

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI



KARADENİZ BÖLGESİ'NDE BEYAZ BAŞ LAHANA ÜRETİM
ALANLARINDA SORUN OLAN SİYAH DAMAR ÇÜRÜKLÜK
HASTALIK ETMENİNİN (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)
YAYGINLIĞI VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Doktora Tezi

Songül ERKEN MERAL

Danışman

Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY

II. Danışman

Dr. Volkan ÇEVİK

Bu çalışma TÜBİTAK-TOVAG tarafından 119O100 proje numarası ile desteklenmiştir ve tezin bir kısmı TÜBİTAK 2214-A bursu kapsamında 1059B142100603 numaralı proje ile İngiltere'de University of Bath'da yapılmıştır.

SAMSUN
2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Songül ERKEN MERAL tarafından, Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY danışmanlığında hazırlanan “KARADENİZ BÖLGESİNDE BEYAZ BAŞ LAHANA ÜRETİM ALANLARINDA SORUN OLAN SİYAH DAMAR ÇÜRÜKLÜK HASTALIK ETMENİNİN (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) YAYGINLIĞI VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 23.12.2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bitki Koruma Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Mehmet Ali ŞEVİK Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bitki Koruma Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Kamil IŞIK Ondokuz Mayıs Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Soner SOYLU Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Koruma Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Didem CANİK OREL Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

30 / 11 / 2022

Songül ERKEN MERAL

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : KARADENİZ BÖLGESİ'NDE BEYAZ BAŞ LAHANA ÜRETİM ALANLARINDA SORUN OLAN SİYAH DAMAR ÇÜRÜKLÜK HASTALIK ETMENİNİN (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) YAYGINLIĞI VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 01.12.2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : %16

Tek kaynak oranı : %2 çıkmıştır.

01 / 12 / 2022

Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY

ÖZET

KARADENİZ BÖLGESİ'NDE BEYAZ BAŞ LAHANA ÜRETİM ALANLARINDA SORUN OLAN SİYAH DAMAR ÇÜRÜKLÜK HASTALIK ETMENİNİN (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) YAYGINLIĞI VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Songül ERKEN MERAL
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Bitki Koruma Ana Bilim Dalı
Doktora, Aralık/2022
Danışman: Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY

Siyah damar çürüklük hastalığı dünya çapında *Brassica* spp. bitkilerinin en tahripkâr hastalığı olarak kabul edilmektedir. Siyah damar çürüklük hastalığı etmeni olan *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in en önemli konukçusu *Brassica oleracea*'dır. Bu çalışma, beyaz baş lahana üretiminin yoğun olarak yapıldığı Karadeniz Bölgesi'ndeki Samsun, Amasya, Çorum ve Tokat illerinde siyah damar çürüklük hastalık etmeninin yaygınlığı, bulunma oranı ve şiddetini saptamak, elde edilen *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının fizyolojik, biyokimyasal, moleküler tanılaması, ırklarının belirlenmesi ve tüm genom dizi analizi ile de etmene ait yapısal ve fonksiyonel genom hakkında bilgi edinmek amacıyla yapılmıştır. Arazi çalışmalarında etmene ait hastalık şiddeti (%14.64), bulunma (%34.60) ve yaygınlık (%95.93) oranları ile en yüksek değere sahip il olarak Samsun ili tespit edilmiş, bu ili sırasıyla Amasya, Çorum ve Tokat illeri takip etmiştir. Arazi çalışmalarında elde edilen 330 adet bakteriyel izolatın fizyolojik, biyokimyasal, moleküler tanılama ve patojenisite testleri sonucunda 307 adedi *X. campestris* pv. *campestris* olarak tanılanmıştır. İzolatların farklı *Brassica* spp. genotiplerindeki reaksiyonlarına göre toplam 307 adet izolattan 47 adedi (%15.31) ırk 1, 3 adedi (%0.98) ırk 3, 211 adedi (%68.73) ırk 4, 2 adedi (%0.65) ırk 6, 18 adedi (%5.86) ırk 8 ve 26 adedi (%8.47) ırk 9 olarak tanılanmıştır. Yaygınlık oranına göre ise 1. sırada ırk 4, daha sonra sırasıyla sırasıyla ırk 1, ırk 9, ırk 8, ırk 3 ve ırk 6 tespit edilmiştir. Hastalık etmeninin belirlenen ırkları arasında ırk 2, ırk 5 ve ırk 7'ye ait izolatları tespit edilmemiştir. Her ırk grubundan izolatlar seçilerek yapılan tüm genom dizi analizi sonuçlarına göre, ırk düzeyinde populasyon yapısının coğrafik orjinden bağımsız olabileceği sonucuna varılmıştır. Literatür araştırmasında Türkiye'de daha önceden yapılmış benzer bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle çalışmanın benzer konuyla ilgili ileride yapılacak olan çalışmalara veri kaynağı oluşturmasından dolayı büyük önem taşıdığı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Siyah damar çürüklüğü, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, Patojen ırkları, *Brassica oleracea*, Tam genom dizi analizi

ABSTRACT

PREVALENCE AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF BLACK ROT DISEASE AGENT (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) IN WHITE HEAD CABBAGE PRODUCTION AREAS IN THE BLACK SEA REGION

Songül ERKEN MERAL

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Plant Protection

Ph.D., December/2022

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hasan Murat AKSOY

Black rot disease is the most devastating disease of *Brassica* spp. crops worldwide. The most important host of black rot caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, is *Brassica oleracea*. This study was carried out to determine the prevalence, incidence and severity of black rot disease in the provinces of Samsun, Amasya, Çorum and Tokat in the Central Black Sea Region, where white cabbage production is intense, and to identify *X. campestris* pv. *campestris* isolates by physiological, biochemical and molecular tests, determination of races and whole genome sequence analysis to obtain information about the structural and functional genome of the strains. In field surveys, Samsun province had the highest value in terms of disease severity (14.64%), incidence (34.60%) and prevalence (95.93%) of the disease, followed by Amasya, Çorum and Tokat, respectively. As a result of physiological, biochemical, molecular diagnostic and pathogenicity tests of 330 bacterial isolates obtained in field surveys, 307 of them were identified as *X. campestris* pv. *campestris*. According to the reactions of different *Brassica* spp. genotypes inoculated with *X. campestris* pv. *campestris* isolates, 47 (15.31%) of the total 307 isolates were race 1, 3 (0.98%) race 3, 211 (68.73%) race 4, 2 (0.65%) race 6, 18 (5.86%) were race 8 and 26 (8.47%) as race 9. Race 4 was found the most prevalent race, followed by race 1, race 9, race 8, race 3 and race 6, respectively. No isolates belonging to race 2, race 5 and race 7 were detected among the determined races of the disease agent. According to the results of the whole genome sequencing analysis performed by selecting isolates from each racial group, it was concluded that the population structure at the race level may be independent of the geographical origin. In the literature search, no similar study has been found in Turkey before. For this reason, it is thought that the study is of great importance as it creates a data source for future studies on similar topics.

Keywords: Black rot, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, Pathogen races, *Brassica oleracea*, Full genome sequence analysis

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve desteğini eksik etmeyen, gösterdiği yüksek hoşgörü ve sabırdan dolayı saygıdeğer hocam Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY'a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, özellikle biyoinformatik konusunda bilgi ve tecrübelerini samimiyetle paylaşan, çalışmalarımnda doğru bir yol haritası çizmemde emeği olan değerli hocam Dr. Volkan ÇEVİK'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitesi jüri hocalarım Prof. Dr. Kamil IŞIK ve Prof. Dr. Mehmet Ali ŞEVİK'e çalışmam süresince gösterdikleri değerli katkı ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca tez savunma sınavında yer alan jüri üyeleri Prof. Dr. Soner SOYLU ve Doç. Dr. Didem CANİK OREL'e değerli katkı ve önerilerinden dolayı teşekkür ederim.

Tezimde referans izolatlar ve ırk ayırım seti tohumlarının temininde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Eric HOLUB'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmalarım sırasında bana her zaman yardımcı olan canım arkadaşım doktora öğrencisi Esmâ BÖLÜK'e teşekkür ederim.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 119O100 proje numaralı 1001 araştırma programı ile desteklenmiştir. Ayrıca TÜBİTAK-BİDEB 2214/A Doktora Sırası Yurt Dışı Araştırma Burs Programı 1059B142100603 nolu proje kapsamında desteklenerek tezimin biyoinformatik çalışmalar kısmı İngiltere'de yürütülmüştür. Bu araştırmada yer alan biyoinformatik çalışmalar İngiltere'de CLIMB platformunda (Cloud Infrastructure for Big Data Microbial Bioinformatics) ve bir kısmı da TÜBİTAK ULAKBİM, Yüksek Başarım ve Grid Hesaplama Merkezi'nde (TRUBA kaynaklarında) gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmamda beni destekleyen TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak tüm hayatım boyunca beni yalnız bırakmayıp maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen canım annem ve babama, kardeşlerime ve eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Songül ERKEN MERAL

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	5
2.1. Siyah Damar Çürüklük Hastalığı (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>).....	5
2.2. <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> 'in Irkları	9
2.3. <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> ile İlgili Genomik Çalışmalar	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Arazi Çalışması	21
3.1.1. Hastalık Bulunma ve Yaygın Oranları ile Şiddetinin Saptanması	23
3.2. İzolasyon	24
3.3. Tanılama Çalışmaları	25
3.3.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi	25
3.3.2. Patojenisite Testi	25
3.3.3. Morfolojik, Biyokimyasal ve Fizyolojik Tanılama.....	26
3.3.3.1. Petride Gelişim.....	26
3.3.3.2. Gram Boyama Testi	27
3.3.3.3. Potasyum Hidroksitte (KOH) Çözünme Testi	28
3.3.3.4. Nişastanın Hidrolizi Testi	28
3.3.3.5. Katalaz Testi.....	28
3.3.3.6. Oksidasyon / Fermantasyon (O/F) Testi	28
3.3.3.7. 35 °C'de Gelişme	29
3.3.3.8. Eskulinin Hidrolizi	29
3.3.3.9. Karbon Kaynaklarının Kullanılması Testi	29
3.3.4. Moleküler Tanılama	29
3.4. Irkların Belirlenmesi	31
3.5. Tüm Genom Dizileme Analizi Çalışmaları	32
3.5.1. Genom Dizileme ve Hizalama	32

3.5.1. Genom Anotasyonu ve Filogenisi	34
3.5.1. Tip III Eftörleri	35
4. BULGULAR VE TARTIŖMA	36
4.1. Bulgular	36
4.1.1. Arazi Çalışmaları	36
4.1.1.1. Hastalığın Yaygınlığı, Bulunma Oranı ve Ŗiddeti	38
4.1.2. İzolasyon	42
4.1.3. Tanılama Çalışmaları	42
4.1.3.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi	42
4.1.3.2. Patojenisite Testi	43
4.1.3.3. Morfolojik, Biyokimyasal ve Fizyolojik Tanılama Sonuçları	47
4.1.3.4. Moleküler Tanı	51
4.1.4. Irk Ayrımı	56
4.1.5. Tüm Genom Dizi Analizi Çalışmaları	69
4.1.5.1. Genom Dizileme ve Hizalama	69
4.1.5.2. Genom Anotasyonu ve Filogenik Çalışmalar	71
4.1.5.3. Tip III Eftörleri	74
4.2. Tartışma	77
5. SONUÇ	85
KAYNAKÇA	87
EKLER	96
ÖZGEÇMİŖ	107

SİMGELER VE KISALTMALAR

Xcc	: <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>
YDC	: Yeast dextrose calcium carbonate
King B	: King's medium B
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
LB	: Luria-Bertani
NCBI	: National Centre for Biotechnology Information, USA
PCR	: Polymerase chain reaction
T3SS	: Type III secretion system
T3E	: Type III effector
CDS	: Coding sequence
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UN	: United nations
Xop	: <i>Xanthomonas</i> outer protein
hrp	: Hypersensitive reaction and pathogenicity
pv	: Patovar
Col-0	: Columbia 0
Avr	: Avirulence
CDS	: Coding sequence
ANI	: Average Nucleotide Identity
cv	: Cultivated variety

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> etmeninin dünyadaki yayılış durumu	7
Şekil 3.1. Karadeniz Bölgesi'nde sürvey yapılan illere ait örnek alım noktaları.....	23
Şekil 3.2. <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> izolatlarının elde edilme aşamaları	24
Şekil 3.3. Irk ayırım seti ile kurulan sera ve iklim odası denemesi öncesi hazırlıklar	31
Şekil 3.4. Çeneli pens ile izolatların inokulasyonu	32
Şekil 4.1. Siyah damar çürüklük hastalığının farklı lokasyonlarda, farklı vejetasyon dönemlerinde, farklı hastalık şiddetine, tipik hastalık belirtilerine sahip örnek görüntüleri.....	37
Şekil 4.2. Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu	42
Şekil 4.3. Patojenisite testi 10. gün sonuçlarında farklı hastalık şiddetine sahip örnekler.....	43
Şekil 4.4. Aday <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> izolatlarının farklı besiyerlerinde koloni yapıları	47
Şekil 4.5. KOH testinde SB81-1 isimli izolatın pozitif reaksiyonu	48
Şekil 4.6. Nişastanın hidrolizi testinde AG6 isimli izolatın pozitif reaksiyonu	48
Şekil 4.7. Eskulinin hidrolizi testinde ÇS10 isimli izolatın pozitif reaksiyonu	49
Şekil 4.8. Oksidatif fermentatif testinde AH4-2 isimli izolatın oksidatif reaksiyonu	49
Şekil 4.9. Katalaz testi; a) Negatif reaksiyon, b) SB81-1 isimli izolatın pozitif reaksiyonu	49
Şekil 4.10. Karbonhidratların kullanımı testi	50
Şekil 4.11. a) <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> 16S-F/R primer çifti ile 16S rRNA PCR amplifikasyonunun jel görüntüsü; b) DhrpF/R primer çifti ile spesifik hrpF PCR amplifikasyonunun jel görüntüsü	52
Şekil 4.12. 16S rRNA gen bölgesi dizilerine ait Neighbour-joining filogenetik analizi.	54
Şekil 4.13. hrpF gen bölgesi dizilerine bağlı olarak elde edilen filogenetik ağaç.....	55
Şekil 4.14. TR5 isimli izolatın Just Right Turnip (JRT) isimli genotipindeki pozitif reaksiyonu (10. gün)	57
Şekil 4.15. SB39-1 isimli izolatın Miracle F1 isimli çeşitteki negatif reaksiyonu (10. Gün) ..	57
Şekil 4.16. İzolatların Brassica türüne ait 8 farklı genotipteki reaksiyonlarına göre ırk ayırımı denemesi.....	58
Şekil 4.17. İzolatların il ve ilçe konumuna göre ırk düzeyindeki dağılım haritası	68
Şekil 4.18. SB47-1 isimli izolatın genom dizi okumalarının ham veri kalite değerlendirmesi	70
Şekil 4.19. Irkları bilinen izolatların pan genom farklılıkları ve filogenisi.....	72
Şekil 4.20. <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> izolatlarının öz genomu dayalı filogenisi (1,000 bootstrap).	73

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> ırklarının ayırımında kullanılan farklı Brassica genotipleri ve bu genotiplere gösterilen reaksiyonları ve gen-için-gen hipotezi örnekleri	11
Tablo 3.1. Beyaz baş lahananın ekilen alan miktarına göre alınacak örnek sayıları.....	21
Tablo 3.2. Sürvey yapılan il ve ilçeler bazında beyaz baş lahananın 2018 yılında ekilen alan miktarları baz alınarak 2019 yılında incelenen tarla sayıları ve alınan örnek sayıları.....	22
Tablo 3.3. Etmenin moleküler tanısında kullanılan primer çiftleri	30
Tablo 3.4. Genom dizilemesi yapılan <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> izolatları	33
Tablo 3.5. Roary analizinde pan genom filogenisi için kullanılan ırkları bilinen <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> izolatları.....	35
Tablo 4.1. Siyah damar çürüklük hastalığının 2019 yılında köy/mahalle düzeyinde hastalık şiddeti, bulunma ve yaygınlık oranları	38
Tablo 4.2. Siyah damar çürüklük hastalığının 2019 yılında ilçe ve il düzeyinde hastalık şiddeti, bulunma ve yaygınlık oranları	40
Tablo 4.3. 2020 yılı Bafra ilçesi arazi sürveyinde köy/mahalle düzeyinde göre hastalık şiddeti, bulunma ve yaygınlık oranları	41
Tablo 4.4. Aday <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> izolatlarının virülenslik değerleri	44
Tablo 4.5. Aday <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> izolatlarının biyokimyasal ve fizyolojik test sonuçları.....	51
Tablo 4.6. PCR işlemi sonrasında nükleotid dizi analizi yapılan örneklerle ait bilgiler.....	53
Tablo 4.7. <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> izolat sayılarının il ve ilçelere göre dağılımı	56
Tablo 4.8. İzolatların Brassica türüne ait 8 farklı genotipteki reaksiyonlarına göre ırk ayırımı denemesi sonuçları.....	59
Tablo 4.9. İzolatların illere göre ırk profilleri	66
Tablo 4.10. İzolatların il ve ilçelere göre ırk düzeyindeki dağılımları.....	67
Tablo 4.11. Irklara göre virülenslik değerleri ortalamaları (tüm izolatlar)	68
Tablo 4.12. Irklara göre virülenslik değerleri ortalamaları (en virulent izolatlar)	69
Tablo 4.13. Tüm genom hizalama sonrası elde edilen veriler	71
Tablo 4.14. Genom anotasyon verileri	71
Tablo 4.15. <i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> Tip III efektörleri ve aday avirülens genleri	75

1. GİRİŞ

Lahanagiller (Brassicaceae) dünya genelinde toplam 338-360 cins ve yaklaşık 3.709 tür içeren geniş bir familyadır (Al-Shehbaz vd., 2006; Warwick vd., 2006). Türkiye’de ise lahanagiller familyasından 96 cinse ait 270’i endemik olmak üzere yaklaşık 705 tür olduğu bilinmektedir (Güner vd., 2012). Lahanagil grubu bitkiler önemli vitaminler (A, B1–2, B6, C, E, K) ve mineraller (magnezyum, demir ve kalsiyum) açısından zengindir (Wink ve Van Wyk, 2008). Lahanagiller insan gıdası olarak tüketilmesinin yanı sıra hayvan yemi olarak tüketilmesi, tıbbi amaçlı kullanımı, araştırmalarda model bitki olarak kullanımı, yüksek verimli bitkilerden süs bitkilerine kadar çok farklı amaçlarda kullanımı bakımından ekonomik öneme sahiptirler. Dünyada en yaygın olarak bulunan lahanagil sebzelerinin başında lahana, turp, karnabahar, brokoli ve alabaş gelmektedir (Shankar vd., 2019). Moleküler biyoloji ve konukçu-patojen ilişkilerinin araştırıldığı çalışmalarda model bitki olarak kullanılan *Arabidopsis thaliana* da lahanagiller familyasında yer alan bir bitkidir. Türkiye’de yetiştirilen ekonomik olarak önemli lahanagil türleri arasında sebze olarak tüketilen *Brassica oleracea* ve *B. rapa*, yağ bitkisi ve hayvan yemi olarak tüketilen *B. napus*, *B. rapa*, *B. carinata*, *B. nigra* ve *B. juncea* bulunmaktadır. *B. oleracea* türü sebzeler beyaz ve kırmızı baş lahana, karnabahar, brokoli, Brüksel lahanası ve yaprak lahanadır (Tonguç, 2009).

Dünya lahana üretim miktarları 2016 ile 2020 yıllarına ait veri ortalamaları incelendiğinde, en fazla üretim yaklaşık olarak 38 milyon ton ile Çin’de gerçekleştirilmiştir. Çin’in dünya toplam lahana üretim miktarı içerisindeki payı yaklaşık olarak %41’dir. Çin’den sonra en fazla üretimin gerçekleştirildiği ülkeler sırasıyla Hindistan (%16.44), Rusya (%3.06), Ukrayna (%2.7), Endonezya (%2.96), Kore (%1.50), Vietnam (%1.52) ve Japonya (%1.4)’dır. Türkiye’nin dünya toplam lahana üretim miktarı içerisindeki payı ise yaklaşık olarak %1’dir (FAO, 2022).

Ülkemiz lahana üretimi açısından dünyada daha az üretime sahip olmasına rağmen lahana grubu sebzeler ülke beslenmesinde ve tarımsal ekonomide önemli yer tutmaktadır. Türkiye’de yetiştirilen serin iklim sebzeleri üretim miktarı baz alındığında lahanagil sebzeleri %34’ü kapsayarak 1. sırada yer almaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 2020 yılında Türkiye toplam lahana (beyaz, kırmızı, kara ve Brüksel), brokoli ve karnabahar üretimi 370.519 dekar olup, beyaz baş lahana (*B. oleracea* var. *capitata* subvar. *alba*) 137.593 dekar üretim ile birinci

sırada yer almaktadır. Beyaz baş lahanadan sonra en fazla üretime sahip lahanagiller familyasında yer alan sebze türleri sırasıyla karnabahar (88.840 da), kırmızı baş lahana (49.585 da), karalahana (47.544 da), brokoli (46.545 da) ve Brüksel lahana (1.574 da)'dır (TÜİK, 2022).

Ülkemizde lahana üretiminin yoğun olarak yapıldığı bölgelerden biri Karadeniz Bölgesi'dir. 2020 yılı verilerine göre, Türkiye beyaz baş lahana üretiminin %25.23'ü, kırmızı baş lahana üretiminin ise %49.42'si Karadeniz Bölgesi'nde gerçekleştirilmiştir. Her iki grup için de bölge olarak Karadeniz Bölgesi üretimde 1. sırada yer almaktadır. Beyaz baş lahana üretiminde Karadeniz Bölgesi'nden sonra en fazla üretim alanına sahip bölgeler sırasıyla İç Anadolu Bölgesi (%19.66), Marmara Bölgesi (%16.50), Ege Bölgesi (%16.23) Akdeniz Bölgesi (%14.10), Doğu Anadolu Bölgesi (%7.93) ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi (%0.35)'dir (TÜİK, 2022).

Karadeniz Bölgesi'nde lahana üretimi ağırlıklı olarak Orta Karadeniz Bölgesi'nde yapılmaktadır ve bu bölgede Samsun ili lahana yetiştiriciliğinde ilk sırada yer almaktadır. 2020 yılı içerisinde Karadeniz Bölgesi'nde üretilen kırmızı baş lahananın yaklaşık olarak %99'u Samsun ilinde üretilirken, beyaz baş lahananın yaklaşık olarak %73'ü Samsun ilinde üretilmiştir. Samsun, Amasya, Çorum ve Tokat illerinin toplam üretim miktarı Karadeniz Bölgesi'nin %80.63'ünü Orta Karadeniz Bölgesi'nin ise %98.78'ini karşılamaktadır (TÜİK, 2022).

Dünya nüfusu 2000 yılında yaklaşık olarak 6.1 milyar iken, 2021 yılında %28'lik artışla 7.8 milyara ulaşmıştır. 2050 yılına kadar ise yaklaşık olarak %25'lik artışla 9.7 milyara ulaşması beklenmektedir (UN, 2019). Dünya nüfusunun artmasına paralel olarak insanların tarımsal ürünlere olan talepleri de artış göstermektedir. Bu nedenle tarım alanlarının kısıtlı olduğu dikkate alındığında, birim alandan en yüksek verimin elde edilmesi ön plana çıkmaktadır (Ricciardi vd., 2021). Lahanada verimi ve kaliteyi etkileyen faktörlerden birisi bakteriyel hastalıklardır. Bakteriyel hastalıkların mücadelesi zordur ve bakırlı preparatlar dışında kimyasal mücadelede kullanılabilecek alternatif bakterisit etkili bitki koruma ürünleri sınırlıdır.

Dünya genelinde lahana ekim alanlarında verim kaybına neden olan önemli bakteriyel hastalık etmenleri arasında; siyah damar çürüklük etmeni *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel 1895) Dowson 1939, bakteriyel leke etmenleri *X. campestris* pv. *raphani*, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, ve *Pseudomonas viridiflava*, bakteriyel çürüklük etmeni *Pectobacterium carotovorum* subsp.

carotovorum bulunmaktadır (Koike vd., 2007; Ekman vd., 2014; Aksoy vd., 2017a; 2017b).

Siyah damar çürüklük hastalığına vasküler bir bakteri olan *X. campestris* pv. *campestris* neden olmaktadır ve bu hastalığın dünya çapında lahanagil bitkileri için en tahripkâr ve önemli hastalık olduğu düşünülmektedir. Hastalığın ekonomik olarak en önemli konukçusu *B. oleracea* (lahana, karnabahar, brokoli, Brüksel lahanası ve yaprak lahana)'dır. Ancak diğer lahanagil türlerini ve yabancı otları da enfekte edebilmektedir (Bradbury, 1986). Tipik hastalık belirtileri yaprak uçlarında oluşan V şeklinde klorotik, nekrotik lezyonlar, vasküler dokularda kararma ve sonunda siyah damar çürüklüğü belirtisidir (Vicente vd., 2001).

Siyah damar çürüklük hastalığıyla mücadele oldukça kısıtlıdır. Hastalık etmeni tarlada kalan hastalıklı bitki artıklarında ve yabancı otlar sayesinde taşınabilmektedir. Bu nedenle hasat sonu bitki artıklarının tarladan uzaklaştırılması ve yabancı otlarla mücadele önemlidir. Hastalıktan ari tohum ve fidelerin kullanımı gerekmektedir (Williams, 1980). Bitki rotasyonu veya lahanagiller familyası dışındaki kültür bitkileri ile en az 3 yıllık ekim nöbeti tavsiye edilmektedir (Aksoy, 2007). Tavsiye edilen bu kültürel mücadele yöntemlerinin pratikte sıklıkla uygulanmadığından dolayı dayanıklı çeşit kullanımı önemli bir mücadele stratejisidir. Kimyasal mücadelede etkin bir bileşik bulunmamaktadır (Tonguç, 2009). Türkiye'de bu hastalığa karşı ruhsatlı bir kimyasal preparat bulunmamasına rağmen bazı ülkelerde bakır uygulamaları tavsiye edilmektedir (Vicente ve Holub, 2013).

Ülkemizde lahana bakteriyel hastalıklarıyla ilgili yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Samsun ili Bafra ilçesi beyaz baş lahana üretim alanlarında *X. campestris* pv. *campestris*'in varlığı çeşitli biyokimyasal testler ve patojenisite çalışmalarıyla belirlenmiştir. 2003-2004 yılında yapılan arazi çalışmaları sonucunda hastalığın şiddeti %41.6'lara kadar ulaştığı tespit edilmiştir (Aksoy, 2007). Daha sonra etmen Samsun ilinde karnabahar üretim alanlarından tespit edilmiştir (Aksoy vd., 2018). Akdeniz Bölgesinde 2004-2006 yıllarında lahana, brokoli, brüksel lahanasında yapılan çalışmada *X. campestris* pv. *campestris* etmeninin varlığı saptanmıştır (Mirik vd., 2008). Lahanagiller familyasına ait bazı ticari çeşit tohumlarda bakteriyel hastalık etmenlerinin varlığının saptanması ile ilgili bir çalışma sonucunda *X. campestris* pv. *campestris*'e rastlanılmamasına rağmen bazı tohum örneklerinin *Erwinia* ve *Pseudomonas* spp. ile bulaşık olduğu saptanmıştır (Selçuk, 2008).

Bu doktora tezi ile,

1. Karadeniz Bölgesi'nde siyah damar çürüklük hastalığının yaygınlığı, bulunma oranı ve şiddetinin saptanması,
2. Elde edilen bölgesel *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler tanıların yapılması,
3. *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının ırk düzeyinde tespitlerinin ülkemizde ilk defa gerçekleştirilmesi,
4. Seçilen virulent *X. campestris* pv. *campestris* ırkların tüm genom dizileme analizi ile yapısal ve fonksiyonel genom çalışmalarının yapılması,
5. Bu çalışma ile elde edilen *X. campestris* pv. *campestris* genomları ve diğer ülkelerden izole edilen *X. campestris* pv. *campestris* genomlarında bilinen tip III salgı sistemi efektörleri ve virülenslik genlerinin varlık/yokluk durumlarının ülkemize ilk defa karşılaştırmalı incelemesi,

Bu çalışmalar ile hastalıkla ilgili mücadele konusunda öneriler sunulması ve ileride yapılacak ıslah çalışmaları için hastalık etmeninin ırk düzeyinde tespiti yapılmış izolatların elde edilmesi amaçlanmaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1. Siyah Damar Çürüklük Hastalığı (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)

Dünyada ekonomik ve bilimsel olarak en önemli olarak belirlenen fitopatogenik bakteri cinsleri; *Agrobacterium*, *Clavibacter*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Xylella* ve *Xanthomonas*'dır (Mansfield vd., 2012). *Xanthomonas* cinsi çok geniş bir konukçu dizisine sahiptir ve yaklaşık 350 bitki türünü enfekte ettiği bilinmektedir (Leyns vd., 1984; Tripathi vd., 2009). *Xanthomonas*'ların neden olduğu hastalık belirtileri de çok çeşitlidir. Bunlar; nekroz, kloroz, solgunlaşma, bodurluk, çürüklük ve kanser belirtileridir (Rudolph, 1993). Fitopatogenik çalışmaların artmasıyla *Xanthomonas* cinsinin 140'ın üzerinde patojenik varyetesi sınıflandırılmıştır (Vauterin vd., 2000). *Xanthomonas* türleri konukçu dizisine göre ayrılmıştır ve daha az taksonda birleştirilmiştir ve yeni patojenik varyetelerin tespit edilmesiyle türün altına eklenerek sınıflandırma güncellenmiştir (Dye ve Lelliott, 1974; Dye vd., 1980).

Geniş bir konukçu dizisine sahip olan *X. campestris* türü farklı *Brassica* spp. konukçu spesifikliğine bağlı olarak patojenik varyetelere ayrılmıştır. İlk olarak Dye vd. (1980) tarafından *X. campestris* 100'ün üzerinde patojenik varyeteye ayrılmıştır. Daha sonra, 1995 yılında DNA-DNA hibridizasyonuna bağlı olarak yapılan sınıflandırmaya göre 6 patojenik varyete olarak sınıflandırılmıştır: *X. campestris* pv. *aberrans* (Knösel, 1961), *X. campestris* pv. *barbareae* (Burkholder, 1941), *X. campestris* pv. *raphani* (White, 1930), *X. campestris* pv. *armoraciae* (Dye vd., 1980), *X. campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson ve *X. campestris* pv. *incanae* (Kendrick ve Baker, 1942; Dye vd., 1980; Vauterin vd., 1995).

Patojenik varyeteler (patovar), izole edildikleri konukçu bitkide oluşturduğu belirti tipine göre tanımlanırken, çoğu *X. campestris* patojenik varyetelerinin isimlendirmelerinin ötesinde daha geniş bir konukçu kitlesine sahiptir (Fargier ve Manceau, 2007). Bu nedenle var olan *X. campestris*'in patojenik varyetelerin ayrımıyla ilgili bazı tartışmalar bulunmaktadır (Vicente vd., 2001, 2006; Fargier ve Manceau, 2007). Örneğin, Vicente vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada *X. campestris* pv. *raphani*'nin ırkları belirlendikten sonra bunların diğer patojenik varyetelerle genetik olarak benzerlik/farklılık durumlarına bakıldığında, vasküler olmayan yaprak lekesi belirtilerine sebep olan *X. campestris* izolatlarının *X. campestris*

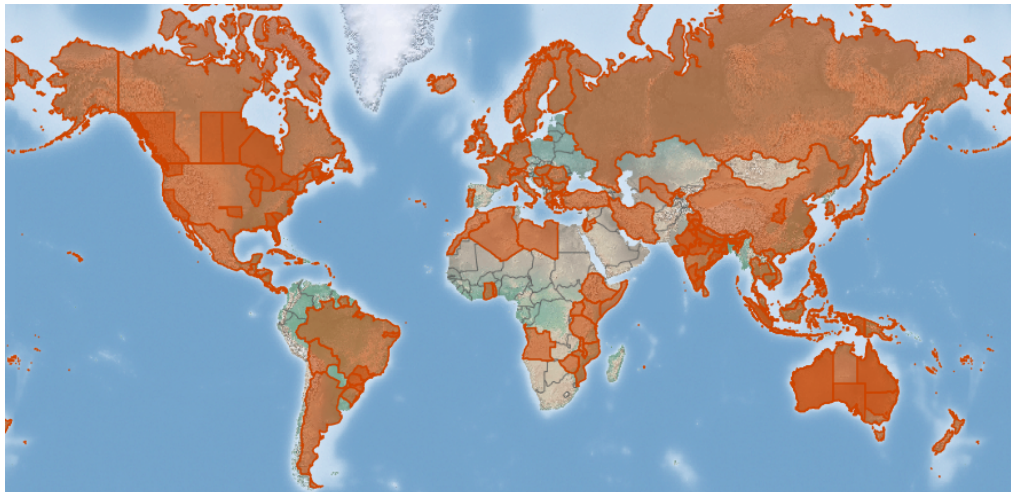
pv. *armoraciae* değil, *X. campestris* pv. *raphani* olarak tanımlanması gerektiği belirtilmiştir. Filogenetik çalışmalar, genomik düzeyde yapılan çalışmalar ve daha geniş *Brassica* spp. konukçu dizisinde yapılan patojenisite denemeleri sonucunda, *X. campestris*'in üç patojenik varyeteye (*X. campestris* pv. *campestris*, *X. campestris* pv. *incanae* ve *X. campestris* pv. *raphani*) ayrılması önerilmiştir (Fargier vd., 2011). *X. campestris* pv. *campestris* siyah damar çürüklük hastalığına, *X. campestris* pv. *raphani* Solanaceae ve Brassicaceae familyası bitkilerinde yaprak lekelerine, *X. campestris* pv. *incanae* ise süs bitkilerinde bakteriyel yanıklık belirtilerine sebep olmaktadır (Fargier ve Manceau, 2007; Fargier vd., 2011). Çok zayıf patojenisite gösteren veya patojen olmayan *X. campestris* izolatları ise yapılan çoklu lokus dizi analizlerine (multilocus sequence analysis, MLSA) göre dördüncü grup olarak ayrı sınıflandırılmıştır (Fargier ve Manceau, 2007; Fargier vd., 2011). Ancak *X. campestris*'in patojenik varyetelerine ayrılması ile ilgili henüz bir fikir birliğine varılmamıştır ve tartışmalar hala devam etmektedir (Távora vd., 2022). Şimdiye kadar yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğu *X. campestris* pv. *campestris* ile ilgili olup, diğer patojenik varyeteler ile ilgili çalışmalar daha sınırlı sayıda bulunmaktadır ve ekonomik olarak da *campestris* patojenik varyetesinin diğerlerine kıyasla daha önemli olduğu vurgulanmıştır (Dubrow vd., 2022).

Xanthomonas campestris pv. *campestris* Gram negatif, aerobik, tek kamçılı polar ve çubuk şeklindedir (0.4-0.7 x 0.7-1.8 µm). *Xanthomonas*'ların en çok ürettiği ekstraselüler polisakkarid (EPS) xanthandır. Xanthan'ın bir virülens faktörü olduğu ve bu EPS'yi üretmeyen mutant ırkların bitkilerde hastalık oluşturmadağı bildirilmiştir (Sutton ve Williams, 1970). *Xanthomonas* türleri xanthomonadin adlı bakteriyi güneş ışığından koruyan sarı bir pigment madde üretirler. Bu pigment bakterinin yaprak üzerinde kaldığı dönemde güneş zararından korunma açısından önemlidir (Chun vd., 1997).

