, bakteriler tarafından salgılanan hücre dışı enzimlerin ksilem damarlarına ve bunlara komşu parankimatik hücrelere saldırarak solgunluk oluşumuna katkıda bulunabileceğini ileri sürmektedir (Wallis 1977, Benhamou 1991). *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* cinslerinin büyük çoğunluğunda endoglükanaz geni yerli bir plazmid tarafından taşınmaktadır (Meletzus ve Eichenlaub 1991; Dreier vd 1995). Artık ne endo-3-1,4-glükanazı ne de *pat-1* gen ürünü üremeyen plazmid - islahlı cinsler, domates bitkisinin kolonizasyonu bozulmamış olsa da solgunluğa neden olmamaktadır. Buna

paralel olarak, patates patojeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*'un kimyasal olarak tetiklenmiş selüloz – negatif cinsleri de artık ölümcül niteliğinden uzaklaşır. Ancak, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'ten endoglükanaz genin girişi yalnız selüloz hareketliliğini yenilemekle kalmaz aynı zamanda virülansı (ölümcüllük) da kısmen yeniler (Metzler vd 1997).

Bu, “selülozların” gerçekten de bir patojenlik etkeni gibi göründüklerini ortaya koymaktadır. Dahası *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* tarafından üretilen amilazın virülans üzerinde etkiye sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Bunun, muhtemelen patates yumru köklerinin çürümesiyle önemli bir ilgisi vardır.

Clavibacter michiganensis subsp. *nebraskensis*'te, bakteri tarafından salgılanan bir anyon – kanal biçimlendirici protein tanımlanmıştır. Ancak, bu voltaj kontrollü klorid kanalı proteininin özellikleri bugüne değin yalnızca in vitro olarak incelenmiştir (Schurholz vd 1991) öyle ki bu bileşenin mısırdaki hastalık gelişimi üzerindeki rolünün ne olduğu sorusu halen açıklığa kavuşturulmayı beklemektedir.



Şekil. 2.6 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* hastalığı kapmış bir domates bitkisinin gövdesinin yatay kesimi. Ksilem damarları bakterilerle doludur. Ortadaki ksilem damarları, damar lümeninin içine doğru şişen iki tiloz göstermektedir. Bu bitkinin, bakterilerin yayılmasını önlemek üzere olası bir savunma tepkisidir. Işık mikroskopu (x600).

Belirli bazı konukçu olmayan ya da dirençli bitkilerde, patojenik bakteriler aşırı hassas bir tepkiyi tetiklemektedir (hypersensitive reaction - HR). Bu HR, patojen invazyonu sahasında hızlı bir tepkidir ve bu konumda bulunan bitki hücrelerinin hızla ölümüyle kendini göstermektedir (Dangl vd 1996). Gitaitis (1990) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in ölümcül cinslerinin konukçu olmayan akşam sefası bitkisinde (*Mirabilis jalapa*) aşırı hassas – benzeri, birleşik (confluent) bir nekrozu tetiklediğini bildirmiştir. Aslında, yalnızca doğal konukçu domateste kolonize olma yetisi bulunan cinslerin akşam sefası bitkilerinin yapraklarında bir HR tetikleyebildiği daha sonradan ortaya konmuştur (Bermphol vd 1996). Yakın zamanda, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* kültürü üsteltisinden (supernatant) alınan protein(ler)in akşam sefası bitkisinin yapraklarına enjekte edildiğinde HR tetikleyebildiği bildirilmiştir (Alarcon vd 1998). Bu protein(ler)in daha fazla özelliklerinin belirlenmesi ile bunların, tıpkı gram negatif bakterilerde aşırı hassas tepkime oluşturan aktiviteye sahip proteinlerin salgılanmasında olduğu gibi, bir tip III salgılama

sistemi tarafından mı ihraç edildikleri sorusuna ışık tutacaktır. (Wei vd 1992, Alfano ve Collmer 1997).

Gram pozitif bakterilerdeki patojenliğin moleküler analizi, gram negatif bakteriler için geliştirilmiş genetik araç ve yöntemlerin, gram pozitif bakteriler için herhangi bir işe yaramaması gerçeği nedeniyle son derece aksamaktadır. Bu nedenle bu sistemlerde modern moleküler genetik araçları sağlanabilmesi için önemli miktarda çaba sarf edilmesi gerekmektedir. 1991 yılında, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* NCPPB382 transfeksiyonunun tanımlanması için bakteriyofaj pCM1 ile DNA'nın elektroporasyonu kullanılarak bir prosedür tanımlanmıştır. (Meletzus ve Eichenlaub 1991). Bu prosedür *Clavibacter michiganensis* için klonlama vektörlerinin inşasına bir temel dayanak teşkil etmiştir. (Meletzus ve Eichenlaub 1991, Laine vd 1996). *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* NCPPB382 cinsi iki endojenöz plazmid, pCM1 (27.5 kb) ve pCM2 (72 kb), taşımaktadır. Bu plazmidler, genelde gram pozitif bakterilerde oldukça iyi eksprese edilen Tn5 neomisin fosfotransferaz geni (nptI), Tn1696 gentamisin asetiltransferaz geni ya da *Corynebacterium* stratum (xeros s) M82B kloramfenikol rezistans geni gibi antibiyotik direnç genleri taşıyan pBR325 türlerine entegre edilebilecek (Tauch vd 1998), *Clavibacter* – spesifik replikon kaynağı olarak seçilmiştir. Bu strateji ile ya pCM1 ya da pCM2 replikonunu taşıyan ve subsp. *michiganensis*, *sepedonicus*, *nebraskensis* and *insidiosus* gibi *Clavibacter michiganensis* alt türlerine dengeli bir biçimde türeyebilen iki mekik vektör ailesi oluşturulmuştur (Meletzus ve Eichenlaub 1991, Laine vd 1996).

Klonlama deneylerinde alıcı olmak üzere, herhangi bir bağdaşmazlık reaksiyonunun öngörülmemesi şart olan, uygun *Clavibacter* cinsi elde edebilmek için, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* NCPPB382 cinsi her iki plazmidin de bulunmadığı ve artık bakteriyel solgunluğa neden olmayan ancak yine de domates bitkilerini etkin bir şekilde kolonize edebilen CMM100 türevi verilmek üzere pCM1 ve pCM2 plazmidlerinden arındırılmıştır (Meletzus vd 1993). Plazmidlerin arındırılması, patojeni, hastalık semptomlarını

tetiklemeyen, düşük – tehlikeli bir bitki endofitine çevirdi. CMM101(pCM1) ve CMM102(pCM2) plazmidlerinden birini ya da diğerini taşıyan diğer olası arındırma türevlerinin her ikisinde enfekte domates bitkilerinde solgunluğa neden olmuştur ancak teşkil ettikleri ölümcüllük oranı düşmüş, yani solgunlaşmanın ortaya çıkması daha fazla zaman alır hale gelmiştir. Tam virülans (ölümcüllük) yalnızca, kök cins olan NCPPB382’de de olduğu gibi, her iki plazmidin mevcut bulunduğu hallerde gözlenmiştir.

Bu nedenle, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* nedeniyle domateste görülen solgunluk hastalığının plazmidler tarafından taşınan genlerden kaynaklandığı ve ne ksilemin yüksek – titre kolonizasyonu ne de EPS üretiminden kaynaklanmadığı ileri sürülmüştür. Plazmidlerin patojenik gen taşıyıcısı olmaları, yalnızca *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* özgü, özel bir durum olarak görünmektedir. Çünkü patojenliğe herhangi bir müdahalesi bulunmadığı bilinen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis sepedonicus*’un bir çok ölümcül izolatında 51 kb yerli plazmidi bulunmuştur (Mogen vd 1988). Ayrıca diğer alt türler için de plazmidlerle virülans arasında herhangi bir karşılıklı ilinti bulunmamıştır (Vidaver 1982).

Patojenik determinantların belirlenmesi için pCM1 ve pCM2 plazmidlerinin DNA restriksiyon fragmentleri plazmidsiz CMM100 cinsine eklenmiştir. Enzim analizleri ve nükleotid diziliminin belirlenmesi *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* pCM1 plazmidi tarafından taşınan bir patojenik determinant, bir endo-glükonaz göstermiştir (Meletzus vd 1993). Dizilim bilgisi *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*’un “endoselülaz” geninin tanımlanmasında kullanılmıştır. Ayrıca burada da bir “endoselülaz” – negatif cins, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* ya da *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*’ ten birinden endoglükonaz taşıyan bir vektörel plazmid ile dönüştürüldüğünde virülans geri gelebilmektedir. (Laine vd 1996). Mevcut durumda, endo- β -1,4-glükonazların domates ve patateste solgunluk hastalığının yerleşmesinde bir role sahip oldukları açıkça kanıtlanmış durumdadır. Ancak, yakın zamanda kullandığımız domates sisteminde tehlikeli

bir fenotipin eksprese edilmesinde endoglukanazın tek başına yeterli olmadığı yönünde kanıtlara ulaştık. Açık bir şekilde ilave bir gen ürününü gerektirmektedir. Ayrıca pCM1 plazmidi tarafından da kodlanmıştır (H. Jahr ve R. Eichenlaub, yayınlanmamış veri). Bu gen ve ürünü halen tanımlanmayı beklemektedir.

pCM2 plazmidi (72 kb) tarafından kondlanan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in ikinci patojenik determinantı klonlanmış ve nükleotid dizilimi belirlenmiştir (Dreier vd 1997). *Pat-1* adı verilen bu gen silme analizi ve tamamlama çalışmalarıyla haritalandırılmış 1.5 kb BglI/SmaI DNA restriksiyon fragmenti üzerinde konumlanmıştır. Bu klonlanmış gen plazmidsiz CMM102 cinsine eklendiğinde, doğal plazmidinde *pat-1* genini taşıyan CMM102 (pCM2) için gözlemlenenle aynı virülans seviyesine tekrar gelmektedir. Buna paralel olarak, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in farklı coğrafik kökene sahip kimi düşük – virülanslı izolatları, pJD2107 hibrid plazmidi ile birlikte transformasyona tabi tutulduklarında *pat-1* geni taşıyarak solgunluğa neden olan fenotipe dönüşmüştür. *Pat-1* genine bir çerçeve kayması mutasyonu gişiri, patojenik fenotipin kaybolmasına yol açmıştır (Dreier vd 1997).