Siyah damar çürüklüğü tohum kökenli bir hastalık olup, primer inokulum kaynağı etmeni taşıyan bulaşık tohumlardır. 10.000 adet tohum içerisinde sadece 1 adet tohumun hastalık etmeniyle bulaşık olması durumunda tarlada epidemiyeye sebep olabileceği bildirilmiştir (Williams, 1980; Schaad vd., 1989). *X. campestris* pv. *campestris*'in tohumda 3 yıla kadar canlı kalabildiği bildirilmiştir (Roohie ve Umesha, 2012). Bulaşık tohumlarda çimlenmeyle birlikte fideler enfekte olur veya bakteri daha sonradan bitkiye doğal açıklık veya yaralardan da girebilir (Dane ve Shaw, 1996).

Hastalığın taşınması ve yayılması böceklerle de olabilmektedir (Shelton ve Hunter, 1985). Etmen için nemli ve sıcak hava koşulları çok uygundur (Staub ve Williams, 1972), optimum sıcaklık aralığı 25-30 °C, minimum 5 °C, ve maksimum 35 °C'dir. Optimum pH aralığı ise 6.5-7'dir (Deivanmani ve Muthamilan, 2016). Etmenin sebep olduğu iki tip belirti bulunmaktadır. En tipik belirtisi bitkilerinin vasküler sistemlerinde, “xanthan”ın ksilem demetini tıkamasıyla suyun akışının engellenmesi sonucu, yaprak uçlarında oluşan V şeklinde klorotik, nekrotik lezyonlar ve vasküler dokularda kararmalar şeklindedir. Bakteri bitkide hareket ettikçe, vasküler dokular koyulaşır ve siyah çürüklüğe neden olur. Uygun koşullar altında, siyah çürüklük belirtisi bakteri girişini takiben 10-14 gün içinde görülmektedir (Williams, 1980). Diğer bir belirti ise enfeksiyonun erken dönemlerinde damarlarda nekroz olmadan damar arası dokularda meydana gelen bakteriyel yanıklıktır (Shigaki vd., 2000).

X. campestris pv. *campestris* ilk kez 1890'lı yıllarda Amerika'nın Wisconsin eyaletinde yetiştirilen lahana bitkilerinden alınan örneklerden H. L. Russell tarafından tanımlanmıştır (Williams, 1980). Daha sonra birçok ülkede tespit edilmiştir. İngiltere'de (Vicente vd., 2001), Portekiz (Pinto-Ganhao, 1962; Vicente vd., 2006; Cruz vd., 2017), Nepal (Shrestha vd., 1977, Jensen vd., 2010), İspanya (Lema vd., 2012), Doğu Afrika (Mulema vd., 2012), Güney Mozambik (Bila vd., 2013), Hindistan (Rathaur vd., 2015; Singh vd., 2016), Sırbistan (Popović vd., 2019), İtalya (Bella vd., 2019), Brezilya (Batista vd., 2021) ve Cezayir'de (Laala vd., 2021) siyah damar çürüklük hastalığının varlığı rapor edilmiştir. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* etmeninin dünyadaki yayılış durumunu gösteren harita Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* etmeninin dünyadaki yayılış durumu (CABI, 2022) (Koyu renk ile işaretlenmiş alanlar etmenin varlığını göstermektedir)

Hindistan’da siyah damar çürüklüğü hastalığı ilk kez Bombay’den alınan lahana örneklerinde tespit edilmiş (Patwardhan, 1928), daha sonra hastalığın varlığı Hindistan’ın diğer bölgelerinde de saptanmıştır. ‘Golden Acre’ ve ‘Pride of India’ gibi hassas lahana çeşitlerinde hastalık %50’lere varan oranda ürün kaybına yol açtığı belirtilmiştir. Hindistan’ın Tamil Nadu eyaletinde ise siyah damar çürüklüğü görülen hastalıklı lahana örneklerinin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testleri yapılmış ve etmen *X. campestris* pv. *campestris* olarak saptanmıştır (Deivanmani ve Muthamilan, 2016).

Portekiz’de *X. campestris* pv. *campestris*’in neden olduğu siyah damar çürüklüğü lahana, turp, ve hardal bitkilerinde ilk kez 1961 yılında kayıt altına alınmıştır (Pinto-Ganhao, 1962).

Sırbistan’da Popovic vd. (2013) tarafından 2010 yılında lahana, brokoli ve yaprak lahasından elde edilen *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının fizyolojik ve biyokimyasal testlere göre tespitinden sonra genetik karakterizasyonu yapılmıştır. Bu amaçla 16S rDNA, ERIC ve BOX primerleri kullanılarak PCR yapılmıştır. Yaprak lahanası ve brokoli izolatlarının BOX primerleri ile PCR’ı sonucunda *X. campestris* pv. *campestris* referans (NCPBB 1144) izolatıyla yüksek derecede benzerliği saptanmıştır. PCR analizlerinden elde edilen verilerin kümeleme analizi sonucunda 2 temel küme oluşturulmuştur. Birincisinde yaprak lahanası, brokoli ve referans, ikincisinde lahanadan izole edilen tüm izolatlar yer almıştır.

Cezayir’de Laala vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada 2011 ve 2014 yılları arasında toplam 170 adet *X. campestris* pv. *campestris* izolatı elde edilmiştir. *gyrB* ve *rpoD* gen dizileri kullanılarak çoklu lokus dizi analizi (MLSA) yapılmasının sonucunda, tüm Cezayir izolatlarının aynı kümede yer aldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, izolatların toplandıkları bölgeleri zirai iklimsel koşulları, toplandıkları yıl ve konukçu bitki olan lahananın tohum çeşidi ile izolatların genetik özellikleri arasında bir bağlantı bulunamamıştır.

X. campestris pv. *campestris*’in karakterizasyonu büyük ölçüde fizyolojik, biyokimyasal ve patojenisite testlerine bağlıdır. Ancak patojen içinde ırklar arası farklılıklar mevcuttur (Popovic vd., 2013). Etmen katalaz pozitif ve oksidaz negatif. Nişastanın hidrolizi, eskulinin hidrolizi, 35 °C’de gelişme ve tütünde aşırı duyarlılık testlerinde pozitif reaksiyon vermiştir (Schaad, 2001; Aksoy, 2007). Fizyolojik ve biyokimyasal testlerle diğer Gram negatif aerobik bakteriler *Pseudomonas*,

Acidovorax, *Bulkholderia* ve *Ralstonia*'dan kolaylıkla ayırt edilebilirler (Schaad, 2001). Popovic vd. (2013) tarafından *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının fenotipik ve genotipik karakterizasyonu sonucunda izolatlar maltoz, mannoz, sorbitol gibi karbonhidratlardan az miktarda asit oluşturduğu gözlenmiştir. Bakterilerin moleküler yöntemlerle tanımlanmasında ve filogenik ilişkilerinin belirlenmesinde 16S rRNA gen dizilimi analizi en pratik ve yaygın yöntemlerden biridir. Tohumdan izole edilen *X. campestris* pv. *campestris*'in biyokimyasal ve moleküler karakterizasyonu yapılmış ve 16S rRNA gen dizilimi analizinin daha kesin sonuçlar verdiği belirtilmiştir (Roohie ve Umesha, 2012).

X. campestris pv. *campestris*'de tip III salgı sistemi *hrp* (*hypersensitive reaction* and *pathogenicity*, aşırı duyarlılık ve hastalık oluşturma) genleri tarafından kodlanır ve *hrp* kümesi *hpa2* den *hrpF*'ye kadar toplam 26 genden oluşmaktadır. Bunların arasında *hrpF* geninin *X. campestris*'in patojenik varyetelerine ayrılması testlerinde uygun olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Alfano ve Collmer, 1997; Park vd., 2004; Berg vd., 2006; Rathaur vd., 2015).

2.2. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in Irkları

X. campestris pv. *campestris*'in konukçu ırkları farklı *Brassica* spp. bitkilerinde meydana getirdiği değişik belirtilere göre belirlenmiştir. *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının ırk düzeyinde çeşitliliği ile ilgili yapılan çalışmalar, dayanıklılığın kaynağını belirlemek ve ıslah programları için önem arz etmektedir (Vicente ve Holub, 2013). *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının ırk düzeyinde çeşitliliği ile birçok ülkede yapılmış çalışmalar mevcuttur.

İrk belirleme çalışmalarında öncelikle, *X. campestris* pv. *campestris* izolatları *B. rapa* ve *B. juncea* genotiplerindeki gösterilen reaksiyonlara göre 5 ırka (0-4) ayrılmıştır (Kamoun vd., 1992). Ignatov vd. 1998 yılında dayanıklı *B. oleracea* ve *B. napus* genotipleri ile yaptığı bir çalışmada farklı reaksiyon gösterdiklerini belirterek ırk 1'i 2 farklı ırk olarak ayırmışlardır. Daha sonra etmenin *B. oleracea*, *B. rapa*, *B. juncea*, *B. napus* ve *B. carinata*'daki gösterdiği reaksiyonlara göre 6 ırka ayrılmış, ırk 0, ırk 6 olarak yeniden düzenlenmiştir (Vicente vd, 2001). Aynı konukçu genotipleri ama farklı *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarıyla yapılan diğer bir çalışmada ise üç yeni ırk daha bildirilmiştir (Fargier ve Manceau, 2007). Son olarak Cruz vd. (2017) Portekiz'de *Brassica* spp. bitkilerinden elde edilen *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarında mevcut ırkların dışında ırk 10 ve 11 isimli iki yeni ırkın varlığını rapor

etmiştir. Ancak bu çalışma için daha fazla analiz yapılmasına ihtiyaç bulunduğu düşünülmektedir (Batista vd., 2021) ve son çalışmalarda 9 farklı ırkın varlığı kabul edilmektedir (Távora vd., 2022). *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ırklarının ayırımında kullanılan farklı *Brassica* spp. genotipleri ve bu genotiplere gösterilen reaksiyonları ve gen-için-gen hipotezi örnekleri birlikte hazırlanan bilgiler Tablo 2.1’de verilmiştir.

İrklar ve değişik *Brassica* türleri arasındaki etkileşim gen-için-gen (gene-for-gene) modeliyle açıklanmıştır (Vicente vd., 2006). En az beş adet avirülenslik (*avr*) geni ve buna karşılık olan dayanıklılık geni (*R*) öne sürülmüştür. Ancak bu açıklama bir varsayım niteliğinde olup, henüz moleküler çalışmalar ile desteklenmemiştir. Örneğin, ırk 7 (*avr 5*)’e karşı *B. juncea*’da yeni bir dayanıklılık geninin (*R5*) olduğu tespit edilmiştir (Fargier ve Manceau, 2007). *X. campestris* pv. *campestris* ırk 4’e baskın dayanıklılık veren tek bir genetik lokus (*R4c*), *B. napus*’ta haritalanmıştır. *B. carinata*’da (*R1c*’ye karşılık gelebilir) ırk 1 ve 4’e baskın dayanıklılık veren tek bir lokusun ve *B. oleracea*’da (*R3c*’ye karşılık gelebilir) ırk 3’e baskın dayanıklılık sağlayan tek bir lokusun varlığı, dayanıklılık ve kalıtım çalışmaları ile öne sürülmüştür (Vicente vd., 2002). Ayrıca, *Brassica* türlerinde *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarına karşı avirülenslik kazandıran genler tanımlanmıştır (Castañeda vd., 2005; He vd., 2007) ve *xopAH* ve *xopE* genlerinin, *X. campestris* pv. *campestris* modelinde tahmin edilen avirülens genleri *A1c* ve *A4c*’ye karşılık geldiği öne sürülmüştür (Vicente ve Holub, 2013).

Tablo 2.1. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ırklarının ayırımında kullanılan farklı *Brassica* spp. genotipleri ve bu genotiplere gösterilen reaksiyonları ve gen-için-gen hipotezi örnekleri (Vicente vd., 2001; Fargier ve Manceau, 2007; Vicente ve Holub, 2013 ve Cruz vd., 2017).

Bitki Çeşidi	Orijin ^a	Tür	Dayanıklılık geni (R) ^b	İrk/Avirülens geni (A) ^{bc}								
				1	2	3	4	5	6	7	8	9
				A1	..	A1	A1?	..	..	..	A1	A1
				..	A2	..	..	..	..	..	A2	-
				..	A3	A3	A3	A3	..	..	A3	A3
				..	..	..	..	..	..	..	..	A4
				..	..	..	..	A5	..	A5	..	..
Wirosa F1	Bejo	<i>B. oleracea</i>		+	(+)/+	+	+	+	+	+	+	+
Just Right Hybrid Turnip	Otis	<i>B. rapa</i>	 R4	+	+	+	-	+	+	+	+	-
Seven Top Turnip	Otis	<i>B. rapa</i>	.. R2 - R4	+	-	+,d	-/+	-/+	+	+	-	-
PI 199947	USDA	<i>B. carinata</i>	R1 R4??	-	(+)/+	-	-/(+)	+	+	+	-	-
Florida Broad Leaf Mustard	Otis	<i>B. juncea</i>	R1 R4? R5	-	+	-	-	-/(+)	+	-	-	-
Miracle F1	Bejo	<i>B. oleracea</i>	 R3	+	-/(+)	-/(+)	+	-	(+)/+	+	-	-
SxD1	WHRI	<i>B. oleracea</i>		+	-/(+)	-	+	-	(+)/+	+	te	te
COB60	WHRI	<i>B. napus</i>		+	(+)/+	+	-	+	+	+	te	te

a Tohum kaynakları: Bejo= Bejo Zaden, Netherlands; Otis= Otis S. Twilley Seed Co., United States; USDA: U.S. Department of Agriculture, National Plant Germplasm System; WHRI: Warwick HRI, The University of Warwick, United Kingdom.

b A1? = Avirülens geni varlığı ihtimali (Vicente vd., 2001); R4??=Dayanıklılık geni varlığı ihtimali (Vicente vd., 2001).

c + = hassas; - = dayanıklı; (+)= zayıf hastalık belirtisi gelişimi; d=değişken sonuçlar; te=test edilmemiş.

X. campestris pv. *campestris*'in ırk ayrımında diğer bir yöntem olarak genomdaki korunmuş, tekrarlanan DNA dizileri kullanılmış, bu amaçla spesifik primerlerle rep-PCR yöntemi kullanılmaktadır. Tekrarlanan DNA dizilerinden 3 tipi tanımlanmıştır: 1) tekrarlanan ekstrasjenik palindromik (REP), 2) Entobakteriyel tekrarlanan interjenik palindromik konsensüs (ERIC), 3) BOX element (Rademaker vd., 1997; Rademaker vd, 2004). Çok sayıda *X. campestris* pv. *campestris* izolatı rep-PCR kullanarak genetik parmak izi yaklaşımıyla karakterize edilmiştir (Popovic vd., 2013). Rep-PCR yöntemi diğer yöntemlere göre daha kısa zamanda sonuç verebilen, ucuz ve güvenilir bir yöntem olarak bildirilmiştir (Lopez vd., 2006; Jensen vd., 2010). Ancak Lema vd. (2012)'ı rep-PCR'ın *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının ırk belirlenmesi için uygun bir yöntem olmadığını ve farklı *Brassica* türleri kullanılarak uygulanan yöntemin daha güvenilir olduğunu bildirmiştir. Her bir yöntemin uygulanabilirlik, üretkenlik, ekipman istekleri açısından avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Ancak *X. campestris* pv. *campestris*'in ırk çeşitliliği ile ilgili çalışmaların büyük bir çoğunluğu *Brassica* spp. konukçularında gösterdiği reaksiyona göre yapılmıştır.

Portekiz orjinli *X. campestris* pv. *campestris* izolatları ile Vicente vd. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, ırk 1 ve 4'ün en virulent ve en yaygın ırklar olduğu, ırk 2, 3 ve 5'in daha az görüldüğü ve ırk 6'nın ise sadece *B. rapa* 'da kayıt altına alındığı bildirilmiştir. Daha sonra ırk 10 ve 11'in dünyadaki ilk kaydı Portekiz'de yapılmıştır (Cruz vd., 2017). Ancak ırk 10 ve ırk 11'in tespiti konusunda şüpheler bulunmaktadır (Batista vd., 2021). *X. campestris* pv. *campestris*'in ırklarının yapısının dinamik olduğu ve farklı coğrafik bölgelerde ırkların farklılaştığı düşünülmektedir (Cruz vd., 2017).

Nepal orjinli 39 adet *X. campestris* pv. *campestris* izolatı lahanadan, 4 izolat karnabahardan ve 1 izolat ise hardal otundan elde edilmiştir. Nepal izolatları arasındaki genetik çeşitliliği gözlemlemek amacıyla rep-PCR ve ırk ayırım seti kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda, karnabahardan elde edilen *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının hepsi ırk 4, hardal otundan elde edilen izolat ırk 6, lahanalardan elde edilen *X. campestris* pv. *campestris* izolatları ise ırk 1, 4, 5, 6 ve 7 olarak belirlenmiştir. Rep-PCR profillerinden oluşturulan dendograma göre Nepal'deki *X. campestris* pv. *campestris* izolatları diğer *Xanthomonas* spp. ve patojenik varyetelerinden farklı gruplandırılmıştır. 1 izolatları birlikte sınıflandırılırken, 4, 5 ve 6 izolatları iki

ayrı gruba ayrılmıştır. Farklı ırkların varlığı ve patojenin genetik çeşitliliği, Nepal’de yetiştirilecek olan dayanıklı çeşit ıslahında önemli olduğu belirtilmiştir (Jensen vd., 2010).

İspanya’da Lema vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada *Brassica* spp. bitkilerinden elde edilen 75 *X. campestris* pv. *campestris* izolatının ırkları, değişik *Brassica* spp. çeşitlerinde gösterdiği reaksiyon ve rep-PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Irk belirlemesi çalışmaları sonucunda ırk 1, 4, 5, 6, 7, 8 ve 9’un İspanya’da varlığı tespit edilirken ırk 1 ve 4’ün en agresif ve yaygın ırklar olduğu vurgulanmıştır. *B. oleracea* için ırk 4’ün ve *B. rapa* için ırk 6’nın en sık rastlanılan ırk olduğundan dolayı ıslah programlarında bu ırkların özellikle dikkate alınması gerektiği önerilmiştir. Ayrıca rep-PCR yönteminin *X. campestris* pv. *campestris* ırklarını ayırmada güvenilir bir yöntem olmadığı, onun yerine farklı *Brassica* spp. genotipleri kullanılarak yapılan çalışmanın veya başka alternatif yöntemlerin gelecek çalışmalar için uygulanması önerilmiştir.

Hindistan’da etmenin yayılımı, genetik çeşitlilik ve ırklarının belirlenmesi için Hindistan’ın 19 farklı eyaletinden toplanan *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarıyla ilgili yapılan çalışmada, izolatlar morfolojik, *hrpF* ve 16S rRNA genlerine bağlı moleküler markırlarla ve patojenite testleriyle tanılanmıştır. Irkların karakterizasyonunda 7 farklı *Brassica* spp. genotipi kullanılmıştır. Çalışma sonucunda ırk 1, 4 ve 6 belirlenmiş ve ırk 1 ve 4’ün Hindistan’ın örnek toplanan eyaletleri için en baskın ırklar olduğu belirtilmiştir. Hindistan izolatlarının genetik çeşitliliğini incelemek üzere REP, ERIC ve BOX tekrarlanan elementleri kullanılarak rep-PCR yapılmış ve gruplandırılan parmak izi analizinden ırklar arasında, konukçular ve coğrafik orijin açısından açık bir ilişki bulunamamıştır (Singh vd., 2016).

2.3. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ile İlgili Genomik Çalışmalar

X. campestris pv. *campestris*'in genom büyüklüğü 4.9-5.2 Mb aralığındadır ve yaklaşık %65 GC içeriğine sahiptir. *X. campestris* pv. *campestris* genomunda tek bir halkasal kromozom bulunduğu ve plazmid içermediği belirtilmiştir (Qian vd., 2005; Lu vd.,2008). Ancak artan genomik çalışmalarla birlikte bazı izolatların 3'e kadar plazmid içerdiği tespit edilmiştir (Bolot vd., 2013b).

Xanthomonadaceae familyasından genom dizilemesi yapılan ilk etmen *Xylella fastidiosa*'dır (Simpson vd., 2000). *X. campestris* pv. *campestris* genomu dizilemesi ise ilk defa ATCC33914 isimli izolat ile yapılmıştır (da Silva vd., 2002). Dünyada şimdiye kadar genom dizilemesi yapılmış ve NCBI Genbank'ta kayıtlı 70'den fazla *X. campestris* pv. *campestris* izolatı bulunmaktadır.

İzolatların tüm genom dizileme analiz sonuçları, hastalık etmeni ve konukçusu arasındaki ilişkiyi ve etmenin yapısal ve fonksiyonel genomunu anlamada yardımcı olmaktadır. Mevcut olan *X. campestris* pv. *campestris* genom referansları diğer *Xanthomonas* türleriyle genom çapında kıyaslamak için önem arz etmektedir (Liu vd., 2015). *X. campestris* pv. *campestris*'te virülenslik ve patojenite açısından yaklaşık 250 genin gerekli olduğu belirlenmiştir. Ancak sistemde bulunan genlerin hastalığın oluşması açısından rolleri tam olarak bilinmemektedir (Qian vd., 2005; Tonguç, 2009).

Şimdiye kadar 70'den fazla *X. campestris* pv. *campestris* izolatının tüm genom dizilemesi yapılmasına rağmen bunlardan az bir kısmının ırkı bilinmektedir. Tüm genom dizilemesi yapılmış ırkı belli olan *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarından bazıları; B100 (ırk 1) (Vorhölter vd. 2008), WHRI 3811 (ırk 1) (Kong vd. 2019), Xca5 (ırk 1) (Bolot vd., 2013a), CFBP 1869 (ırk 1) (Bolot vd., 2015) ATCC 33913 (ırk 3) (da Silva vd., 2002), Xcc-C7 (ırk 4) (Singh vd., 2022), CFBP 5817 (ırk 4) (Bolot vd., 2015), 8004 (ırk 9) (Qian vd., 2005)'dir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise, farklı ırk gruplarını temsilen toplam 17 adet *X. campestris* pv. *campestris* izolatının (ırk 1'e ait CFBP 1119, CN01 ve CN20, ırk 3'e ait CFBP 5683, ırk 4'e ait 147, CFBP 4956 ve CN19, ırk 5'e ait CFBP 1712, CFBP 1713 ve CFBP 6865R, ırk 6'a ait CFBP 4956, ırk 7'e ait CFBP 4953, CFBP 5130 ve CN10, ırk 8'e ait CFBP 1121, ırk 9'a ait CFBP 4955, CFBP 6863) tüm genom dizileri kayıt altına alınmıştır (Bellenot vd., 2022).

Qian vd. (2005) tarafından 8004 isimli ırk 9'a ait *X. campestris* pv. *campestris* izolatının genom dizilerini elde edilerek ATCC 33913 isimli ırk 3 izolatı ile karşılaştırılmıştır. 8004 isimli izolat karnabahardan izole edilmiştir ve rifampicin'e karşı dayanıklı bir izolattır. Karşılaştırmalı genom dizi analizi sonucunda, her iki genomunda gen içeriği açısından yüksek derecede korunmuş olduğu ifade edilmiştir. Kodlanan genlerin (CDSs) büyük bir çoğunluğunun (3467 adet) nükleik asit dizilerine göre aynı olduğu belirtilmiştir. *X. campestris* pv. *campestris* 8004 isimli izolatın yüksek GC içeriğine sahip olduğu (%64.9), plasmid taşımadığı, tahmin edilen 4273 kodlanmış diziden, 2671 adedinin fonksiyonu belirlenmiştir. Toplamda yaklaşık 250 adet genin patojenisiteden sorumlu olduğu tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar, da Silva vd. (2002)'nin yaptığı çalışmada da belirtilmiştir. Her iki çalışma da bakteriyel virülenslik faktörlerini belirlemek için mutasyona dayalı kapsamlı çalışmaların gerekliliği vurgulanmıştır.

Amerika orijinli ırk 1'e ait Xca5 isimli izolatı öncelikle patojenik varyete *armoraciae* olarak sınıflandırılmıştır. Ancak sonradan yapılan patojenisite testleri ve çoklu lokus dizi analizleri ile birlikte patojenik varyete *campestris* olarak sınıflandırılmıştır (Vicente vd., 2001). Daha sonra, GAIIxİllumina platformu kullanılarak shotgun dizileme sonucunda, 4.9 Mb büyüklüğünde %65.2 GC içeriğine sahip genom dizisi elde edilmiştir. Referans olarak mevcut B100, 8004 ve ATCC 33913 isimli *X. campestris* pv. *campestris* genomları baz alınarak anotasyon yapıldığında toplam 4592 kodlanan dizi (CDS), 51 tRNA geni ve 2 adet rRNA geni tespit edilmiştir. Öz genoma dayalı filogenetik analiz sonucu 8004 ve ATCC 33913 isimli izolatlar ile yakın ilişkili olduğu ve 3711 kodlanan dizinin ortak olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *X. campestris* pv. *campestris* genomunda ilk kez plasmidin varlığı kayıt altına alınmıştır (Bolot vd., 2013a).

Bolot vd. (2013b) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise 3 adet atipik olduğu düşünülen *X. campestris* pv. *campestris* genomu (CN14, CN15 ve CN16) kayıt altına alınmıştır. Çin'de 2003 yılında izole edilen CN14, CN15 ve CN16 isimli izolatlar *Arabidopsis thaliana*'da yüksek virülenslik gösterdiği belirlenmiştir. Hiseq 2000 İllumina platformunda shotgun dizileme teknolojisi ile elde edilen genom dizileri büyüklükleri sırasıyla 4.9, 4.92 ve 4.93 Mb, GC içerikleri %65 civarında, kodlanan dizi sayısı 4.733, 4.800 ve 4.793'dir. Aynı şekilde sırasıyla 22, 22 ve 23 adet tip III salgı sistemi proteinlerini içerdiği saptanmıştır. Bunların dışında 52 adet tRNA geni

ve sırasıyla 3, 4 ve 4 adet rRNA geni tanımlanmıştır. Daha önce yapılan çalışmada, Xca5 genomu ile referans genomların (*X. campestris* pv. *campestris* 8004 ve ATCC 33913 isimli izolatlar) ait genom dizileri) kıyaslamasında ortak 3711 adet kodlanan dizi olduğu tespit edilirken (Bolot vd, 2013a) bu çalışmada CN14, CN15 ve CN16 isimli izolatların genomunda ortak sırasıyla 3.635, 3.648 ve 3.646 adet kodlanan dizi olduğu bulunmuştur. Bu izolatların daha az sayıda ortak kodlanan gen içerdiği saptanması nedeniyle, genomik düzeyde yapılan karşılaştırmalarda tür içi spesifiklik konusunda *X. campestris* pv. *campestris* için genomik çeşitliliği sağladığı düşünülmektedir.

Bolot vd. (2015) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, Fildişi Sahili'nden izole edilen CFBP 1869 isimli ırk 1 izolatı ve Şili orijinli CFBP 5817 isimli ırk 4 grubu izolatının Hiseq 2000 İllumina platformunda shotgun dizileme sonucunda sırasıyla 5.01 ve 4.92 Mb büyüklüğünde genom dizileri elde edilmiştir. Referans genom olarak alınan B100, 8004 ve ATCC 33913 izolat genomları ile anotasyon sonucu her ikisinde de 53 adet tRNA ve 3 adet rRNA genlerinin yanı sıra, CFBP 1869'e ait 4535, CFBP 5817'e ait ise 4432 adet kodlanan dizi tanımlanmıştır. Genom dizileriyle tip III salgı sistemi efektörlerini kodlayan genler tarandığında, CFBP 1869'e ait genomunda *xopG*, *xopAC* (avrAC), *xopAL1* ve CFBP 5817 genomunda ise *xopJ5* efektör genlerinin varlığı yönünden farklılık gözlemlenmiştir.

Liu vd. (2015) tarafından Tayvan'dan izole edilen *X. campestris* pv. *campestris* 17 isimli izolatın tüm genom dizilemesi yapılmıştır ve NCBI Gen bankasının otomatik anotasyon platformu (Prokaryotic Genome Automatic Annotation Pipeline) kullanılarak yapılan gen tahmini sonucunda 4.215 adet toplam gen, 4.050 kodlanan gen (CDSs), 1 ncRNA, 6 rRNA ve 55 tRNA geni tanımlanmıştır.

Desai vd. (2015) tarafından Yeni Zelanda'dan izole edilen ICMP 4013 ve ICMP 21080 isimli 2 adet *X. campestris* pv. *campestris* izolatının genom dizileri İllumina Hiseq2000 teknolojisi kullanılarak elde edilmiştir. RAST (Rapid Annotations using Subsystems Technology) veritabanında diğer kayıtlı *X. campestris* genomları ile kıyaslandığında her iki izolatın da *X. campestris* pv. *campestris* ATCC 33913 isimli tip izolat ile yakın ilişkili oldukları tespit edilmiştir.

Rubel vd. (2017) Kore'de etmenin tüm genom sekansının çıkarılmasıyla ırk 1 ve 4'e için spesifik moleküler markırlar geliştirmişlerdir. Ayrıca *X. campestris* pv.

campestris'in 1, 3, 4 ve 9 nolu ırkları ve diğer üç *Xanthomonas campestris* pathovarları/türlerinin (*X. campestris* pv. *incanae*, *X. campestris* pv. *raphani*, *X. euvesicatoria*) tüm genom sekans analizi yapılarak ırklar arasında farklılık gösteren bölgeler tanımlanmıştır.

Kong vd. (2019) tarafından *X. campestris* pv. *campestris* çalışmalarında tip izolat olarak kullanılan WHRI 3811 isimli ırk 1 izolatını tüm genom dizilemesi PacBio platformu kullanılarak yapılmıştır. Okumaların birleştirilmesi ve hizalanması sonucunda 5.07 Mb büyüklüğünde %65.1 GC içeriğine sahip genom dizisi elde edilmiştir ve 4661 protein kodlayan gen, 6 rRNA ve 53 tRNA içerdiği tespit edilmiştir. Daha önce dizilenen ATCC33913, 8004 ve B100 isimli *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarında plasmid tespit edilmemişken, WHRI 3811 genomunda 39.063 bp uzunluğunda 1 adet plasmid içerdiği belirlenmiştir.

Takeuchi ve Mitsuhashi (2020) tarafından Japonya'da karnabahar üretim alanından alınan örneklerden izole edilen MAFF106712 ve MAFF302021 isimli 2 adet *X. campestris* pv. *campestris* genom dizisi kayıt altına alınmıştır. MAFF106712 isimli izolata ait genom dizi 2 kontig (1 kromozom ve 1 plasmid) elde edilirken, MAFF302021'a ait genom dizisinde plasmid bulunmayıp tek kontig elde edilmiştir. Genom anotasyonu sonucunda MAFF106712 ve MAFF302021 genom dizilerinde sırasıyla 4.422 ve 4.421 adet kodlanan dizi (CDSs), 59 tRNA geni ve 6 rRNA geni tespit edilmiştir.

Fujikawa ve Inoue (2020) tarafından MAFF 106181 isimli *X. campestris* pv. *raphani* ve MAFF 301176 isimli *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarına ait tüm genom dizi analizi sonucunda, MAFF 106181 genomunda 4.269 kodlanan dizi (CDSs), 53 tRNA ve 6 rRNA bulunmasına karşılık, MAFF 301176 genomunda 4.414 kodlanan dizi, 52 tRNA ve 3 rRNA geni tanımlanmıştır.

X. campestris pv. *campestris*'in 3 tip salgı sistemi (Tip II, III ve IV) kullandığı bildirilmiştir. T2SS'in 2 sınıfı (*xps* ve *xcs*) tanımlanmış ve *xps*'nin mevcut olan tüm *Xanthomonas* genomlarında bulunurken *xcs*'nin ise bazı *Xanthomonas* genomlarında (*X. campestris* pv. *campestris* ve *X. campestris* pv. *raphani*) mevcut olduğu belirtilmiştir (Lu vd., 2008; Vicente ve Holub, 2013). *X. campestris* pv. *campestris* 8004 isimli izolattan tip IV salgı sistemi mutasyonu sonucunda mutant izolatın mutant olmayan izolat kadar virulent olduğu ve dolayısıyla *X. campestris* pv. *campestris*'de

tip IV salgı sisteminin kullanılmadığı belirtilmiştir (He vd., 2007). Artan genomik düzeyde yapılan çalışmalarla birlikte, *X. campestris* pv. *campestris*'in temel olarak kullanılan salgı sisteminin tip III salgı sistemi olduğu bilinmektedir (Vicente ve Holub, 2013). Bu sistemde, bakteriler konukçu bitki hücresi ile temas ettiğinde, iki hücre arasında T3SS (Tip III salgı sistemi) efektörleri olarak bilinen proteinler bu sistem yardımıyla bitki hücresi içerisine doğrudan salgılanır veya taşınır. Bitkilerde bakteriyel patojenlere karşı bağışıklık sisteminin aktive olmasını sağlayan patojenlerin yapılarına, patojenle ilgili moleküler yapılar (Pathogen Associated Molecular Patterns-PAMPs) denir. PAMP'ların oluşturduğu bağışıklık sistemine PAMP ile tetiklenen bağışıklık (PAMP-triggered immunity-PTI) denir (Melotto vd. 2006). PTI'nin inhibisyonu, bakteriyel toksinler veya tip III efektör (T3E) proteinleri ile sağlanabilir. Bitkinin efektörlere karşı geliştirdiği bağışıklık sisteminine ise efektör ile tetiklenen bağışıklık (Effector triggered immunity-ETI) denir. *X. campestris* pv. *campestris*'in yüksek değişkenlik gösteren Tip III salgı sistemi efektörlerine (T3E'leri) sahip olduğu bilinmektedir (Vicente ve Holub, 2013; Guy vd., 2013b).

Ignatov vd. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada *avrBs2* geninin *X. campestris* pv. *campestris* ile konukçu *B. carinata* (PI199947) ve *Rxc1* ve *Rxc3* dayanıklılık genleri taşıyan bazı *B. oleracea* çeşitlerinde (Miracle F1) ilişkisi konusunda uyumsuzluğa neden olabileceği ifade edilmiştir. Daha sonra yapılan bir çalışmada, *X. campestris* pv. *campestris* 8004 isimli izolatta 8 aday gen (*avrBs1*, *avrBs1.1*, *avrBs2*, *avrXccA1*, *avrXccA2*, *avrXccB*, *avrXccC* ve *avrXccE1*) mutasyona uğratılmıştır ve *avrBs2* mutant dışında diğerleri Çin lahanası ve lahanaya karşı patojenisite testinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. *avrBs2* mutantlarının ise bitkide virülenslikte önemli bir düşüşe neden olduğu ve tam virülens için gerekli olduğu vurgulanmıştır (Rongqi vd., 2006).

Castañeda vd. (2005) tarafından *X. campestris* pv. *campestris* ATCC33913 isimli izolattan 8 aday avirülens geni (*Xcc052*, *Xcc1629*, *Xcc2099*, *Xcc2100*, *Xcc2109*, *Xcc2396*, *Xcc3731* ve *Xcc4229*) farklı kombinasyonlarda mutasyona uğratıldıktan sonra, farklı *Brassica* spp. konukçu türlerinde (lahana, beyaz turp, şalgam) patojenisite testi ile testlenmiştir ve mutasyonlar sonucu patojenisite testinde herhangi bir değişikliğe sebep olmadığı rapor edilmiştir. Ancak *avrXccFM* (*XopAH*) geninin mutasyonu sonucu *B. juncea* türünde (Florida Broad Leaf Mustard) dayanıklılık yerine hassas reaksiyon göstermesinden dolayı, *avrXccFM* (*XopAH*) geninin *B. juncea*'ya

karşı dayanıklılıktan sorumlu olduğu ve konukçu belirleyici gen olduğu düşünülmektedir.

He vd. (2007) tarafından 3 tane avirülens geni (*avrXccC*, *avrXccEI* ve *avrBsI*) tanımlanmış ve *X. campestris* pv. *campestris* 8004 (ırk 9) isimli izolatta *xopE* (sin. *avrXccEI*) geninin Çin lahanası (*B. rapa* subsp. *pekinensis*) üzerinde avirülenslik göstermeden sorumlu olduğu ifade edilmiştir.

Jiang vd. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, *xopN* isimli efektörün, *X. campestris* pv. *vesicatoria* ve Çin turpu (*Raphanus sativus* var. *radiculus* cv. Manshenhong) üzerinde patojenisitede sorumlu olup olmadığı test edilmiştir ve *xopN* efektöründeki bozulmanın virülenslikte önemli oranda azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir.

Feng vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada ise *X. campestris* pv. *campestris* 8004 isimli ırk 9 izolatında *xopAC*'nin silinerek mutasyonuyla elde edilen mutant izolatın *Arabidopsis thaliana* Col-0 ekotipinde yapraklara infiltrasyonu ile testlenmesinde bakteriyel çoğalmanın azaldığı tespit edilmiştir. Dayanıklı *Arabidopsis thaliana* ekotip Col-0'da *xopAC*, *X. campestris* pv. *campestris* 'nin başlıca avirülens genidir. Daha sonra yapılan diğer bir çalışmada ise, *xopAC*'nin hem RLCK (Receptor-like cytoplasmic kinases) etkileşim domaini hem de uridilil transferaz domaininin avirülenslik için gerekli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *xopAC*'nin vasküler patojen olan *Ralstonia solanacearum* ve mezofilde kolonileşen patojen *Pseudomonas syringae* etmenlerinde testlenmesi sonucunda avirülenslikten sorumlu olduğu, dolayısıyla *xopAC*'ye spesifik ETI'nin vasküler sisteme spesifik olmadığı belirlenmiştir.

Guy vd. (2013a) tarafından yapılan çalışmada, *X. campestris* pv. *campestris*'de üç efektör geni (*xopAC*, *xopJ5* ve *xopAL2*) tanımlanmıştır.

Roux vd. (2015) tarafından CFBP 2527 ve CFBP 1606 isimli 2 adet *X. campestris* pv. *incanae* izolatı, CFBP 5828 isimli *X. campestris* pv. *raphani*, CFBP 5825 isimli patojenik olmayan *X. campestris* izolatı tüm genom dizilemesi yapılmıştır. Kayıtlı *X. campestris* pv. *campestris* genom dizilerini de içeren toplam 13 adet izolat ile karşılaştırmalı genomik analizler sonucunda, hem patojenik varyete içi hem patojenik varyeteler arasında büyük genomik çeşitliliğin mevcut olduğu belirtilmiştir. Daha önce *P. syringae* genomları üzerine yapılan bir çalışmada pan genomun ((bir grup içerisindeki bütün izolatlara ait genlerin tamamı) daha geniş (12.749 gen) olduğu

(Baltrus vd., 2011), yapılan bu çalışmada ise pan genomun nispeten daha küçük (6.472 gen) olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla, *X. campestris*'in konukçu kitlesi daha geniş olan *P. syringae*'ye kıyasla daha homojen bir genomik grup sergilediği tespit edilmiştir. Çalışmada aynı zamanda T3E'leri repertuarı araştırıldığında, test edilen tüm *X. campestris* genomlarında 3 adet efektör (*XopF1*, *XopP* ve *XopAL1*) ve 3 adet tip III salgı sistemi proteini (*XopA*, *HrpW* ve *HpaA*) ortak olarak bulunmuştur.

Liu vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, *AvrXccB* aday tip III efektörü ile yapılan biyokimyasal deneyler ve transgenik yaklaşım ile virülenslik fonksiyonu test edildiğinde, *Arabidopsis*'de flg22 ile tetiklenen kalloz birikimini (flg22-triggered callose deposition) ve oksidadif patlamayı bastırdığı ve bitki bağışıklığının ve bakteriyel çoğalmanın çoklu aşamalarının baskı altına aldığı ortaya konmuştur. Başka bir çalışmada ise *avrXccB* geninin silinmesinin *X. campestris* pv. *campestris*'in virülensliğine önemli bir etkisi olmadığı ortaya konmuştur (Jiang vd., 2009).

Yan vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, *X. campestris* pv. *campestris* 8004 isimli izolatta tip III efektörlerinden *xopL*'nin *Arabidopsis* dahil farklı konukçularda patojenisite testi ile denemesi sonucunda, Çin lahanasında tam virülenslik için gerekli olduğu tespit edilmiştir. *XopL*'nin bir virülens faktörü olduğu ve *Arabidopsis*'te PTI'yi baskıladığı ortaya konmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma, 5 iş paketi altında yürütülmüştür. Bunlar sırasıyla (i) arazi çalışmaları, (ii) izolasyon, (iii) tanılama, (iv) ırkların tespiti ve (v) tüm genom dizi analizi çalışmalarıdır. Çalışmanın ana materyalini arazi sürveyleri ile elde edilen yerel *X. campestris* pv. *campestris* izolatları oluşturmaktadır.

3.1. Arazi Çalışması

Arazi çalışmaları için Karadeniz Bölgesi'ni temsilen beyaz baş lahanası üretiminin yoğun olarak yapıldığı Samsun, Amasya, Tokat ve Çorum illeri seçilmiştir. Arazi çalışmaları, hastalığın bulunma oranını, yaygınlığını ve şiddetini belirlemek ve izolasyon çalışmaları için hastalıklı bitki örneği toplamak amacıyla yapılmıştır.

Arazi çalışmalarında incelenen tarla sayısı, TÜİK 2018 verileri ışığında il ve ilçe düzeyinde beyaz baş lahanası üretimi yapılan alan miktarına göre belirlenmiştir. Beyaz baş lahananın ilçelerdeki ekilen alan miktarına göre izolasyon için incelenecek arazi sayıları Tablo 3.1'e göre belirlenmiştir. Sürvey zamanı ise illerin lahanası dikim zamanı önceliğine göre sıralandırılmıştır. Buna göre; arazi çalışmalarına ilk olarak lahanası dikimi erken dönemde yapılan Çorum ilinden başlanmıştır. Daha sonra Tokat ve Amasya en son ise Samsun ilinde sürvey çalışmaları tamamlanmıştır.

Arazi çalışmaları 2019 ve 2020 yıllarında üretim sezonunda yapılmıştır. 2019 yılında hem sürvey yapılmış, hem de örnekler toplanıp izolasyon çalışmaları yapılmıştır. 2020 yılında ise sadece hastalığın yaygınlık, bulunma oranı ve şiddetini belirlemek amacıyla sürvey yapılmıştır, izolasyon çalışmaları için örnek toplanmamıştır. 2019 yılında sürvey yapılan il ve ilçeler bazında beyaz baş lahanası ekilen alan miktarlarına göre (2018 yılı verileri) gezilen tarla sayıları ve alınan örnek sayıları ise Tablo 3.2'de verilmiştir.

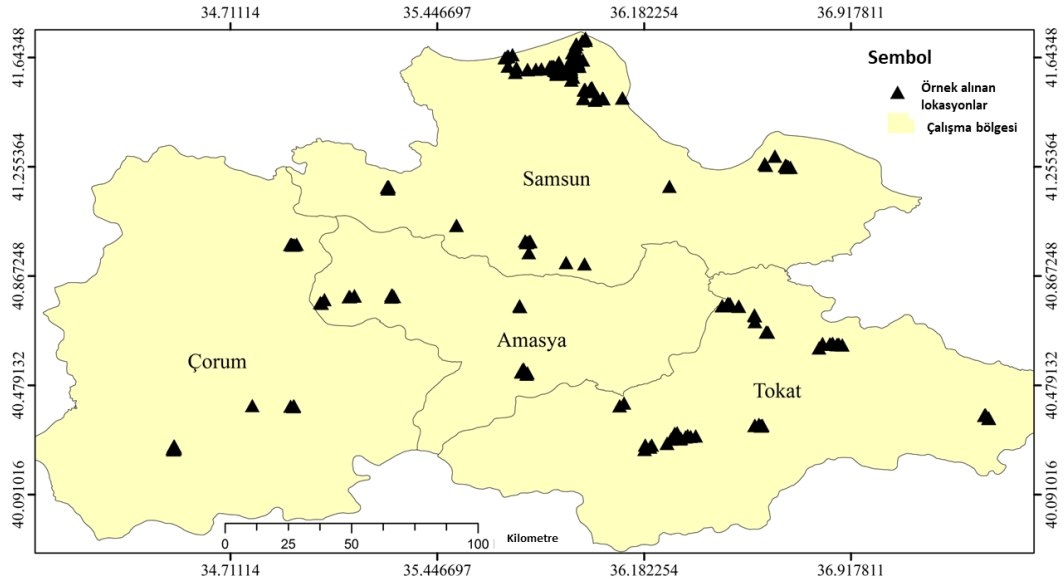
Tablo 3.1. Beyaz baş lahananın ilçe bazında ekilen alan miktarına göre planlanan örnek sayıları

Ekilen alanı (da)	Örnek sayısı
0-49	2
50-100	5
101-250	10
251-500	15
501-2500	25
2500'den fazla	100

Tablo 3.2. Sürvey yapılan il ve ilçeler bazında beyaz baş lahananın 2018 yılında ekilen alan miktarları baz alınarak 2019 yılında incelenen tarla sayıları ve alınan örnek sayıları

İl	İlçe	Ekilen alan (da)	İncelenen tarla sayısı	Alınan örnek sayısı
Samsun	Ondokuz Mayıs	450	15	17
	Alaçam	450	14	16
	Bafra	24.000	127	150
	Ladik	14	2	2
	Havza	150	11	2
	Vezirköprü	60	10	11
	Çarşamba	2.500	25	22
	Toplam	27.624	204	220
Amasya	Taşova	50	6	6
	Suluova	10	2	2
	Merzifon	25	6	8
	Gümüşhacıköy	81	6	6
	Hamamözü	50	5	8
	Merkez	125	11	6
	Toplam	341	36	36
Tokat	Merkez	580	22	9
	Almus	50	0	0
	Artova	11	0	0
	Başçiftlik	22	0	0
	Erbaa	340	7	3
	Pazar	84	10	8
	Reşadiye	380	13	9
	Turhal	150	15	10
	Yeşilyurt	20	0	0
	Zile	100	0	0
	Niksar	390	19	15
	Toplam	2.127	86	54
Çorum	Merkez	100	6	2
	Alaca	50	0	0
	Kargı	50	0	0
	Mecitözü	100	0	0
	Ortaköy	22	0	0
	Osmancık	120	8	2
	Sungurlu	250	20	16
	Oğuzlar	1	0	0
	Uğurludağ	5	0	0
	Toplam	698	34	20
GENEL TOPLAM		30.790	360	330

Örnekleme yapılan tarlalarda, tipik hastalık belirtisi (yaprak uçlarında V şeklinde lezyonlar) gösteren beyaz baş lahana bitkilerine ait yaprak, gövde ve baş örnekleri makroskobik olarak incelenmiştir. Hastalıklı örnekler kese kağıtları içerisine konularak izolasyon çalışmaları için laboratuvara getirilmiştir. Örnek alınan yerlerin GPS ile koordinatları belirlenerek kaydedilmiştir. Sürvey yapılan illere ait örnek alım noktalarının haritası ArcGIS programı kullanılarak oluşturulmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Karadeniz Bölgesi'nde survey yapılan illere ait örnek alım noktaları

3.1.1. Hastalık Bulunma ve Yaygınlık Oranları ile Şiddetinin Saptanması

Survey çalışmalarında hastalığın bulunma ve yaygınlık oranları ile şiddetinin saptanması amacıyla; her tarlada tesadüfi W deseni şeklinde gezilerek toplam 50 bitki incelenmiştir. Yaygınlık oranı hesaplamasında, eğer tarlada hastalık tespit edilmişse tarla bulaşık kabul edilmiştir. Bulunma oranı; tipik hastalık belirtilerini gösteren bitki sayısının toplam incelenen bitki sayısına (her tarlada en az 50 bitki) oranlamasıyla hesaplanmıştır (Bora ve Karaca, 1970). Hastalık şiddeti ise Vicente vd. (2002)'nin uyguladığı 6 basamaklı 0-9 skalası kullanılarak Townsend-Heuberger formülüne göre belirlenmiştir (Townsend ve Heuberger, 1943).

Elde edilen skala değerleri ile Townsend-Heuberger formülü kullanılarak hastalık şiddeti (Severity, S) hesaplanmıştır;

$$S (\%) = \frac{\sum(\text{Skala değeri} \times \text{Skalada değerlendirilen bitki sayısı})}{\text{Toplam bitki sayısı} \times \text{En yüksek skala değeri}} \times 100 \quad (3.1)$$

İncelenen her bir tarlanın hastalık bulunma ve yaygınlık oranları ile şiddeti saptandıktan sonra, tartılı (ağırlıklı) ortalama yöntemine göre köy/mahalle, ilçe ve il için aşağıdaki formül örneği kullanılarak ortalama hesaplamaları yapılmıştır.

Köy, ilçe ve illerin hastalık yaygınlık, bulunma ve şiddetine ait tartılı (ağırlıklı) ortalama oranları;

$$\text{Ort.} (\%) = \frac{\sum(\text{Hastalık yaygınlık/bulunma/şiddet oranı} (\%) \times \text{incelenen alan} (da))}{\text{İncelenen toplam alan} (da)} \quad (3.2)$$

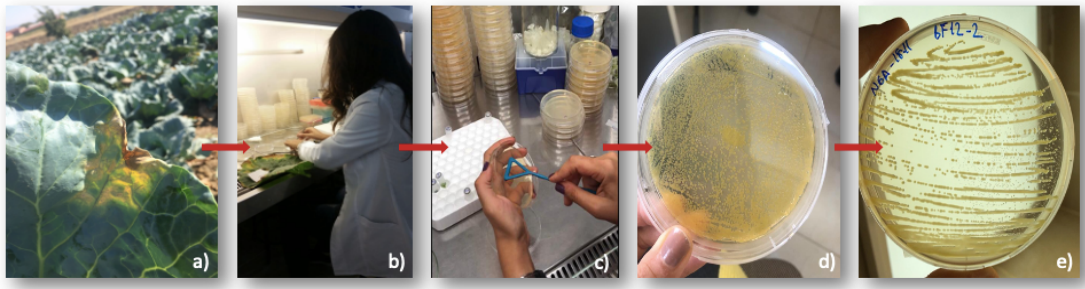
Hastalık bulunma ve yaygınlık oranları ile şiddetinin saptanması çalışmaları 2019 yılında ve 2020 yılında yapılmıştır. 2019 yılında Samsun, Amasya, Çorum ve Tokat illerinde kapsamlı arazi çalışması yapılırken, 2020 yılında bütçe göz önüne alınarak lahana üretiminin bölgede en yoğun olarak yapıldığı ilçe olan Bafra'da sürvey çalışmaları yapılmıştır. Meteoroloji 10. Bölge (Samsun) Müdürlüğü'nden Bafra ilçesine ait lahana üretim sezonu (Ağustos-Aralık) iklim verileri alınarak sıcaklık ve nem ortalamasının hastalığın yaygınlığı ve bulunma oranı üzerine etkisi incelenmiştir.

3.2. İzolasyon

Bakteriyel etmen izolasyonunda laboratuvara getirilmiş örneklerin, 4-5 mm boyutlarında kesilmiş hastalıklı ve sağlam dokuları içeren bitki parçacıkları %1'lik NaOCl çözeltisinde 2 dakika süreyle yüzeysel dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra steril suda bekletilmiştir ve steril kurutma kağıdıyla kurulanmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu sonrası bitki parçacıkları, 350 µl steril saf su ilave edilmiş steril 1.5 ml'lik tüpler içerisine konularak homojenizatör cihazında (Allsheng BioPrep-6) parçalanarak bitki özütü elde edilmiştir. Bu homojenize edilmiş özütten 35 µl alınarak, Yeast Ekstrakt-Dekstroz Kalsiyum Karbonat (YDC) agar ve Nutrient glucose agar (NGA) besiyerlerine drigalski baget (hücre sıyrıcı) yardımıyla ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petrilerin 26-27 °C sıcaklıkta 48 saat süreyle inkübasyonu süresince petrilerde koloni gelişimi olup olmadığı düzenli olarak kontrol edilmiştir (Şekil 3.2).

Petrilerde gelişen kolonilerden seçim yapılarak yeni besi ortamına steril öze ile çizilerek saflaştırma işlemi yapılmıştır. Saflaştırma işleminde sarı renkli, parlak görümlü, mukoid, düzgün kenarlı olan koloniler seçilmiştir (Şekil 3.2).

Saflaştırılan izolatlar, LB besi yerinde 150 rpm'de 28°C'de 24 saat süreyle çalkalamalı inkübatörde geliştirildikten sonra %50'lik gliserin ile %50 oranında karıştırılarak -20°C'de tanılama çalışmaları için saklanmıştır.



Şekil 3.2. *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının elde edilme aşamaları a) Tipik hastalıklı bitki örneği, b) Steril kabinde yüzey dezenfeksiyonu, c) Bitki özütünün petriye hücre sıyrıcı yardımıyla yayılması, d) 24-48 saat süreyle inkübe edilen petrilerde gelişen koloniler, e) Saflaştırma işlemi sonrası elde edilen saf izolatlar

3.3. Tanılama Çalışmaları

Lahana üretilen tarım arazilerinde hastalık belirtisi gösteren bitkilerden izole edilen aday *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının tanınması için tütünde aşırı duyarlılık testi, patojenisite testi, morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler tanılama testleri yapılmıştır. Irkları belli olan referans izolatlar Prof. Dr. Eric HOLUB (University of Warwick, İngiltere) ve Dr. Volkan ÇEVİK (University of Bath, İngiltere) tarafından temin edilmiştir. Temin edilen referans izolatlar hem tanılama çalışmalarında hem de ırk belirleme çalışmalarında kullanılmıştır. Referans izolatların isimleri; Xcc3811 (ırk 1), Xcc3849A (ırk 2), Xcc8819 (ırk 3), Xcc1279A (ırk 4), Xcc3880 (ırk 5), Xcc8497 (ırk 6), Xcc8450A (ırk 7) ve Xcc8004 (ırk 9)'dür.

3.3.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi

Saflaştırılmış aday *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının tamamına tütünde aşırı duyarlılık testi yapılmıştır. KB besi ortamında 26-28 °C'de 24-48 saat süreyle geliştirilmiş aday izolatların 1×10^8 hücre/ml'lik konsantrasyonunda süspansiyonları hazırlanarak steril enjektör yardımıyla sağlıklı tütün (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun) yapraklarının arkasına hücreler arasına inokule edilmiştir. Oda sıcaklığında yaklaşık 24-36 saat süreyle inkübasyona bırakıldıktan sonra, tütün yapraklarındaki aşırı duyarlılık reaksiyonunun oluşup oluşmadığına bakılmıştır.

3.3.2. Patojenisite Testi

Patojenisite testi için bilinen tüm *X. campestris* pv. *campestris* ırklarına karşı hassas özellikte olan lahana genotipi (Wirosa F1, Bejo Zaden, Hollanda) kullanılmıştır. Tohumlar önce 70 hücreli plastik viyollere ekilmiş, daha sonra çimlenen fideler 9 x 9 x 10 cm boyutlu plastik saksılara, her saksıya 1 adet bitki olacak şekilde şaşırtılmıştır. Ekim ve dikimlerde %100 oranında hazır torf (Klasman Rec119 Potgrond H) kullanılmıştır. Patojenisite testi için her izolat 4 bitkide test edilmiştir. Bitkinin 4-6 yapraklı döneminde (genç 2 yaprak seçilerek) inokulasyonlar yapılmıştır. Aday izolatlar önce KB agar besiyerine ekildikten sonra, spektrofotometre cihazı ile 1×10^8 hücre/ml ($OD_{600}=0.1$) konsantrasyonundaki süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlara batırılmış steril çeneli pensler yardımıyla lahana yapraklarının ana damarına 2 yerden inokulasyon işlemi yapılmıştır. Tüm inokulasyonlar bu şekilde bitkiye aynı noktalardan, aynı konsantrasyonda yapılmıştır ve aynı inkübasyon süresince bekletilmiştir. Bu şekilde izolatlar arasında virülenslik

değeri hakkında bilgi elde edilmiştir. İnokulasyondan sonra, bitkiler akıllı sera koşulları altında; 14 saat ışık, 24-28 °C sıcaklık (gündüz/gece) ve yüksek nemli ortamda 10 gün boyunca inkübasyona bırakılmışlardır. Negatif kontrol olarak steril su, pozitif kontrol olarak ise referans izolatlar kullanılmıştır.

Patojenisite testi sonucunda izolatların virülenslik düzeyleri de belirlenmiştir. Bu amaçla; 10. günde planimetre kullanılarak cm^2 cinsinden yapraktaki hastalıklı alan ve tüm alan ölçümü yapılmıştır. Hastalıklı alanın tüm yaprak alanına oranlanması ile % olarak hastalık şiddeti dolayısıyla izolatların virülenslik düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca 0-4 skalası kullanılmıştır. Buna göre; 0=Sağlıklı, hiç hastalık belirtisi yok, 1=Hastalıklı alan yaprak alanının %25'inden az, 2=Hastalıklı alan yaprak alanının %. 25-50'i arasında, 3=Hastalıklı alan yaprak alanının %50-75'i arasında, 4=Hastalıklı alan yaprak alanının %75'inden fazlasında veya ölü bitki.

Patojenisite testinde belirti göstermeyen izolatlar elenmiştir, pozitif reaksiyon gösteren izolatların tanıları yapılmıştır.

3.3.3. Morfolojik, Biyokimyasal ve Fizyolojik Tanılama

3.3.3.1. Petride Gelişim

Aday izolatlar Yeast extract-dextrose- CaCO_3 (YDC) agar (Schaad, 1989), Nutrient Glukoz Agar (NGA) (Schaad ve Forsters, 1985) gibi genel besiyerleri ile King's B (KB) Agar gibi seçici besi yeri (King vd., 1954) üzerlerine ekimleri yapılarak koloni yapıları incelenmiştir. Bunlar dışında mFS ve mCS20ABN isimli 2 adet yarı seçici besiyerine (ISTA, 2015) ekim yapılarak koloni yapıları gözlemlenmiştir.

NGA besiyeri içeriği: 28 g/L nutrient agar ve 2.5 g/L glucose.

YDCA besiyeri içeriği: 20 g/L dextrose, 10 g/L yeast extract, 20 g/L CaCO_3 ve 20 g/L agar.

KBA besiyeri içeriği: 20 g/L proteose peptone, 1.5 g/L K_2HPO_4 , 1.5 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 ml/L gliserol ve 15 g/L agar.

mCS20ABN besiyeri içeriği: 58.80 g/L Duchefa Biochemie hazır mCS20ABN besi yeri (2 g/L soya peptone, 2 g/L tryptone, 2.80 g/L KH_2PO_4 , 0.80 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 0.195 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot \text{anh.}$, 6 g/L L-Glutamine, 1 g/L L-Histidine, 1 g/L glucose monohydrate, 25 g/L soluble starch, 18 g/L agar).

Otoklavdan sonra eklenenler: 200 mg/L Cycloheximide (200 mg/mL %70'lik ethanol), 40 mg/L Neomycin (40 mg/mL %20'lik ethanol), 100 mg/L Bacitracin (100 mg/mL %50'lik ethanol içinde).

mFS besiyeri içeriği: 42.20 g/L Duchefa Biochemie hazır mFS besi yeri (0.8 g/L KH_2PO_4 , 0.8 g/L K_2HPO_4 , 0.5 g/L KNO_3 , 0.049 g/L $\text{MgSO}_4\cdot\text{anh.}$, 0.1 g/L Yeast extract, 25 g/L Soluble starch, 15 g/L Agar).

Otoklavdan sonra eklenenler: 200 mg/L Cycloheximide (200 mg/mL %70'lik ethanol), 3 mg/L D-Methionine (3 mg/mL %50'lik ethanol), 1 mg/L veya 1mL/L Pyridoxine HCl (1 mg/mL %50'lik ethanol), 50 mg/L Cephalexin (50 mg/mL %70'lik ethanol) ve 30 mg/L Trimethoprim (10 mg/mL %70'lik ethanol).

3.3.3.2. Gram Boyama Testi

İzolatların Gram negatif veya Gram pozitif olduğunu tespit etmek amacıyla Gram boyama testi yapılmıştır. Bu test için ortam içerikleri:

I. Çözeltilerin içeriği:

A Çözeltisi: 2 g/L kristal violet ve 20 ml etil alkol (%95'lik)

B Çözeltisi; 0.8 g/L amonyum okzalit ($(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$) ve 80 ml saf su

A ve B çözeltileri hazırlanıp karıştırıldıktan sonra filtre kağıdından geçirilmiştir.

II. Lugol çözeltisinin içeriği: 1 g iyot, 2 g potasyum iyodür ve 300 ml Saf su.

III. Safranin çözeltisinin içeriği:

Stok Çözeltisi: 2.5 g safranin ve 100 ml etil alkol (%95'lik)

Kullanma Çözeltisi: 10 ml stok çözeltisi ve 90 ml saf su

Çözeltiler hazırlandıktan sonra boyama işlemi için, lamaların ortasına bir damla steril su damlatıldıktan sonra, besi yerinde 24-48 saat süreyle geliştirilen kolonilerden alınarak, su damlası içerisinde süspanse edilerek lam üzerinde bakteri hücrelerinin fikse olması için hafif alevden geçirilmiş ve oda sıcaklığında bekletilerek kuruması sağlanmıştır. Hazırlanan 1. çözeltiden lamaların üzerine dökölüp 1 dakika beklendikten sonra lamalar su ile yıkanmış ve üzerileri hafif şekilde kurulanmıştır. Daha sonra lamaların üzerine Lugol çözeltisi dökölümüş, 1 dakika beklendikten sonra lamalar yıkanmış ve lamaların üzeri kurutma kağıdı ile hafifçe kurulanmıştır. Daha sonra lamalar %95'lik etil alkolün bulunduğu petri kabına batırılmış ve 35 saniye beklendikten sonra hafifçe kurulanmıştır. Son olarak lamaların üzerine Safranin çözeltisi damlatılıp 20 saniye süreyle beklendikten sonra suda yıkanmış ve kurulanmıştır. İzolatların

bulunduğu lamalar mikroskopta incelenmiştir. Kırmızımsı-pembe renkteki izolatlar Gram negatif, morumsu-mavi renkteki izolatlar ise Gram pozitif olarak değerlendirilmiştir (Gram, 1884).

3.3.3.3. Potasyum Hidroksitte (KOH) Çözünme Testi

Bir lam üzerine %3'lük KOH çözeltisinden 1-2 damla konulduktan sonra, 24 – 48 saat süre ile geliştirilmiş taze kültürden öze yardımıyla koloni alınıp, solüsyon ile bir süre yavaşça karıştırılıp yavaşça yukarı doğru kaldırılmıştır. KOH solüsyonunda viskoz bir yapı olması ve özeyle yukarı kaldırıldığında uzaması pozitif reaksiyon olarak, süspansiyonun daha sulu yapıda olması ve uzamaması negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Schaad, 2001).

3.3.3.4. Nişastanın Hidrolizi Testi

Nişasta içeren bir besi ortamı (peptone (5 g/L), yeast ekstrakt (5 g/L), beef ekstrakt (5 g/L), eriyebilir nişasta (2 g/L) ve agar (15 g/L)) hazırlanıp sterilizasyon sonrası petrilere dökülmüştür. Bakteriyel izolatların petriye ekimi yapılmıştır ve koloniler geliştikten sonra petrilerin üzeri Lugol solüsyonu (g/l: Iyot (1 g), potasyum iyodür (2.0 g) ve saf su (100 ml) ile kaplanmıştır. Ortamın rengi koyu mavi-siyaha döndüğünde kolonilerin etrafında açık bölgenin oluşması pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Schaad, 2001).

3.3.3.5. Katalaz Testi

Lam üzerine %3'lük 1 ml Hidrojen peroksit (H_2O_2) konulduktan sonra 24-48 saatlik süreyle geliştirilmiş bakteriyel izolatlardan bir öze dolusu kadar ilave edilmiştir. Hava kabarcıklarının ortaya çıkması pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Schaad, 2001).

3.3.3.6. Oksidasyon / Fermantasyon (O/F) Testi

Oksidasyon/fermantasyon testi için bir besi ortamı (1 g peptone, 1 g $NH_4H_2PO_4$, 0.2 g KCl, 0.2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.08 g bromotimol mavisi, 900 ml saf su) hazırlanarak pH %40'lık NaOH ile damla damla eklenerek 7.0-7.1'e ayarlanmıştır ve bunun sonucunda ortamın rengi zeytin yeşiline dönüşmüştür. Daha sonra ortama agar ilave edilip, homojenizasyon işleminden sonra 6-7 ml'lik miktarlarda tüplere paylaştırılmıştır. Hazırlanan steril %10 oranındaki glikoz çözeltisi de paylaştırılmıştır. Hazırlanan ortamdan her bir bakteriyel izolat için iki tüp kullanılmıştır. Her iki tüpe

de bakteri ekimi yapılmış ve tüplerden birinin üzeri %3'lük agarla kapatılarak havayla teması kesilmiş ve tüpler, 24-26 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Tüpler 14 gün boyunca kontrol edilmiştir. Agarla kapatılmayan tüplerde glikozdan asit üretimi sonucunda ortam renginin zeytin yeşilinden portakal sarısına dönüşmesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Ayers vd, 1919).

3.3.3.7. 35 °C'de Gelişme

Nutrient broth ortamında geliştirilen bakteriyel izolatlar değişik sıcaklıklara ayarlı inkübatörlere konularak koloni gelişmeleri gözlemlenmiştir. İnkübatörlerden birinin sıcaklığı 28 °C'ye diğeri ise 35 °C'ye ayarlanmıştır. Bu testte her iki örnekte de aynı konsantrasyonda bakteri ekimi yapılmıştır ve petriler 10-12 gün süreyle takip edilmiştir (Schaad, 2001).

3.3.3.8. Eskulinin Hidrolizi

Eskulin broth ortamı (5 g/L Yeast extract, 5 g/L NaCl, 0.2 g/L MgSO₄.7H₂O, 0.5 g/L K₂HPO₄, 0.5 g/L NH₄H₂PO₄, 50 mg/L ferric amonyum sitrat ve 1 g/L eskulin) hazırlanarak çalkalayıcı cihazında 26 -28 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda eskulinin hidroliziyle ortamın kahverengi-siyah renge dönüşmesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Schaad, 2001).

3.3.3.9. Karbon Kaynaklarının Kullanılması Testi

Karbon kaynağı olarak d-arabinose, d-trehalose, d-xylose, d-cellobiose, d-galactose, raffinose, d-mannose, sucrose ve d-mannitol kullanılmıştır. Test için besi ortamı (0.5 g/L NH₄H₂PO₄, 0.5 g/L K₂HPO₄, 0.2 g/L MgSO₄.7H₂O, 5 g/L NaCl, 0.8 g/L yeast ekstrakt, 12 g/L agar, 0.7 ml/L brom cresol purple, 2 g/L karbon kaynağı) hazırlanıp %40'lık NaOH ile pH'sı 6.8'e ayarlanmıştır. Homojenize edildikten sonra tüplere 6-7 ml'lik miktarlarda paylaştırılmıştır. Tüpler sterilize edildikten sonra bakteri ekimi yapılmıştır ve 24-26 °C'de 7-14 gün inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre içerisinde ortamda asit oluşumuna bağlı renk değişiminin olup olmadığına bakılmıştır. Tüplerdeki ortam renginin sarıya dönmesi asit üretildiğinin göstergesi olduğundan pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Schaad vd., 2001).

3.3.4. Moleküler Tanılama

Moleküler tanılama için Touchdown koloni PCR metodu kullanılmıştır (Sambrook vd., 1989). Aday izolatların moleküler tanısında *X. campestris* pv.

campestris'in *hrpF* bölgesi için spesifik 769 bp uzunluğunda olan Dhpf/Dhpr primerleri (Singh vd., 2016) ve 16S rRNA bölgesi için ise 959 bp uzunluğunda olan Xcc16S-F/Xcc16S-R primerleri (Rathaur vd., 2015) kullanılmıştır (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Etmenin moleküler tanısında kullanılan primer çiftleri

Hedef bölge	Primer ismi	5'→3'	Bağlanma sıcaklığı ve süresi
<i>hrpF</i>	Dhpf	GTGGCCATGTCGTCGACTC	60 °C 40 sn
<i>hrpF</i>	Dhpr	GAATAAACTGTTCCCAATG	
16S rRNA	Xcc16S-F	GCAAGCGTTACTCGGAATTA	56 °C 30 sn
16S rRNA	Xcc16S-R	TACGACTTCACCCAGTCAT	

PCR çalışmalarında Sambrook vd. (1989)'nin yöntemi kullanılarak termal döngü cihazında (T100, Bio-Rad) döngü işlemleri yapılmıştır. PCR reaksiyon karışımı toplam hacmi 20 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. Her bir tüp için 10 µl Biomix red (Bioline), 1 µl 20 µM forward primer, 1 µl 20 µl reverse primer, 8 µl ddH₂O ve genomik DNA eklenerek koloni PCR'ı yapılmıştır.

Uygulanan PCR döngü programı; 95 °C'de 2 dk, 95 °C'de 30 sn (35 döngü), 56 °C'de 30 sn (16S rRNA) / 60 °C'de 40 sn (*hrpF*), 72 °C'de 1 dk, 72 °C'de 5 dk ve 16 °C'de sonsuz bekleme şeklindedir.

PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde %1'lik TAE buffer içerisinde 100 V'de 1 saat süreyle koşturulmuştur. Agaroz jel hazırlamak için 50 x Tris-Acetate EDTA (TAE) buffer (Thermo Sci.) kullanılmıştır. 100 ml hacimde hazırlanan agaroz jelle 5 µl etidyum bromür ilave edilmiştir. TAE buffer eklenen elektroforez cihazında jeldeki kuyucuklara 10 µl miktarda PCR ürünü yüklenmiştir. Moleküler markır olarak Hyper Ladder 1 kb (Bioline) kullanılmıştır. Negatif kontrol en son kuyucuğa yüklenmiştir ve örnekler 100 miliamperde 1 saat süreyle koşturulmuştur.

Daha sonra jel görüntüleme cihazında oluşan PCR ürünleri gözlemlenmiştir. Jel görüntülerinde bant gösteren izolatlardan seçim yapılarak (toplam 24 adet örnek) özel bir firmada (BM Lab., Ankara) çift yönlü nükleotid dizi analizi yaptırılmıştır. Örnekler farklı il ve ilçelerden izole edilmiş ve farklı virülenslik düzeylerine sahip izolatlardan seçilmiştir.

Firmadan gelen nükleotid dizilerine ait kromotogram çıktı dosyaları Chromos Pro (versiyon 1.7.6) programı kullanılarak konsensüs sekanslar elde edilmiştir ve elde edilen konsensüs diziler için nükleotid BlastN analizi (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) yapılmıştır. Diziler NCBI Gen Bankasına eklenerek erişim numaraları alınmıştır. Ayrıca MEGA X programı yardımıyla

Neighbour-joining ve Maksimum Olabilirlik yöntemi (Maximum Likelihood method) yöntemleri kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur.