Pat-1 nükleotid diziliminin analiz edilmesi 280 amino asitli ve 29.7 kDa moleküler ağırlığa sahip bir protein için bir okuma çerçevesi ortaya koymuştur. Transkripsiyon başlama sahası primer genişleme ile haritalandırılmış ve *Escherichia coli* a70 ve *Bacillus subtilis* a43 kolaylaştırıcılara önemli benzeşikliğe sahip bir -10/35 bölgesinin *pat-1* genini önelediği görülmüştür. İlginç bir şekilde, kolaylaştırıcı bölgede düzenleyici sinyaller olarak işlev görmesi muhtemel dört dizilim tekrarı gözlenmiştir. *Pat-1* proteininin ilk 33 amino asidi iki pozitif yüklü agrinin kalıntısı (Arg – 6 ve Arg 9) ile tipik bir sinyal dizilimi ve sırasıyla 33 ve 34üncü konumlarda bir alanin ve bir valin kalıntısı arasında varsayımsal bir kesim noktası sergilemektedir. Daha sonra yapılan bir homoloji araştırması *Pat-1* proteininin *Lysobacter enzymogenes* ve *Streptomyces griseus*dan alınan serin proteazları ile aynı homolojiyi paylaştığını ortaya koymuştur. *Pat-1* amino asit diziliminin 230uncu konumunda serin

proteazlarının, serinin aktif sahada bulunduğu tripsin ailesinde tipik olarak görülen bir konsensüs G-D-S-G-G motifi bulunmaktadır. Gelecekteki çalışmalarda, *Pat-1* proteininin bir sinyal peptidazı tarafından salgılandığı ve işleme tabi tutulduğu ve proteinin proteaz aktivitesi bulunduğu gösterilmek zorundadır.

Pat-1 geninin transkript uzunluğu Northern Hybridization ile belirlenmiş olup yaklaşık 1500 nükleotidden oluştuğu görülmüştür. Transkripsiyon başlama sahası zaten primer genişleme ile haritalandırılmış olduğundan, *pat-1* mRNA'sının boyutu, transkripsiyon bitişinin gerçekte *pat-1* mRNA'sının 3' bitişinde tanımlı rho – bağımlı bir varsayımsal sonlandırıcıda ortaya çıktığını göstermektedir. *Pat-1* mRNA'sının çevrilmemiş 3' bölgesinin oldukça ilgi çekici bir özelliği bulunmaktadır. Çünkü bu bölge altı ya da yedi nükleotidin 18 doğrudan tekrarı tarafından takip edilen 14 guanozin kalıntısını barındıran bir poli(G) motifi barındırmaktadır. Teorik olarak bu bölgenin, mRNA'nın 3' ucunda yüksek termodinamik istikrara sahip (-38.3 kcal mor1) kompleks bir gövde – kıvrım (stem – loop) yapısı oluşturması mümkündür. Hibrid pJD1671 plazmidi içindeki tekrar bölgesinin tamamını kaplayan bir 255 bp'nin silinmesi, virülansın düşmesine yol açmıştır. Bu da *pat-1* mRNA'sının 3' ucundaki varsayımsal gövde – kıvrım yapısının mRNA'yı dengeleyebileceği, yani mRNA'yı bakteriyel hücrelerin mRNA dönüşümüne müdahil olan iki önemli nüklez olan RNase II ve polinükleotid fosforilaz bozulmasına karşı koruyabileceği anlamına gelmektedir. Bu enzimler 3' uctaki tek dizili RNA'yı hızlı bir şekilde bozunuma uğratmaktadır ancak gövde – kıvrım yapısında mevcut bulunan çift dizili RNA üzerinde aktif değildir (Belasco ve Brawerman 1993).

Daha önce de bahsedildiği gibi, solgunluk hastalığı salgınlarının engellenebilmesi için tohumda *Clavibacter michiganensis*'in tespit edilmesinde kullanılmak üzere hızlı ve hassas bir analize ihtiyaç vardır. Klasik mikrobiyolojik tespit yöntemi zaman kaybettirmekte, immünolojik analizler sıklıkla çapraz reaksiyonlar ve mevcut antikörlerin yetersiz belirginliği nedeniyle aksamaktadır. Domateste solgunluğun ortaya çıkmasında sorumluluğu bulunan genlerin

moleküler analizi baz alındığında, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in özgün bir şekilde tespit edilebilmesi için Southern Hybridization ve polimeraz zincir reaksiyonu yöntemlerini tesis etmek üzere endoglukanaz ve *pat-1* geninin dizilim bilgilerinin kullanılması gerektiği açıkça görülmüştür. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile *insidiosus*, *nebraskensis*, *tesselarius* ve *sepedonicus* alt türleri arasında endoglukanaz geninden türeyen bir DNA probu (*celA*) farklılık göstermektedir. Diğer bitki patojeni ya da saprofitik bakteriler ile herhangi bir sinyal bulunmamıştır (Dreier vd 1995). *Pat-1* geninden türeyen bir diğer prob daha da özgündür. Bu prob yalnızca ölümcül *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* cinsleri ile bir melezleşme sinyali vermiş ancak ölümcül olmayan (avirulent) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ya da diğer alttürler ile bir sinyal vermemiştir. Bu gözlem, yalnızca dünyanın farklı bölgelerinden gelen ölümcül izolatların genellikle bir plazmid üzerinde taşınan *pat-1* genine sahip oldukları gerçeğine dayanmaktadır. Dahası, *pat-1* mRNA'sının 3' bölgesinin diziliminin karşılaştırılması bunların, guanozin kalıntısı ve tekrarların sayıları değişiklik gösterse de tamamının poli – G bölgesine ve tekrarlara sahip olduklarını ortaya koymuştur. Ancak PCR, Southern Hybridization' dan daha hassastır ve bu nedenle *pat-1* geninin diziliminden türetilmiş PCR primerleri geliştirilmiştir. Bu primerler ile, enfekte bitkilerden ve doğal olarak kontamine tohumlardan hazırlanan homojenatlar içinde *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in ölümcül cinsleri tespit edilebilmiştir. Kontamine bitki homojenatında 2×10^2 bakteri / ml kadar düşük bir pozitif sonuç elde edilmiştir. Böylece, moleküler patojenlik analizi, domates patojeni olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in tespit edilebilmesi için hızlı ve özgün bir analiz sağlamış olup bu da bitki patojen teşhisinde uygulanması için faydalı hale gelebilir.

C. michiganensis subsp. *michiganensis*' in plazmid – kodlu patojenik determinantlarının moleküler ve biyokimyasal analizi hastalığın bu önemli patojen tarafından tetiklenmesinin mekanizmasının anlaşılmasında yeni kavrayışlara yol açacaktır. *Pat-1* gen ürününün özelliklerinin daha çok ortaya

konması ve bu gen ürününün bitki – miktop etkileşimindeki rolünün açığa çıkarılması gerekmektedir. Ayrıca, pCM1 plazmidi üzerinde konumlanan ve endoselülaz ile birlikte çalışır görünen potojenlikle ilgili diğer gen(ler)in tanımlanması ve özelliklerinin belirlenmesi gerekmektedir. Bu gen ürünlerinin eylemlerinin birleşiminin hastalık semptomu olan “solgunluğa” nasıl yol açtığı sorusuyla bundan sonra ilgilenilebilecektir.

Ölümcül *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* cinsinin plazmidlerden arındırılarak bir endofite çevrilmesi, böyle cinslerde gen ürünlerinin eksprese edilmesi olasılığına kapı açmaktadır ki bu da diğer domates patojenlerinin infekte etmelerini engelleyecektir. Bahro ve Eichenlaub tarafından yayınlanmış çalışmada, bir kitinaz geni taşıyarak, CMM100 gibi plazmidsiz bir *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* cinsine eklendiğinde bu enzimi eksprese eden bir hibrid plazmid tamamlanmıştır. Laboratuvar ortamında, domates bitkilerinin böyle bir cinsle enfekte edilmesi gerçekten de bitkilerin bir domates mantar patojeni olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* enfeksiyonuna karşı hassasiyetini azaltmıştır (Bahro ve Eichenlaub yayınlanmamış veri).

Gelecekteki çalışmalar ayrıca, başlangıç enfeksiyonu ve kolonizasyonun erken safhaları esnasında konukçu ile etkileşime katkısı bulunan kromozomsal genlerin tanımlanmasına olanak sağlayacak ilave genetik araçların geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmak zorundadır. Halen bu amaçla, *Arthrobacter*'den alınan bir IS elementi kullanan bir transpozon sistemi geliştirmeye çalışılmaktadır. (Gartemann ve Eichenlaub, yayımlanmamış veri). İlk sonuçlar umut verici olduğundan, transpozon mutogenesisinin *Clavibacter michiganensis* üzerinde mümkün olacağına ve hangi genlerin konukçu tanınmasında katkıda bulunduğu sorusunun cevabının bulunacağına dair ümit olduğu düşünülmektedir.

2.4 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' in Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar

1991 yılında yapılan bir çalışmada domates bitkilerinde budama yerlerinde açılan yaralardan bulaştırılan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 'in epifitik popülasyonu açık alanda yetiştirilen domates bitkilerinde iletim demetlerine kolonizasyonu ve yeşil aksamda hastalık gelişimini artırırken 1990 yılında herhangi bir değişikliğine neden olmamıştır. 1991 yılında budanmayan bulaşık bitkilere göre budananlarda önemli ölçüde verim düşüşü gözlenmiş; 1990 yılında yapılan çalışmada ise böyle bir bulguya rastlanmamıştır. Fakat hastalık her iki yılda ürün miktarında önemli oranda azalmaya neden olmuştur (Carlton vd 1994).

Thyr ve ark. (1973) domates tohumları %0.6'lık HCL ile 30-45 dakika süre daldırıldıktan sonra 66 °C'de 3 saat süreyle kurutulmasının sistemik bulaşık domates tohumlarında bulunan *Clavibacter michiganense*' yi elemine ettiğini belirlemişlerdir. Tohum kökenli olan etmenle mücadelede Brassicol (%18 Teknik Pentachloronitrobenzol), Brestan (%54 Triphenyltinacetate), Derasol (%60 Carbendazim), Dithane M22 (%80 Maneb=Manganese ethylene bis dithiocarbamate), Dithane M45 (Maneb+Zineb=%16 Manganese iyonu- %2 Çinko iyonu+ %62 ethylene bis dithiocarbamate), Orthocide 50 (%50 Captan-N-Trichloromethylmercaptan-4-Cyclohexene -1,2 dicarboximide) ve Pomarsol Forte (%80 Teknik Thiuram=tetramethylthiuram disulfide) kuru ilaçlama şeklinde tohuma uygulanmış ve Orthocide 50 hariç diğer tüm ilaçların etkili oldukları belirlenmiştir(Çetinkaya 2007).

Yapay besi yerlerinde püskürtme şeklinde kullanılan ilaçların ve bazı antibiyotiklerin *Corynebacterium michiganense*' yi engelleme yetenekleri araştırılmıştır. Etmeni engellemede Streptomycin sülfat (100-200 ppm) ve Tetracyclin HCl (100-200 ppm) oldukça etkili olurken Dikotan Z78, Dithane M22, Polyram Combi ve Tiezene antibiyotikler kadar etkinlik göstererek saksı ve tarla çalışmaları için ümit var ilaçlar olmuşlardır (Çınar 1978).

Çınar (1980) Çukurova bölgesinde yaptığı çalışmada ise 23 adet domates çeşidini bakteriyel solgunluk hastalığına dayanıklılık yönünden incelemiş ve üç domates çeşidini az duyarlı olarak saptamıştır. Ayrıca yaş tohum ilaçlarından Tiezene, kuru tohum ilaçlarından Femaset ve antibiyotiklerden Tetra etmene karşı etkili olarak saptanmıştır.

Dhanvantari (1989) patojenin tohumlardan eradikasyonu için 20 °C'de 96 saatlik fermentasyonun gerekli olduğunu ve 0,6 M HCL'e 1 saat daldırma uygulamasının ya da %0.05 hydroxydiphenyl ile 15 dakika muamelenin fidelerde solgunluk hastalığı yoğunluğunu, 15 dakika %0.6 NaOH uygulamasından çok daha fazla oranda azalttığını belirlemiştir. Yapay olarak bulaştırılmış bir tohum lotunun 0.6 M HCL içinde bir saat ıslatılmasının fidelerde solgunluk hastalığı simptomlarını %0.1 ile %38 oranında azalttığı saptanmıştır. Fatmi ve ark., (1991) etmenin doğal enfekteli domates tohumlarından 0.6 M HCL'e 5 saat, %0.25 ve 0.50'lik cupric (bakır) asetata 20 dakika, 52 °C'de sıcak suya 20 dakika ve 56 °C'de ki sıcak suya 30 dakika daldırma uygulamaları kullanılarak elimine edilebileceğini bildirmişlerdir. Bu uygulamaların tohum çimlenmesine olan etkisine bakıldığında ise sadece 56 °C'de 30 dakika sıcak su uygulamasının tohum çimlenmesi üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi gözlenmemiştir. Buna karşın buhar ile sterilize edilen toprağa ekilen domates tohumlarından HCL uygulaması yapılanlar da çimlenme oranı önemli ölçüde düşerken 52 °C'de 20 dakika sıcak su uygulamasında kontrollere göre daha yüksek çimlenme oranı gözlenmiştir (Çetinkaya 2007).

Özaktan (1991) sıcak su (54-56 °C'de 20 dakika), streptomycin (300 µg/ml), metoksietil civaklorür (30 µg/ml) ve antagonist uygulamasının patojene karşı etkili olduğunu saptamıştır. Araştırmacı tarla koşullarında sıcak su (54-56 °C'de 20 dakika) uygulamasının %94, antagonist uygulamasının %75 ve kuru sıcaklık uygulamasının %40 oranında etki gösterdiğini belirlemiştir. Fakat civa klorür ve kuru sıcaklık uygulamalarının tohum çimlenmesine toksik etkisi, streptomisine ise bakterilerin kısa sürede direnç kazanma ihtimali göz önüne

alındığında sadece sıcak su uygulamasını önermektedir. Ayrıca yapılan çalışmada meyve etli domates tohumlarının 72 süreyle fermentasyonunun tohumdaki patojeni elimine ettiği saptanmıştır. Kritzman (1993) bakır asetat, asetik asit, pentakloronitrobenzen, 5-ethoxy-3 (triklorometil),-1,2,4-thidiazol ve Triton x-100 içeren kimyasal solusyona domates tohumlarını daldırılmış ve tohumun çimlenmesine zarar vermeden patojenin eradikasyonunu araştırmıştır. Araştırmacı yaptığı çalışmalar sonucu 25 °C'de tutulan kimyasal solusyonuna 30 dakika süreyle daldırılan domates tohumlarından etmenin eredike olduğu ve uygulamanın tohumun çimlenmesinde herhangi olumsuz bir etkisinin olmadığını belirlemiştir. Ricker ve Riedel (1993) bakırlı ilaçları tek başlarına veya çeşitli kontakt fungusitlerle karıştırarak 5-7 güne bir yapılacak püskürtme şeklinde uygulamanın yaprak yanıklığı ve/veya meyve lekelenmesini önemli oranda azalttığını bildirmiştir (Çetinkaya 2007).

Hausbeck vd (2000) bazı bakterisitlerin etmenin populasyon büyüklüğü ve hızına olan etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada bakır hidroksit, bakır hidroksit/mankozeb, streptomisin ve streptomisin/ bakır hidroksit uygulamalarının 5×10^5 'den küçük *Cmm* populasyonunu sınırladığını bildirmişlerdir. Tarlaya şaşırtılan fidelerde patojen populasyonu 10^8 hücre/gram bitki dokusu miktarına eşit veya daha fazla olduğunda, bitkinin canlılığını ve tarladaki ürün miktarını önemli ölçüde etkilemektedir. Ayrıca araştırmacılar bu uygulamaların hiç birinin inokuleli kontrol bitkiler ile karşılaştırıldığı zaman meyve lekelerinin şiddetini önemli oranda azalmaya neden olmadığını saptamışlardır. Yunanistan'da yapılan bir çalışmada 5-6 haftalık solarizasyon uygulamasının plastik seralarda domates bakteriyel solgunluk hastalığını önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (Antoniou vd 1995). Werner vd 2002 1996-1998 yılları arasında yaptıkları çalışma sonucunda tarlada *Cmm* tarafından oluşturulan domates bakteriyel solgunluk hastalığının şiddetini azaltmak ve etmeni baskı altına almak için bitkiler henüz serada iken bakterisit uygulamalarına başlamaları ve bunu devam ettirmeleri gerektiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar dayanıklı çeşit ve acidibenzolar-S-metil kullanımının hastalıkla mücadelede yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir (Çetinkaya 2007).

Tokgönül (1997), solarizasyon uygulamasının plastik tünelde 5 ve 30 cm, cam serada 15 cm derinliklerde patojene zayıf etkide bulunduğunu saptamıştır. Doğal koşullarda yapılan çalışmalarda toprak solarizasyonun tek başına bir yıl uygulaması etkili bulunmazken, aynı yerde ikinci yıl uygulandığı zaman etki %55 oranında arttığını bildirmiştir. Daferera ve ark., (2003) *Cmm*'e karşı keklik otu, kekik, gazelotu, mercan köşk, lavanta, biberiye, adaçayı ve yarpuz bitkilerinin uçucu yağlarının etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar besi yeri üzerinde patojenin gelişimini keklik otu, kekik, gazelotu, mercan köşk bitkilerinin düşük oranlarda (85-300 µl/ml) bile tamamen engellediğini saptamışlardır.

Polenlerin ve propolis (işçi bal arılarının ağaç ve çalılarının yaprak tomurcuğu, gövde yaraları gibi büyüyerek yenilenen kısımlarından topladıkları sarı, yeşil ve kahverengi reçinemsî bir madde) ekstraktının *Cmm*' e karşı antibakteriyel etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada polen ekstraktının 1/5 oranında, propolis ekstraktının ise 1/10 oranında kullanıldığında patojene karşı en etkili sonucu verdiği saptanmıştır. Polen oranı 1/100, propolis oranı ile 1/1000' e düşürüldüğünde ise antibakteriyel etkinin minimum olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma ile polen ve propolisin bitki patojeni bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesinin olduğu ortaya konmuştur (Basim vd 2005).

Cmm'e karşı antagonist bakterilerin kullanım olanaklarının araştırıldığı bir çalışmada, Tokgönül ve Çınar (1999) 79'u Aktinomiset, 9'u floresan *Pseudomonas* ve 2'si *Bacillus* olmak üzere toplam 90 adet antagonist bakteri izolatu elde etmişlerdir. Bunlardan 27 tanesinin in vitro petri denemeleri sonucunda etkili olduğunu saptamışlardır. Bu izolatlar arasından seçilen 7 antagonist bakteri izolatın *invivo* saksı çalışmalarında domates bakteriyel solgunluk hastalığının gelişimini temiz toprakta %46-100; bulaşık toprakta ise %65-100 arasında değişen oranlarda engellediğini belirlemişler, bu antagonistleri ümit var izolatlar olarak değerlendirmişlerdir.

Boudyach vd (2001) Fas'ın Souss- Massa vadisinde domates bitkilerinin kök çevresinden, kök çevresi dışındaki topraktan ve yaprak yüzeyinden elde ettikleri 178 adet antagonist izolatu gram reaksiyon, sporulasyon, King B besi yerinde floresan renk oluşumu ve fizyolojik testlerle tanılamışlardır. 178 adet izolatu %43'ü tanılanamamış gram negatif bakteri, %28'i floresan *Pseudomonas*, %20'si *Bacillus* spp. ve %9'u da actinomiset olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar 18 izolatu *Cmm*'i engelleme yeteneklerini saksı çalışmaları ile araştırmışlardır. İzolatlar tohuma uygulandıklarında sadece üç izolat hastalık şiddetinde azalma yaparken, tohum uygulamasını takiben üretim alanına dikimden önce izolatlar köklere uygulandığında 10 izolatu hastalık şiddetinde azalmaya neden olduğunu saptamışlardır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışmada Kullanılan Bakteriyel Strain

Bu çalışma kapsamında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı' na ait kültür koleksiyonunda yer alan Antalya ili Aksu ilçesi orijinli *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10 straini kullanılmıştır.

3.2. Çalışmada Kullanılan Domates Çeşitleri ve Geliştirilmesi

Bu çalışmada kullanılan domates çeşitleri Antalya ili ve ilçelerindeki fide firmalarından temin edilmiştir. Yabani domates tohumları ise Tomato Genetics Resource Center ve Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde mevcut olan tohumlar yine aynı bölüme ait olan çimlendirme odalarında geliştirilmiştir.

Ticari domates fidesi üreten firmalardan alınan fideler 15,24 cm derinliğe sahip plastik saksılara aktarılmıştır. Yapılan ön çalışmalarda, fidelerin yetiştirilmesinde sadece torf veya 1:2:1:2 perit-torf-toprak-kum karışımı kullanılmasının bitkiler açısından önemli bir fark yaratmadığı belirlendiğinden fidelerin dikiminde sadece torf kullanılmıştır.