3.4. Irkların Belirlenmesi

Irkların belirlenmesi çalışmalarında, Vicente vd. (2001), Fargier ve Manceau (2007) ve Jensen vd. (2010)'nin uyguladığı modele göre *Brassica* spp.'ye ait 8 farklı genotip kullanılmıştır. Irk ayırım setinin tohumları Dr. Volkan ÇEVİK (University of Bath, İngiltere) aracılığıyla temin edilmiştir. Irk ayırımı denemesinin büyük bir çoğunluğu Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne ait kontrollü seralarda yapılmıştır.

Irk ayırımı denemesi için öncelikle tohumlar, her hücreye 1 tohum olacak şekilde 70 hücreli plastik viyollere ekilmiş, daha sonra çimlenen fideler, 9 x 9 x 10 cm boyutlu plastik saksılara, her saksıya 1 adet bitki olacak şekilde şaşırtılmıştır. Ekim ve dikimlerde %100 hazır torf (Klasmann Rec119 Potgrond H) kullanılmıştır. Deneme 4 tekekkürlü olarak kurulmuştur (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Irk ayırım seti ile kurulan sera ve iklim odası denemesi öncesi hazırlıklar

Bakteriyel inokulasyon bitkilerin 4-6 yapraklı fide dönemindeyken yapılmıştır. Bu amaçla 26-28 °C'de, 24-48 saat süreyle geliştirilen izolatların 1x10⁸ hücre/ml'lik

konsantrasyonları hazırlanmıştır. İnokulasyon işlemi, 1×10^8 hücre/ml’lik bakteriyel süspansiyona batırılmış çeneli pensin, her fidenin 2 genç yaprağına ait yan damarlarının 5-10 noktasına batırılarak gerçekleştirilmiştir. Her genotip için pozitif kontrol olarak referans izolatlar, negatif kontrol olarak ise steril saf su kullanılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Çeneli pens ile izolatların inokulasyonu

Bitkiler bakteriyel inokulasyondan sonra 24-28 °C sıcaklıkta, %70-80’lik nemli ortamda ve 16 saat gündüz - 8 saat karanlık olacak şekilde 14 gün boyunca gözlemlenmiştir. Deneme sonuçları; pozitif (+) reaksiyon, zayıf virülenslik ($\pm$) ve negatif (-) reaksiyon şeklinde değerlendirilmiştir. Alınan sonuçlar, Vicente ve ark. (2001), Fargier ve Manceau (2007), Jensen ve ark. (2010), Vicente ve Holub (2013) kaynaklarına göre değerlendirilmiş ve ırk grubu belirlenmiştir. Referans alınan tablo tezde “2.2. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*’in ırkları” isimli başlık altında yer almaktadır.

3.5. Tüm Genom Dizileme Analizi Çalışmaları

3.5.1. Genom Dizileme ve Hizalama

Genom dizi analizi için her bir ırk grubundan farklı virülenslik düzeyinde (çoğunlukla yüksek virülensliğe sahip) en az 1 adet izolat seçilmiştir. Toplam 14 adet izolat ile genom dizi analizi çalışmaları yapılmıştır (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Genom dizilemesi yapılan *X. campestris* pv. *campestris* izolatları

İzolat ismi	İrk grubu	İzole edildiği il ve ilçe
TR11	1	Tokat, Reşadiye
CS6-2	1	Çorum, Sungurlu
SB113	1	Samsun, Bafra
SA14	1	Samsun, Alaçam
SB39-1	3	Samsun, Bafra
TR7	3	Tokat, Reşadiye
SB102	4	Samsun, Bafra
SB47-1	4	Samsun, Bafra
SV5	4	Samsun, Vezirköprü
SB76-1	4	Samsun, Bafra
AMN4-1	6	Amasya, Merzifon
SO1	8	Samsun, Ondokuzmayıs
CM6	8	Çorum, Merkez
AMN5	9	Amasya, Merzifon

Genomik DNA izolasyonunda GenElute™ Bacterial Genomic DNA Kit (Sigma-Aldrich Co., USA) isimli hazır kit kullanılmıştır ve üretici firmanın protokülüne uyularak DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Öncelikle seçilen izolatlar KB besiyerinde 26-28 °C’de 24-48 saat süreyle geliştirildikten sonra sıvı LB besiyerine ekim yapılarak 1 gece çalkalayıcıda inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün sıvı kültürden 1.5 ml alınarak 12.000-16.000 xg hızda 2 dk santrifüj edilerek hücre hasatı yapılmıştır. Daha sonra kalan pelete 180 µL Lysis Solution T buffer ve 20 µL Proteinase K solüsyonu eklenmiştir ve vorteks ile karıştırıldıktan sonra kuru blok kalibratöründe 55 °C’de 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda 200 µL Lysis Solution C eklenmiştir ve tekrar vorteks (yaklaşık 15 sn) edildikten sonra 55 °C’de 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. Bu sırada filtreli tüpleri hazırlamak için tüplere 500 µL kolon hazırlama solüsyonu eklendikten sonra 12,000 xg hızda santrifüj edilmiştir ve alta geçen solüsyon uzaklaştırılmıştır. Lizata 200 µL ethanol eklendikten sonra 5-10 sn vortekslendikten sonra yeni tüplere transfer edilmiştir. Daha sonra 6500 xg hızda 1 dk santrifüj edilmiştir ve koleksiyon tüpü atılıp yenisi takılmıştır. Yıkamak için 500 µL Wash Solution 1 eklenmiştir ve tekrar 1 dk santrifüj edilmiştir. Koleksiyon tüpü tekrar atılıp yeni tüp takılmıştır. Tüplere 500 µL yıkama solüsyonu (Wash Solution) eklendikten sonra 12,000–16,000 × g hızda 3 dk santrifüj edilmiştir. Son olarak alttaki toplama tüpü değiştirildikten sonra 200 µL Elution Solution eklenmiştir ve tüpler oda sıcaklığında 1 dakika süreyle bekletildikten sonra, 6500 xg hızda 1 dk süreyle santrifüj edilerek genomik DNA elde edilmiştir. DNA saflığı nanodrop

fotometri (Thermo Fisher Scientific) cihazı ile ölçülmüştür. Elde edilen genomik DNA örnekleri -20 °C’de saklanmıştır.

Genomik DNA eldesinden sonra genomik dizileme Illumina NovaSeq v2 cihazında özel bir firmadan (Arılab, Ankara) hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır. Bundan sonraki analizler Bath Üniversitesi (İngiltere)’nin CLIMB (Cloud Infrastructure for Big Data Microbial Bioinformatics) isimli yüksek performanslı bilgisayarlı biyoinformatik platformunda yapılmıştır.

Özel firmadan alınan ham veriler (fastq formatında dosyalar) ile öncelikle Fastp yazılımı (versiyon 0.23.1) ile kötü, düşük kalitede okumaların filtrelenmesi ve varsa adaptörlerin kesilmesi işlemleri yapılmıştır (Chen vd., 2018). Fastp verileri kullanılarak genom hizalaması (de novo assembly) yapılmıştır.

Genom hizalamada SPades (versiyon 3.15.4) kullanılmıştır (Bankevich vd., 2012). Elde edilen fasta formatındaki diziler NCBI genom veri tabanına yüklenerek erişim numaraları alınmıştır. Proje çıktıları NCBI tabanında bir Biyoproje (Bioproject) olarak ve her bir izolat Biyolojik örnek (Biosample) olarak yüklenmiştir.

Fastp ile filtrelenen, kesilen okumalar aynı zamanda bwa (Burrows-Wheeler Aligner) isimli bir yazılım aracı kullanılarak *X. campestris* pv. *campestris* SB80 isimli bir referans genoma haritalaması yapılmıştır (Li ve Durbin, 2009). Elde edilen bam dosyaları samtool aracılığıyla genom kapsama derinliğini (genome coverage) hesaplamak amacıyla kullanılmıştır (Li vd., 2009).

3.5.2. Genom Anotasyonu ve Filogenisi

Genom hizalamadan ve birleştirmeden sonra elde edilen fasta formatında diziler ile genom anotasyonu yapılmıştır. Anotasyon için Prokka (versiyon 1.2) yazılım aracı kullanılmıştır (Seeman, 2014).

Prokka anotasyonu sonrası elde edilen GFF3 formatı dosyaları ile Roary veri hattı kullanılarak öz (bir grup içerisindeki bütün izolatlarda mevcut ortak genlerin tamamı) ve pan genom (bir grup içerisindeki bütün izolatlara ait genlerin tamamı) analizi yapılmıştır. NCBI veri tabanından ırkları tespit edilmiş olan izolatların fasta formatında dosyaları indirilerek, prokka analizi yapıldıktan sonra, Türk izolatlar ile birlikte Roary (versiyon 3.12.0) kullanılarak analiz yapılmıştır (Page vd., 2015). Bu amaçla kullanılan ırkları bilinen izolatlara ait bilgiler Tablo 3.5’de yer almaktadır. Sonuçların görüntülenmesi için Phandango isimli yazılım aracı (<https://jameshadfield.github.io/phandango/#/>) kullanılmıştır (Hadfield vd., 2018).

Tablo 3.5. Roary analizinde pan genom filogenisi için kullanılan ırkları bilinen *X. campestris* pv. *campestris* izolatları

İzolat ismi	NCBI erişim no	Orijin	İrk	İzole edildiği konukçu
3811	NZ_CP025750	-	1	<i>B. oleracea</i>
B100	NC_010688	Almanya	1	Rhine nehri
CFBP 1869	NZ_CM002545.1	Fildişi Sahili	1	<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i>
Xca5	NZ_HF570389.1	-	1	-
ATCC 33913	NC_003902.1	İngiltere	3	<i>B. oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>
CFBP 5817	NZ_CM002673.1	Şile	4	<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i>
SB80	NZ_CP089952	Türkiye	4	<i>B. oleracea</i>
Xcc-C7	NZ_CP077958.1	Hindistan	4	<i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i>
8004	NC_007086.1	İngiltere	9	<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i>

-:Bilinmiyor veya belirtilmemiş

Ayrıca NCBI’da kayıtlı tüm *X. campestris* pv. *campestris* genomları ile ayrı bir Roary analizi yapılmıştır. 67 adet kaliteli genom dizisi ve bu çalışmaya ait 14 izolat ile ayrı bir Roary analizi yapılmıştır. NCBI’de kayıtlı olan ve karşılaştırmalı genom analizinde kullanılan *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarına ait bilgiler Ek-2’de verilmiştir.

Buradan elde edilen veriler ile *X. campestris* pv. *campestris* izolatları arasındaki filogenetik ilişkiyi anlamak amacıyla öz genoma dayalı filogenetik analiz yapılmıştır. Filogenetik ağaç IQ-tree (versiyon 1.6.12) yazılımı ile elde edilmiştir (Minh vd., 2020) ve iTOL v6 (<https://itol.embl.de/>) web tabanlı yazılım aracı kullanılarak filogenetik ağaç düzenlemesi, anotasyonu yapılmıştır ve görüntülenmiştir (Letunic ve Bork, 2021).

3.5.3. Tip III Efektörleri

Çalışmanın bu aşamasında, *X. campestris* pv. *campestris*’in patojenisite için kullandığı başlıca Tip III salgı sistemi efektörleri ve aday avirülens genlerinin varlığı/yokluğu araştırılmıştır. Bu çalışmaya ait 14 adet *X. campestris* pv. *campestris* izolatının yanı sıra Genbank’ta yer alan ırkı bilinen diğer *X. campestris* pv. *campestris* genom verileri de kullanılarak BLAST yardımıyla bilinen tip III efektörlerinin varlığı/yokluğu analiz edilmiştir. Bu amaçla, bilinen T3E (tip III efektör)’lerinin ve avirülens genlerinin yer aldığı bir online veri tabanı (<http://www.xanthomonas.org/t3e.html>) kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Arazi Çalışmaları

Arazi çalışmaları bir önceki yılın lahana üretim alanı verileri baz alınarak yapılmıştır. Ancak bazı ilçelerde bir önceki yılın istatistik verilerinden farklı olarak aynı miktarda üretim yapılmadığı görülmüştür. Bu nedenle, Çorum'un Kargı, Alaca ve Mecitözü ilçelerinde sürvey yılında ticari olarak beyaz baş lahana üretimi yapılmadığı için örnek alınamamıştır. Sürveylerde toplamda 360 tarlada inceleme yapılmıştır ve 330 adet örnek alınmıştır. Bazı tarlalarda siyah damar çürüklük hastalığı ile şüpheli örnek gözlemlenmemiştir.

Arazi çalışmalarında siyah damar çürüklük hastalığının farklı lokasyonlarda, farklı vejetasyon dönemlerinde tipik hastalık şiddetine sahip örneklerle ait görüntüleri Şekil 4.1'de verilmiştir. Sürveylerde yaprak uçlarında V şeklinde nekrotik, klorotik lezyonlar ve vasküler dokularda kararmalar şeklinde literatürde belirtilen tipik hastalık belirtileri gözlemlenmiştir. Hastalık etmeninin hidatod yoluyla giriş yapmasından kaynaklı hastalık belirtileri yaprak uçlarında başladığı gözlemlenmiştir. Stomalardan giriş ile göstermiş olduğu yaprak ortasındaki belirtilere çok nadiren rastlanılmıştır. Arazi çalışması lahana fidelerinin tarlaya dikiminden hasat dönemine kadar yapıldığı için tüm vejetasyon döneminde hastalık belirtileri gözlemlenmiştir. Hastalık şiddetinin yüksek olduğu tarlalarda lahana başlarının küçük kaldığı ve yeterince büyümediği gözlemlenmiştir. Bazı tarlalarda ise tipik hastalık belirtileri bulunmasına rağmen hastalık şiddetinin düşük olmasından kaynaklı olarak hasat döneminde lahanaların baş büyüklüklerinde hastalık belirtisi göstermeyen bitkiler ile kıyaslandığında bir farklılık olmadığı görülmüştür. Tipik hastalık belirtilerinin gözlemlendiği tarlaların hepsinden en az 1'er adet örnek alınmıştır. Aynı tarlada farklı hastalık şiddetine sahip bitkiler gözlemlendiğinde birden fazla sayıda örnek alınmıştır.



Şekil 4.1. Siyah damar çürüklük hastalığının farklı lokasyonlarda, farklı vejetasyon dönemlerinde tipik hastalık belirtilerine sahip örnek görüntüleri a) Etmenin hidatod yoluyla girdiğinde göstermiş olduğu hastalık belirtisi, b) Etmenin stomadan girdiğinde göstermiş olduğu hastalık belirtisi, c, d) Hastalık şiddetinin yüksek olduğu belirtiler, e) Hastalık bulunma oranının %100 olduğu bir tarla örneği, f, g) Hastalık bulunma oranının yüksek olduğu tarla örnekleri

4.1.1.1. Hastalığın Yaygınlığı, Bulunma Oranı ve Şiddeti

Arazi çalışmalarında her tarla için hastalığın bulunma, yaygınlık ve şiddeti hesaplandıktan sonra sırasıyla köy/mahalle, ilçe ve il düzeyinde oranlar tartılı (ağırlıklı) ortalama yöntemine göre hesaplanmıştır. Tartılı ortalama yönteminde arazi büyüklüğü baz alınmıştır.

Siyah damar çürüklük hastalığının 2019 yılında köy/mahalle düzeyinde hesaplanan hastalık şiddeti, bulunma ve yaygınlık oranlarına göre; Samsun ilinin Havza ilçesi Kocapınar köyü ve Tokat ilinin Niksar ilçesi Günlüce köyü hariç, Amasya, Samsun ve Tokat illerine ait ilçe ve köylerinde hastalık etmenine rastlanılmıştır. Çorum ilinde survey yapılan Merkeze bağlı iki köy/mahalle ve Osmancık ilçesinin Gecek köyü hariç, Merkez ilçesi Boğabağı köyünde ve Osmancık ilçesi Yenidanişment köyünde hastalık etmeni tespit edilmiştir (Tablo 4.1). Tarla düzeyinde arazi surveylerine ait veriler ise Ek-1’de yer almaktadır.

Tablo 4.1. Siyah damar çürüklük hastalığının 2019 yılında köy/mahalle düzeyinde hastalık şiddeti, bulunma ve yaygınlık oranları

İl	İlçe	Köy/Mah.	Toplam alan (da)	S (%)	I (%)	P (%)
AMASYA	Taşova	Umutlu	15.00	3.87	11.33	100.00
	Merkez	Karaköprü	1.00	1.33	8.00	100.00
		Kızılca	14.60	7.15	19.18	54.79
	Suluova	Yolpınar	1.50	4.37	12.67	100.00
	Merzifon	Bulak	11.50	5.73	15.22	91.30
	Gümüşhacıköy	Yeniköy	9.10	10.38	27.30	100.00
		Merkez	0.10	29.33	56.00	100.00
ÇORUM	Hamamözü	Damladere	6.10	16.52	39.51	67.21
		Merkez	6.00	0.00	0.00	0.00
		Tarhan	1.00	0.00	0.00	0.00
	Sungurlu	Boğabağı	4.70	1.63	9.15	95.74
		Demirşeyh	127.00	1.78	8.59	77.56
	Osmancık	Yenidanişment	2.00	0.28	2.50	75.00
		Gecek	2.30	0.00	0.00	0.00
TOKAT	Erbaa	Kaleköy	3.00	7.70	20.00	100.00
		Karayakı	15.00	0.00	0.00	100.00
		Yenimahalle	6.00	1.19	2.67	33.33
	Niksar	Buzköy	6.50	3.06	9.08	92.31
		Yeşilhisar	7.80	7.59	18.08	97.44
		Direkli	22.00	4.04	13.50	97.73
		Günlüce	0.10	0.00	0.00	0.00
	Reşadiye	Bostankolu	6.45	3.67	10.39	82.95

Tablo 4.1. (devam)

İl	İlçe	Köy/Mah.	Toplam alan (da)	S (%)	I (%)	P (%)
TOKAT	Merkez	Hasanbaba	11.90	0.68	1.98	10.08
		Gezirlik	2.50	0.69	2.08	48.00
		Yeşilova	0.80	1.25	3.75	62.50
		Çerçi	7.00	0.38	1.14	28.57
		Küçükbağlar	7.00	2.48	7.43	57.14
	Pazar	Esentepe	6.00	2.78	8.33	83.33
		Merkez	4.20	5.48	13.90	100.00
		Menteşeköyü	9.00	6.81	17.78	100.00
		Üzümören	0.20	3.33	10.00	50.00
		Bağlarbaşı	2.10	17.21	44.00	100.00
	Turhal	Dökmetepe	70.20	3.26	8.80	61.54
		Hamam	5.00	2.00	6.00	60.00
SAMSUN	Havza	Yenice	14.90	0.66	2.15	13.42
		Ersandık	1.50	5.78	14.67	66.67
		Kocapınar	0.20	0.00	0.00	0.00
	Çarşamba	Köklük	97.70	3.76	12.12	80.35
		Ovacık	1.60	2.01	7.63	100.00
	Vezirköprü	Yukarınarlı	23.10	20.90	40.91	100.00
	Ladik	Aşağıgölyazı	7.00	4.92	12.86	100.00
	Ondokuzmayıs	Kumcağız	34.00	2.33	7.00	100.00
		Tepeköy	26.00	3.10	9.15	100.00
		Çandır	9.50	2.57	8.84	100.00
	Alaçam	Doyran	7.40	7.05	18.22	100.00
		Yeniköy	6.00	8.89	24.00	100.00
		Yukarıelma	0.30	33.56	70.00	100.00
		Soğukçam	34.00	10.16	22.88	64.71
	Bafra	Ağıllar	140.00	21.82	45.46	90.71
		Adaköy	15.00	5.85	19.33	100.00
		Türbe	208.00	12.99	32.48	100.00
		Kuşçular	28.00	11.14	26.00	100.00
		İkiztepe	71.00	14.18	35.66	100.00
		Harız	72.00	11.55	30.03	100.00
		Karpuzlu	154.00	20.14	45.29	100.00
		Koşuköy	20.00	6.36	18.80	100.00
		Yeşilyazı	6.00	5.56	14.00	100.00
		Osmanbeyli	241.00	11.68	32.18	100.00
		Kaygusuz	107.00	27.23	58.06	100.00
		Lengerli	32.00	15.76	36.88	100.00
		Sarıkaya	45.00	32.12	69.39	100.00
		Karınca	8.00	29.33	64.00	100.00
		Bakırpınar	9.00	5.93	15.11	100.00

S: Hastalık şiddeti (*Severity*), **I:** Hastalığın bulunma oranı (*Incidence*), **P:** Hastalığın yaygınlık oranı (*Prevalence*)

Hastalık etmeninin il düzeyindeki hastalık şiddeti, bulunma ve yaygınlık oranlarının tartılı ortalamalarına göre; hastalık şiddeti (%14.64), bulunma (%34.60) ve yaygınlık (%95.93) oranları ile en yüksek değere sahip il olarak Samsun ili tespit edilmiştir. En yüksek hastalık şiddeti, bulunma ve yaygınlık oranları bakımından diğer iller ise sırasıyla Amasya (%7.31, %19.27, %94.91), Çorum (%1.67, %8.17, %82.52) ve Tokat (%3.27, %9.06, %71) olarak yer almıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Siyah damar çürüklük hastalığının 2019 yılında ilçe ve il düzeyinde hastalık şiddeti, bulunma ve yaygınlık oranları

İl	İlçe	Toplam alan (da)	İlçe			İl		
			S (%)	I (%)	P (%)	S (%)	I (%)	P (%)
AMASYA	Taşova	15.00	3.60	10.53	100.00	7.31	19.27	94.91
	Merkez	15.60	6.78	18.46	100.00			
	Suluova	1.50	4.37	12.67	100.00			
	Merzifon	11.50	5.73	15.22	91.30			
	Gümüşhacıköy	9.10	10.38	27.30	100.00			
	Hamamözü	6.20	16.73	39.77	67.74			
ÇORUM	Merkez	11.70	0.66	3.68	38.46	1.67	8.17	82.52
	Sungurlu	127.00	1.82	8.82	88.19			
	Osmancık	4.30	0.13	1.16	34.88			
TOKAT	Erbaa	24.00	1.26	3.17	83.33	3.27	9.06	71.00
	Niksar	36.40	4.61	13.65	96.43			
	Reşadiye	6.45	3.83	11.07	96.90			
	Merkez	29.20	1.06	3.14	30.48			
	Pazar	21.50	6.41	16.87	94.88			
	Turhal	75.20	3.17	8.61	61.44			
SAMSUN	Havza	16.60	1.11	3.25	18.07	14.64	34.60	95.93
	Çarşamba	99.30	3.73	12.05	80.66			
	Vezirköprü	23.10	20.90	40.91	100.00			
	Ladik	7.00	4.92	12.86	100.00			
	Ondokuzmayıs	69.50	2.65	8.06	100.00			
	Alaçam	47.70	9.67	22.60	74.85			
	Bafra	1.156.00	16.63	39.09	98.87			

S: Hastalık şiddeti (*Severity*), **I:** Hastalığın bulunma oranı (*Incidence*), **P:** Hastalığın yaygınlık oranı (*Prevalence*)

2020 yılında arazi sürveyleri, beyaz lahana üretiminin en yoğun olarak yapıldığı ilçe olan Bafra ilçesinde 52 tarlada toplam 520 da alanda yapılmıştır. Bafra'nın Ağıllar, Bakırpınar, Harız, İkiztepe, Karıncak, Karpuzlu, Kaygusuz, Koşuköy, Kuşçular, Osmanbeyli, Sarıkaya, Türbe ve Yeşilyazı köy veya mahallelerinde arazi sürveyleri yapılarak her tarla için hastalığın yaygınlığı, bulunma

oranı ve şiddeti hesaplanmıştır. Arazinin alanı ve GPS koordinatları da not alınmıştır. Daha sonra hastalığın yaygınlığı, bulunma oranı ve şiddeti her köy/mahalle için ve ilçe düzeyinde tartılı ortalama yöntemine göre hesaplanmıştır (Tablo 4.3). Buna göre; hastalık tüm köy ve mahallelerde mevcuttur (%81.35), ancak hastalığın bulunma oranı (%14.40) ve şiddeti (%4.83) yaygınlık oranına göre daha düşük oranlarda tespit edilmiştir.

Tablo 4.3. 2020 yılı Bafra ilçesi arazi surveyinde köy/mahalle düzeyinde göre hastalık şiddeti, bulunma ve yaygınlık oranları

İlçe	Köy/Mah.	Toplam incelenen alan (da)	S (%)	I (%)	P (%)
Bafra	Ağıllar	45.00	2.68	7.60	60.00
	Bakırpınar	11.00	5.98	15.27	100.00
	Harız	45.00	5.60	18.22	86.67
	İkiztepe	22.00	3.11	10.55	72.73
	Karınca	10.00	5.78	16.00	100.00
	Karpuzlu	90.00	4.77	16.33	83.33
	Kaygusuz	47.00	3.92	12.34	74.47
	Koşuköy	19.00	3.88	12.21	100.00
	Kuşçular	30.00	1.01	3.20	60.00
	Osmanbeyli	49.00	8.98	23.27	91.84
	Sarıkaya	30.00	7.56	20.00	100.00
	Türbe	116.00	4.57	13.48	79.31
	Yeşilyazı	6.00	5.56	14.00	100.00
Tartılı Ortalama		520.00	4.83	14.40	81.35

S: Hastalık şiddeti (*Severity*), **I:** Hastalığın bulunma oranı (*Incidence*), **P:** Hastalığın yaygınlık oranı (*Prevalence*)

2019 yılına kıyasla 2020 yılında hastalık aynı bölgede daha düşük hastalık bulunma oranı ve şiddetine sahiptir. 2019 yılında Bafra ilçesinde hastalığın yaygınlığı %98.87 iken 2020 yılında %81.35, bulunma oranı sırasıyla %39.09 ve %14.40, şiddeti ise sırasıyla %16.63 ve %4.83 olarak hesaplanmıştır. 2019 yılında yapılan surveyde tarlada rastgele W deseni şeklinde gezilerek incelenen lahana bitkilerinin %39'unda tipik hastalık belirtileri gözlemlenirken 2020 yılında %14-15'inde gözlemlenmiştir. Ayrıca hastalık şiddeti de bir önceki yıla oranla daha az şiddetlidir. Ancak hastalığın şiddetinin veya bulunma oranının az olmasına rağmen yaygınlığı ortalama %81 olarak tespit edilmiştir.

4.1.2. İzolasyon

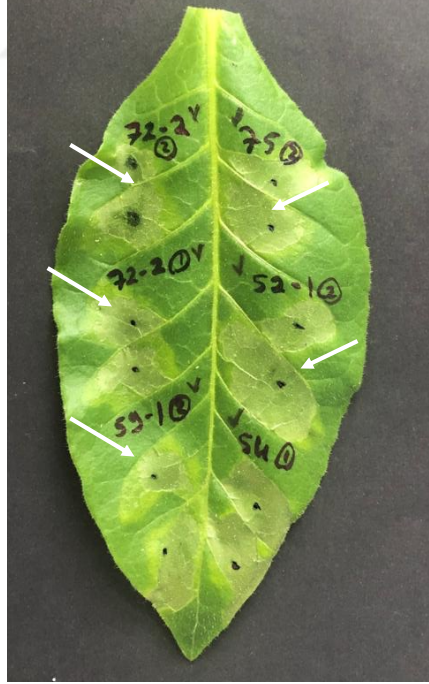
Arazi çalışmalarında; toplamda 360 tarlada inceleme yapılmıştır ve tipik hastalık belirtisi gösteren 330 adet örnek alınmıştır. İzolasyon çalışması sonucunda, Samsun iline ait 220, Amasya iline ait 36, Çorum iline ait 20 ve Tokat iline ait 54 olmak üzere toplam 330 adet saf izolat elde edilmiştir (Tablo 4.4).

4.1.3. Tanılama Çalışmaları

Aday *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının tanılama çalışmalarında tütünde aşırı duyarlılık, patojenisite testi, morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler tanılama testleri yapılmıştır. Tanılama çalışmalarında referans izolatlar da kullanılmıştır.

4.1.3.1. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi

Aday izolatların patojen özellikte olup olmadıklarını belirlemek amacıyla tütünde aşırı duyarlılık testi yapılmıştır. Aday 330 adet izolattan 307 adeti, tütün (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun) yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olmuştur (Şekil 4.2.).

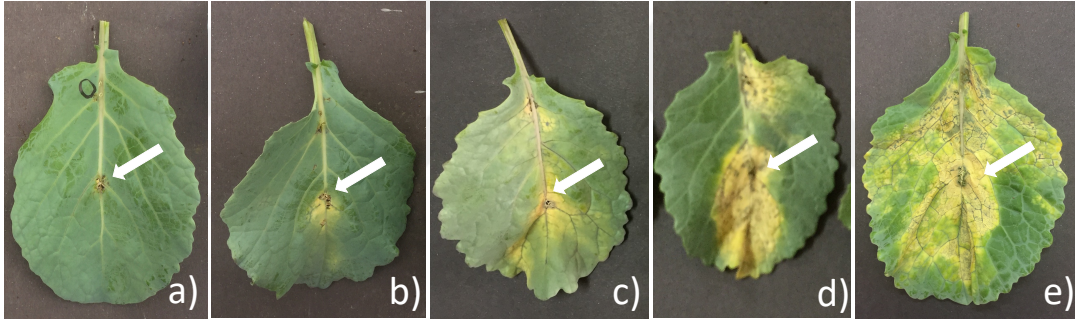


Şekil 4.2. Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu (ok)

4.1.3.2. Patojenisite Testi

Patojenisite testinde tüm aday izolatlar hassas olduğu bilenen “Wirosa F1” isimli çeşit kullanılmıştır. Bakteriyel süspansiyon çeneli pens yardımıyla inokule edildikten sonra 10. günde reaksiyon sonuçları değerlendirilmiştir (Şekil 4.3). Enfekteli bitkilerin yapraklarında herhangi belirti oluşturmeyen (negatif reaksiyon gösteren) bakteri izolatları çalışmalardan çıkartılmıştır.

Patojenisite testinde, Çorum Merkez ilçesine ait 1 izolat (ÇM5), Tokat Merkez ilçesine ait 2 adet izolat (TM5 ve TM10), Samsun Bafra ilçesine ait 9 izolat (SB25, SB47-2, SB54, SB58, SB64, SB105, SB106, SB112 ve SB116), Alaçam ilçesine ait 4 izolat (SA3, SA7-2, SA8-2 ve SA9-1), Ondokuzmayıs ilçesine ait 2 izolat (SO9-1 ve SO14), Çarşamba ilçesine ait 4 izolat (SÇ4, SÇ9, SÇ14 ve SÇ21) ve Havza ilçesine ait 1 izolat (SH9) olmak üzere toplam 23 adet izolat negatif sonuç vermiştir (Tablo 4.4). Geriye kalan izolatlar (307 adet) pozitif reaksiyon göstermiştir.