Bitkiler, sera koşullarında (Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı Bitki Deneme Serası) sodyum buharlı ışıkta 18 saat ışıklandırma süresi ile 8 hafta geliştirilmiştir. Fideler, deneme serasında gündüz sıcaklığı 25-30 °C gece sıcaklığı ise 18-20 °C sıcaklıkta geliştirilmiştir (Medina vd 2001).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan domates çeşitleri

No	Çeşit Adı	Ait Olduğu Kuruluş	Tescil Tarihi
1	2242	Tescilsiz	-
2	2246	Tescilsiz	-
3	2247	Tescilsiz	-
4	Harys (RFT 4413)	Syngenta Tarım San. ve Tic. A.Ş.	15.01.1997
5	575	Tescilsiz	-
6	Alex	-	-
7	Alexey	-	-
8	Alida	Toros Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş.	19.06.2002
9	Allegro	Toros Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş.	28.02.2008
10	Alsancak	Yüksel Tohumculuk Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti.	-
11	Alsancak RN	Yüksel Tohumculuk Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti.	13.08.2003
12	Altess	Antalya Tohum. Tarımsal Üretim Pazarlama A.Ş.	-
13	Aristo	HB Tar. Ür. Petrol ve Kim. Ür. Top. Gıda Mad. S.Tic. Ltd. Şti.	13.10.2004
14	Aspava	Su Tarım Tic. Ltd. Şti.	16.08.2006
15	Astona	Nunhems Tohumculuk Ltd. Şti.	13.08.1997
16	Astona ReNe	Nunhems Tohumculuk Ltd. Şti.	12.07.2000
17	Atabey Rn	Yüksel Tohumculuk Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti.	-
18	Atalay	İstanbul Tarım A.Ş.	17.08.2005
19	Bali	-	-
20	Bandita	İstanbul Tarım A.Ş.	14.07.2004
21	Belen	Nadide Tar. Toh. Ür. Tic. ve S.Ltd. Şti.	29.05.2008
22	Beril/73-14	Rito Tohumculuk A.Ş.	10.02.1999
23	Bobo	Santo San. Toh. Tic. Ltd. Şti.	28.02.2008
24	Bolkar	Tasaco Tarım San. ve Tic. A.Ş.	18.01.2006
25	Cibellia/73-14	Rito Tohumculuk A.Ş.	11.05.2005
26	Clotilde	Syngenta Tarım San. ve Tic. A.Ş.	13.04.2005
27	Crisol	Fito Tohumculuk Tic. Ltd. Şti.	10.12.2003
28	Deniz	Toros Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş.	19.06.2002
29	Depar	Neobi Toh. Zirai Tarım Ür. San. ve Tic. A.Ş.	-
30	Diamond	Santo Tarım Ltd. Şti.	13.07.2005
31	Durinta	İstanbul Tohumculuk Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti	-

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan domates çeşitleri (devamı)

32	Export	Altın Tohumculuk Ticaret ve Sanayi A.Ş.	-
33	Gökçe/ FA-191	Toros Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş.	03.12.1991
34	Grendal	İstanbul Tarım A.Ş.	22.03.2007
35	Hadino	Hazera Tohumculuk Tic.A. Ş.	22.03.2007
36	Hamlet	Nunhems Tohumculuk Ltd. Şti.	21.02.2007
37	Han	Yüksel Tohumculuk Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti.	-
38	Helena RN	May Tohumculuk Ltd. Şti.	11.09.2002
39	İlgın	Monsanto Gıda ve Tar. Tic. Ltd. Şti.	11.09.2002
40	İdalyo	-	-
41	İkram	Syngenta Tarım San. ve Tic. A.Ş.	12.07.2000
42	İnci	Anamas Tohum Tarım Üretim ve Paz. Ltd. Şti.	14.04.2004
43	İzmir	Syngenta Tarım San. ve Tic. A.Ş.	13.09.2006
44	Karakaya RN	Yüksel Tohumculuk Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti.	11.08.2004
45	Kardelen	Bircan Tarım Turizm Tic.İth. İhr. ve San. Ltd. Şti.	19.04.2007
46	Kıymet	Multi Tarım Ticaret Ltd. Şti.	18.01.2006
47	Klasdo	May Tohumculuk Ltd. Şti.	16.05.2007
48	Klass	Antalya Tohum Tarımsal Üretim Pazarlama A.Ş.	-
49	Linda	Simge Tar. San. İç ve Dış Tic. Ltd. Şti.	29.05.2008
50	M-09	Agrotek Tohumculuk Tar. Tic. ve San. Ltd. Şti.	09.07.1997
51	M-16	Agrotek Tohumculuk Tar. Tic. ve San. Ltd. Şti.	08.03.2000
52	M-28	Agrotek Tohumculuk Tar. Tic. ve San. Ltd. Şti.	09.07.2003
53	M-79	Agrotek Tohumculuk Tar. Tic. ve San. Ltd. Şti.	19.02.2003
54	M-89	Agrotek Tohumculuk Tar. Tic. ve San. Ltd. Şti.	23.01.2008
55	Malike	Su Tarım Ticaret Ltd. Şti.	10.01.2001
56	Manyla	Fito Tohumculuk Tic. Ltd. Şti.	25.07.2007
57	Maya RN	May Tohumculuk Ltd. Şti.	16.11.2005
58	Melis	Seto Sebze Tohumları Üretim ve Ticaret A.Ş.	11.05.2005
59	Milas	Yüksel Tohumculuk Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti.	-
60	Mirella	Hazera Tohumculuk ve Tic. A.Ş.	11.06.2003
61	Mondi	May Tohumculuk Ltd. Şti.	17.12.2007
62	Multy	Multi Tarım Ticaret Ltd. Şti.	15.06.2005
63	Nakış	İstanbul Tarım A.Ş.	22.03.2007
64	Newton	Syngenta Tarım San. ve Tic. A.Ş.	12.07.2000
65	Nun 3080	Nunhems Tohumculuk Ltd. Şti.	12.01.2005
66	Orient	Nunhems Tohumculuk Ltd. Şti.	24.10.2007
67	Party	Multi Tarım Ticaret Ltd. Şti.	15.06.2005
68	Pascal	Syngenta Tarım San. ve Tic. A.Ş.	14.11.2002

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan domates çeşitleri (devamı)

69	Pegasus/At-03	Ant Tohum Tarımsal Üretim ve Paz. Ltd. Şti.	14.06.2006
70	Pelin	Toros Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş	25.07.2007
71	Petrus	Seto Sebze Tohumları Üretim ve Ticaret A.Ş.	13.06.2001
72	Piccadilly	Syngenta Tarım San. ve Tic. A.Ş.	16.05.2007
73	Polyana	Fito Tohumculuk Tic. Ltd. Şti.	23.01.2008
74	Posseidon	Ant Tohum Tarımsal Üretim ve Paz. Ltd. Şti.	01.11.1995
75	Prences	Yüksel Tohumculuk Tar. San. ve Tic. Ltd. Şti.	-
76	Redo	May Tohumculuk Ltd. Şti.	16.05.2007
77	Sarafin	Seto Sebze Tohumları Üretim ve Ticaret A.Ş.	11.05.2005
78	Selin	Toros Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş.	07.02.1996
79	Sümela	May Tohumculuk Ltd. Şti.	
80	Süvari	Tasaco Tarım San. ve Tic. A.Ş.	18.01.2006
81	Titanic	Hazera Tohumculuk ve Tic. A.Ş.	10 12.1998
82	Töre	May Tohumculuk Ltd. Şti.	-
83	Tuana	Neobi Toh. Zirai Tarım Ür. San. ve Tic. A.Ş.	12.07.2001
84	Tyty	Syngenta Tarım San. ve Tic. A.Ş.	13.07.2005
85	Victory	May Tohumculuk Ltd. Şti.	17.12.2007
86	Vitamin	Yüksel Tohumculuk Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti.	-
87	Vo-5656	Hazera Tohumculuk ve Tic. A.Ş.	13.08.1997
88	Vuslat	Monsanto Gıda ve Tarım Tic. Ltd. Şti.	12.07.2006
89	Yağmur	Yüksel Tohumculuk Tar. San. ve Tic. Ltd. Şti.	12.08.1998
90	Yeni Talya	Ant Tohum Tarımsal Üretim ve Paz. Ltd. Şti.	21.05.1993
91	Yeniçeri	Yüksel Tohumculuk Tar. San. ve Tic. Ltd. Şti.	11.08.2004
92	Yıldız	İstanbul Tarım A.Ş.	08.03.2006
93	Zorro	Fiser Fidecilik A.Ş.	-

3.3. Bitki Materyallerinin Bakteriyel Patojen ile İnokülasyonu

Batı Akdeniz Bölgesinde domates yetiştiriciliğinde bu hastalık genellikle hidatodlardan meydana gelmektedir (Basım 2007). Bu çalışmada fazla sayıda domates çeşitine inokulasyon yapıldığı için iki farklı inokulasyon tekniği dikkate alınmıştır. Birinci inokulasyon tekniği çeşitlerin daha hassas olanlarının elenmesi bakımından yapılmıştır.

Bitkilerin inokulasyonunda kullanılan inokulumun hazırlanmasında, Antalya'nın Aksu ilçesinden izole edilen *CMM 10* straini (Akdeniz Üniversitesi

Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonu) kullanılmıştır. -86 °C de stoklanan patojen bakteriler, Glucose Yeast Carbonate Agar besi ortamı içeren petrilere inokule edilmiş ve 26 °C' de 48 saat boyunca geliştirilmiştir. Bu besi ortamında geliştirilen kolonilerden biri seçilmiş, bu seçilen koloni Glucose Yeast Carbonate Agar içeren başka bir petriye aktarılmış ve 48 saat süre ile 26 °C' de inkubasyona bırakılmıştır. Bu ortamda geliştirilen bakteriler steril deiyonize su ile suspansedilmiş ve bakteriyel konsantrasyonun 1×10^8 cfu/ml olması sağlanmıştır. İnokulum konsantrasyonunun spektrofotometrik olarak saptanmasında Eppendorf Biophotometer 6131 kullanılmıştır. İnokulum absorbansı 1×10^8 cfu/ml' ye karşılık gelen $A_{600}=0,3$ olacak şekilde ayarlanmıştır.

Bakteri kültürlerinden hazırlanan yaklaşık 1×10^8 cfu/ml' lik taze bakteriyel solüsyonlar, petiol kesilerek inokule edilmiştir. Bitkiler, hastalığın düzgün seyri için geliştirme odalarına (Bitki Koruma Bölümü Kontrollü İklim Odaları) aktarılmıştır. İnokule edilen bitkiler, gündüz-gece sıcaklığı $26/18$ °C olacak şekilde hastalığın seyri gözlemlendi.

3.4. Hastalık Şiddetinin Belirlenmesi

Hastalık şiddetinin belirlenmesinde Bakteriyel Solgunluk ve Kanser Hastalık etmeninin tipik simptomsu olan solgunluk ölçüt alınmıştır. Hastalığa ait simptomsalar 17. günden itibaren gözlenmeye başlanmıştır. Yapılan ön çalışmalarda hastalığın bitki çeşitlerindeki seyri inokulasyon sonrası 28' nci günde yapılan kontrole takip edilmiştir. Çeşitlerin hastalığa karşı hassas, toleranslı veya dayanıklı olduğu V. Poysa (1993) skalasına göre değerlendirilmiştir. Bu skalada beş farklı seviye yer almaktadır. Skalaya göre: 1= Bitkiler ölü 2= Tüm yaprakların bir tarafının tamamı ölü veya şiddetli solgunluk 3= Tüm yaprakların bir tarafı ölü veya şiddetli solgunluk 4=Biraz solgunluk veya geriye doğru ölüm, fakat bir yaprak' ın yaprakçıklarının hepsinde tek yönlü solgunluk yok 5=Bitkiler sağlıklı. Gözlemler sonucunda patojenin inokule edildiği bütün domates çeşitlerinde bitkilerin büyüme ucu ölmüştür.

4. BULGULAR

4.1 Hastalığın Seyri ve Enfeksiyon Sınıfının Belirlenmesi

1×10^8 cfu/ml yoğunlukdaki *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10 straini ile petiol kesilerek inokule edilen domates fidelerinde 17. günde solgunluklar görülmeye başlamıştır (Şekil 4.1)



Şekil 4.1. Hastalığın ilk belirtisi.

İleryen günlerde bitkilerin tamamında bir solgunluk ve büyüme uçuunda ölüm meydana gelmiştir (Şekil 4.2)



Şekil 4.2. *Cmm* ile inokule edilen bitkilerde ortaya çıkan karakteristik belirtiler.

Hastalığın enfeksiyon sınıfı belirlenirken 1-5 skalası dikkate alınarak belirlenmeye çalışılmıştır. Karakteristik belirtilerin enfeksiyondan 17 gün sonra ortaya çıktığı, solgunluğun zamanla bitkinin büyüme ucunu etkilediği gözlemlenmiştir. Bitkinin çeşidine bağlı olarak ilk semptomun görülme zamanının farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu farklılığın temel sebepleri arasında bakterinin bitki dokusuna kolonize olması ve uygun ortamın oluşup çoğalması gösterilebilir. Yapılan günlük takipler sonucu çeşitlerin hastalık belirtilerinin

inokulasyondan sonra ortaya çıkma zamanı ve büyüme ucunun ölme zamanı belirlenmiştir (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile inokule edilen domates bitkilerinde ilk hastalık belirtisinin gözlemlendiğine kadar geçen süre

No	Çeşit Adı	İlk belirti (gün)	Büyüme ucunun ölmesi(gün)
1	2242	17	22
2	2246	19	27
3	2247	18	25
4	Harys (RFT 4413)	17	22
5	575	21	28
6	Alex	20	27
7	Alexey	17	22
8	Alida	17	24
9	Allegro	19	25
10	Alsancak	20	28
11	Alsancak RN	20	28
12	Altess	17	26
13	Aristo	17	25
14	Aspava	18	27
15	Astona	17	28
16	Astona ReNe	19	27
17	Atabey Rn	17	26
18	Atalay	18	25
19	Bali	17	26
20	Bandita	17	25
21	Belen	17	27
22	Beril/73-14	18	26
23	Bobo	17	24
24	Bolkar	17	26
25	Cibellia/73-14	19	27
26	Clotilde	20	28
27	Crisol	17	25
28	Deniz	17	26

Çizelge 4.1. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile inokule edilen domates bitkilerinde ilk hastalık belirtisinin gözlemlendiğine kadar geçen süre (devamı)

29	Depar	19	28
30	Diamond	20	28
31	Durinta	17	27
32	Export	19	25
33	Gökçe/ FA-191	17	26
34	Grendal	17	25
35	Hadino	19	28
36	Hamlet	17	27
37	Han	20	28
38	Helena RN	19	26
39	İlgın	17	25
40	İdalyo	20	28
41	İkram	19	26
42	İnci	17	27
43	İzmir	17	26
44	Karakaya RN	19	28
45	Kardelen	17	25
46	Kıymet	20	28
47	Klasdo	17	25
48	Klass	17	26
49	Linda	19	28
50	M-09	19	25
51	M-16	17	24
52	M-28	20	28
53	M-79	17	25
54	M-89	17	25
55	Malike	17	24
56	Manyla	17	25
57	Maya RN	19	28
58	Melis	17	25
59	Milas	17	26
60	Mirella	17	24
61	Mondi	20	28
62	Multy	17	24
63	Nakış	20	27
64	Newton	19	26

Çizelge 4.1. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile inokule edilen domates bitkilerinde ilk hastalık belirtisinin gözlemlendiğine kadar geçen süre (devamı)

65	Nun 3080	17	24
66	Orient	17	25
67	Party	17	23
68	Pascal	19	27
69	Pegasus/At-03	20	28
70	Pelin	17	24
71	Petrus	17	25
72	Piccadilly	20	28
73	Polyana	17	25
74	Posseidon	17	24
75	Prenses	19	27
76	Redo	17	26
77	Sarafin	19	28
78	Selin	17	25
79	Sümela	19	26
80	Süvari	17	25
81	Titanic	17	24
82	Töre	20	28
83	Tuana	17	24
84	Tyty	17	23
85	Victory	20	28
86	Vitamin	17	25
87	Vo-5656	17	24
88	Vuslat	19	25
89	Yağmur	17	24
90	Yeni Talya	20	27
91	Yeniçeri	17	26
92	Yıldız	17	27
93	Zorro	20	28

Hastalık ilk belirtilerinin görülmeye başlamasından sonra hızlı bir şekilde ilerlemiştir. İlk belirtinin görüldüğü günden itibaren bitkiler 10 gün içerisinde ölmüştür. Yabani domates çeşitleri olan *L. pimpinellifolium*, *L. hirsutum* LA407 ve *L. peruvianum* LA2157' e yapılan inokulasyon sonucunda herhangi bir belirtiler gözlemlenmemiştir.

5. TARTIŞMA

Ülkemizin sahip olduğu farklı ekolojik özellikler; pek çok farklı ürünün, büyük miktarlarda üretilmesine izin vermesinden dolayı tarımsal üretim potansiyeli oldukça yüksektir. Türkiye, dünyada yüzölçümü bakımından 37' nci sırada yer almasına rağmen, pek çok zirai mahsulün üretiminde ön sıralarda yer almaktadır. Ancak ülkemizde tarımsal üretim alanlarının artırılmasının zorlaşması, üreticileri birim alandan daha fazla ürün elde etme yoluna götürmüştür. Bu yüzdendir ki örtüaltı yetiştiricilik ekonomik getirisinin fazla olması sebebiyle özellikle uygun iklim koşullarına sahip bölgelerde ve hatta bazı mikroklima bölgelerde önem kazanmıştır. Türkiye'de, iklim şartlarına bağlı bu gelişim Akdeniz Bölgesi' nde, özellikle de bölgenin batısında yer alan Antalya ili ve çevresinde kendini göstermiştir.

Örtüaltı üretim alanlarında oluşturulan kontrollü ortam bitkiler için olduğu kadar hastalık ve zararlılar açısından da oldukça uygundur. Bu sebeple bitkisel üretim artışının yanında bakteri, virus, fungus kaynaklı hastalıklara ve zararlılara bağlı ekonomik kayıplar da artmaktadır.

Örtü altı ve açık tarım alanlarında yetiştiriciliği yapılan domates yaş olarak tüketildiği gibi birçok üründe ham madde ve salçalık olarakta kullanılmaktadır. Bu denli önemli olan domates üretimini etkileyen çok sayıda bakteriyel, viral ve fungal hastalık etmenleri mevcuttur. Bu etmenler gerek örtü altı tarımında gerekse açık tarla yetiştiriciliği yapılan alanlarda etkili olmakta, ciddi ürün ve kalite kayıplarına sebebiyet vermektedir. Kalite kayıpları nedeniyle ürünlerin pazar değerleri düşmekte ve ekonomik açıdan da kayıplar oluşmaktadır.

Mikroorganizmalara bağlı hastalıklar içinde bakteriyel kaynaklı olanlar; yüksek yayılma hızları, ortam değişkenlerine karşı gösterdikleri yüksek adaptasyon yetenekleri, mücadelesinin zorluğu, ürün kayıpları yanında ürün kalitesinde de düşüöşlere sebep olması ile diğer hastalık faktörleri içinde öne

çıkılmaktadır. Örtüaltında yetiştirilen ürünlerin önemli bir miktarının ihracata yönelik oluşu gerçeği göz önünde bulundurulduğunda bakteriyel hastalıkların sebep olduğu kalite kayıplarının da ürün kayıpları kadar ekonomik olarak zarar verdiği kolayca anlaşılabilir.

Domates üretimini dünya çapında sınırlayan en önemli bakteriyel etmenlerden biri olan *Cmm* ilk kez 20. yüzyılın başında Amerika Birleşik Devletlerinde saptandıktan sonra (Gleason ve ark., 1993), 1950'li yılların başında ülkemizde de rapor edilmiştir. EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), *Cmm*'in yayıldığı alanları gösteren bir harita ortaya koymuştur (IMI, 1996-www. eppo.org). Etmen dünyada domates üretiminin yapıldığı hemen hemen her alanda görülmektedir. Avusturya, Beyaz Rusya, Belçika, Bulgaristan, Çek Cumhuriyeti, Mısır, Finlandiya (doğrulanmamış bilgi), Fransa, Almanya, Yunanistan, Macaristan, İrlanda Cumhuriyeti, İsrail, İtalya (Sardinya ve Sicilya), Lübnan, Litvanya, Fas, Hollanda, Norveç (yok edilmiş), Polonya, Portekiz (yok edilmiş), Romanya, Rusya (Avrupa ve Sibirya kısmı), Slovenya, İspanya, İsviçre, Tunus, İngiltere (geçmişte bulunmuş ama daha sonra tespit edilememiş), Ukrayna, Ermenistan, Azerbaycan, Çin (geçmişte bulunmuş ama daha sonra tespit edilememiş), Hindistan (Madhya ve Pradesh bölgeleri), İran, Japonya, Kenya, Kuzey Afrika, Tunus, Togo Cumhuriyeti, Uganda, Zambia, Zimbabve, Kanada, Amerika Birleşik Devletleri (California, Florida, Georgia, Hawaii, Iowa, Illinois, Indiana, Michigan, Kuzey Dakota, Ohio, Wyoming), Meksika, Kosta Rika, Küba Dominik Cumhuriyeti, Grenada, Panama Cumhuriyeti, Arjantin, Brezilya, Şili, Kolombiya, Peru, Uruguay, Avustralya, Tonga Krallığı ve Yeni Zelanda'da *Cmm*'in varlığı rapor edilmiştir. Etmenin varlığı son olarak 1999 yılında Tanzanya'da (Black ve ark., 1999), 2000 yılında Kıbrıs'da (Ioannou ve ark., 2000), 2004 yılında ise Endonezya'da (Anwar ve ark., 2004) bildirilmiştir (Çetinkaya 2007).