Şekil 4.3. Patojenisite testi 10. gün sonuçlarında farklı hastalık şiddetine sahip örnekler a) SÇ-9 isimli izolatın negatif reaksiyonu (0 skala değeri), b) SA7-1 izolatı (1 skala değeri) c) AH4-1 izolatı (2 skala değeri) d) AMN4-2 izolatı (3 skala değeri) e) SB76-2 izolatı (4 skala değeri) (ok)

Patojenisite testinde aynı zamanda izolatların virülenslik düzeyleri de belirlenmiştir. Bu amaçla 10. günde planimetre kullanılarak hastalıklı alan ve tüm alan ölçümü yapıldıktan sonra hastalıklı alan oranına göre hastalık şiddeti dolayısıyla izolatların virülenslik düzeyleri belirlenmiş olup, bu testte 23 adet izolat negatif reaksiyon gösterirken 307 adet pozitif reaksiyon göstermiştir. Pozitif reaksiyon gösteren 307 adet izolattan 39 adedi (%12.70) 1 skalası, 55 adedi (%17.91) 2 skalası, 80 adedi (%26.06) 3 skalası ve 133 adedi (%43.32) ise yüksek virülensliğe sahip 4 skalasındaki hastalık şiddetine sebep olmuşlardır (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Aday *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının virülenslik değerleri

İzolat adı	Ortalama hastalık şiddeti $\pm$ Standart hata	Skala değeri	İzolat adı	Ortalama hastalık şiddeti $\pm$ Standart hata	Skala değeri
AT1	0.9 ± 0.05	4	ÇOK3	0.51 ± 0.08	3
AT2	0.59 ± 0.03	3	TE1	0.81 ± 0.11	4
AT3	1 ± 0	4	TE2	0.76 ± 0.07	4
AT4	1 ± 0	4	TE7	0.88 ± 0.07	4
AT5	0.67 ± 0.05	3	TN1	0.81 ± 0.1	4
AT6	0.97 ± 0.02	4	TN2	0.78 ± 0.06	4
AM1	0.55 ± 0	3	TN3	0.44 ± 0	2
AM4	0.38 ± 0.01	2	TN5	0.47 ± 0.02	2
AM5	0.48 ± 0.01	2	TN6	0.42 ± 0.01	2
AM6	0.37 ± 0.02	2	TN8	0.5 ± 0.01	3
AM8	0.15 ± 0.03	1	TN9	0.39 ± 0.03	2
AM11	0.78 ± 0.13	4	TN10	0.95 ± 0.03	4
AS1	0.21 ± 0.09	1	TN11	0.27 ± 0.03	2
AS2	0.54 ± 0.02	3	TN12	0.46 ± 0.08	2
AMN1-1	0.66 ± 0.05	3	TN13	0.85 ± 0.09	4
AMN1-2	1 ± 0	4	TN15	0.89 ± 0.12	4
AMN2	1 ± 0	4	TN16-1	0.26 ± 0.03	2
AMN3	0.96 ± 0.02	4	TN16-2	1 ± 0	4
AMN4-1	0.48 ± 0.02	2	TN18	0.69 ± 0.1	3
AMN4-2	0.63 ± 0.07	3	TR1	0.93 ± 0.04	4
AMN5	1 ± 0	4	TR2	0.46 ± 0.07	2
AMN6	1 ± 0	4	TR3	0.89 ± 0.07	4
AG1	1 ± 0	4	TR4	0.9 ± 0	4
AG2	0.59 ± 0.11	3	TR5	0.87 ± 0.02	4
AG3	0.82 ± 0.05	4	TR7	0.77 ± 0.09	4
AG4	1 ± 0	4	TR9	0.59 ± 0.08	3
AG5	0.95 ± 0.03	4	TR11	0.91 ± 0.05	4
AG6	0.65 ± 0.01	3	TR13	0.97 ± 0.02	4
AH1-1	0.38 ± 0.13	2	TM3	0.54 ± 0	3
AH1-2	1 ± 0	4	TM5	0 ± 0	0
AH2-1	0.83 ± 0.03	4	TM8	0.49 ± 0.09	2
AH2-2	0.25 ± 0.02	2	TM10	0 ± 0	0
AH4-1	0.45 ± 0.01	2	TM12	0.29 ± 0	2
AH4-2	0.24 ± 0.02	1	TM16	0.9 ± 0.1	4
AH5-1	0.93 ± 0.04	4	TM17	0.41 ± 0.02	2
AH5-2	1 ± 0	4	TM19	0.89 ± 0.07	4
ÇM5	0 ± 0	0	TM22	0.52 ± 0.09	3
ÇM6	0.22 ± 0.08	1	TP2	0.97 ± 0.02	4
ÇS2	0.2 ± 0.06	1	TP3	0.67 ± 0	3
ÇS3	0.12 ± 0.06	1	TP4	0.81 ± 0.03	4
ÇS6-1	0.32 ± 0.08	2	TP5	0.78 ± 0	4
ÇS6-2	0.29 ± 0.03	2	TP6	0.79 ± 0.12	4
ÇS7	0.38 ± 0.11	2	TP8	0.87 ± 0.09	4
ÇS9	0.15 ± 0.08	1	TP9	0.97 ± 0.03	4
ÇS10	0.77 ± 0.11	4	TP10	0.44 ± 0.15	2
ÇS12	0.03 ± 0.01	1	TT1	0.67 ± 0	3
ÇS14	0.79 ± 0.11	4	TT2	0.22 ± 0.06	1
ÇS15	0.74 ± 0.11	3	TT3	0.92 ± 0.05	4
ÇS16	0.74 ± 0.13	3	TT6	0.87 ± 0.09	4
ÇS17	0.42 ± 0.12	2	TT7	0.65 ± 0.12	3
ÇS18-1	1 ± 0	4	TT8	0.96 ± 0.04	4
ÇS18-2	0.84 ± 0.1	4	TT9-1	0.69 ± 0.08	3
ÇS19	0.9 ± 0.06	4	TT9-2	0.87 ± 0.08	4
ÇS20	0.9 ± 0.11	4	TT10	0.53 ± 0.05	3
ÇOK1	0.62 ± 0.09	3	TT15	0.64 ± 0.03	3

Tablo 4.4. (devam)

İzolât adı	Ortalama hastalık şiddeti $\pm$ Standart hata	Skala değeri	İzolât adı	Ortalama hastalık şiddeti $\pm$ Standart hata	Skala değeri
SH2	0.4 ± 0.09	2	SA1	0.29 ± 0.08	2
SH9	0 ± 0	0	SA2	0.56 ± 0.06	3
SÇ1	0.57 ± 0.1	3	SA3	0 ± 0	0
SÇ2	0.5 ± 0.02	3	SA4	0.63 ± 0.09	3
SÇ3	0.83 ± 0.1	4	SA5	0.07 ± 0.04	1
SÇ4	0 ± 0	0	SA6-2	0.05 ± 0.01	1
SÇ6	0.05 ± 0.03	1	SA7-1	0.05 ± 0.01	1
SÇ7	0.15 ± 0	1	SA7-2	0 ± 0	0
SÇ8	0.06 ± 0.01	1	SA8-1	0.06 ± 0.01	1
SÇ9	0 ± 0	0	SA8-2	0 ± 0	0
SÇ10	0.43 ± 0.11	2	SA9-1	0 ± 0	0
SÇ11	0.87 ± 0.08	4	SA9-2	0.77 ± 0.1	4
SÇ12	0.72 ± 0.1	3	SA10	0.53 ± 0.04	3
SÇ13	0.4 ± 0.09	2	SA11	0.24 ± 0.07	1
SÇ14	0 ± 0	0	SA12	0.64 ± 0.13	3
SÇ17	0.69 ± 0.11	3	SA14	0.51 ± 0.12	3
SÇ18	0.85 ± 0.02	4	SB1	0.98 ± 0.02	4
SÇ19	0.31 ± 0.1	2	SB3	1 ± 0	4
SÇ20	0.39 ± 0.11	2	SB5	0.17 ± 0	1
SÇ21	0 ± 0	0	SB6	0.51 ± 0.01	3
SÇ22	0.32 ± 0.1	2	SB7	0.88 ± 0.07	4
SÇ23	0.77 ± 0.11	4	SB8	1 ± 0	4
SÇ24	0.47 ± 0.05	2	SB9	1 ± 0	4
SÇ25	0.08 ± 0.04	1	SB10	1 ± 0	4
SV1	0.1 ± 0.07	1	SB11	0.66 ± 0.12	3
SV2	0.36 ± 0.06	2	SB12-1	1 ± 0	4
SV3	0.09 ± 0.02	1	SB12-2	1 ± 0	4
SV4-1	0.14 ± 0.08	1	SB13	0.16 ± 0.06	1
SV4-2	0.23 ± 0.03	1	SB14	0.7 ± 0.11	3
SV5	0.3 ± 0.05	2	SB15	1 ± 0	4
SV6	0.42 ± 0.12	2	SB16	1 ± 0	4
SV7	0.17 ± 0.01	1	SB17	0.37 ± 0.1	2
SV9	0.1 ± 0.05	1	SB18	1 ± 0	4
SV10-1	0.3 ± 0.07	2	SB19-1	0.98 ± 0.02	4
SV10-2	0.22 ± 0.05	1	SB19-2	0.13 ± 0.09	1
SL1	0.03 ± 0	1	SB20	1 ± 0	4
SL2	0.03 ± 0	1	SB21-1	0.56 ± 0.11	3
SO1	0.22 ± 0.06	1	SB21-2	1 ± 0	4
SO2-1	0.37 ± 0.05	2	SB22	1 ± 0	4
SO2-2	0.12 ± 0.02	1	SB23	0.83 ± 0.04	4
SO3	0.24 ± 0.11	1	SB24	0.07 ± 0.01	1
SO4	0.04 ± 0.01	1	SB25	0 ± 0	0
SO5	0.77 ± 0.13	4	SB26	0.83 ± 0.1	4
SO6	0.86 ± 0.07	4	SB27	0.52 ± 0	3
SO7	0.67 ± 0.03	3	SB28	0.41 ± 0.02	2
SO8	0.61 ± 0.08	3	SB29	0.77 ± 0.14	4
SO9-1	0 ± 0	0	SB30	0.29 ± 0.02	2
SO9-2	0.04 ± 0.01	1	SB31	0.4 ± 0.12	2
SO10	0.47 ± 0.09	2	SB32	0.57 ± 0.06	3
SO11	0.5 ± 0.11	3	SB33	0.71 ± 0.05	3
SO12	0.29 ± 0.04	2	SB34	0.66 ± 0.09	3
SO13	0.85 ± 0.02	4	SB35-1	0.97 ± 0.03	4
SO14	0 ± 0	0	SB35-2	0.74 ± 0.09	3
SO15	0.08 ± 0.02	1	SB36	1 ± 0	4

Tablo 4.4. (devam)

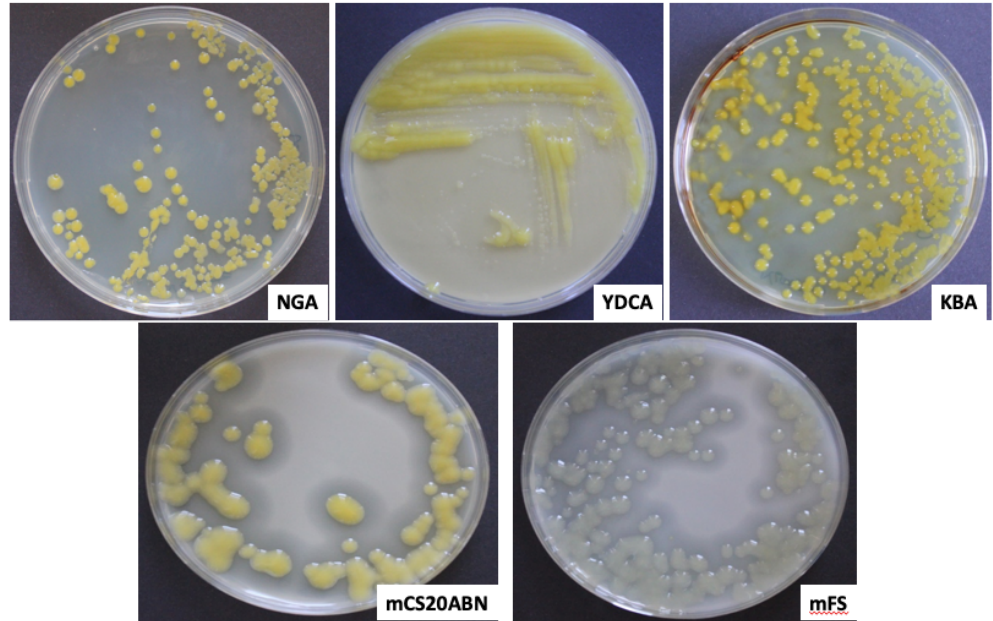
İzolât adı	Ortalama hastalık şiddeti $\pm$ Standart hata	Skala değeri	İzolât adı	Ortalama hastalık şiddeti $\pm$ Standart hata	Skala değeri
SB37	1 ± 0	4	SB75	1 ± 0	4
SB38	1 ± 0	4	SB76-1	0.72 ± 0.13	3
SB39-1	1 ± 0	4	SB76-2	0.93 ± 0.05	4
SB39-2	0.63 ± 0.03	3	SB77	0.68 ± 0.13	3
SB40-1	0.78 ± 0.12	4	SB78-1	0.69 ± 0.13	3
SB40-2	0.76 ± 0.14	4	SB78-2	0.73 ± 0.16	3
SB41-1	0.79 ± 0.12	4	SB79-1	0.88 ± 0.07	4
SB41-2	1 ± 0	4	SB79-2	0.78 ± 0.13	4
SB42	0.98 ± 0.02	4	SB81-1	0.88 ± 0.05	4
SB43-1	0.85 ± 0.09	4	SB81-2	1 ± 0	4
SB43-2	0.4 ± 0.11	2	SB82	0.65 ± 0.14	3
SB44-1	0.48 ± 0.16	2	SB83	0.84 ± 0.1	4
SB44-2	0.58 ± 0.15	3	SB84	0.32 ± 0.14	2
SB45	0.47 ± 0.09	2	SB85	0.77 ± 0.09	4
SB46-1	0.87 ± 0.08	4	SB86	0.65 ± 0.14	3
SB46-2	0.69 ± 0.11	3	SB87	0.84 ± 0.09	4
SB47-1	0.85 ± 0.1	4	SB88	0.88 ± 0.08	4
SB47-2	0 ± 0	0	SB89	0.77 ± 0.12	4
SB48	1 ± 0	4	SB90	0.56 ± 0.11	3
SB49	0.4 ± 0.09	2	SB91	0.65 ± 0.12	3
SB50-1	0.69 ± 0.01	3	SB92	0.48 ± 0.03	2
SB50-2	0.62 ± 0.12	3	SB93	0.48 ± 0.14	2
SB51-1	0.79 ± 0.07	4	SB94	0.23 ± 0.01	1
SB51-2	0.88 ± 0	4	SB95	0.62 ± 0.12	3
SB52-1	0.62 ± 0.14	3	SB96	0.62 ± 0.14	3
SB52-2	0.45 ± 0.14	2	SB97	0.75 ± 0.14	4
SB53	0.53 ± 0.01	3	SB98	0.74 ± 0.09	3
SB54	0 ± 0	0	SB99	0.67 ± 0.01	3
SB55-1	1 ± 0	4	SB100	0.54 ± 0.1	3
SB55-2	0.74 ± 0.09	3	SB101	0.7 ± 0.15	3
SB56-1	0.8 ± 0.12	4	SB102	0.66 ± 0.08	3
SB56-2	0.78 ± 0.13	4	SB103	0.6 ± 0.13	3
SB57-1	1 ± 0	4	SB104	0.43 ± 0.11	2
SB57-2	1 ± 0	4	SB105	0 ± 0	0
SB58	0 ± 0	0	SB106	0 ± 0	0
SB59-1	0.81 ± 0.12	4	SB107	0.86 ± 0.08	4
SB59-2	0.84 ± 0.1	4	SB108	0.52 ± 0.09	3
SB60	0.63 ± 0.12	3	SB109	0.83 ± 0.1	4
SB61	1 ± 0	4	SB110	0.81 ± 0.08	4
SB62	1 ± 0	4	SB111	0.47 ± 0.12	2
SB63	0.95 ± 0.03	4	SB112	0 ± 0	0
SB64	0 ± 0	0	SB113	0.7 ± 0.13	3
SB65	1 ± 0	4	SB114	0.67 ± 0.12	3
SB66	1 ± 0	4	SB115	0.67 ± 0.14	3
SB67	0.5 ± 0.15	3	SB116	0 ± 0	0
SB68-1	0.96 ± 0.02	4	SB117	0.87 ± 0.09	4
SB68-2	0.63 ± 0.03	3	SB118	0.46 ± 0.08	2
SB69	0.69 ± 0.12	3	SB119	0.15 ± 0.04	1
SB70	0.93 ± 0.08	4	SB120	0.55 ± 0.1	3
SB71-1	0.56 ± 0.14	3	SB121	0.94 ± 0.06	4
SB71-2	0.79 ± 0.05	4	SB122	0.93 ± 0.08	4
SB72-1	0.71 ± 0.11	3	SB123	0.91 ± 0.09	4
SB72-2	0.47 ± 0.11	2	SB124	0.87 ± 0.05	4
SB73-1	0.75 ± 0.1	4	SB125	0.47 ± 0.09	2
SB73-2	0.74 ± 0.1	3	SB126	1 ± 0	4
SB74	0.9 ± 0.1	4	SB127	1 ± 0	4

4.1.3.3. Morfolojik, Biyokimyasal ve Fizyolojik Tanılama Sonuçları

Morfolojik Tanı:

Aday *X. campestris* pv. *campestris* izolatların NGA besiyerinde 24-26 °C’de 48 saatlik inkübasyon sonucunda; sarı renkli, parlak görünümlü, akışkan formda, düzgün kenarlı ve yüzeyli koloniler oluşturduğu gözlemlenmiştir. YDCA besiyerinde sarı renkli, parlak görünümlü, düzgün kenarlı, düzgün yüzeyli ve akışkan formda koloniler gözlemlenmiştir. Aday izolatlar KBA besiyerinde ise sarı renkli, düzgün yüzeyli, düzgün kenarlı ve mukoid koloniler oluşturmuşlardır (Şekil 4.4).

Aday izolatların genel besiyeri dışında 2 adet yarı selektif besiyerinde de gelişimleri gözlenmiştir. mCS20ABN besiyerinde ayva sarısı, mukoid ve nişastayı hidroliz etmelerinden dolayı bir zonla çevrili şekilde koloni oluşturmuşlardır. mFS besiyerinde de mukoid, kremimsi-beyaz, nişastayı hidrolize etmelerinden dolayı çok ince zonla çevrili koloni oluşturmuşlardır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Aday *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının farklı besiyerlerinde koloni yapıları

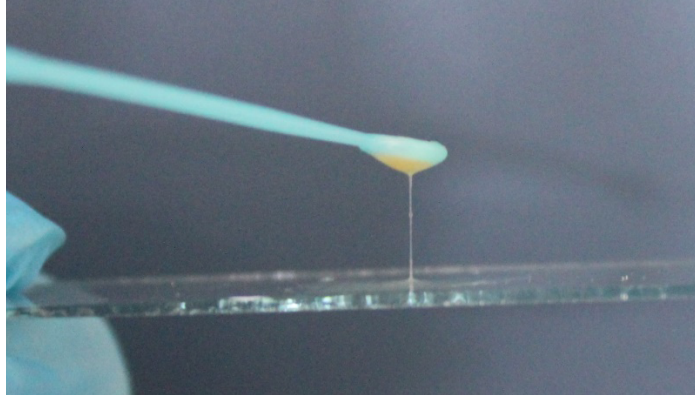
Patojenisite testinde negatif reaksiyon gösteren izolatlar yarı selektif besiyerleri olan mCS20ABN ve mFS’de gelişme göstermemiştir.

Gram Boyama Testi:

Gram boyama testi sonucunda tüm izolatların Gram negatif olduğu belirlenmiştir.

Potasyum Hidroksitte (KOH) Çözünme Testi:

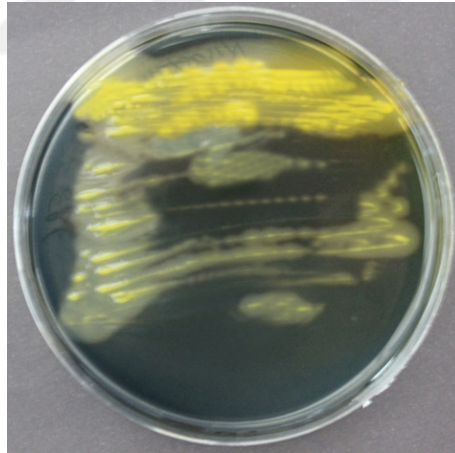
KOH testinde tüm aday izolatların viskoz, yapışkanimsı bir sünmeye neden olduğu ve pozitif reaksiyon sonucu Gram negatif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. KOH testinde SB81-1 isimli izolatın pozitif reaksiyonu

Nişastanın Hidrolizi Testi:

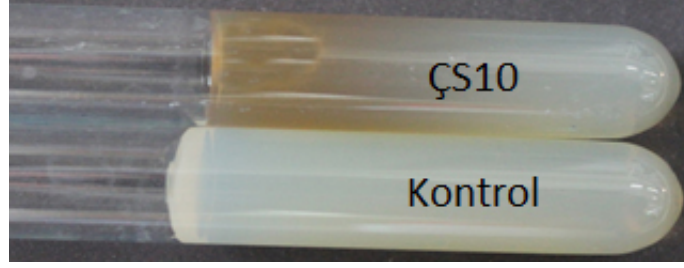
Nişastanın hidrolizasyonu testinde petride lugol solusyonu eklendiğinde ortamın rengi koyu mavi-siyaha döndüğünde kolonilerin etrafında açık bölgenin oluşmuştur ve test sonucu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Nişastanın hidrolizi testinde AG6 isimli izolatın pozitif reaksiyonu

Eskulinin Hidrolizi Testi:

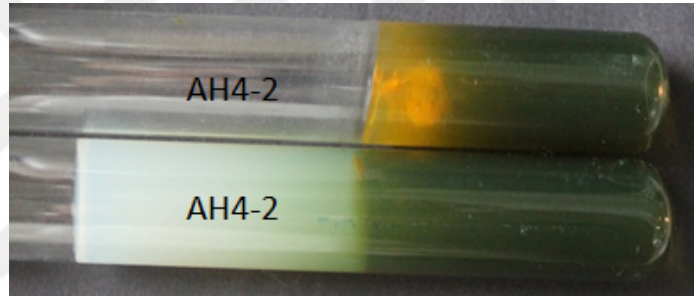
Tüm aday izolatlar bu teste pozitif reaksiyon göstermiştir. Eskulinin hidrolizasyonu testinde hazırlanan tüplere bakteri ekimin sonrası inkübasyon sonucunda eskulinin hidroliziyle ortam renginin kahverengiye dönüştüğü gözlemlenmiştir ve sonuçlar pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Eskulinin hidrolizi testinde ÇS10 isimli izolatın pozitif reaksiyonu

Oksidasyon/Fermantasyon Testi:

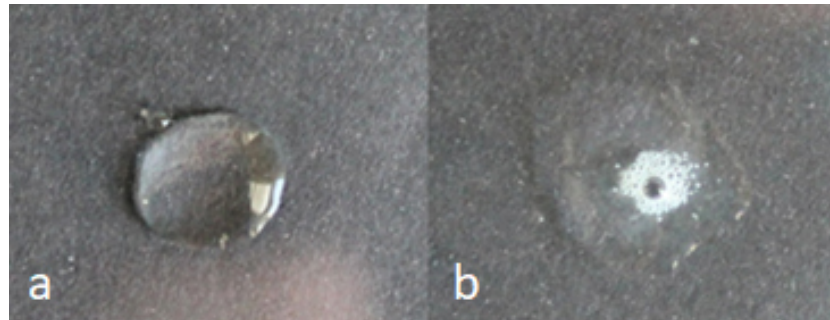
Bu testte tüm aday izolatlar, oksijenli ortama aşılandığında inkübasyon sonucu tüpte glikozdan asit üretimi yaparak ortamın zeytin yeşili rengini portakal-sarı renge dönüştürerek oksidatif reaksiyon gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.8). Agar ile kapatılan oksijensiz olan tüpte ise renk değişimi gözlenmemiştir. Tüm aday izolatlar oksidatif reaksiyon göndermiştir.



Şekil 4.8. Oksidatif fermentatif testinde AH4-2 isimli izolatın oksidatif reaksiyonu

Katalaz Testi:

Bu teste tüm aday izolatlar lam üzerine %3'lük H_2O_2 eklendikten sonra hava kabarcıkları çıkmıştır ve pozitif reaksiyon göstermiştir (Şekil 4.9).



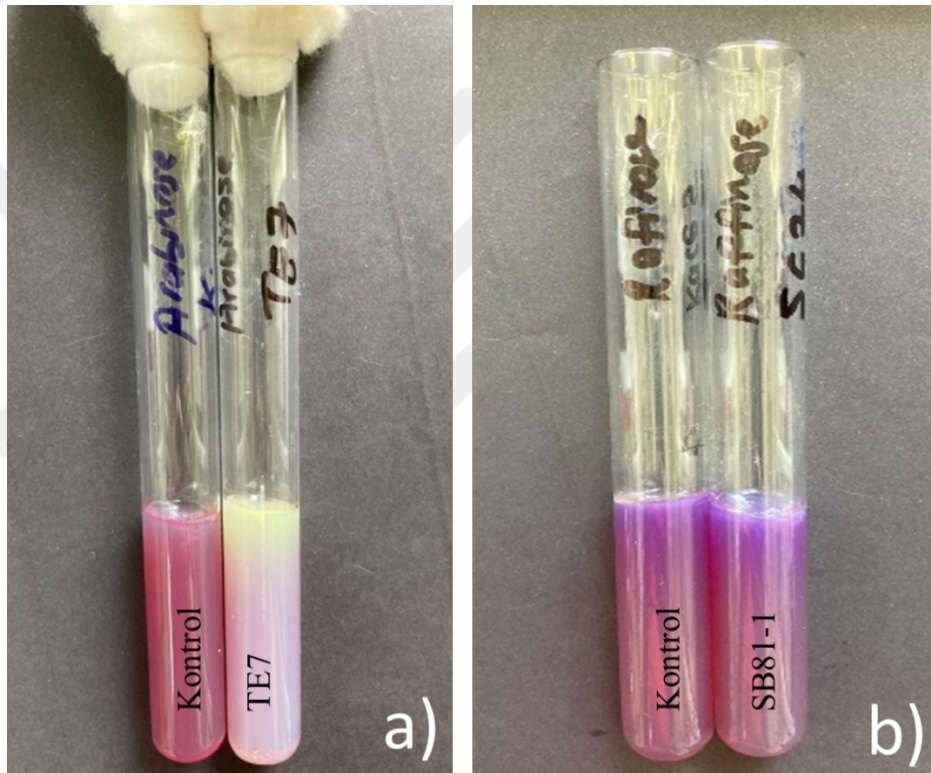
Şekil 4.9. Katalaz testi; a) Negatif reaksiyon, b) SB81-1 isimli izolatın pozitif reaksiyonu

35 °C'de Gelişme Testi:

Tüm aday izolatlar 35 °C'de gelişme göstermişlerdir.

Karbonhidratların Kullanımı Testi:

Karbonhidratlardan asit oluşumu testlerinde; besiyerinde d-Mannose, d-Arabinose, d-Glucose, d-Xylose, d-Cellobiose, d-Galactose ve Sucrose karbon kaynakları kullanıldığında tüplerde asit üretiminden kaynaklı olarak mordan sarıya dönen bir renk değişimi olmuştur ve test sonuçları pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir. Karbon kaynağı olarak, d-Trehalose, Raffinose ve d-Mannitol kullanıldığında ise aday izolatlar asit üretimine neden olmayarak tüplerde herhangi bir renk değişimine sebep olmamıştır ve test sonucu negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Karbonhidratların kullanımı testi; a) TE7 isimli izolatın D-Arabinose karbon kaynağı testinde pozitif reaksiyonu, b) SB81-1 isimli izolatın Raffinose karbon kaynağı testinde negatif reaksiyonu

Aday *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının biyokimyasal ve fizyolojik test sonuçları ve referans reaksiyon verileri Tablo 4.5'te verilmiştir. Buna göre, aday izolatların hepsi biyokimyasal ve fizyolojik test sonuçları ile literatürdeki referans alınan sonuçlar arasında farklılık bulunmadığı gözlemlenmiştir.

Tablo 4.5. Aday *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* izolatlarının biyokimyasal ve fizyolojik test sonuçları

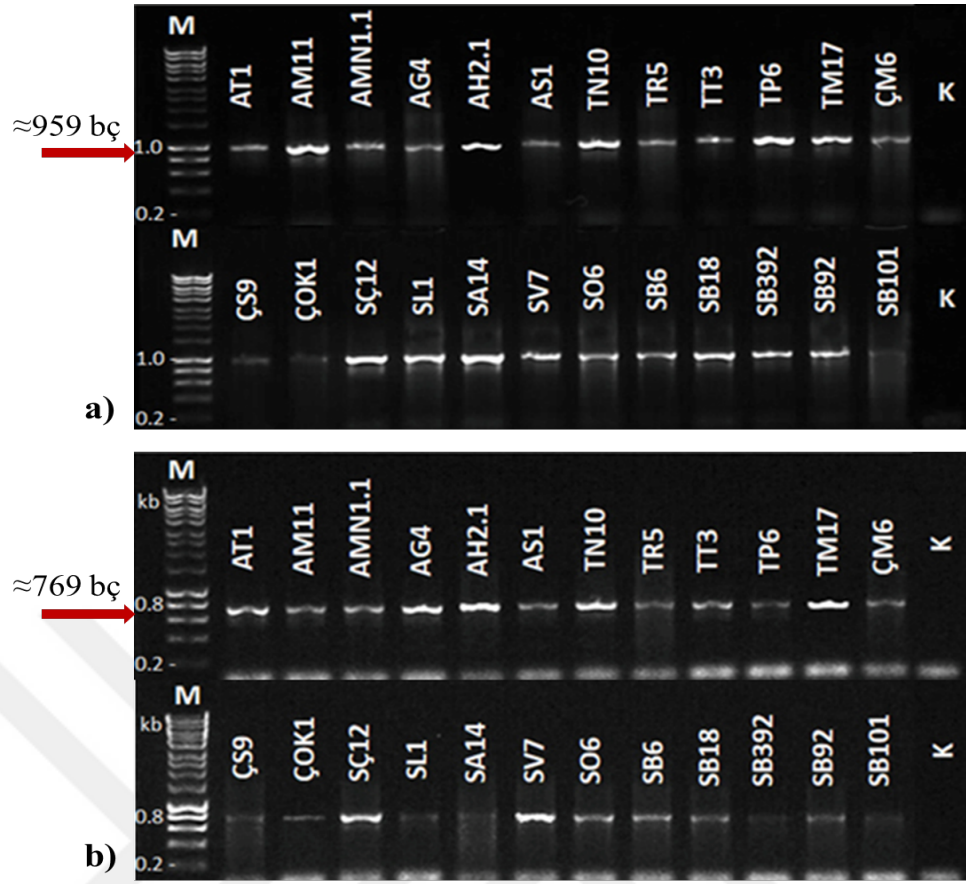
Test	Reaksiyon	
	Referans reaksiyon*	Aday izolatlar
Gram boyama	-	-
Potasyum hidroksit (KOH) testi	+	+
Nişastanın hidrolizi	+	+
Eskulinin hidrolizi	+	+
Oksidasyon/Fermantasyon testi	Ok	Ok
Katalaz testi	+	+
35 °C’de gelişme	+	+
Karbonhidratlardan asit oluşumu:		
• d-Mannose	+	+
• d-Arabinose	+	+
• d-Glucose	+	+
• d-Trehalose	-/+	-
• d-Xylose	+	+
• d-Cellobiose	+	+
• d-Galactose	+	+
• Raffinose	-/+	-
• d-Mannitol	-/+	-
• Sucrose	+	+

*: (Schaad, 1989; Adhikari ve Basnyat, 1998; Popovic vd., 2013)

Ok: Oksidatif, +: Pozitif reaksiyon, -: Negatif reaksiyon

4.1.3.4. Moleküler Tanı

Aday izolatların cins düzeyinde tanısı için cinse spesifik 16S rRNA gen bölgesine ait Xcc16S-F/Xcc16S-R primer çifti ile *hrpF* gen bölgesine ait DhrpF/DhrpR primer çifti kullanılarak klasik PCR işlemleri yapılmıştır. Jel görüntüleri Şekil 4.11’de verilmiştir. Buna göre, cins spesifik Xcc16S-F/Xcc16S-R primerleri ile yaklaşık 959 bp, DhrpF/DhrpR primerleri ile yaklaşık 769 bp ürün oluşturarak *X. campestris* pv. *campestris* olarak tanılanmıştır.



Şekil 4.11. a) *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 16S-F/R primer çifti ile 16S rRNA PCR amplifikasyonunun jel görüntüsü; b) DhrpF/R primer çifti ile spesifik *hrpF* PCR amplifikasyonunun jel görüntüsü. M=DNA ladder K=Negatif kontrol

307 adet izolatın 16S rRNA ve *hrpF* spesifik gen bölgesinin PCR amplifikasyonu yapıldıktan sonra, farklı il ve ilçelerden izole edilmiş, farklı virülenslik düzeylerinde olan izolatlardan 24 adet seçilerek nükleotid dizi analizi özel bir firmada (BM Lab. Ankara) hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır.

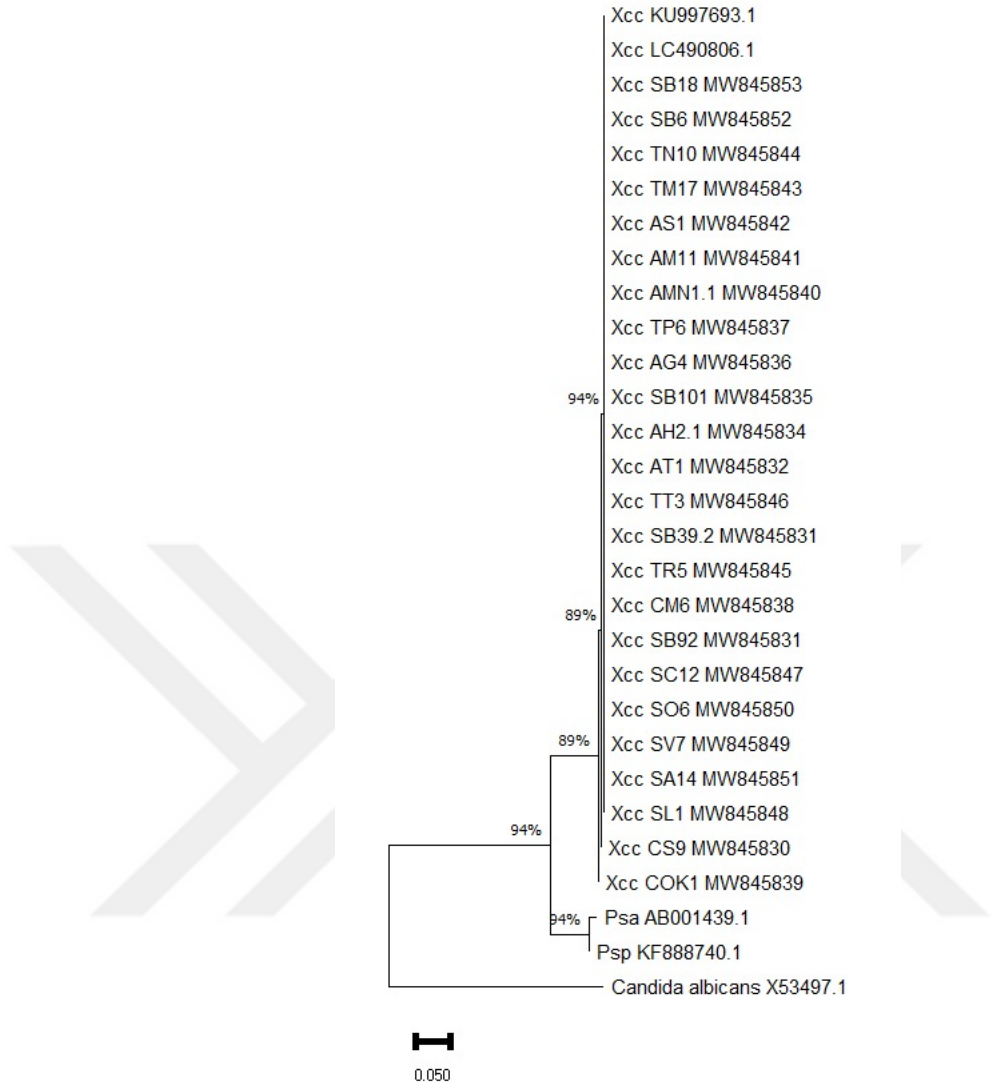
Özel firmadan gelen nükleotid dizilerine ait kromotogram çıktı dosyaları için Chromos Pro (versiyon 1.7.6) programı kullanılarak ve edisyon yapılarak konsensüs diziler elde edilmiştir. Elde edilen konsensüs diziler için NCBI Genbank'ta nükleotid BlastN analizi (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) yapılmıştır. Bu analiz sonucunda izolatlarının dünyadan diğer bölgelerinde saptanmış *X. campestris* pv. *campestris* ile %100 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. İzolatlara ait dizilerin Genbank'a kayıtları yapılarak, nükleotid dizilerine ait NCBI Genbank erişim numaraları alınmıştır. İzolatlar için alınan erişim numaraları ve izolatın temin edildiği il ve ilçeye ait bilgiler Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. PCR işlemi sonrasında nükleotid dizi analizi yapılan örneklerle ait bilgiler

İzolat ismi	Lokasyon	NCBI erişim no (16S rRNA)	NCBI erişim no (<i>hrpF</i>)
AH2-1	Hamamönü, Amasya	MW845834	MW863565
AT1	Taşova, Amasya	MW845832	MW863563
AG4	Gümüşhacıköy, Amasya	MW845836	MW863568
AMN1-1	Merzifon, Amasya	MW845840	MW863567
AM11	Merkez, Amasya	MW845841	MW863569
AS1	Sungurlu, Amasya	MW845842	MW863570
CM6	Merkez, Çorum	MW845838	MW863561
CS9	Sungurlu, Çorum	MW845830	MW863571
COK1	Osmancık, Çorum	MW845839	MW863572
TM17	Merkez, Tokat	MW845843	MW863560
TP6	Pazar, Tokat	MW845837	MW863559
TN10	Niksar, Tokat	MW845844	MW863573
TR5	Reşadiye, Tokat	MW845845	MW863574
TT3	Turhal, Tokat	MW845846	MW863575
SÇ12	Çarşamba, Samsun	MW845847	MW863576
SL1	Ladik, Samsun	MW845848	MW863577
SV7	Vezirköprü, Samsun	MW845849	MW863562
SO6	Ondokuzmayıs, Samsun	MW845850	MW863578
SA14	Alaçam, Samsun	MW845851	MW863579
SB6	Bafra, Samsun	MW845852	MW863564
SB18	Bafra, Samsun	MW845853	MW863566
SB39-2	Bafra, Samsun	MW845831	MW863580
SB92	Bafra, Samsun	MW845833	MW863581
SB101	Bafra, Samsun	MW845835	MW863582

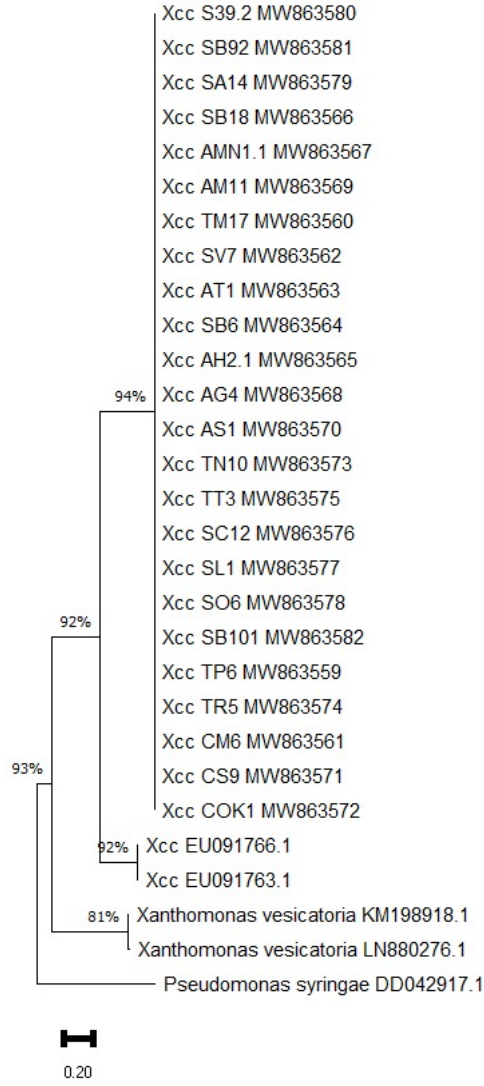
İzolatların 16S rRNA ve *hrpF* genleri kullanılarak yapılan dizileme işleminde elde edilen sonuçlar NCBI veri tabanında yer alan referans izolatlar ile kontrol edilmiş ve filogenetik ağaç oluşturulmuştur. İzolatların 16S rRNA ve *hrpF* gen bölgesi dizileri kullanılarak filogenetik ağaç elde etmek amacıyla çoklu karşılaştırmalar MEGA X programında yer alan Clustal W analizi yardımıyla yapılmıştır. NCBI’da kayıtlı 2 tane referans *X. campestris* pv. *campestris* 16S rRNA ve *hrpF* gen bölgesini, dış izolat olarak da *Pseudomonas* türlerinden dizi eklenerek hizalama işleminden sonra Neighbour-joining analiz yöntemine göre filogenik ağaç oluşturulmuştur.