Ülkemizde bu hastalık etmeninin varlığı ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiği zaman Tokgönül (1998)'ün bildirdiğine göre ilk olarak Bremer ve Özkan (1950), Bremer ve ark. (1952), Karahan (1965) ve Karaca ve Saygılı

(1977) tarafından sırası ile İç Anadolu, Güney Doğu Anadolu, Marmara ve Ege Bölgelerinde saptanmıştır. Doğu Akdeniz bölgesinde ise Çınar (1980) açıkta ve örtüaltında yetiştirilen domates bitkilerinde *Cmm*'in neden olduğu bakteriyel solgunluk hastalığını gözlemlemiştir. Araştırmacı hasta domates bitkilerinin yaprak, yaprak sapı, gövde ve meyvelerinden elde ettiği bakteriyel izolatları biyokimyasal yöntemlerle *Cmm* olarak tanılamıştır. Şahin ve ark., (2002) Doğu Anadolu bölgesinde Oltu, İspir ve Yusufeli ilçelerinde Target çeşidi ticari domates üretimi yapılan 6 farklı üretim alanında hastalık yaygınlığının %100 olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri izolatları yaptıkları biyokimyasal testler ve yağ asit metil ester analizleri sonucunda *Cmm* olarak tanılamışlardır. Isparta ili ve çevresinde örtü altı domates üretim alanların bakteriyel hastalıklar yönünden incelenmesi sonucunda 40 seranın *Cmm*, 25 seranın *Pseudomonas corrugata* ve 2 seranında *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* ile bulaşık olduğu saptanmıştır (Basım, 2002). (Basım ve ark., 2004) Batı Akdeniz bölgesinde Isparta (Keçiborlu, Çandır ve Şeyhler ilçeleri) ve Antalya (Serik, Aksu, Kumluca, Demre ve Kınık ilçeleri) illerinde örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan üretim alanlarını %26 ile %65 arasında değişen oranlarda *Cmm* ile bulaşık olarak saptamışlardır. Hastalığın görüldüğü seralarda Selin, Astona, 198 RN, Malike ve Tülin çeşidi domates yetiştiriciliği yapıldığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri izolatları patojenite, SCM (semiselective medium for *C. michiganensis*) besi yerinde koloni morfolojisi, PCR testi ve yağ asit metil ester analizleri ile *Cmm* olarak tanılamışlardır. Özdemir 2005 yılında yayınladığı çalışmasında NDM 447 çeşidi domates bitkilerinin meyvelerinde etmen tarafından oluşturulan kuşgözü simptomlarını saptamıştır. Araştırmacı etmen tarafından hastalandırılmış bitkilerin gövde ve meyvelerinden elde ettiği izolatları *Cmm* olduğunu akşamsafası bitkisinde aşırı duyarlılık ve patojenite testleri ile doğrulamıştır.

Hastalığa karşı dayanıklılığın kalıtımına bakıldığında, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' e dayanıklılık birden fazla genle kontrol edilmektedir. Bu hastalığın dayanıklılık kaynağı olarak yabancı domates türleri olan *L. pimpinellifolium*, *L. hirsutum* LA407 ve *L. peruvianum* LA2157

gösterilmektedir(Sandbrink, 1995). Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkezi Müdürlüğü verilerine göre ticari olarak tescil ettirilen 577 domates çeşiti içinde *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' e karşı dayanıklı çeşit bulunmamaktadır. Hastalık etmenine karşı dayanıklılık birden fazla genle kontrol edildiği için dayanıklı çeşit gelişimi zorlaştırmaktadır.

V. Poysa 1993 yılında yaptığı çalışmada yapraktan inokulasyon ve kök daldırma yöntemi ile yaptığı denemede ıshah hatlarını denemiş ve dayanıklı bulunduğu çeşitleri dayanıklı çeşit ıslahında kullanmak üzere ıslah programına almıştır.

Francis ve ark., (2001), yaptıkları çalışmalarda kullandıkları LA 407 hattını dayanıklı olarak belirtmişlerdir. Diğer dayanıklılık kaynağı olarak *L. perivianum* LA 2157 gösterilmiştir ve en iyi dayanıklılık kaynağı olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca LA2157 ile yapılan genetik analizlerde dayanıklılık genleriyle ilgili ilk çalışmalarda 5 QTL (Sandbrink ve ark.,1995) ve sonraki çalışmalarda 3 QTL (Van Heusden ve ark.,1999) belirlenerek, en etkili QTL'in 7. kromozomda olduğu ortaya konmuştur. 7 nolu kromozomda *L. perivianum* kaynaklı dayanıklı ile ilişkili SCAR moleküler işaretleyicisi de belirlenerek ıslahta kullanılabileceği belirtilmiştir. *L. hirsutum* LA407 materyali ile yapılan genetik çalışmalarda da *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatlarına dayanıklılıkla ilgili 2 ve 5. kromozomlarda bulunan 2 QTL belirlenerek, her iki QTL ile ilişkili RGA işaretleyicileri belirlenmiştir.

L. hirsutum kaynaklı LA407 dayanıklı aksesyonla *L. esculentum* hatları arasındaki melezmelerden oluşturulan iki F2 populasyonunda yapılan genetik analizlerde dayanıklı ile ilişkili 2 QTL (2. ve 5. kromozomlarda) ve dayanıklılık genleriyle ilişkili RGA moleküler işaretleyicisi belirlenmiştir (Kabelka ve ark., 2002).

Cmm' ye karşı dayanıklı çeşit geliştirilmesinin öneminden bahsedilen, çalışmanın özellikle bölgede bulunan domates çeşitlerin dayanıklılıklarının değerlendirilmesi bakımından önem taşıdığı ve bu çalışmada test edilen 93 domates çeşiti hastalığa karşı duyarlı olması sebebi ile mutlaka iyi planlanan ıslah programlarıyla ve patojenin farklı strainlerinin test edilmesi kaydı ile yeni çeşitlerin ıslah edilme zorunluluğu vardır. Bunun için yabani domates anaçlarının dayanıklı olduğu dikkate alındığında geri melezlemelerle, bu hastalığa karşı dayanıklı çeşitler geliştirilmelidir. Bu amaçla hastalığın mücadelesinde mevcut mücadele yöntemlerinin pek yeterli olmadığı ve mevcut domates çeşitlerinde hastalığa karşı pek dayanıklı olmadığı düşünüldüğünde, Domates Bakteriyel Solgunluk ve Kanser hastalık etmenine karşı dayanıklı çeşitler geliştirilmelidir.

6. SONUÇ

Dünyada yetiştiricilik yapılan alanların sınırlarının zorlanmış olması ve bu alanlardan elde edilen ürün miktarının insan beslenmesi için yetersiz kalması bilim çevrelerini harekete geçirmiş ve birim alandan daha fazla ürün alma uğraşı başlamıştır. Domateste besin olarak kullanılan sebzelerin en başında yer almaktadır. Türkiye’de Dünya domates üretiminde Çin ve ABD’ den sonra 3. sırada yer almaktadır. Antalya ili ve çevresi, Türkiye’ de örtüaltı domates yetiştiriciliği ve domates fideciliği bakımından ülkemiz için büyük öneme sahiptir.

Domates Bakteriyel Solgunluk ve Kanser hastalık etmeni ile kimyasal mücadelede henüz kesin bir sonuca ulaşamamıştır. Günümüz de kimyasal mücadele olarak bakırlı bileşikler ve antibiyotikler kullanılmaktadır. Bunun neticesinde telafi edilemez çevresel sorunlar ortaya çıkmaktadır.

Bakteriyel Solgunluk ve Kanser hastalığının kontrolünde, çeşitli kültürel tedbirler, sertifikalı tohum kullanımı, tohuma çeşitli kimyasal ve biyolojik uygulamalar, yeşil aksam ilaçlamaları, toprak solarizasyonu, dayanıklı çeşitlerin kullanımını içine alan entegre bir mücadele önerilmektedir. Ülkemizde, bu entegre mücadelenin en önemli yollarından biri olan dayanıklı çeşit kullanımında büyük bir eksiklik vardır.

Sonuç olarak, bu çalışmada Türkiye’deki bazı domates çeşitlerinin Domates Bakteriyel Solgunluk ve Kanser hastalık etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*’ e karşı test edilen tüm domates çeşitlerinin hassas olduklarını ortaya koymuştur. Dayanıklı domates çeşitlerinden dayanıklılık geninin gerek klasik ıslah gerekse modern biyoteknolojik yöntemlerle aktararak yeni dayanıklı çeşitlerin elde edilmesi gerektiği ortaya çıkmaktadır. Bu çalışma, daha genişletilmiş araştırmaların yürütülmesine katkı sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

- A.PLAZ EK, *Acta Physiologiae Plantarum*, 25(3) (2003) 37.
- Abak,K. ve Ertekin,Ü., 1985. Değişik sebze türlerinin farklı örtü altı tiplerine uygunluğu Türkiye'de Seracılık Simpozyumu Bildirileri.
- ACQUAAH, G. 2002. *Horticulture: Principles and Practices*. New Jersey, Prentice Hall.
- ALARCON, C., CASTRO, J., MUNOZ, F., JOHNSON, P., and DELGADO, J. 1998 Protein(s) from the Gram-positive bacterium *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* induces a hypersensitive response in plants. *Phytopathology* 88: 306–310.
- ALFANO, J.R., and COLLMER, A. 1997 The type III (Hrp) secretion pathway of plant pathogenic bacteria: trafficking harpins, Avr proteins, and death. *J.Bacteriol* 179: 5655–5662.
- ANONİM, 2007-a. T.C. Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı Dokuzuncu Kalkınma Planı Bitkisel üretim Özel İhtisas Komisyonu Raporu. 1-9, Ankara.
- ANONİM, 2007-b. <http://faostat.fao.org>
- ANONİM, 2008-a. <http://en.wikipedia.org>
- ANONİM, 2008-c. <http://www.nal.usda.gov>
- ANTONIOU, P. P., TJAMOS, E. J., PANAGOPOULOS, S. G., 1995. The use of soil solarization for controlling bacterial canker of tomato in plastic houses in Greece. *Plant Pathology*, 44:438-447.
- ARBONA V., JACAS J., GARCIA A. 2003. Enzymatic and non-enzymatic antioxidant responses of carrizo citrange, a salt-sensitive *Citrus rootstock*, to different leaves of salinity. *Plant Cell Physiol*, 44(4) 388.
- BANNISTER, J. V., BANNISTER, W. H., ROTILIO, G., 1989. *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 22 111.
- BARON C., ZAMBRYSKI P. C. 1995. The control of specificity in guard cell signal transduction. *Rev. Genetics*, 29,107.
- BASIM, E., 2002. Isparta ve çevresindeki sera domateslerinde görülen bakteriyel patojenlerin belirlenmesi. *S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6:1-8.

- BASIM, E., BASIM, H., DICKSTEIN E. R. and JONES J. B., 2004. Bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on greenhouse-grown tomato in the Western Mediterranean Region of Turkey. *Plant Disease*, 88:1048.
- BASIM, E., BASIM, H., ÖZCAN, M., 2005. Antibacterial activities of turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. *Journal of Food Engineering*, 77:992–996.
- BASIM, H., ve ÖZTURK, S. B. 2000. Antalya ve çevresindeki sera domateslerin de görülen bakteriyel hastalıklar ve çözüm önerileri. III. Sebze Tarımı Sempozyumu, 99-202, Isparta.
- BELASCO, J.G., and BRAWERMAN, G. 1993. Control of Messenger RNA Stability. San Diego, CA: Academic Press.
- BENHAMOU, N. 1991. Cell surface interactions between tomato and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: localization of some polysaccharides and hydroxyproline-rich glycoproteins in infected host leaf tissue. *Physiol Plant Pat.* 38: 15–38.
- BERMPOHL, A., DREIER, J., BAHRO, R., and EICHENLAUB, R. 1996. Exopolysaccharides in the pathogenic interaction of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* with tomato plants. *Microbiol Res* 151: 391–399.
- BEYER R. E. 1994. The two-electron quinone reductase DT-diaphorase generates and maintains the antioxidant (reduced) form of coenzyme Q in membranes. *Moleculer aspects of medicine* 18,15-23.
- BLOKHNINA O. 2000. Academic Dissertation, ISSN1239-9469, ISBN 951-45-9631-5, ISBN 951-45-9632-3, ISBN 951-45-9633 (PDF),
- BOLWELL G. P. 1999. Role of active oxygen species and NO in plant defence responses. *Plant Sci.* 2, 287-294.
- BOWLER C., VAN, MONTAGU M., INZE D. 1992. Superoxide dismutase and stres tolerance. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 43, 83-116.
- BRADSHAW-ROUSE, J.J., WHATLEY, M.H., COPLIN, D.L., WOODS, A., SEQUEIRA, L., and KELMAN, A. 1981. Agglutination of *Erwinia stuartii* strain, with a corn agglutinin: correlation with extracellular polysaccharide production and pathogenicity. *Appl Environ Microbiol* 42: 344–350.

- BRIGELIUS-FLOHE R., TRABER, M. G. 1999. Vitamin E: Function and metabolism. The FASEB Journal, 13:1 145.
- CARLTON, W.M., BRAUN, E.J., and GLEASON, M.L. 1998. Ingress of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* into tomato leaves through hydathodes. *Phytopathology*, 88: 525-529.
- CHANG, R.J., RIES, S.M., and PATAKY, J.K. 1991. Dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by practices used to produce tomato plants. *Phytopathology* 81: 1276–1281.
- CHEN, Z., SILVA, H., KLESSIG, D. 1994 Science 262 1883. Colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum*. *Phytopathology* 87:1264– 1271.
- ÇAVDAR, C., SİFİL, A., ÇAMSARI, T. 1997 Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, 3-4 92.
- ÇETİNKAYA Y.,R. 2007. Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.' un Tanılanması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler İle Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, 191 sayfa.
- DANGL, J.L., DIETRICH, R.A., and RICHBERG, M.H. 1996. Death don't have no mercy: cell death programs in plant–microbe interactions. *Plant Cell* 8: 1793–1807.
- DAVID,M. FRANCIS and EILEEN KABELKA. Resistance to bacterial canker in tomato (*Lycopersicon hirsutum* LA407) and its progeny derived from Crosses to *L. esculentum*. *Plant Dis.* 85:1171-1176
- DAVIS, M.J., GILLESPIE, J.R., A.G., VIDAVER, A.K. and HARRIS, R.W. 1984. *Clavibacter* a new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria, including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov., subsp. nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. nov., pathogens that cause ratoon stunting disease of sugarcane and bermudagrass stunting disease. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 34: 107-117.
- DENNY, T.P. 1995. Involvement of bacterial polysaccharides in plant pathogenesis. *Annu Rev Phytopathol* 33: 173–197.

- DREIER, J., BERMPOHL, A., and EICHENLAUB, R. 1995. Southern hybridization and PCR for specific detection of phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Phytopathology 85: 462–468.
- DREIER, J., MELETZUS, D., and EICHENLAUB, R. 1997. Characterization of the plasmid encoded virulence region *pat-1* of the phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Mol Plant– Microbe Interact 10: 195–206.
- EICHENLAUB, R., GARTEMANN, K.H., AND BURGER, A. 2006. *Clavibacter michiganensis*, a group of gram-positive phytopathogenic bacteria, In: Gnanamanickam, S.S (Editors), Plant Associated Bacteria, Springer, Netherlands, pp :716
- ERKAN, S. ESER, B., ve YORGANCI, Ü. 1992. Domates Mozayik Virusü'nün bazı domates çeşitlerine olan etkileri. I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Cilt II. s. 411, 13–16 Ekim 1991, İzmir.
- EUROPEAN UNION (1995) Commission directive 95/4/EC amendment of 21 Feb 1995 to the European Community Plant Health Directive (77/93/EEC). Official Journal of the European Communities L44: 56–60.
- FRANCIS, D.M., KABELKA, E., BELL, J., FRANCHINO, B., ST. CLAIR D. 2001. Resistance to bacterial canker in tomato (*Lycopersicon hirsutum* LA407) and its progeny derived from crosses to *L. esculentum*. *Plant Dis.*, 85:1171-1176.
- FULKERSON, J.F. 1960. Pathogenicity and stability of strains of *Corynebacterium insidiosum*. Phytopathology 50: 377–380.
- GARA D. L., PINTO M. C., TOMMASI F. 2003. The antioxidant systems vis-avis reactive oxygen species during plant-pathogen intraduction. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41,863-870.
- GITAITIS, R.D. 1990. Induction of a hypersensitive-like reaction in four-o'clock by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Plant Dis* 74: 58–60.
- GLEASON, M.L., GITAITIS, R.D. and RICKER, M. 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial cancer of tomato in Eastern North America *Plant Disease*, 75: 834-838.
- GÜNCAN A., DURMUŞOĞLU E. 2004. HASAD, 233, 26.

- HARINASUF P., POONSOPA D., ROENGMOGKOL K. CHAROENSATAPORN R. Salinity effect on antioxidant enzyme in mulberry cultivar. *Science Asia*, 29, 109.
- HEIL M., BOSTOCK R. M. 2002. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. *Annals of Botany*, 89, 503-512.
- HIBBERD, A. M., HEALTON, J. B., FINLAY, G. P., AND DULLAHIDE, S. R., 1992. A greenhouse method for selecting tomato seedlings resistance to bacterial canker. *Plant Dis.* 76:1004-1007
<http://www.hort.purdue.edu/rhodcv/hort410/tomat/to00001.htm>
<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.ppt>
- JIANG M., ZHANG J. 2001. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant and Cell Physiology*. 42(11), 1265-1273.
- KABELKA, E., FRANCHINO, B., AND FRANCIS, D. M. 2002. Two loci from *Lycopersicon hirsutum* LA407 confer resistance to strains of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Phytopathology* 92:504-510
- KANG H. M., SALTVEIT M. E. 2001. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedling radicles. *Physiologia Plantarum*, 113, 548-556.
- KARATAŞ, H. ve Ç.BEŞİROĞLU, 1992. Türkiye seracılığında bölgelere göre yıllık gelişme hızlarının saptanması üzerinde araştırma. Seracılık Araştırma Enstitüsü 1993 Yılı Çalışma Raporu. Antalya.
- KESKİN, G., ve DÖLEKOĞLU, C. 2005. Domates ve Domates Salçası Durum Tahmin: 2004/2005. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü Yayınları, 123, 1-75, Ankara
- KESKİN, G., ve GÜL, U. 2004. Domates. Tarımsal Ekonomi araştırma Enstitüsü Yayınları, Bakış, 5, 13, 1-4, Ankara.
- KIRALY, Z., EL-ZAHABY, H.M., and KLEMENT, Z. 1997. Role of extracellular polysaccharides (EPS) slime of plant pathogenic bacteria in protecting cells to reactive oxygen species. *J Phytopathol* 145: 59–68.
- KODAME O., LI W., TAMOGAMI X. S., AKATSUKA T., ORYZALEXIN S. 1992. Oryzalexin S, a novel stemarane-type diterpene rice phytoalexin. *Biosci Biotech Biochem*, 56, 1002.

- KRAMER, R., and LEISTNER, H.-U. 1986. Physiological and cytological aspects of the action of the toxin from *Corynebacterium michiganensis subsp. michiganense* (Smith Jensen) on the host plant. *Zentralbl Mikrobiol* 141: 437–454.
- KUZNIAK E., SKLODOWSKA M. 2000. The involvement of hydrogen peroxide in plant responses to stresses. *Acta Physiologiae Plantarum*, 22(1) 195.
- LAINÉ, M.J., NAKHEI, H., DREIER, J., MELETZUS, D., EICHENLAUB, R., and METZLER, M.C. 1996. Stable transformation of the Gram-positive bacterium *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* with several cloning vectors. *Appl Environ Microbiol* 62: 1500–1506.
- LAMB C., DIXON R. A. 1997. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu. Rev. Plant Physiologiae Plantarum Mol. Biol.*, 48, 251.
- LEE, I.M., BARTOSZYK, I.M., GUNDERSEN-RINDAL, D.E., and DAVIE, R.E. 1997. Phylogeny and classification of bacteria in the genera *Clavibacter* and *Rathayibacter* on the basis of 16S rRNA gene sequence analysis. *Appl Environ Microbiol* 63: 2631– 2636.
- LEGRAND, M., KAUFFMANN, S., GEOFFROY, P., FRITIG, B. 1987. Biological function of pathogenesis-related proteins: four PR proteins of tobacco have 1-3- β -glucanase activity. *EMBO J. November*; (11):3209-3212.
- LEIGH, J.A., AND COPLIN, D.L. 1992 Exopolysaccharides in plant–bacterial interactions. *Annu Rev Microbiol* 46:307–346.
- LEVINE A., TENHAKEN R., DIXON R., LAMB, C. 1994. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, 79, 583-593.
- LONN V. L., STREIEN V. The families of pathogenesis-related proteins, their activities and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1999;55: 85-97.
- LOW, P. S., MERIDA, J. R. 1996. The oxidative burst in plant defence: Function and signal transduction *Physiol. Plant.*, 96, 533.
- MANSFELD-GIESE, K. 1997. Plant-to-plant transmission of the bacterial ring rot pathogen *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus*. *Potato Res* 40: 229–235.
- MANSFIELD JW., SLUSARENKO A.J, FRASER RSS AND VANLOON LC(ED), 1999. KLUWER, Amsterdam,