İzolatlara ait 16S rRNA nükleotid dizileri ile yapılan filogenetik analizde, *X. campestris* pv. *campestris* strain CA 3103 (KU997693.1) isimli Hindistan izolatı ve *X. campestris* pv. *campestris* N170927 (LC490806.1) isimli Japonya izolatı ile %100 blastN benzerliği göstermiş ve aynı kümede yer almıştır (Şekil 4.12). Filogenetik analiz ayrıca *X. campestris* pv. *campestris* izolatları ile *Pseudomonas syringae* izolatlarını farklı gruplarda yer alarak cins düzeyinde ayırım için 16S rRNA’nın yeterliliğini göstermiştir. Dış grup olarak kullanılan *Candida albicans* farklı kümelerde yer almıştır.



Şekil 4.12. 16S rRNA gen bölgesi dizilerine ait Neighbour-joining filogenetik analizi. Tamura-Nei modeli (Tamura & Nei, 1993) kullanılmıştır. Bootstrap değeri 500'dür.

hrpF geni ile yapılan filogenetik ağaçta, çalışmamızdan elde edilen izolatların birbirine benzerlik olarak yakın olduğu, *X. campestris* pv. *campestris* strain Race 4 HRI1279A ve *X. campestris* pv. *campestris* strain Race1 HRI3811 isimli Trinidad izolatları ile farklı bir grup altında yer almıştır (Şekil 4.13). Filogenetik analiz ayrıca *X. campestris* pv. *campestris* izolatları ile *Xanthomonas vesicatoria* izolatlarını farklı gruplarda yer alarak tür düzeyinde ayırım için *hrpF*'nin yeterliliğini göstermiştir.



Şekil 4.13. *hrpF* gen bölgesi dizilerine bağlı olarak elde edilen filogenetik ağaç. Ağaçta Maksimum Olabilirlik yöntemi (Maximum Likelihood method) (Felsenstein, 1981) ve Tamura-Nei modeli (Tamura & Nei, 1993) kullanılmıştır. Bootstrap değeri 500'dür.

Aday izolatların tütünde aşırı duyarlılık, patojenisite testi, morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler tanılaması yapıldıktan sonra toplam 307 adet izolat *X. campestris* pv. *campestris* olarak tanılanmıştır. İzolatların temin edildikleri il ve ilçe düzeyinde dağılımı Tablo 4.7'de verilmiştir. Samsun'dan alınan 220 örnekten 200'ü, Amasya'dan alınan 36 örneğin hepsi, Çorum'dan alınan 20 örneğin 19'u ve Tokat'dan alınan 54 örneğin 52 tanesinde *X. campestris* pv. *campestris* izolatı elde edilmiştir.

Tablo 4.7. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* izolat sayılarının il ve ilçelere göre dağılımı

il	ilçe	Alınan örnek sayısı	Xcc izolat sayısı
AMASYA	Taşova	6	6
	Merkez	6	6
	Suluova	2	2
	Merzifon	8	8
	Gümüşhacıköy	6	6
	Hamamözü	8	8
	Toplam	36	36
ÇORUM	Merkez	2	1
	Sungurlu	16	16
	Osmancık	2	2
	Toplam	20	19
TOKAT	Erbaa	3	3
	Niksar	15	15
	Reşadiye	9	9
	Merkez	9	7
	Pazar	8	8
	Turhal	10	10
	Toplam	54	52
SAMSUN	Havza	2	1
	Çarşamba	22	18
	Vezirköprü	11	11
	Ladik	2	2
	Ondokuzmayıs	17	15
	Alaçam	16	12
	Bafra	150	141
	Toplam	220	200
GENEL TOPLAM		330	307

4.1.4. Irk Ayrımı

Projede *X. campestris* pv. *campestris*'e ait 307 adet izolatın ırklarının belirlenmesine yönelik çalışmada, *Brassica* spp. genotiplerinde patojenisite testleri yapılarak ırk profilleri belirlenmiştir.

İrkların belirlenmesi çalışmalarında, Vicente vd. (2013) ve Fargier ve Manceau (2007)'nin uyguladığı modele göre *Brassica* spp.'e ait 8 farklı genotip kullanılmıştır. Irk ayrımı denemesinin büyük bir çoğunluğu Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne ait kontrollü seralarda yapılmıştır. İlk kurulan denemede eksik olanlar veya zayıf virülenslik gösterdiği için net sonuç alınamayan isolatlar tekrar denenmiştir. İkinci deneme Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Bitki Sağlığı Bölümü kontrollü iklim odasında yapılmıştır. Tohumlarda çimlenme oranı %90-95 oranlarında olmuştur.

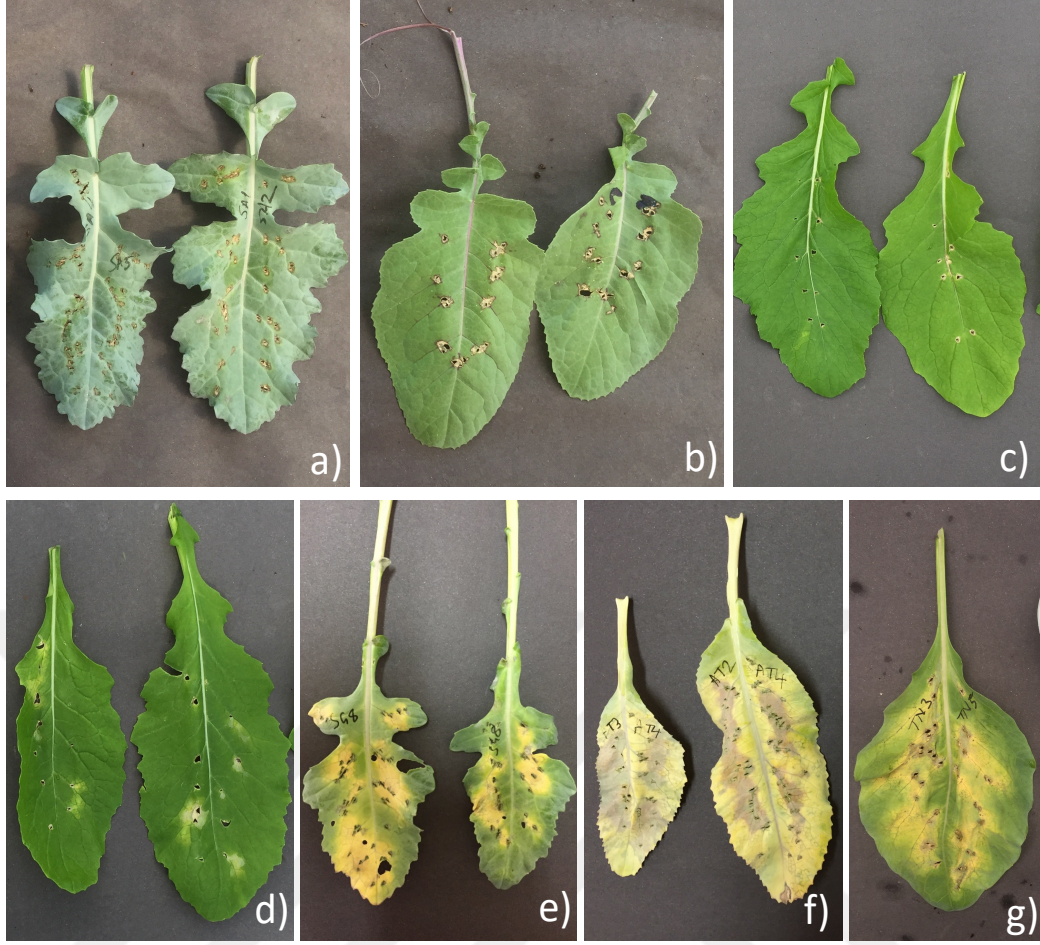
Bakteriyel inokulasyon; 26-28 °C’de, 24-48 saat süreyle geliştirilen izolatların 1×10^8 hücre/ml’lik konsantrasyonlu süspansiyonu ile bitkilerin 4-6 yapraklı fide dönemindeyken yapıldıktan sonra bitkiler 26-28 °C sıcaklıkta, %70-80’lik nemli ortamda ve 16 saat gündüz ve 8 saat karanlık olacak şekilde 10-14 gün boyunca gözlemlenmiştir. Deneme sonuçları; yaprakta şiddetli tipik belirti oluşturanlar için pozitif (+) reaksiyon, yaprakta belirli/belirsiz atipik belirti oluşturanlar için zayıf virülenslik ($\pm$) ve belirtiye neden olmayan izolatlar için negatif (-) reaksiyon şeklinde değerlendirilmiştir (Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16).



Şekil 4.14. TR5 isimli izolatın Just Right Turnip (JRT) isimli genotipteki pozitif reaksiyonu (10. Gün)



Şekil 4.15. SB39-1 isimli izolatın Miracle F1 isimli çeşitteki negatif reaksiyonu (10. Gün)



Şekil 4.16. İzolatların *Brassica* spp.'e ait 8 farklı genotipteki reaksiyonlarına göre ırk ayrımı denemesi; a) SA1 isimli izolatın COB60 isimli genotipte gösterdiği negatif reaksiyon, b) AMN6 isimli izolatın Seven top turnip isimli çeşitte gösterdiği negatif reaksiyon, c) ÇOK3 isimli izolatın Just Right Turnip isimli genotipte gösterdiği negatif reaksiyon, d) AMN4-1 isimli izolatın Just Right Turnip isimli genotipte gösterdiği zayıf virülenslik belirtisi, e) SÇ8 isimli izolatın COB60 isimli genotipte gösterdiği pozitif reaksiyon, f) AT4 isimli izolatın Miracle F1 çeşidinde gösterdiği pozitif reaksiyon, g) TN5 isimli izolatın SxD1 genotipinde gösterdiği pozitif reaksiyon (10. gün).

Sera denemesinde izolatların ırk belirleme setinde yer alan 8 farklı genotipteki reaksiyonlarına göre alınan sonuçlar, Vicente ve ark. (2001), Fargier ve Manceau (2007), Jensen ve ark. (2010), Vicente ve Holub (2013) kaynaklarına göre değerlendirilmiştir. Tüm izolatların sera denemesi sonucunda farklı çeşitler üzerinde vermiş olduğu reaksiyon sonuçları Tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.8. İzolatların *Brassica* spp.'e ait 8 farklı genotipteki reaksiyonlarına göre ırk ayrımı denemesi sonuçları

İl	İzolat ismi	Wirosa F1 (<i>B. oleracea</i>)	Just Right Turnip (<i>B. rapa</i>)	Seven Top Turnip (<i>B. rapa</i>)	PI 199947 (<i>B. carinata</i>)	FBLM2 (<i>B. juncea</i>)	Miracle F1 (<i>B. oleracea</i>)	SxD1 (<i>B. oleracea</i>)	COB60 (<i>B. napus</i>)	İrk
Amasya	AT1	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AT2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AT3	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AT4	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AT5	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AT6	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AM1	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Amasya	AM4	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AM5	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AM6	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AM8	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AM11	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AS1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AS2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AMN1-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AMN1-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AMN2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AMN3	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AMN4-1	+	+	+	±/+	+	-	+	+	İrk 6
Amasya	AMN4-2	+	+	+	+	+	-	+	+	İrk 6
Amasya	AMN5	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Amasya	AMN6	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AG1	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AG2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AG3	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Amasya	AG4	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AG5	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Amasya	AG6	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AH1-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Amasya	AH1-2	+	+	±	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AH2-1	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AH2-2	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AH4-1	+	+	±	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AH4-2	+	+	±	-	-	+	+	+	İrk 1
Amasya	AH5-1	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Amasya	AH5-2	+	+	+	-	-	+	+	±	İrk 1
Çorum	ÇM6	+	+	+	-	-	-	+	-	İrk 8
Çorum	ÇS2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Çorum	ÇS3	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Çorum	ÇS6-1	+	±	+	-	-	+	+	+	İrk 1

Tablo 4.8. (devam)

İl	İzolant ismi	Wirosa F1 (<i>B. oleracea</i>)	Just Right Turnip (<i>B. rapa</i>)	Seven Top Turnip (<i>B. rapa</i>)	PI 199947 (<i>B. carinata</i>)	FBLM2 (<i>B. juncea</i>)	Miracle F1 (<i>B. oleracea</i>)	SxD1 (<i>B. oleracea</i>)	COB60 (<i>B. napus</i>)	İrki
Çorum	ÇS6-2	+	±	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Çorum	ÇS7	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Çorum	ÇS9	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Çorum	ÇS10	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Çorum	ÇS12	+	±	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Çorum	ÇS14	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Çorum	ÇS15	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Çorum	ÇS16	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Çorum	ÇS17	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Çorum	ÇS18-1	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Çorum	ÇS18-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Çorum	ÇS19	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Çorum	ÇS20	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Çorum	ÇOK1	+	+	±	-	-	+	+	+	İrk 1
Çorum	ÇOK3	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TE1	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TE2	+	+	±	-	-	+	+	+	İrk 1
Tokat	TE7	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN1	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Tokat	TN2	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Tokat	TN3	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN5	+	-/±	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN6	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN8	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN9	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN10	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN11	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN12	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN13	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Tokat	TN15	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN16-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN16-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TN18	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TR1	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Tokat	TR2	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Tokat	TR3	+	-	-	-	-/±	+	+	-	İrk 4
Tokat	TR4	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TR5	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Tokat	TR7	+	+	±	-	-	+	-	+	İrk 3
Tokat	TR9	+	+	-	-	-/±	+	+	-	İrk 8
Tokat	TR11	+	+	+	-	-	+	+	±	İrk 1

Tablo 4.8. (devam)

İl	İzolat ismi	Wirosa F1 (<i>B. oleracea</i>)	Just Right Turnip (<i>B. rapa</i>)	Seven Top Turnip (<i>B. rapa</i>)	PI 199947 (<i>B. carinata</i>)	FBLM2 (<i>B. juncea</i>)	Miracle F1 (<i>B. oleracea</i>)	SxD1 (<i>B. oleracea</i>)	COB60 (<i>B. napus</i>)	İrki
Tokat	TR13	+	+	+	-	-	+	+	±	İrk 1
Tokat	TM3	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TM8	+	-	-	-	±	+	+	-	İrk 4
Tokat	TM12	+	+	±	±	-	+	+	±	İrk 1
Tokat	TM16	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TM17	+	+	+	-	-	+	+	±	İrk 1
Tokat	TM19	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TM22	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Tokat	TP2	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Tokat	TP3	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TP4	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TP5	+	+	±	-	-	+	+	+	İrk 1
Tokat	TP6	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Tokat	TP8	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TP9	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Tokat	TP10	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Tokat	TT1	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TT2	+	-	-	-	-	+	±	-	İrk 4
Tokat	TT3	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TT6	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TT7	+	±	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Tokat	TT8	+	+	+	-	-	+	+	±	İrk 1
Tokat	TT9-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TT9-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TT10	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Tokat	TT15	+	-/±	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SH2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ3	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ6	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ7	+	+	+	-	-	+	+	±	İrk 1
Samsun	SÇ8	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Samsun	SÇ10	+	+	+	-	-	+	+	±	İrk 1
Samsun	SÇ11	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ12	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ13	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ17	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ18	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ19	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ20	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4

Tablo 4.8. (devam)

İl	İzolat ismi	Wirosa F1 (<i>B. oleracea</i>)	Just Right Turnip (<i>B. rapa</i>)	Seven Top Turnip (<i>B. rapa</i>)	PI 199947 (<i>B. carinata</i>)	FBLM2 (<i>B. juncea</i>)	Miracle F1 (<i>B. oleracea</i>)	SxD1 (<i>B. oleracea</i>)	COB60 (<i>B. napus</i>)	İrki
Samsun	SÇ22	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ23	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ24	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SÇ25	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SV1	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SV2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SV3	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SV4-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SV4-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SV5	+	-	-	-	±	+	+	-	İrk 4
Samsun	SV6	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SV7	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SV9	+	+	+	-	-	+	+	±	İrk 1
Samsun	SV10-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SV10-2	+	+	+	-	-/±	+	+	+	İrk 1
Samsun	SL1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SL2	+	+	+	±	-	+	+	±	İrk 1
Samsun	SO1	+	+	-	-	-	-	+	-	İrk 8
Samsun	SO2-1	+	+	-	-	-	-	+	-	İrk 8
Samsun	SO2-2	+	+	-	-/±	±	-	+	-	İrk 8
Samsun	SO3	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SO4	+	-	-	-/±	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SO5	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SO6	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SO7	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SO8	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SO9-2	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Samsun	SO10	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SO11	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SO12	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SO13	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SO15	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SA1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SA2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SA4	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SA5	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SA6-2	+	+	+	-	-	+	+	±	İrk 1
Samsun	SA7-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SA8-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SA9-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SA10	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4

Tablo 4.8. (devam)

İl	İzolat ismi	Wirosa F1 (<i>B. oleracea</i>)	Just Right Turnip (<i>B. rapa</i>)	Seven Top Turnip (<i>B. rapa</i>)	PI 199947 (<i>B. carinata</i>)	FBLM2 (<i>B. juncea</i>)	Miracle F1 (<i>B. oleracea</i>)	SxD1 (<i>B. oleracea</i>)	COB60 (<i>B. napus</i>)	İrki
Samsun	SA11	+	+	+	-	-/±	+	+	+	İrk 1
Samsun	SA12	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SA14	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Samsun	SB1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB3	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB5	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB6	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB7	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB8	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB9	+	-	±	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB10	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB11	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB12-1	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB12-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB13	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB14	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB15	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB16	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB17	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB18	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB19-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB19-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB20	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB21-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB21-2	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB22	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB23	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB24	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB26	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB27	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Samsun	SB28	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB29	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB30	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB31	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB32	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB33	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB34	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB35-1	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB35-2	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB36	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB37	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4

Tablo 4.8. (devam)

İl	İzolat ismi	Wirosa F1 (<i>B. oleracea</i>)	Just Right Turnip (<i>B. rapa</i>)	Seven Top Turnip (<i>B. rapa</i>)	PI 199947 (<i>B. carinata</i>)	FBLM2 (<i>B. juncea</i>)	Miracle F1 (<i>B. oleracea</i>)	SxD1 (<i>B. oleracea</i>)	COB60 (<i>B. napus</i>)	İrki
Samsun	SB38	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB39-1	+	+	+	+	-	-	-	+	İrk 3
Samsun	SB39-2	+	+	+	-	-	-	-	+	İrk 3
Samsun	SB40-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB40-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB41-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB41-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB42	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB43-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB43-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB44-1	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB44-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB45	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB46-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB46-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB47-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB48	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB49	+	+	±	-	-	+	+	+	İrk 1
Samsun	SB50-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB50-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB51-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB51-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB52-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB52-2	+	-/±	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB53	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Samsun	SB55-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB55-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB56-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB56-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB57-1	+	-	+	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB57-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB59-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB59-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB60	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB61	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB62	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB63	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB65	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB66	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB67	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB68-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4

Tablo 4.8. (devam)

İl	İzolant ismi	Wirosa F1 (<i>B. oleracea</i>)	Just Right Turnip (<i>B. rapa</i>)	Seven Top Turnip (<i>B. rapa</i>)	PI 199947 (<i>B. carinata</i>)	FBLM2 (<i>B. juncea</i>)	Miracle F1 (<i>B. oleracea</i>)	SxD1 (<i>B. oleracea</i>)	COB60 (<i>B. napus</i>)	İrki
Samsun	SB68-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB69	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Samsun	SB70	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB71-1	+	+	±	-	-	+	+	+	İrk 1
Samsun	SB71-2	+	+	±	-	-	+	+	+	İrk 1
Samsun	SB72-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB72-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB73-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB73-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB74	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB75	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB76-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB76-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB77	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB78-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB78-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB79-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB79-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB81-1	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB81-2	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB82	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB83	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB84	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB85	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB86	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB87	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB88	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB89	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB90	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB91	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB92	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB93	+	-	±	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB94	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB95	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB96	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB97	+	+	+	-	-	+	+	+	İrk 1
Samsun	SB98	+	-	+	-	-	-	+	-	İrk 9
Samsun	SB99	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB100	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB101	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Samsun	SB102	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 4

Tablo 4.8. (devam)

İl	İzolat ismi	Wirosa F1 (<i>B. oleracea</i>)	Just Right Turnip (<i>B. rapa</i>)	Seven Top Turnip (<i>B. rapa</i>)	PI 199947 (<i>B. carinata</i>)	FBLM2 (<i>B. juncea</i>)	Miracle F1 (<i>B. oleracea</i>)	SxD1 (<i>B. oleracea</i>)	COB60 (<i>B. napus</i>)	İrk
Samsun	SB103	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Samsun	SB104	+	+	-	-	-	+	+	-	İrk 8
Samsun	SB107	+	-	-	-	-	+	+	+	İrk 9
Samsun	SB108	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB109	+	-/+	-	-	-	-/+	+	-	İrk 9
Samsun	SB110	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB111	+	+	+	-	-	+	+	±	İrk 1
Samsun	SB113	+	+	+	-	-	+	+	±	İrk 1
Samsun	SB114	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB115	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB117	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB118	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB119	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB120	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB121	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB122	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB123	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB124	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB125	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB126	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4
Samsun	SB127	+	-	-	-	-	+	+	-	İrk 4

+: pozitif reaksiyon, ±: zayıf virülenslik, -: negatif reaksiyon

İzolatların illere göre ırk profilleri Tablo 4.9’da ve konuma göre dağılımları Şekil 4.17’de verilmiştir. Bu doğrultuda, sera ve iklim odası çalışmalarında, toplam 307 adet izolatın 47 tanesinin 1 nolu ırk, 3 adetinin 3 nolu ırk, 211 tanesinin ırk 4, 2 tanesinin ırk 6, 18 tanesinin ırk 8 ve 26 tanesinin ırk 9’dan olduğu tespit edilmiştir. Amasya dışında 3 ilde de ırk 4’ün daha yoğun olduğu belirlenmiştir.

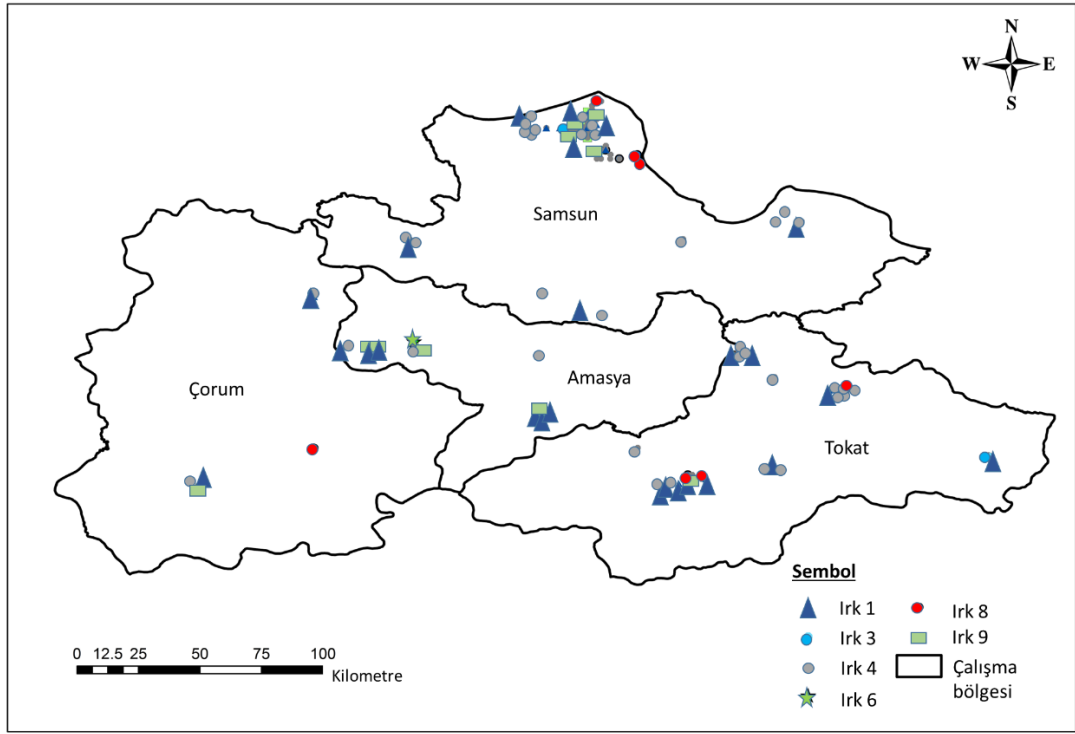
Tablo 4.9. İzolatların illere göre ırk profilleri

İl	Toplam Xcc izolatı	İrk grubu								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
AMASYA	36	15	-	-	14	-	2	-	-	5
ÇORUM	19	3	-	-	10	-	-	-	3	3
TOKAT	52	14	-	1	31	-	-	-	5	1
SAMSUN	200	15	-	2	156	-	-	-	10	17
TOPLAM	307	47	-	3	211	-	2	-	18	26

Test edilen izolatlar arasında ırk 2, ırk 5 ve ırk 7 izolatlarına rastlanılmamıştır. İzolatların ilçelere göre ırk dağılımı incelendiğinde, ilçelerde tek tip ırkın bulunmadığı ancak bir tanesinin daha yoğun olarak bulunduğu görülmüştür. Buna göre, Samsun'un Bafra ilçesinden elde edilen izolatların %78'i ırk 4, %12'si ırk 9, %4'ü ırk 1 grubuna ait olduğu tespit edilmiştir. Diğer ilçelerde de genel olarak ırk 4'ün bulunma oranı diğerlerine kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte Amasya Merkez ilçesine ait 6 izolattan 5'i (%83) ırk 1'e ait olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. İzolatların il ve ilçelere göre ırk düzeyindeki dağılımları

İl	İlçe	Toplam Xcc izolatı	İrk 1	İrk 3	İrk 4	İrk 6	İrk 8	İrk 9
AMASYA	Taşova	6	1	-	5	-	-	-
	Merkez	6	5	-	-	-	-	1
	Suluova	2	-	-	2	-	-	-
	Merzifon	8	-	-	5	2	-	1
	Gümüşhacıköy	6	3	-	1	-	-	2
	Hamamözü	8	6	-	1	-	-	1
ÇORUM	Merkez	1	-	-	-	-	1	-
	Sungurlu	16	2	-	9	-	2	3
	Osmancık	2	1	-	1	-	-	-
TOKAT	Erbaa	3	1	-	2	-	-	-
	Niksar	15	2	-	12	-	1	-
	Reşadiye	9	4	1	2	-	2	-
	Merkez	7	2	-	4	-	1	-
	Pazar	8	4	-	3	-	-	1
	Turhal	10	1	-	8	-	1	-
SAMSUN	Havza	1	-	-	1	-	-	-
	Çarşamba	18	3	-	15	-	-	-
	Vezirköprü	11	2	-	9	-	-	-
	Ladik	2	1	-	1	-	-	-
	Ondokuzmayıs	15	-	-	11	-	4	-
	Alaçam	12	3	-	9	-	-	-
	Bafra	141	6	2	110	-	6	17



Şekil 4.17. İzolatların il ve ilçe konumuna göre ırk düzeyindeki dağılım haritası

Karadeniz Bölgesi’nde tüm dünyada olduğu gibi en yaygın ırkın *X. campestris* pv. *campestris* ırk 4 grubu izolatlar olduğu belirlenmiştir. İrk 4 grubu izolatların yoğun olmasının virülenslik ile bağlantısı olup olmadığını incelemek amacıyla izolatların patojenisite testinde ölçülen virülenslik değerleri ve skala değerleri ortalaması alınmıştır (Tablo 4.11). Buna göre, bulunma oranı yüksek olan ırk 4 grubu (yaklaşık %69’u) izolatların virülenslik değeri de ırk 1, 6 ve 8’den yüksek olmasına rağmen, ırk 3 ve ırk 9’dan daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ancak virülenslik düzeyi ile ırkların bulunma sıklığı arasında net bir bağlantı bulunamamıştır.

Tablo 4.11. İrklara göre virülenslik değerleri ortalamaları (tüm izolatlar)

İrk grubu	Hastalık şiddeti ortalaması	Skala değeri	İrkin yaygınlık oranı (%)
1	0.56	3	15
3	0.71	3	1
4	0.65	3	69
6	0.55	3	1
8	0.48	2	6
9	0.78	4	8

İzolatların patojenisite testi sonuçlarında neden olduğu en yüksek virülenslik değerleri dikkate alındığında (her ırk grubundan en yüksek virülensliğe sahip 2 izolat); ırk 1, 4 ve 9 izolatlarının %100'e varan hastalık şiddetine sebep olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. Irklara göre virülenslik değerleri ortalamaları (en virulent izolatlar)

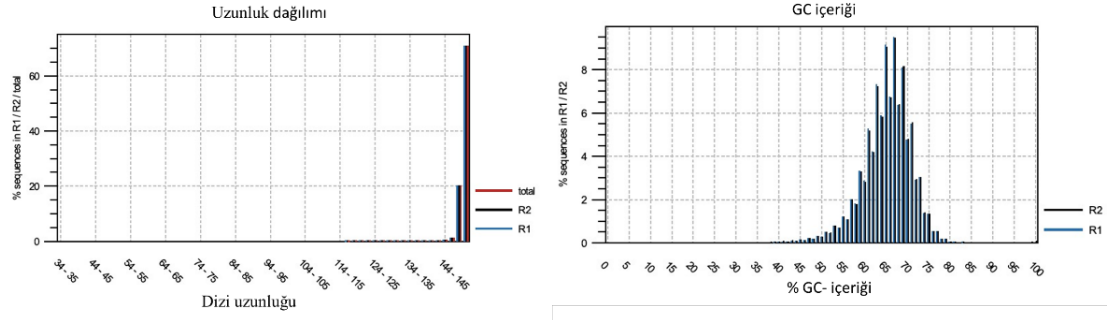
İrk grubu	Hastalık şiddeti ortalaması	Skala değeri
1	1.00	4
3	0.74	3
4	1.00	4
6	0.55	3
8	0.86	4
9	1.00	4

4.1.5. Tüm Genom Dizi Analizi Çalışmaları

4.1.5.1. Genom Dizileme ve Hizalama

Genom dizi analizi için her bir ırk grubundan farklı virülenslik düzeylerine sahip en az 1 ırk seçilmiştir. Toplamda 14 adet izolat ile genom dizi analizi çalışmaları yapılmıştır. Genom dizi analizi için seçilen *X. campestris* pv. *campestris* izolatları TR11 (ırk 1), CS6-2 (ırk 1), SB113 (ırk 1), SA14 (ırk 1), SB39-1 (ırk 3), TR7 (ırk 3), SB102 (ırk 4), SB47-1 (ırk 4), SV5 (ırk 4), SB76-1 (ırk 4), AMN4-1 (ırk 6), SO1 (ırk 8), CM6 (ırk 8) ve AMN5 (ırk 9)'dir.

DNA izolasyonunda GenElute™ Bacterial Genomic DNA Kit (Sigma-Aldrich Co., USA) isimli hazır kit kullanıldıktan sonra, tüm genom dizilemesi özel bir firmada (Arılab, Ankara) NovaSeq v2 cihazında hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır. Özel firmaya gönderilen örneklerin ham verileri alındıktan sonra öncelikle kalite değerlendirilmesi yapılmıştır. Firmadan gelen dizi örneklerin dizi uzunlukları incelendiğinde, 2x150 bp ve altı çift uçlu okumalar elde edilmiştir. Okumaların ortalama GC içerikleri yaklaşık olarak %65'dir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. SB47-1 isimli izolatin genom dizi okumalarının ham veri kalite değerlendirmesi; a) 2x150 bp okuma büyüklüğü, b) Ortalama %65-70 arası GC içeriği

Ham veri dosyalarında (fastq formatında dosyalar) genom dizi okumaları öncelikle CLIMB platformunda Fastp yazılım aracı (versiyon 0.23.1) ile varsayılan parametreler kullanılarak kötü, düşük kalitede okumaların filtrelenmesi ve varsa adaptörlerin kesilmesi işlemleri yapılmıştır. Daha sonra Fastp verileri kullanılarak genom hizalaması (de novo assembly) SPades (versiyon 3.15.4) kullanılarak yapılmıştır. Genom hizalama ve birleştirme sonucunda elde edilen fasta formatındaki diziler NCBI genom veri tabanına Biyoproje (Bioproject no. PRJNA837758) olarak yüklenerek erişim numaraları alınmıştır. Ayrıca her bir izolat Biyoörnek (Biosample) olarak yüklenmiştir ve genomlara ait biyoörnek numaraları Tablo 4.14’te verilmiştir.

Genom hizalama sonrası elde edilen fasta formatı dosyalar aynı zamanda BWA (Burrows-Wheeler Aligner) isimli bir yazılım aracı kullanılarak bir referans *X. campestris* pv. *campestris* SB80 isimli genoma haritalama yapılmıştır. Elde edilen bam dosyaları samtool aracılığıyla genom kapsama derinlikleri hesaplandığında (genome coverage) 62.1x-145.62x aralığında genom kapsama derinliklerine sahip oldukları tespit edilmiştir (Tablo 4.13).