- MARIANA, S.C., WAGNER, F. 2005. Plant defense and Antimicrobial peptides protein and peptide letters, 12, 11.
- MASCIO, D. P., KAISER, S., SIES, H., 1989. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. Archives of Biochemistry and Biophysics, 274(2) 532.
- MEHDY M. 1994. Plant Physiol., 105, 467.
- MEISTER A. (1988). Glutathione of gamma-glutamyl-cysteine synthetase by nonallosteric feedback inhibition by glutathione. Biological Chemistry, 1975 250: 1422-1426.
- MELETZUS, D., and EICHENLAUB, R. 1991. Transformation of the phytopathogenic bacterium *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* by electroporation and development of a cloning vector. J Bacteriol 173: 184–190.
- MELETZUS, D., BERMPOHL, A., DREIER, J., and EICHENLAUB, R. 1993. Evidence for plasmid encoded virulence factors in the phytopathogenic bacterium *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* NCPPB382. J Bacteriol 175: 2131–2136.
- METZLER, M.C., LAINE, M.J., and DE BOER, S.H. 1997. The status of molecular biological research on the plant pathogenic genus *Clavibacter*. FEMS Microbiol Lett 150: 1– 8.
- MITLER R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science., 7(9) 405-410.
- MOGEN, B.D., OLESON, A.E., SPARKS, R.B., GUDMESTAD, N.C., and SECOR, G.A. 1988. Distribution and partial characterization of pCS1, a highly conserved plasmid present in *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum*. Phytopathology 78: 381–1386.
- NEUENSCHWANDER U., VERNOLOJI B., FRIDERICH L., UKNES S., KESSMAN H., RYALS J. 1995. Is hydrogen peroxide a second messenger of salicylic acid in systemic acquired resistance? Plant Journal., 8 227-233.
- NOCTOR G. 1998. Ascorbate and Glutathione: Keeping active oxygen under control. Annual review of plant physiology and plant molecular biology, 49, 249-279.

- OERKE, E.C., DEHNE, H.W., SCHONBECK, F., WEBER, A., 1994. Crop Production and Crop Protection-Estimated Losses in Major Food and Cash Crops. Elsevier, Amsterdam, 808 pp.
- ÖZCAN S., GÜREL E., BABAOĞLU M., 2001. Genetik mühendisliği ve uygulamaları, Bitki Biyoteknolojisi II, Bölüm 20- 261.
- ÖZGÖZ, A., BAYKAL, N., ve ERKAN, S. 1994. "Bursa yöresinde yetiştirilen sanayi domateslerinde görülen virüs hastalıklarının tespiti ve yayılışı üzerinde çalışmalar. s.31–37". Editör:Semih Erkan & İbrahim Duman. Sandom No:8., 53 s.
- PALMA L. M. 2002. Reactive oxygen species, antioxidants systems and nitric oxide in peroxisomes. Journal of experimental Botany, 53(372) 1255.
- PINE T.S., GROGAN R.G., HEWITT W.B. 1954. Pathological analogy of bacterial canker of young tomato plants. *Phytopathol.*, 45: 267-271.
- POONTARIGA, H., DARINEE, P., KANNARAT, R., CHAROENSATAPORN, R. 2003. Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar Science Asia, 29, 109-113.
- POYSA, V. 1993. Evaluation of tomato breeding lines resistant to bacterial canker. Can. J. Plant Pathol. 15:301-304.
- PSALLIDAS, P. G. 1988. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young. In: Smith, I. M., Dunez, J., and Lelliot, R. A. (Editors), European Handbook of Plant Diseases, Blackwell Scientific Publications, pp. 153-154, Oxford.
- RAI, P.V., and STROBEL, G.A. 1968. Phytotoxic glycopeptides produced by *Corynebacterium michiganense*. II. Biological properties. *Phytopathology* 59: 53–57.
- RHODES, D. 2008. Department of Horticulture and Landscape Architecture Hort 410- Vegetable Crops Tomatoes-Notes
- ROJO, E., SOLANAO, R. 2003. Interactions between signaling compounds involved in plant defence. *Journal of Plant Growth Regulation*, 22, 82-98 .
- ROMEIRO, R., KARR, A., and GOODMAN, R. 1981. Isolation of a factor from apple that agglutinates *Erwinia amylovora*. *Plant Physiol* 68: 772–777.

- SAILE, E., MCGARVEY, J.A., SCHELL, M.A., and DENNY, T.P. 1997. Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum*. *Phytopathology* 1997 Dec; 87(12): 1264-12
- SANDBRINK JM, OOIJEN JWV, PURIMAHUA CC, VRIELINK M , VERKERKP, ZABELP,LINDHOUTP 1995. Localization of genes for bacterial canker resistance in *Lycopersicon peruvianum* using RFLPs. *Theor Appl Genet* 90: 444–450
- SANTOS, M.S., CRUZ, L., NORSKOV, P., and RASMUSSEN, O.F. 1997. A rapid and sensitive detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds by polymerase chain reaction. *Seed Sci Technol* 25: 581–584.
- SCHURHOLZ, TH., WILIMZIG, M., KATSIUO, E., and EICHENLAUB, R. 1991. An anion channel forming activity from the plantpathogenic bacterium *Clavibacter michiganense* subsp. *nebraskense*. *J Membr Biol* 123: 1–8.
- SEVGİCAN, A. 1999. Örtüaltı Sebzeçiliği (Topraksız Tarım). Ege Univ. Ziraat Fakültesi Yayınları No: 526 Bornova, İZMİR
- SHIGEOKA S., ISHIKAWA T., TAMOI M., MIYAGAWA V., TAKEDA T., YABUTA Y., YOSHIMURA K. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*, 53(372) 1305.
- SHIRAKAWA, T., SASAKI, T., and OZAKI, K. 1991. Ecology and control of tomato bacterial canker and detection methods of this pathogen. *Japan Agric Res Quart* 25: 27–32.
- STRIDER, D.L. 1969. Bacterial canker of tomato caused by *Corynebacterium michiganense*. A literature review and bibliography. *North Carolina Agric. Exp. Stn., Tech. Bull.*, 193.
- TAKAHAMA, U., ONIKI, T. 1997. A peroxidase/phenolics/ascorbate system can scavenge hydrogen peroxide in plant cells. *Physiologia Plantarum*, 101, 845-852.
- TAUCH, A., ZHENG, Z., PUHLER, A., and KALINOWSKI, J. 1998. *Corynebacterium striatum* chloramphenicol resistance transposon Tn5564: genetic organization and transposition in *Corynebacterium glutamicum*. *Plasmid* 40: 126–139.

- TEKİNEL, O., BAYTORUN, A.N., 1990. Seracılıkta Yeni Teknolojiler. 5. Seracılık Sempozyumu, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, s.11-20, İzmir.
- THARAUD, M., MENGGAD, M., PAULIN, J.P., and Laurent, J. 1994. Virulence, growth and surface characterization of *Erwinia amylovora* mutants with altered pathogenicity. *Microbiology* 140: 659– 669.
- TOKGÖNÜL, S. VE Ö. ÇINAR, 1998. Domateste tohum uygulamalarının bakteriyel solgunluk hastalığına (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.) etkileri üzerinde çalışmalar. VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi. 452
- TOKGÖNÜL, S., Ö. ÇINAR, K. RUDOLPH., 1997. The effect of soil solarization on bacterial canker of tomato in the Mediterranean Region of Turkey. Second International Conference on Soil Solarization and Integrated Management of Soilborne Pests. March, 16-21, Aleppo, Syria
- TÖR M. 1998. Recent developments in molecular plant-microbe interactions *Turkish Journal of Biology* 22: 271-285.
- VRANOVA E., INZED., VAN F. Signal transduction during oxidative *Journal of Experimental Botany.*, 53(372)(2002) 1227 and *Plant Cell*, 9 (1997) 249.
- VAN ALFEN, N.K., MCMILLAN, B.D., AND WANG, Y.1987. Properties of the extracellular polysaccharides of *Clavibacter michiganense* subsp. *insidiosum* that may affect pathogenesis. *Phytopathology* 77: 501–505
- VAN DEN BULK, R.W., LOFFLER, H.J.M., and DONS, J.J.M. 1989. Effect of phytotoxic compounds produced by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Neth J Plant Pathol.* 95: 107–117.
- VAN DEN BULK, R.W., LOFFLER, H.J.M., and DONS, J.J.M. 1990. Inhibition of callus development from protoplasts of *Lycopersicon peruvianum* by extracellular polysaccharides of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Plant Sci* 71: 105–112.
- VAN HEUSDEN A.W., KOORNNEEF, M., VOORRIPS, R.E., BRUGGEMANN, W. G., PET, VRIELINK-VAN GINKEL, X. CHEN R. , LINDHOUT P. 1999 . Three Qtls from *Lycopersicon Peruvianum* Confer A High Level Of Resistance to *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*.
- VIDAVER, A.K. 1982. The plant pathogenic corynebacteria. *Annu Rev Microbiol* 36: 495– 517.

- WALLIS, F.M. 1977. Ultrastructural histopathology of tomato plants infected with *Corynebacterium michiganense*. *Physiol Plant Pathol* 11: 333– 342.
- WEI, Z.M., LABY, R.J., ZUMOFF, C.H., BAUER, D.W., HE, S.Y., COLLMER, A., 1992. Harpin elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora*. *Science* 257: 85–88.
- XING T., HIGGINS V. J., BLUMWALD E. 1997. Race-Specific elicitors of *Cladosporium fulvum* promote translocation of cytosolic components of NADPH oxidase to the plasma membrane of tomato cell. *Plant Cell*, 9, 249-259.
- YOUNG, D.H., and SEQUEIRA, L. 1986. Binding of *Pseudomonas solanacearum* fimbriae to tobacco leaf cell walls and its inhibition by bacterial extracellular polysaccharides. *Physiol Mol Plant Pathol* 28: 393.

ÖZGEÇMİŞ

Serkan UYAR 1981 yılında Antalya' da doğdu. İlkokul' a Antalya'da başlayıp Isparta' da devam etti. Orta ve lise eğitimini Isparta' da tamamladı. 2002 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim Programından 2006 yılında mezun oldu. 2007 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı' nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen aynı bölümde çalışmalarına devam etmektedir.