Elde edilen genom dizilerinde 200 bp’den büyük olan 72 ve 168 aralığında kontig sayısı bulunmaktadır. Genom büyüklükleri 4.91- 5.06 Mb arasında değişmekte olup, GC içeriği ise %64.96-65.22 arasında bulunmuştur (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Tüm genom hizalama sonrası elde edilen veriler

İzolat ismi	NCBI Biyoproje no	NCBI Biyöörnek no	Genom kapsama derinliği	Genom Uzunluğu (bp)	Kontig sayısı (>200 bç)	GC içeriği (%)
TR11	PRJNA837758	SAMN28597106	123.30x	4,919,002	130	65.22
CS6_2	PRJNA837758	SAMN28597105	78x	4,963,962	168	65.19
SB113	PRJNA837758	SAMN28230579	62.1x	4,931,731	107	65.22
SA14	PRJNA837758	SAMN28230580	103.60x	5,100,895	121	65.01
SB39_1	PRJNA837758	SAMN28230581	102.50x	5,041,792	140	65.07
TR7	PRJNA837758	SAMN28230575	120x	5,169,078	104	64.96
SB102	PRJNA837758	SAMN28230576	102x	4,950,785	98	65.17
SB47_1	PRJNA837758	SAMN28230574	109x	5,061,416	110	65.03
SV5	PRJNA837758	SAMN28597104	145.62x	5,012,463	103	65.16
SB76_1	PRJNA837758	SAMN28230572	87x	5,056,523	103	65.09
AMN4_1	PRJNA837758	SAMN28230573	137x	4,938,763	72	65.2
SO1	PRJNA837758	SAMN28230577	95.2x	4,969,505	116	65.13
CM6	PRJNA837758	SAMN28230578	117x	4,965,236	81	65.17
AMN5	PRJNA837758	SAMN28597103	106.15x	4,966,530	114	65.04

4.1.5.2. Genom Anotasyonu ve Filogenik Çalışmalar

Genom hizalamadan sonra elde edilen fasta formatında dizilerden kodlanan diziler, genler genom anotasyonu yapılarak tahmin edilmiştir. Anotasyon için Prokka (versiyon 1.2) yazılım aracı kullanılmıştır. Prokka analiz sonuçlarına ait veriler Tablo 4.14’de verilmiştir. Buna göre genom dizilerinde, 4094 ile 4373 arası CDS (protein kodlayan diziler), 54-58 arası tRNA, 1 adet tmRNA (Transfer-messenger RNA) ve 3 adet rRNA içerdiği saptanmıştır.

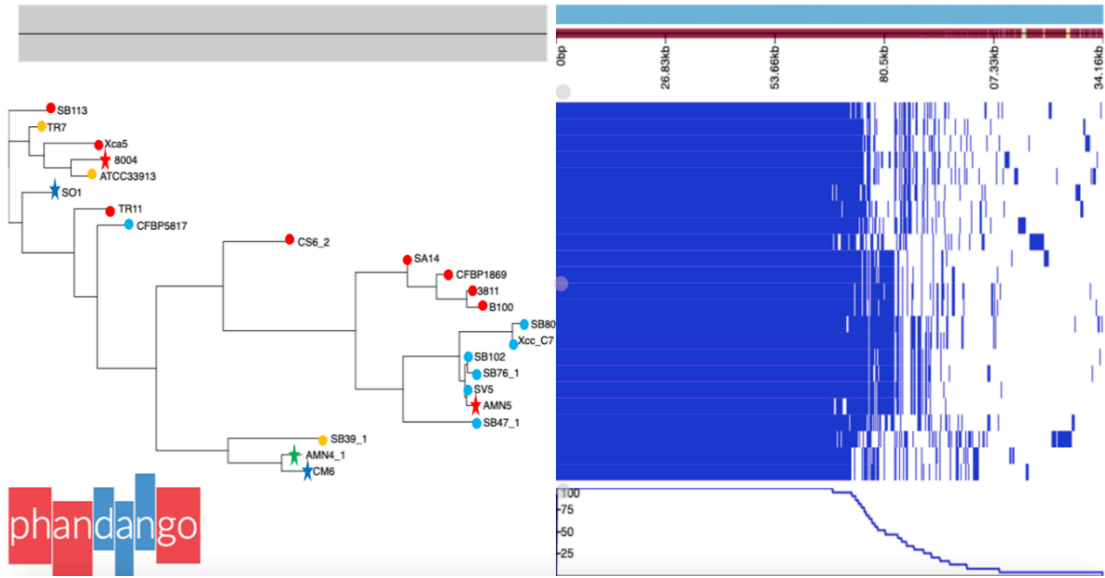
Tablo 4.14. Genom anotasyon verileri

İzolat ismi	CDS	tRNA	tmRNA	rRNA
TR11	4094	54	1	3
CS6_2	4178	56	1	3
SB113	4110	55	1	3
SB76_1	4318	57	1	3
SA14	4221	54	1	3
SB39_1	4373	55	1	3
TR7	4106	55	1	3
SB102	4272	56	1	3
SB47_1	4222	58	1	3
SV5	4266	57	1	3
AMN4_1	4131	56	1	3
SO1	4151	55	1	3
CM6	4163	56	1	3
AMN5	4181	57	1	3

CDS:Kodlanan dizi (Coding sequence), tRNA:transfer RNA, tmRNA: Taşıyıcı-mesajcı RNA (Transfer-messenger RNA), rRNA:Ribozomal RNA(Ribosomal RNA)

Prokka anotasyonu sonrası elde edilen GFF3 formatı dosyaları ile Roary veri hattı kullanılarak öz ve pan genom analizi yapılmıştır. NCBI veri tabanından ırkları tespit edilmiş olan izolatların assembly dosyaları indirilerek, prokka analizi yapıldıktan sonra, Türk izolatlar ile birlikte Roary 3.12.0 versiyonu kullanılarak analiz yapılmıştır. Bu amaçla kullanılan ırkları bilinen izolatlara ait bilgiler Materyal ve Method bölümünde Tablo 3.5’de verilmiştir. Sonuçların görüntülenmesi için Phandango (<https://jameshadfield.github.io/phandango/#/>) kullanılmıştır (Şekil 4.19).

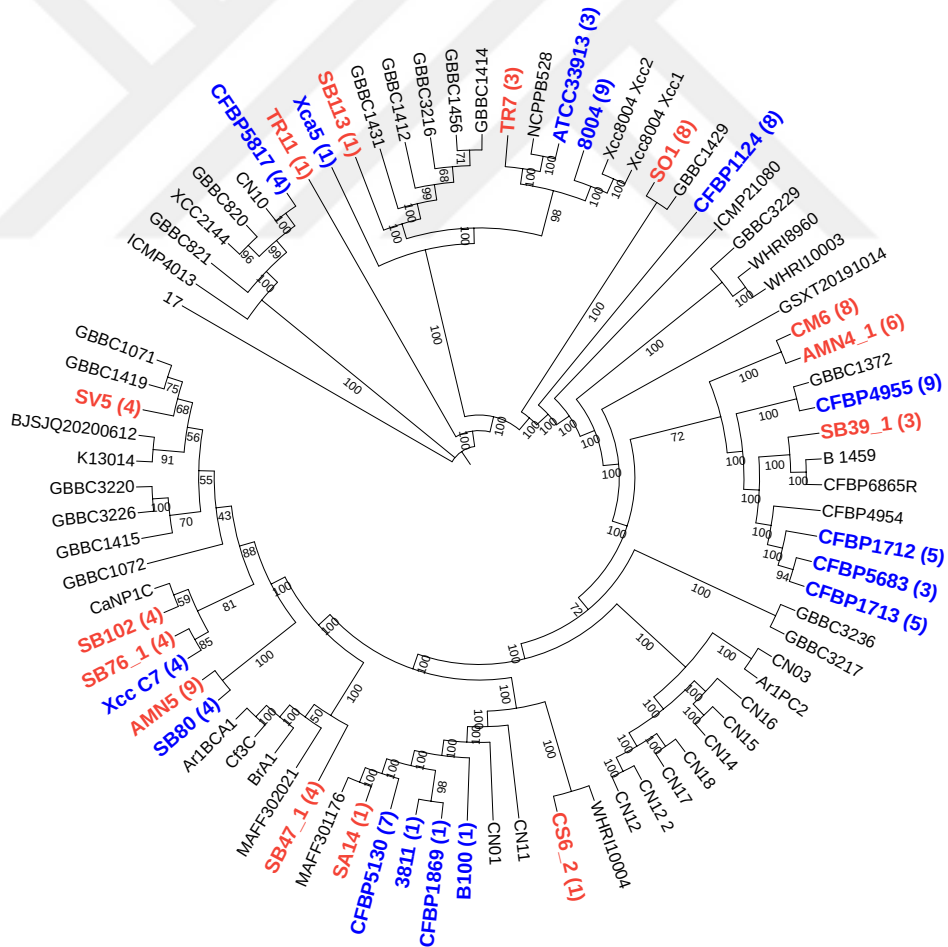
Pan genoma (Analiz edilen *X. campestris* pv. *campestris* genom dizilerinde tüm gen repertuarı) dayalı filogenide ırk 4 grubundan olan SB47-1 ve SB76-1 isimli Türk izolatlar; diğer ırk 4 grubu Xcc_C7 ve SB80 ile yakın kümelerde yer almıştır. Ancak diğer bir ırk 4 grubu izolat olan CFBP5817’e bakıldığında diğer ırk 4 grubu izolatlardan farklı pan genom profili göstermiştir. Irk 1 grubundan olan SA14 isimli Türk izolat, diğer 1 ırk grubu 3811, B100 ve CFBP1869 izolatlar ile yakın kümelerde bulunmasına rağmen, ırk 1 SB113 isimli izolat uzak bir kümede, ırk 8 grubu olan SO1 isimli izolat ile birlikte yer almıştır. Pan genom filogenisine göre ırklar yönünden bazı izolatlar aynı kümede yer alırken, bazıları ırktan bağımsız bir şekilde yer almıştır.



Şekil 4.19. Irkları bilinen izolatların pan genom farklılıkları ve filogenisi. Kırmızı yuvarlak ırk 1’i, sarı yuvarlak ırk 3’ü, mavi yuvarlak ırk 4’ü, yeşil yıldız ırk 6’yı, mavi yıldız ırk 8’i, kırmızı yıldız ırk 9’u simgelemektedir. Sağ altta yer alan grafikte genlerin popülasyonda görülme sıklığı verilmiştir.

Ayrıca NCBI’da kayıtlı tüm *X. campestris* pv. *campestris* genomları ile ayrı bir Roary analizi yapılmıştır. NCBI kütüphanesinde kayıtlı 67 adet kaliteli genom dizisi

ve bu çalışmanın izolatları ile ayrı bir Roary analizi yapılmıştır. Buradan elde edilen veriler ile *X. campestris* pv. *campestris* izolatları arasındaki filogenetik ilişkiyi anlamak amacıyla öz genomu dayalı filogenik analiz yapılmıştır (Şekil 4.20). Filogenetik ağaç IQ-tree (versiyon 1.6.12) ile elde edilmiştir, iTOL v6 (<https://itol.embl.de/>) web tabanlı yazılım aracı kullanılarak filogenetik ağaç düzenlemesi, anotasyonu yapılmıştır ve görüntülenmiştir. Genom sekansı için seçilen izolatlar farklı özellikte, farklı coğrafik konum ve ırk grubundan seçilmiştir. Öz genom filogenisinde, pan genomda olduğu gibi izolatlar ırk profillerinden bağımsız bir şekilde kümelenmiştir. Örneğin, bu çalışmanın ırk 1 izolatları SB113 ve TR11 aynı kümede yer alırken, SA14 izolat genomu yüksek bootstrap değerleri ile daha uzak bir kümede yer almıştır. Ayrıca bu çalışmanın izolatları tek bir kümede yer almamakta, tüm filogeniye yayılmıştır. *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının öz genomu dayalı filogenisinde coğrafik orjine ve ırka bağlı olarak kümeleşme olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.20. *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının öz genomu dayalı filogenisi (1,000 bootstrap). İzolat isimleri NCBI’da yer alan isimlendirme. Bu çalışmanın *X. campestris* pv. *campestris* izolatları kırmızı ile işaretlenmiştir. İrki bilinen izolatların ırk grubu parantez içerisinde belirtilmiştir. Mavi ile işaretlenenler Genbank’tan alınan ırkı bilinen izolatlardır.

4.1.5.3. Tip III Efektörleri

Çalışmanın bu aşamasında, *X. campestris* pv. *campestris*'in patojenisite için kullandığı başlıca Tip III salgı sistemi efektörleri ve aday avirülens genlerinin varlığı/yokluğu araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan 14 adet *X. campestris* pv. *campestris* izolatının yanı sıra Genbank'ta yer alan diğer *X. campestris* pv. *campestris* genom verileri de kullanılarak BLAST yardımıyla bilinen tip III efektörlerinin varlığı/yokluğu analiz edilmiştir. Bu amaçla, bilinen T3E (tip III efektör)'lerinin ve avirülens genlerinin yer aldığı bir online veri tabanı (<http://www.xanthomonas.org/t3e.html>) kullanılmıştır.

Analiz edilen *X. campestris* pv. *campestris* genomlarında 5 ile 29 arasında T3E'ü bulunmuştur. Bunlardan, 19 adedi öz (> %97'den fazlasında bulunuyorr) Tip III efektör olarak değerlendirilmiştir. Buna göre, *X. campestris* pv. *campestris*'in öz efektörleri *AvrBs2*, *AvrXccA1*, *HpaA*, *HrpW*, *XopA*, *XopAM*, *XopAG*, *XopAL*, *XopAY*, *XopAZ*, *XopF*, *XopK*, *XopM*, *XopN*, *XopL*, *XopQ*, *XopX*, *XopZ* ve *AvrXccA2*'dir (Tablo 4.15).

Geriye kalan 10 adet tip III efektörünün varlığı konusunda genomlar arasında değişiklik bulunmaktadır. Farklılık gösteren bu efektörler ise *XopP*, *XopH*, *XopAC*, *XopAH*, *XopAL2*, *XopR*, *AvrBs1*, *XopJ*, *AvrXccA2*, *XopE* ve *XopD*'dir (Tablo 4.15).

Farklı *X. campestris* pv. *campestris* genomlarında test edilen efektörlerin varlığı veya yokluğunun ile ırk grupları arasında bir bağlantı olup olmadığına bakılmıştır. Irkı belirlenmiş olan izolatlar da aynı tip III efektörlerinin mevcut olduğuna dair net bir kanıya varılmamıştır. Filogenik analizlerle, aynı ırk grubundan olan izolat genomlarında farklı efektörlerin de bulunduğu ve aynı ırka ait izolatların popülasyonunda heterojen dağılım gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 4.15. *X. campestris* pv. *campestris* Tip III efektörleri ve aday avirülens genleri

İzolant ismi	İrki	<i>AvrBs2</i>	<i>AvrXccA1</i>	<i>HpaA</i>	<i>HrpW</i>	<i>XopA</i>	<i>XopAM</i>	<i>XopAG</i>	<i>XopAL</i>	<i>XopAY</i>	<i>XopAZ</i>	<i>XopF</i>	<i>XopK</i>	<i>XopM</i>	<i>XopN</i>	<i>XopL</i>	<i>XopQ</i>	<i>XopX</i>	<i>XopZ</i>	<i>AvrXccA2</i>	<i>XopAH</i>	<i>XopH</i>	<i>XopAC</i>	<i>XopP</i>	<i>XopR</i>	<i>XopJ</i>	<i>XopAL2</i>	<i>AvrBs1</i>	<i>XopE</i>	<i>XopD</i>
SA14	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CS6_2	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TR11	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SB113	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CFBP1869	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B100	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xca5	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3811	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CN01	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC33913	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CFBP5683	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TR7	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SB39_1	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SB47_1	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SB76_1	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SV5	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SB102	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SB80	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CFBP5817	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xcc_C7	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CFBP1712	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CFBP1713	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CFBP6865R	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AMN4_1	6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CFBP5130	7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CN10	7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CFBP1124	8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tablo 4.15. (devam)

İzolat ismi	İrki	<i>AvrBs2</i>	<i>AvrXccA1</i>	<i>HpaA</i>	<i>HrpW</i>	<i>XopA</i>	<i>XopAM</i>	<i>XopAG</i>	<i>XopAL</i>	<i>XopAY</i>	<i>XopAZ</i>	<i>XopF</i>	<i>XopK</i>	<i>XopM</i>	<i>XopN</i>	<i>XopL</i>	<i>XopQ</i>	<i>XopX</i>	<i>XopZ</i>	<i>AvrXccA2</i>	<i>XopAH</i>	<i>XopH</i>	<i>XopAC</i>	<i>XopP</i>	<i>XopR</i>	<i>XopJ</i>	<i>XopAL2</i>	<i>AvrBs1</i>	<i>XopE</i>	<i>XopD</i>
SO1	8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-
CM6	8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-
8004	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
CFBP4955	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
AMN5	9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-
Bulunma yüzdesi (%)		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	97	97	88	84	84	81	75	50	44	44	34	3

+:gen bulunuyor -:gen bulunmuyor

4.2. Tartışma

Bu çalışmada, Karadeniz Bölgesi beyaz baş lahana üretiminin yoğun olarak yapıldığı Samsun, Amasya, Tokat ve Çorum illerinde siyah damar çürüklük hastalığı etmeni olan *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in bölgedeki varlığı, biyokimyasal, fizyolojik, morfolojik, patojenisite testi ve PCR'a dayalı moleküler tanı testleri ile birlikte belirlenmiştir. Aynı zamanda hastalığın tarla, köy/mahalle, ilçe ve il düzeyinde yaygınlık, bulunma oranı ile şiddeti belirlenmiştir. Tüm izolatlar için ırk belirleme çalışmaları yapılarak bölge izolatlarının ırk profilleri ortaya konmuştur. Bölgeyi temsilen seçilen izolatlar ile yapılan tüm genom dizi analizi çalışmaları ile etmenin fonksiyonel ve yapısal genomuna ait bilgiler elde edilmiştir.

Söz konusu bölgede 2019 yılında yapılan arazi çalışmalarında siyah damar çürüklük hastalığının literatürdeki belirtilen tipik belirtileri olan yaprak uçlarındaki V deseni şeklindeki lezyonlar ve damarlarda siyahlaşma belirtileri (Cook vd., 1952; Williams vd., 1972) incelenen tarlalarda sıklıkla gözlenmiş (Şekil 4.1) ve izolatlar tipik belirtileri gösteren hastalıklı örneklerden izolasyon yapılmıştır.

Hastalık etmenin yaygınlığı, bulunma oranı ve hastalık şiddetinin belirlenmesine yönelik olarak Samsun, Amasya, Çorum ve Tokat illerinde 2019 yılında yapılan arazi çalışmalarında 360 farklı beyaz baş lahana üretim alanı gezilmiş ve bunlardan 330'unda tipik siyah damar çürüklük hastalığı belirtilerine rastlanılmıştır. Samsun ilinin yaygınlık (%95.93), bulunma (%34.60) ve hastalık şiddeti (%14.64) oranları açısından en yüksek değerlere sahip il olduğu tespit edilmiştir. En yüksek hastalık şiddeti, bulunma ve yaygınlık oranları bakımından diğer iller ise sırasıyla Amasya, Çorum ve Tokat olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3). Daha önce Samsun'un Bafra ilçesinde yapılan benzer bir çalışmada ise, siyah damar çürüklük hastalık şiddetinin %41.6'ya vardığı rapor edilmiştir (Aksoy, 2007).

Arazi çalışmalarında 2019 yılında yeterince örnek toplandığı için 2020 yılında örnek toplanmamıştır. Ancak hastalığın yaygınlığı, bulunma oranı ve şiddetini belirlemek için 2020 yılında da arazi çalışması yapılmıştır. Samsun'un Bafra ilçesi beyaz baş lahana üretiminin en yoğun olarak yapıldığı (%95.60) ilçe olduğu için, sürvey çalışmaları 2020 yılında sadece Bafra ilçesinde yapılmıştır ve iki yılın verileri karşılaştırılmıştır. Bafra'da siyah damar çürüklük hastalığının yaygınlığı, bulunma oranı ve şiddeti 2019 yılında sırasıyla %98.87, 39.09 ve 16.63 iken (Tablo 4.2) 2020

yılında sırasıyla %81.35, 14.40 ve 4.83 (Tablo 4.4) olarak belirlenmiştir. Hastalık yaygınlığının 2020 yılındaki oranlarının 2019 yılına göre daha düşük olmasının nedeninin iklim koşullarıyla bağlantılı olduğu sonucuna varılmıştır. Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü'ne ait Bafra istasyonu verilere göre, 2019 yılı Ağustos-Aralık aylarına ait ortalama nispi nem %71.84 iken 2020 yılında %68.34, lahana üretim sezonunun başı olan Ağustos ayında 2019 yılında ortalama nispi nem %74.4 iken 2020 yılında bu değer %65.7, 2019 yılında Ağustos-Aralık ayları toplam yağış miktarı 254.80 kg/m² iken 2020 yılında 127.60 kg/m², Ağustos-Aralık aylarına ait aylık ortalama sıcaklıklar 2019 yılı için 23.2 °C-10.3 °C iken 2020 yılında 23.3-11.2 °C olduğu rapor edilmiştir. Her iki yılın iklim verileri kıyaslandığında, ilçedeki ortalama nispi nem oranının düşmesi ile hastalığın yaygınlık, bulunma ve şiddet oranlarının düşmesinde paralellik bulunmaktadır. Bu nedenle hastalık, epidemiyolojik açıdan ele alındığında hastalığın yaygınlığı için sadece bulaşık tohumun değil, aynı zamanda nemin de çok etkili bir faktör olduğu anlaşılmaktadır.

Serin ve nemli gecelerde lahana bitkilerinin hidatodlar üzerinde gutasyon sıvısı damlacıkları oluşturduğu ve *X. campestris* pv. *campestris* girişi için ideal giriş yolu sağladığı bilinmektedir. Gutasyon sıvısı mineraller, karbonhidratlar ve aminoasitler içerdiği ve bu ortamın *X. campestris* pv. *campestris* gelişimi için uygun olduğu bilinmektedir (Curtis, 1943; Lange vd., 2016). Bu çalışmada da literatür ile benzer bir şekilde, hastalığın gelişiminde nemin etkisiyle birlikte enfeksiyon noktasının hidatodlar olduğu gözlemlenmiştir.

Arazi çalışmalarında tipik siyah damar çürüklük hastalığı belirtileri gösteren örneklerden toplam 330 adet aday bakteri izolatu elde edilmiştir. Ancak bunlardan 23 tanesi tanılama çalışmalarında patojenisite testinde negatif reaksiyon göstermesi nedeniyle müteakip çalışmalardan çıkartılmış, geri kalan 307 adet izolatın tamamı *X. campestris* pv. *campestris* olarak tanılanmıştır. Bu durumun izolatların izolasyonun sürecinde saflaştırılmasında yanlış koloni seçimi yapılmış olabileceği veya çok düşük virülensliğe sahip izolat oldukları için patojenisite testinde reaksiyon göstermemesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Aday *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçlarının literatürde yer alan sonuçlarla (Schaad, 1989; Popovic vd., 2013) benzediği görülmüştür. Yapılan bu çalışmada, karbonhidratlardan asit oluşumu testlerinde d-trehalose, raffinose ve d-mannitol karbon kaynakları

kullanıldığında izolatlar negatif reaksiyon göstermiştir (Tablo 4.6). Adhikari ve Basnyat (1999) bu üç karbon kaynağında *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının reaksiyon sonuçlarında farklılık olduğunu bildirmişlerdir. D-trehalose, raffinose ve d-mannitol karbon kaynaklarında farklı sonuçların mevcut olmasının yanı sıra *X. campestris* pv. *campestris*'in diğer patojenik varyetelerle olan yakın benzerliğinden dolayı fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal test sonuçlarının yeterli olmadığı birçok çalışmada vurgulanmıştır (Franken, 1992; Popovic vd., 2013).

Moleküler tanılama çalışmalarında 16S rRNA ve *hrpF* gen bölgelerinin çoğaltılması için yapılan PCR işlemi sonrasında, elde edilen dizi sonuçları ile filogenetik analiz yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada elde edilen 16S rRNA dizileri NCBI'da BLAST ile analiz edildiğinde diğer patojenik varyetelerle de %100 benzerliğe sahip olduğu görülmüştür. Roohie ve Umesha (2012) 16S rRNA dizilemesinin *X. campestris* pv. *campestris* tanılmasında pratik olduğu ve kesin sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Daha sonradan yapılan çalışmalarda ise 16S rRNA dizi analizinin *Xanthomonas*'lar için cins düzeyinde teşhis için yeterli olduğu, ancak patojenik varyete ve ırk düzeyinde tanılama için yetersiz olduğu anlaşılmıştır (Singh vd., 2016). Bu çalışmada, *hrpF* gen bölgesinin ise patojenik varyete için daha spesifik sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Benzer bir şekilde, *hrpF* geninin birçok çalışmada *X. campestris* pv. *campestris*'in moleküler tanılmasında kesin sonuçlar verdiği ifade edilmiştir (Berg vd., 2006; Roohie ve Umesha, 2012; Rathaur vd., 2015).

Türkiye'den izole edilen *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının ilk defa ırk düzeyinde tespiti bu çalışma ile yapılmıştır. Irk belirleme çalışmaları sonucunda 307 adet *X. campestris* pv. *campestris* izolatının %69'u ırk 4, %15'i ırk 1, %8'si ırk 9, %6'sı ırk 8, %1'i ırk 3 ve %1'i ırk 6 grubu izolat oldukları tespit edilmiştir. Yapılan ırk tespiti çalışmalarında hastalık etmeninin ırk 2, ırk 5 ve ırk 7 izolatlarının bulunmadığı belirlenmiştir. Karadeniz Bölgesi'nde 1 ve 4 nolu ırkların en yaygın ırklar oldukları tespit edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda tüm dünyada en yaygın ve en virülene olan ırkların 1 ve 4 nolu ırklar olduğu, ırk 2, 3, 5 ve 6'nın ise çok yaygın olmadığı vurgulanmıştır (Vicente vd., 2001; Jensen vd., 2010; Lema vd., 2012; Vicente ve Holub, 2013). Bu çalışmada da benzer bir şekilde 1 ve 4 nolu ırkların en yaygın ırklar olduğu belirlenmiştir.

İl, ilçe ve köy düzeyinde ırk dağılımı incelendiğinde birbirine yakın tarla, köy ve ilçelerde aynı ırk grubu izolatların bulunduğu dair net bir tespit yapılamamıştır.

Ancak genel olarak ırk 4 grubu izolatların tüm bölgede daha yaygın olduğu belirlenmiştir. Yapılan birçok çalışmada *X. campestris* pv. *campestris*'in populasyon yapısının coğrafik orijin ile güçlü bir bağlantısının olmadığı vurgulanmıştır (Fargier vd, 2011; Denancé vd., 2018; Dubrow vd., 2022). Yapılan bu çalışmada da benzer şekilde yakın ilçe veya köylerde aynı ırk profili bulunmadığı ve ırk düzeyinde populasyon yapısının coğrafik orjinden bağımsız olabileceği sonucuna varılmıştır.

İzolatların ırk düzeyinde yaygınlığının virülenslik ile bağlantısı olup olmadığını incelemek amacıyla izolatların patojenisite testi ile virülenslik değerleri hesaplanmıştır. Tüm izolatların virülenslik değeri ortalaması alındığında, yaygınlığı yüksek olan ırk 4 grubu (yaklaşık %69'u) izolatların virülenslik değerlerinin ortalaması da ırk 1, 6 ve 8'den yüksek iken ırk 3 ve ırk 9'dan düşük olduğu görülmüştür (Tablo 4.11). İzolatların virülenslik düzeyi ve ırkların yaygınlığı arasında net bir bağlantı bulunmamıştır. Bu çalışmada literatürde olduğu gibi en yaygın olan ırkların 1 ve 4 nolu ırklar olduğu tespit edilmesine rağmen en virulent olan izolatların ırk 3 grubu izolatlar olduğu belirlenmiştir. Çalışmada izolatların 211 tanesi (%68.73) ırk 4 olarak belirlenirken, yalnızca 3 tanesi (%0.98) ırk 3 olarak belirlenmiştir. Irk 3 izolatlarının virülenslik ortalamasının ırk 4 izolatlarının virülenslik ortalamasına göre daha yüksek olması örnek sayısının ırk 4'e göre daha az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak, ırk 4 grubu izolatlarından %100'e varan hastalık şiddetine sebep olan izolatlar bulunurken, ırk 3 grubu en yüksek %77'e varan hastalık şiddetine neden olan izolatlar bulunmaktadır. Bu nedenle her ırk grubundan en yüksek hastalık şiddetine sahip aynı sayıda izolat seçilerek ortalaması alınmıştır. Bu durumda ise ırk 1, 4 ve 9 izolatlarının %100'e varan hastalık şiddetine sebep olduğu tespit edilmiştir. Her iki hesaplama baz alındığında da, ırk 1 ve 4 nolu izolatların virülenslik değerinin yüksek olmasından kaynaklı yaygınlığının da fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Benzer bir çalışmada, Brezilya'da farklı lokasyonlardan elde edilen 1, 3, 4, 6 ve 9 nolu ırk gruplarından seçilen *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının *A. thaliana*'da patojenisite testi sonrası virülenslik açısından en yüksek değere sahip ırkın 4 nolu ırk olduğu, daha sonra sırayla ırk 9, 1, 3 ve 6 grubu izolatların yer aldığı belirtilmiştir (Távora vd., 2022).

X. campestris pv. *campestris* ırklarının ayırımında kullanılan farklı *Brassica* spp. genotipleri ve bu genotiplere karşı gösterilen reaksiyon örnekleri birçok kaynak kullanılarak tek bir tabloda birleştirilmiştir (Tablo 2.1) ve ırk ayırımında bu tablo

referans alınmıştır (Vicente vd., 2001; Fargier ve Manceau, 2007; Vicente ve Holub, 2013 ve Cruz vd., 2017). Ancak daha önce yapılan çalışmalarda SxD1 (*B. oleracea*) ve COB60 (*B. napus*) isimli genotiplerin ırk 8 ve 9 izolatlarına karşı reaksiyonları test edilmemiştir. Daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak, bu çalışmada SxD1 (*B. oleracea*) ve COB60 (*B. napus*) isimli genotiplere ırk 8 ve ırk 9 izolatları inokule edilerek reaksiyon sonuçları gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda, SxD1 genotipinin ırk 8 ve ırk 9 grubu izolatlara karşı hassas reaksiyon gösterdikleri, COB60 genotipinin ise dayanıklılık reaksiyonu gösterdiği tespit edilmiştir.

Günümüzde *X. campestris* pv. *campestris* ile ilgili yapılan çalışmalar artık genomik seviyede olup, fonksiyonel ve karşılaştırmalı genom çalışmaları ile etmenin patojenisitesinde önemli olan genler araştırılmaktadır (Vicente ve Holub, 2013). Bu çalışmada, farklı virülenslik düzeyine sahip *X. campestris* pv. *campestris* izolatları seçilerek tüm genom dizi analizi yapılmıştır. Elde edilen genom dizi büyüklüğünün 4.91 – 5.06 Mb arasında değişmekte olduğu, GC içeriğinin ise %64.96-%65.22 arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.13). NCBI Genbank'ta kayıtlı olan *X. campestris* pv. *campestris* genomları incelendiğinde, benzer şekilde 4.9-5.2 Mb aralığında genom büyüklüğü ve yaklaşık 65% GC içeriğine sahip oldukları görülmüştür. Genom anotasyonu sonrası elde edilen veriler incelendiğinde, çalışmada elde edilen genomların 4094-4373 arası kodlanan dizi (CDSs), 54-58 arası tRNA, 1 adet tmRNA ve 3 adet rRNA içerdikleri belirlenmiştir. Birçok *X. campestris* pv. *campestris* genomunda da benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür (Qian vd., 2005; Bolot vd., 2015; Liu vd., 2015; Fujikawa ve Inoue, 2020).

Pan genoma (bir grup içerisindeki bütün izolatlara ait genlerin tamamı) dayalı filogenetik analizde bu çalışma izolatları ve ırkı belli olan *X. campestris* pv. *campestris* izolatları seçilmiştir. Pan genoma dayalı filogenide aynı ırk grubuna ait bazı izolatlar yakın kümelerde yer alırken, bazıları farklı pan genom profili gösterdiği için uzak kümelerde yer almıştır (Şekil 4.19). Dubrow ve Bogdanove (2021) tarafından yapılan çalışmada, NCBI Genbank'ta kayıtlı olan *X. campestris* patojenik varyetelerine ait genom dizileri ile ortalama nükleotid dizi benzerliğine (ANI, Average nucleotide identity) bakıldığında bazı genom dizileri düşük değer (< %95) göstermesinden dolayı, bazılarının yanlış patojenik varyetelerine ayrılmış olabileceği ve tanılamada yanlışlık yapılmış olabileceğine dikkat çekmişlerdir. Benzer bir şekilde, izolatların ırklara ayrılması süreci de dinamik bir süreç olup tartışmalar devam etmektedir.

Öz genoma (bir grup içerisindeki bütün izolatlarda mevcut ortak genlerin tamamı) bağlı olarak yapılan filogenetik analizde bu çalışma ile elde edilen izolatları kendi aralarında ve diğer ülkelerden elde edilen *X. campestris* pv. *campestris* genomlarıyla karşılaştırılmıştır ve ırklar arasında öz genom açısından bir bağlantı olup olmadığı incelenmiştir. Analiz sonucunda, bu çalışma ile elde edilen Türkiye orjinli izolatların hepsinin aynı veya yakın kümelerde yer almadığı tüm filogenetik ağaca yayılım gösterdikleri gözlemlenmiştir. Çin'den izole edilen CN12 -CN18 izolatlarının ise aynı kümelerde yer alırken, Belçika izolatlarının Türk izolatları gibi farklı kümelerde yer aldığı görülmüştür (Şekil 4.20). Öz genom filogenisine göre *X. campestris* pv. *campestris* için populasyon yapısının coğrafik orjinden bağımsız olduğu kanısına varılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda da buna benzer sonuçlar elde edilmiştir (Guy vd., 2013a; Roux vd., 2015).

Öz genom filogenisi ırk bazında incelendiğinde ise, Pan genom filogenisine benzer bir şekilde aynı ırk grubuna ait bazı izolatlar aynı kümede yer almasına rağmen, bazılarının uzak kümelerde yer aldığı görülmüştür. Singh vd. (2022) tarafından yapılan bir çalışmada ise, Hindistan'dan izole edilen ırk 4 grubu *X. campestris* pv. *campestris* Xcc-C7 isimli izolatın genom dizi analizi yapılmıştır. Aynı patovardan B100 (ırk 1), ATCC 33913 (ırk 3), 8004 (ırk 9) ve CFBP 5817 isimli izolat genomları ile birlikte yapılan filogenetik analizinde diğer ırk 4 grubu izolat (CFBP 5817) ile yakın ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmada sadece 4 izolat (2'si ırk 4) ile filogenetik analiz yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada ise toplam 81 adet izolat (7'si ırk 4) ile filogenetik analiz yapılmıştır.

X. campestris pv. *campestris* izolatlarının aynı ülkeden izole edilmesine rağmen filogenetik analizlerde aynı veya yakın kümeleşme göstermemelerinin nedeni olarak etmenin tohumla bir ülkeden diğer ülkeye yayılması gösterilebilir (Dubrow ve Bogdanove, 2021). Beyaz baş lahana üretiminde verim ve kalitenin yüksek olmasından dolayı ağırlıklı olarak hibrit çeşitler tercih edilmektedir ve Türkiye'de kullanılan hibrit beyaz baş lahana tohumlarının büyük bir çoğunluğu yurtdışından ithal edilmektedir (Özbakır Özer vd., 2021). Hastalıkta bulaşık tohumların primer inokulum kaynağı olmasından (Cook vd., 1952) dolayı lahana tohumlarının ekim öncesi analiz edilmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

Tanımlanan genom dizilimlerine ek olarak farklı izolatların genom dizilimlerinin tanımlanması ve bu çoklu dizilimlerin birbirleriyle kıyaslanması bize

patojenisite için önemli genler hakkında daha çok bilgi vermektedir. Tanımlanan/tanımlanacak olan tip III efektörlerinin farklı izolatlar arasındaki varlığı veya yokluğu genin fonksiyonunu ve evrimsel sürecini anlamamıza yardımcı olmaktadır. Örneğin, PTI'yi inhibe eden *avrAC* efektörü NCBI Genbank'ta kayıtlı *X. campestris* pv. *campestris* genomlarının çoğunda bulunmaktadır. *xopAC* geni ile *Arabidopsis thaliana* Col-0 ekotipinde ZAR1 dayanıklılık geninin arasında avirülens geni-dayanıklılık geni ilişkisi olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle ıslah ve genetik transformasyon çalışmalarıyla ZAR1 genine bağlı dayanıklılığın lahanada da sağlanması durumunda siyah damar çürüklük hastalığıyla mücadelede umut vaat ettiği belirtilmiştir. ZAR1 geninin varlığı başka Brassicaceae türlerinde de saptanabileceği ve ıslah çalışmaları ile ticari lahana çeşitlerine aktarılabilirliği düşünülmektedir (Dubrow vd., 2022). Bu çalışmada elde edilen genom ve NCBI Genbankasında kayıtlı diğer *X. campestris* pv. *campestris* genomları kullanılarak bilinen tip III efektörlerinin varlığı veya yokluğu araştırılmıştır.

Bilinen tip III efektörlerinin homologlarının *X. campestris* pv. *campestris* genomlarında taranması sonucunda, 5 ile 29 arasında tip III efektörü bulunmuştur. Bunlardan 18 tanesi analiz edilen genomlardan %97'sinden fazlasında bulunduğu için öz tip III efektörleri (*AvrBs2*, *AvrXccA1*, *HpaA*, *HrpW*, *XopA*, *XopAM*, *XopAG*, *XopAL*, *XopAY*, *XopAZ*, *XopF*, *XopK*, *XopM*, *XopN*, *XopL*, *XopQ*, *XopX*, *XopZ* ve *AvrXccA2*), geriye kalan 10 tanesinin ise bazı genomlarda mevcut, bazı genomlarda ise mevcut olduğu için değişken (*XopP*, *XopH*, *XopAC*, *XopAH*, *XopAL2*, *XopR*, *AvrBs1*, *XopJ*, *XopE* ve *XopD*) efektörler olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.15). Değişken olan efektörler açısından aynı ırk grubundan olan izolat genomlarında aynı efektör profili gösteren bir örnek bulunamamıştır.

Daha önce yapılan benzer bir çalışmada, 45 adet *X. campestris* pv. *campestris* genomunda bilinen T3E'lerinin homologları BLAST ile taranmıştır. T3E'leri öz ve değişken olanlar diye iki gruba ayrılmıştır. Öz tip III efektörleri izolatların %95'inden fazlasında bulunanlar olarak belirlenmiştir ve toplam 15 tanesinin öz tip III efektörü (*hpaA*, *hrpW*, *xopAM*, *xopL*, *xopN*, *xopK*, *xopQ*, *xopAG*, *xopA*, *avrBs2*, *xopZ*, *xopX2*, *xopP*, *xopF* ve *avrXccA1*) olduğu belirtilmiştir. 14 adet T3E'leri ise değişken grupta yer almıştır. Bunlar; *xopAL1*, *xopAL2*, *xopD1*, *xopD2*, *xopG*, *xopE2*, *xopJ5*, *xopAC*, *avrXccA2*, *xopAH*, *avrBs1*, *xopH*, *xopR* ve *xopX1*'dir. Diğer bir yandan, değişken olan tip III efektörlerindeki düşük GC içeriğinin ve genomik kümeler için tip III

efektörlerinin çeşitliliğinin yatay gen transferinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Guy vd., 2013a).

Abiyotik stres koşullarının da izolatlar arası çeşitliliği belirlediği bilinmektedir. Örneğin, domateste *Xanthomonas gardneri* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* etmenleri genellikle daha serin bölgelerde yaygındır (Potnis vd, 2015). Bu iki patojenin diğer bakteriyel lekeye sebep olan *Xanthomonas* izolatlarında olmayan birkaç tane tip III efektörü paylaştığı belirlenmiştir. Aynı bölgede bulunan farklı tür patojenlerde yatay gen transferinin çeşitliliğin güçlü bir kaynağı olarak gösterilebileceği vurgulanmıştır (Boulanger ve Noel, 2016).



5. SONUÇ

Siyah damar çürüklük hastalığı Karadeniz Bölgesi'nde yaygın bir hastalıktır ve uygun iklim koşulları oluştuğunda önemli verim kayıplarına neden olabilmektedir. Bu çalışma ile Karadeniz Bölgesi beyaz baş lahana üretiminin yaklaşık %99'unun yapıldığı Samsun, Amasya, Çorum ve Tokat illerinde beyaz baş lahana üretim alanlarında siyah damar çürüklük hastalığının şiddeti, yaygınlığı ve bulunma oranı belirlenmiştir. Hastalık yaygınlığının en fazla Samsun ilinde olduğu, bu ili sırasıyla Amasya, Çorum ve Tokat illerinin takip ettiği tespit edilmiştir.

Tanımlama çalışmaları sonrası elde edilen toplam 307 adet *X. campestris* pv. *campestris* izolatu ile yapılan ırk belirleme çalışmaları sonucunda, bölgede ırk 1, 3, 4, 6, 8 ve 9 nolu izolatlar tespit edilmiştir. Yapılan sörvey çalışmalarında en yaygın izolatların tüm dünyada olduğu gibi 1 ve 4 nolu ırklar olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, gelecekte yapılacak olan ıslah çalışmalarının 1 ve 4 nolu ırklara karşı dayanıklılık konusunda yapılması tavsiye edilmektedir. Hastalık etmeninin dünya genelinde tespit edilen ırk 2, 5 ve 7 nolu izolatların bölgede yapılan sörveylerde hastalıklı bitkilerde varlığına rastlanılamamıştır. Bu çalışma sadece Karadeniz Bölgesi'nde yapılmasından dolayı diğer bölgelerde de ırk belirleme çalışmaları yapılabilir ve dominant ırklara ait izolatlar seçildikten sonra ıslah çalışmalarında kullanılabilirler. Gelecekte yapılacak olan ıslah çalışmalarında kullanılabilecek ve bazı amaçlar için özellikleri belirlenmiş virulent ve ırkı belli olan yerli *X. campestris* pv. *campestris* izolatlarının bulunması ıslahçılar açısından büyük önem arz etmektedir.

Dünyada *X. campestris* pv. *campestris* ile ilgili yapılan çalışmaların artık genomik seviyede olduğu, karşılaştırmalı genom çalışmalarının etmenin patojenisitesinde önemli olan genleri anlamada önemli olduğu bilinmektedir ve gen bankalarında kayıtlı genom dizilerini genişletmek büyük önem teşkil etmektedir. Bu çalışma ile birlikte ülkemizde genom dizilemesi yapılan ilk *Xanthomonas* cinsi bitki patojeni kayıt altına alınmıştır. Bu açıdan gelecekte *X. campestris* pv. *campestris* patojenisitesini anlamak için yapılacak olan çalışmalara ışık tutacak niteliktedir.

Siyah damar çürüklük hastalığı ile ilgili dünyada oldukça fazla sayıda çalışmalar yapılmasına rağmen henüz etkin bir mücadele bulunamamıştır. Mücadele önerileri arasında; sertifikalı tohum kullanılması, hastalığın mevcut olduğu bölgelerde Brassicaceae familyası bitkileri dışında olan kültür bitkileriyle en az 3 yıllık ekim

nöbeti uygulanması, hastalıklı bitkilerin ve potansiyel konukçu yabancı otların tarladan uzaklaştırılması tavsiye edilebilir. Bazı ülkelerde bakırlı preparatların kullanımı mevcuttur ancak ülkemizde lahanada ruhsatlı bakırlı bitki koruma ürünü tavsiyesi bulunmamaktadır.

Siyah damar çürüklük hastalığı için primer inokulum kaynağı bulaşık tohumlardır. Türkiye’de lahanagil sebze tohumlarının büyük bir çoğunluğu yurtdışından ithal olarak gelmektedir. Lahana tohumlarının ülkeye girişinde siyah damar çürüklük hastalığına karşı herhangi bir analiz yapılmamaktadır. İthal edilen tohumların siyah damar çürüklük hastalığına karşı test edilmesi hastalığın yayılımında önemli mücadele stratejisi olabilir. Aynı şekilde yerli tohumların da analiz edilmesiyle ve sertifikalı tohum kullanımıyla birlikte ülke içinde hastalığın yaygınlaşması engellenebilir.

KAYNAKLAR

- Adhikari, T. B., & Basnyat, R. (1999). Phenotypic characteristics of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* from Nepal. *European Journal of Plant Pathology*, 105(3), 303-305.
- Aksoy, H.M. (2007). Samsun ili Bafra ilçesi'nde beyaz baş lahanalarında siyah damar çürüklük etmeni *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* [(Pammel 1895) Dowson 1939]'nin belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 22(3), 297-300.
- Aksoy, H. M., Ozturk, M., & Aktas, A. (2017a). First report of *Pseudomonas viridiflava* causing cabbage bacterial leaf spot in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 99(3).
- Aksoy, H. M., Ozturk, M., & Aktas, A. (2017b). First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing soft rot on white head cabbage in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 99(3).
- Aksoy, H. M., Ozturk, M., & Tufan, S. (2018). First report on *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* causing bacterial black rot disease of cauliflower in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 100(1), 141-141.
- Alfano, J. R., & Collmer, A. (1997). The type III (*Hrp*) secretion pathway of plant pathogenic bacteria: trafficking harpins, Avr proteins, and death. *Journal of bacteriology*, 179(18), 5655-5662.
- Al-Shehbaz, I. A., Beilstein, M. A., & Kellogg, E. A. (2006). Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview. *Plant Systematics and Evolution*, 259(2), 89-120.
- Ayers, S. H., & Rupp, P. (1919). A study of the alkali-forming bacteria found in milk (No. 782). US Department of Agriculture.
- Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A. A., Dvorkin, M., Kulikov, A. S., ... & Pevzner, P. A. (2012). SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of computational biology*, 19(5), 455-477.
- Baltrus, D. A., Nishimura, M. T., Romanchuk, A., Chang, J. H., Mukhtar, M. S., Cherkis, K., ... & Dangel, J. L. (2011). Dynamic evolution of pathogenicity revealed by sequencing and comparative genomics of 19 *Pseudomonas syringae* isolates. *PLoS pathogens*, 7(7), e1002132.
- Batista, J. N. G., Ferreira, M. A. D. S. V., & Quezado-Duval, A. M. (2021). Molecular and phenotypic characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* causing black rot in Brassica crops in Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 46(6), 684-701.
- Bradbury, J. F. (1986). Guide to plant pathogenic bacteria. CAB international, Wallingford, UK.
- Bella, P., Moretti, C., Licciardello, G., Strano, C. P., Pulvirenti, A., Alaimo, S., ... & Catara, V. (2019). Multilocus sequence typing analysis of Italian *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* strains suggests the evolution of local endemic populations of the pathogen and does not correlate with race distribution. *Plant Pathology*, 68(2), 278-287.
- Bellenot, C., Carrère, S., Gris, C., Noël, L. D., & Arlat, M. (2022). Genome Sequences of 17 Strains from Eight Races of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.
- Berg, T., Tesoriero, L., & Hailstones, D. L. (2006). A multiplex real-time PCR assay for detection of *Xanthomonas campestris* from brassicas. *Letters in Applied Microbiology*, 42(6), 624-630.
- Bila, J., Mortensen, C. N., Andresen, M., Vicente, J. G., & Wulff, E. G. (2013). *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* race 1 is the main causal agent of black rot of Brassicas in Southern Mozambique. *African Journal of Biotechnology*, 12(6).

- Bolot, S., Guy, E., Carrere, S., Barbe, V., Arlat, M., & Noël, L. D. (2013a). Genome sequence of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* strain Xca5. *Genome announcements*, 1(1), e00032-12.
- Bolot, S., Roux, B., Carrere, S., Jiang, B. L., Tang, J. L., Arlat, M., & Noël, L. D. (2013b). Genome sequences of three atypical *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* strains, CN14, CN15, and CN16. *Genome announcements*, 1(4), e00465-13. *Microbiology Resource Announcements*, 11(7), e00279-22.
- Bolot, S., Cerutti, A., Carrère, S., Arlat, M., Fischer-Le Saux, M., Portier, P., ... & Noël, L. D. (2015). Genome sequences of the race 1 and race 4 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* strains CFBP 1869 and CFBP 5817. *Genome Announcements*, 3(5), e01023-15.
- Bora, T. ve Karaca, İ., (1970). Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fak. Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No:167 Bornova, 43s.
- Boulanger, A., & Noël, L. D. (2016). *Xanthomonas* whole genome sequencing: phylogenetics, host specificity and beyond. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1100.
- Burkholder, W. H. (1941). The black rot of *Barbarea vulgaris*. *Phytopathology*, 31(4).
- CABI, 2002. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. In: *Invasive Species Compendium*. Wallingford, UK: CAB International. Retrieved March 22, 2021, from <https://www.cabi.org/isc>
- Castañeda, A., Reddy, J. D., El-Yacoubi, B., & Gabriel, D. W. (2005). Mutagenesis of all eight avr genes in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* had no detected effect on pathogenicity, but one avr gene affected race specificity. *Molecular plant-microbe interactions*, 18(12), 1306-1317.
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., & Gu, J. (2018). fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 34(17), i884-i890.
- Chun, W., Cui, J., & Poplawsky, A. (1997). Purification, characterization and biological role of a pheromone produced by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Physiological and molecular plant pathology*, 51(1), 1-14.
- Cruz, J., Tenreiro, R., & Cruz, L. (2017). Assessment of diversity of *Xanthomonas campestris* pathovars affecting cruciferous plants in Portugal and disclosure of two novel *X. campestris* pv. *campestris* races. *Journal of Plant Pathology*, 403-414.
- Cook, A. A., Walker, J. C., & Larson, R. H. (1952). Studies on the disease cycle of black rot of crucifers. *Phytopathology*, 42(3), 162-167.
- Curtis, L. C. (1943). Deleterious effects of guttated fluids on foliage. *American Journal of Botany*, 778-782.
- da Silva, A. R., Ferro, J. A., Reinach, F. D. C., Farah, C. S., Furlan, L. R., Quaggio, R. B., ... & Kitajima, J. P. (2002). Comparison of the genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities. *Nature*, 417(6887), 459-463.
- Dane, F., & Shaw, J. J. (1996). Survival and persistence of bioluminescent *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* on host and non-host plants in the field environment. *Journal of Applied Bacteriology*, 80(1), 73-80.
- Deivanmani, M., & Muthamilan, M. (2016). Morphological, Physiological and Biochemical characteristics of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* by black rot of cabbage. *Journal of Innovative Agriculture*, 3 (1), 10-18.
- Denancé, N., Szurek, B., Doyle, E. L., Lauber, E., Fontaine-Bodin, L., Carrère, S., ... & Noël, L. D. (2018). Two ancestral genes shaped the *Xanthomonas campestris* TAL effector gene repertoire. *New Phytologist*, 219(1), 391-407.

- Desai, D., Li, J. H., van Zijll de Jong, E., Braun, R., Pitman, A., Visnovsky, S., ... & Christey, M. (2015). Draft genome sequences of two New Zealand *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* isolates, ICMP 4013 and ICMP 21080. *Genome announcements*, 3(5), e01247-15.
- Dubrow, Z. E., & Bogdanove, A. J. (2021). Genomic insights advance the fight against black rot of crucifers. *Journal of General Plant Pathology*, 87(3), 127-136.
- Dubrow, Z. E., Carpenter, S. C., Carter, M. E., Grinage, A., Gris, C., Lauber, E., ... & Bogdanove, A. J. (2022). Cruciferous Weed Isolates of *Xanthomonas campestris* Yield Insight into Pathovar Genomic Relationships and Genetic Determinants of Host and Tissue Specificity. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 35(9), 791-802.
- Dye, D.W. & Lelliott, R.A. (1974). Genus II. *Xanthomonas*. In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th edition, R.E. Buchanan & N.E. Gibbons (eds.). Williams & Wilkins, Baltimore. pp. 243-249.
- Dye, D. W., Bradbury, J., Goto, M., Hayward, A. C., Lelliott, R. A., & Schroth, M. N. (1980). International standards for naming pathovars of phytopathogenic bacteria and a list of pathovar names and pathotype strains. *Review of Plant pathology*, 59(4), 153-168.
- Ekman, J., Tesoriero L., and Grigg, S. (2014). *Pests, Diseases and Disorders of Brassica Vegetables: A Field Identification Guide*. Horticulture Australia Ltd.
- Fargier, E., & Manceau, C. (2007). Pathogenicity assays restrict the species *Xanthomonas campestris* into three pathovars and reveal nine races within *X. campestris* pv. *campestris*. *Plant Pathology*, 56(5), 805-818.
- Fargier, E., Fischer-Le Saux, M., & Manceau, C. (2011). A multilocus sequence analysis of *Xanthomonas campestris* reveals a complex structure within crucifer-attacking pathovars of this species. *Systematic and Applied Microbiology*, 34(2), 156-165.
- FAO. (2020). Food and Agriculture Organization of the United Nations. "FAOSTAT-Production-Crops-Cabbage". Retrieved October 10, 2022, from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Feng, F., Yang, F., Rong, W., Wu, X., Zhang, J., Chen, S., ... & Zhou, J. M. (2012). A *Xanthomonas* uridine 5'-monophosphate transferase inhibits plant immune kinases. *Nature*, 485(7396), 114-118.
- Franken, A. A. J. M. (1992). Comparison of immunofluorescence microscopy and dilution-plating for the detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in crucifer seeds. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 98(3), 169-178.
- Fujikawa, T., & Inoue, Y. (2020). Genome Sequences of Two Pathogens of Cruciferous Crops, *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* MAFF 106181 and *X. campestris* pv. *campestris* MAFF 301176. *Microbiology Resource Announcements*, 9(42), e00887-20.
- Gram, C. (1884). The differential staining of Schizomycetes in tissue sections and in dried preparations. *Fortschritte der Medicin*, 2(6), 185-189.
- Guy, E., Genissel, A., Hajri, A., Chabannes, M., David, P., Carrere, S., ... & Noël, L. D. (2013a). Natural genetic variation of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* pathogenicity on *Arabidopsis* revealed by association and reverse genetics. *MBio*, 4(3), e00538-12.
- Guy, E., Lautier, M., Chabannes, M., Roux, B., Lauber, E., Arlat, M., & Noël, L. D. (2013b). xopAC-triggered immunity against *Xanthomonas* depends on *Arabidopsis* receptor-like cytoplasmic kinase genes PBL2 and RIPK. *PloS one*, 8(8), e73469.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. (2012). *Brassicaceae. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.

- He, Y. Q., Zhang, L., Jiang, B. L., Zhang, Z. C., Xu, R. Q., Tang, D. J., ... & Tang, J. L. (2007). Comparative and functional genomics reveals genetic diversity and determinants of host specificity among reference strains and a large collection of Chinese isolates of the phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Genome biology*, 8(10), 1-26.
- Ignatov, A., Kuginuki, Y., & Hida, K. I. (1998). Race-specific reaction of resistance to black rot in *Brassica oleracea*. *European Journal of Plant Pathology*, 104(8), 821-827.
- ISTA, (2015). Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* on *Brassica* spp. The International Seed Testing Association (ISTA) Ordinary General Meeting, Edinburgh, United Kingdom.
- Jensen, B. D., Vicente, J. G., Manandhar, H. K., & Roberts, S. J. (2010). Occurrence and diversity of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in vegetable *Brassica* fields in Nepal. *Plant Disease*, 94(3), 298-305.
- Jiang, B. L., He, Y. Q., Cen, W. J., Wei, H. Y., Jiang, G. F., Jiang, W., ... & Tang, J. L. (2008). The type III secretion effector XopXccN of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* is required for full virulence. *Research in Microbiology*, 159(3), 216-220.
- Jiang, W., Jiang, B. L., Xu, R. Q., Huang, J. D., Wei, H. Y., Jiang, G. F., ... & Tang, J. L. (2009). Identification of six type III effector genes with the PIP box in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and five of them contribute individually to full pathogenicity. *Molecular plant-microbe interactions*, 22(11), 1401-1411.
- Hadfield, J., Croucher, N. J., Goater, R. J., Abudahab, K., Aanensen, D. M., & Harris, S. R. (2018). Phandango: an interactive viewer for bacterial population genomics. *Bioinformatics*, 34(2), 292-293.
- Kamoun, S., Kamdar, H. V., Tola, E., & Kado, C. I. (1992). A vascular hypersensitive response: role of the *hrpK* locus. *Mol. Plant Microbe. Interact*, 5, 22-33.
- Kendeick, J. B., & Baker, K. F. (1942). Bacterial blight of garden Stocks and its control by hot-water seed treatment. *Bulletin of the California Agricultural Experiment Station*, 665, 1-23.
- King, E. O., Ward, M. K., & Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 44(2), 301-307.
- Knösel, D. (1961). Eine an kohl blattfleckenerzeugende Varietas von *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten (Pflanzenpathologie) und Pflanzenschutz*, 1-6.
- Koike, S. T., Gladders, P. and Paulus, A. O. (2007). *Vegetable diseases, a color handbook*. Boston: Academic Press.
- Kong, C., Horta de Passo, V., Fang, Z., Yang, L., Zhuang, M., Zhang, Y., ... & Lv, H. (2019). Complete Genome Sequence of Strain WHRI 3811 Race 1 of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, the Causal Agent of Black Rot of Cruciferous Vegetables. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 32(12), 1571-1573.
- Laala, S., Cesbron, S., Kerkoud, M., Valentini, F., Bouznad, Z., Jacques, M. A., & Manceau, C. (2021). Characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in Algeria. *Phytopathologia Mediterranea*, 60(1), 51-62.
- Lange, H. W., Tancos, M. A., Carlson, M. O., & Smart, C. D. (2016). Diversity of *Xanthomonas campestris* isolates from symptomatic crucifers in New York State. *Phytopathology*, 106(2), 113-122.
- Lema, M., Cartea, M. E., Sotelo, T., Velasco, P., & Soengas, P. (2012). Discrimination of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* races among strains from northwestern Spain

- by Brassica spp. genotypes and rep-PCR. *European Journal of Plant Pathology*, 133(1), 159-169.
- Letunic, I., & Bork, P. (2021). Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic acids research*, 49(W1), W293-W296.
- Leyns, F., De Cleene, M., Swings, J. G., & De Ley, J. (1984). The host range of the genus *Xanthomonas*. *The Botanical Review*, 50(3), 308-356.
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., ... & Durbin, R. (2009). The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics*, 25(16), 2078-2079.
- Li, H., & Durbin, R. (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *bioinformatics*, 25(14), 1754-1760.
- Liu, Y. C., Wang, S. C., Yu, Y. J., Fung, K. M., Yang, M. T., Tseng, Y. H., ... and Chou, S. H. (2015). Complete genome sequence of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* strain 17 from Taiwan. *Genome announcements*, 3 (6), 14-15.
- Liu, L., Wang, Y., Cui, F., Fang, A., Wang, S., Wang, J., ... & Sun, W. (2017). The type III effector *AvrXccB* in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* targets putative methyltransferases and suppresses innate immunity in Arabidopsis. *Molecular Plant Pathology*, 18(6), 768-782.
- López, R., Asensio, C., & Gilbertson, R. L. (2006). Phenotypic and genetic diversity in strains of common blight bacteria (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *X. campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans*) in a secondary center of diversity of the common bean host suggests multiple introduction events. *Phytopathology*, 96(11), 1204-1213.
- Lu, H., Patil, P., Van Sluys, M.-A., White, F. F., Ryan, R. P., Dow, J. M., Rabinowicz, P., Salzberg, S. L., Leach, J. E., Sonti, R., Brendel, V. and Bogdanove, A. J. (2008). Acquisition and evolution of plant pathogenesis-associated gene cluster and candidate determinants of tissue-specificity in *Xanthomonas*. *PLoS ONE*, 3, 38-28.
- Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., ... & Foster, G. D. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 13(6), 614-629.
- Melotto, M., Underwood, W., Koczan, J., Nomura, K., & He, S. Y. (2006). Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell*, 126(5), 969-980.
- Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M. D., Von Haeseler, A., & Lanfear, R. (2020). IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular biology and evolution*, 37(5), 1530-1534.
- Mirik, M., Selcuk, F., Aysan, Y., & Sahin, F. (2008). First outbreak of bacterial black rot on cabbage, broccoli, and brussels sprouts caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in the Mediterranean Region of Turkey. *Plant Disease*, 92(1), 176-176.
- Mulema, J. M., Vicente, J. G., Pink, D. A., Jackson, A., Chacha, D. O., Wasilwa, L., ... & Hand, P. (2012). Characterization of isolates that cause black rot of crucifers in East Africa. *European Journal of Plant Pathology*, 133(2), 427-438.
- Özbakır Özer, M., Kar, H., Doğru, Ş. M., Bekar, N. K., & Karaağaç, O. (2021). Beyaz Baş Lahanada (*Brassica oleracea* var. *capitata*. L) Ebeveyn Hatların Kombinasyon Yeteneklerinin Belirlenmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(1), 23-31.
- Page, A. J., Cummins, C. A., Hunt, M., Wong, V. K., Reuter, S., Holden, M. T., ... & Parkhill, J. (2015). Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. *Bioinformatics*, 31(22), 3691-3693.

- Park, Y. J., Lee, B. M., Ho-Hahn, J., Lee, G. B. and Park, D. S. (2004). Sensitive and specific detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* by PCR using species-specific primers based on hrpF gene sequences. *Microbiological Research*, 159 (4), 419-423.
- Patwardhan, G. B. (1928). Field, garden and orchard crops of Bombay. Presidency Bull. Dep. Agric. Bombay, 30.
- Pinto-Ganhao, J. (1962). *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson - Uma nova bacteriose para Portugal. *Agros*, 45, 167-168.
- Popovic, T., Jošić, D., Starović, M., Milovanović, P., Dolovac, N., Poštić, D., & Stanković, S. (2013). Phenotypic and genotypic characterization of *Xanthomonas campestris* strains isolated from cabbage, kale and broccoli. *Archives of Biological Sciences*, 65(2), 585-593.
- Popović, T., Mitrović, P., Jelušić, A., Dimkić, I., Marjanović-Jeromela, A., Nikolić, I., & Stanković, S. (2019). Genetic diversity and virulence of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* isolates from *Brassica napus* and six *Brassica oleracea* crops in Serbia. *Plant Pathology*, 68(8), 1448-1457.
- Potnis, N., Timilsina, S., Strayer, A., Shantharaj, D., Barak, J. D., Paret, M. L., ... & Jones, J. B. (2015). Bacterial spot of tomato and pepper: Diverse *Xanthomonas* species with a wide variety of virulence factors posing a worldwide challenge. *Molecular plant pathology*, 16(9), 907-920.
- Qian, W., Jia, Y., Ren, S. X., He, Y. Q., Feng, J. X., Lu, L. F., ... & He, C. (2005). Comparative and functional genomic analyses of the pathogenicity of phytopathogen *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Genome research*, 15(6), 757-767.
- Rademaker, J. L. W. and De Bruijn, F. J. (1997). Characterization and classification of microbes by rep-PCR genomic fingerprinting and computer assisted pattern analysis. In G. CaetanoAnolles & P. M. Gresshoff (Eds.), *DNA markers: Protocols, applications, and overviews*. New York: Wiley, 151-171.
- Rademaker, J. L. W., Louws, F. J., Schultz, M. H., Rossbach, U., Vauterin, L., Swings, J., & De Bruijn, F. J. (2005). A comprehensive species to strain taxonomic framework for *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 95(9), 1098-1111.
- Rathaur, P. S., Singh, D., Raghuwanshi, R., & Yadava, D. K. (2015). Pathogenic and genetic characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* races based on rep-PCR and multilocus sequence analysis. *Journal of Plant pathology and Microbiology*, 6(10).
- Ricciardi, V., Mehrabi, Z., Wittman, H., James, D., & Ramankutty, N. (2021). Higher yields and more biodiversity on smaller farms. *Nature Sustainability*, 4(7), 651-657.
- Rongqi, X., Xianzhen, L., Hongyu, W., Bole, J., Kai, L., Yongqiang, H., ... & Jiliang, T. (2006). Regulation of eight avr by hrpG and hrpX in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and their role in pathogenicity. *Progress in Natural Science*, 16(12), 1288-1294.
- Roohie, R. K., & Umesha, S. (2012). Development of multiplex PCR for the specific detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in cabbage and correlation with disease incidence. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 3(127), 2.
- Roux, B., Bolot, S., Guy, E., Denancé, N., Lautier, M., Jardinaud, M. F., ... & Noël, L. D. (2015). Genomics and transcriptomics of *Xanthomonas campestris* species challenge the concept of core type III effectome. *BMC genomics*, 16(1), 1-19.
- Rubel, M. H., Robin, A. H. K., Natarajan, S., Vicente, J. G., Kim, H. T., Park, J. I., & Nou, I. S. (2017). Whole-genome re-alignment facilitates development of specific molecular markers for races 1 and 4 of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, the cause of black

- rot disease in Brassica oleracea. International journal of molecular sciences, 18(12), 2523.
- Rudolph, K. (1993). Infection of the plant by *Xanthomonas*. Springer, Dordrech, 193-264.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. (1989). Molecular Cloning: a Laboratory Manual, Second edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Schaad, N. W., & Forster, R. L. (1985). A semiselective agar medium for isolating *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* from wheat seeds. Phytopathology, 75(3), 260-263.
- Schaad, N. W. (1989). Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in crucifers. Detection of plant pathogenic bacteria in seeds and other planting materials. The American Phytopathological Society, St. Paul, 68-75.
- Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. (2001). Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria (No. Ed. 3). American Phytopathological society (APS press). Minnesota: The American Phytopathological Soc., 1-16.
- Seemann, T. (2014). Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. Bioinformatics, 30(14), 2068-2069.
- Selçuk, F. (2008). Brassicaceae familyasına ait bazı ticari bitki tohumlarında bakteriyel hastalık etmenlerinin tanılanması. Yüksek Lisans tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Shankar, S., Segaran, G., Sundar, R. D. V., Settu, S., & Sathivelu, M. (2019). Brassicaceae- A classical review on its pharmacological activities. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res, 55(1), 107-113.
- Shelton, A. M., & Hunter, J. E. (1985). Evaluation of the potential of the flea beetle *Phyllotreta cruciferae* to transmit *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, causal agent of black rot of crucifers. Canadian journal of Plant pathology, 7(3), 308-310.
- Shigaki, T., Nelson, S. C., & Alvarez, A. M. (2000). Symptomless spread of blight-inducing strains of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* on cabbage seedlings in misted seedbeds. European journal of plant pathology, 106(4), 339-346.
- Shrestha, K., Mathur, S. B., & Neergaard, P. (1977). Seed-borne organisms in some crops of Nepal. Seed Science and Technology (Norway), 5(1), 111-121.
- Simpson, A. J. G., Reinach, F. D. C., Arruda, P., Abreu, F. D., Acencio, M., Alvarenga, R., ... & Setubal, J. C. (2000). The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. Nature, 406(6792), 151-157.
- Singh, D., Rathaur, P. S., & Vicente, J. G. (2016). Characterization, genetic diversity and distribution of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* races causing black rot disease in cruciferous crops of India. Plant Pathology, 65(9), 1411-1418.
- Singh, D., Kesharwani, A. K., Singh, K., Jaiswal, S., Iquebal, M. A., Geat, N., & Avasthi, A. S. (2022). Whole-Genome Sequence Resource of Indian Race 4 of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, the Causal Agent of Black Rot Disease of *Brassica oleracea* var. *capitata*. Plant Disease, 106(5), 1502-1505.
- Staub, T., & Williams, P. H. (1972). Factors influencing black rot lesion development in resistant and susceptible cabbage. Phytopathology, 62(7), 722-728.
- Sutton, J. C., & Williams, P. H. (1970). Comparison of extracellular polysaccharide of *Xanthomonas campestris* from culture and from infected cabbage leaves. Canadian Journal of Botany, 48(3), 645-651.

- Takeuchi, K., & Mitsuhashi, I. (2020). Complete genome sequences of two strains of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* isolated in Japan. *Microbiology Resource Announcements*, 9(2), e01239-19.
- Távora, F. T., Moura, D. R., Cury, N. F., Mendes, P. N., Quezada-Duval, A. M., & Mehta, A. (2022). Pathogenicity assays on *Arabidopsis thaliana* infected with *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* seize aggressiveness variation at the race and isolate levels. *European Journal of Plant Pathology*, 1-7.
- Taylor, J. D., Conway, J., Roberts, S. J., Astley, D., & Vicente, J. G. (2002). Sources and origin of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in Brassica genomes. *Phytopathology*, 92(1), 105-111.
- Tonguç, M. (2009). Hardalgillerde Kara Çürüklük Hasalığı (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) ve Dayanıklılık Kaynakları. *Alatarım*, 8, 51-59.
- Townsend, G. R. and Heuberger, J.W. (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Reporter*, 27, 340-343.
- Tripathi, L., Mwangi, M., Abele, S., Aritua, V., Tushemereirwe, W. K., & Bandyopadhyay, R. (2009). *Xanthomonas* wilt: a threat to banana production in East and Central Africa. *Plant Disease*, 93(5), 440-451.
- TÜİK. (2020). Türkiye İstatistik Kurumu. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Erişim tarihi: 10.10.2022, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001
- UN. (2019). United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division, World Population Prospects 2019: Highlights (ST/ESA/SER.A/423). Retrieved October 15, 2022.
- Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K., & Swings, J. (1995). Reclassification of *xanthomonas*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(3), 472-489.
- Vauterin, L., Rademaker, J., & Swings, J. (2000). Synopsis on the taxonomy of the genus *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 90(7), 677-682.
- Vicente, J. G., Conway, J., Roberts, S. J., & Taylor, J. D. (2001). Identification and origin of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* races and related pathovars. *Phytopathology*, 91(5), 492-499.
- Vicente, J. G., Everett, B., & Roberts, S. J. (2006). Identification of isolates that cause a leaf spot disease of brassicas as *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* and pathogenic and genetic comparison with related pathovars. *Phytopathology*, 96(7), 735-745.
- Vicente, J. G., & Holub, E. B. (2013). *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops. *Molecular plant pathology*, 14(1), 2-18.
- Vicente, J. G., Taylor, J. D., Sharpe, A. G., Parkin, I. A. P., Lydiate, D. J., & King, G. J. (2002). Inheritance of race-specific resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in Brassica genomes. *Phytopathology*, 92(10), 1134-1141.
- Vorholter, F. J., Schneiker, S., Goesmann, A., Krause, L., Bekel, T., Kaiser, O., ... & Pühler, A. (2008). The genome of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* B100 and its use for the reconstruction of metabolic pathways involved in xanthan biosynthesis. *Journal of biotechnology*, 134(1-2), 33-45.
- Warwick, S. I., Sauder, C. and Al-Shehbaz, I. (2006). Molecular phylogeny, morphology and cytological diversity of *Sisymbrium* (Brassicaceae). In A. K. Sharma and A. Sharma [eds.], *Plant genome: Biodiversity and evolution*. New Delhi: Oxford and IBH Publishing, 219 – 250.
- White HE, (1930). Bacterial spot of radish and turnip. *Phytopathology* 20, 653–62.

- Wink, M., & Van Wyk, B. E. (2008). Mind-altering and poisonous plants of the world (Vol. 464). Portland: Timber Press.
- Williams, P. H. (1980). Black Rot: A continuing threat to world crucifers. *Plant Disease*, 64, 736-742.
- Williams, P. H., Staub, T., & Sutton, J. C. (1972). Inheritance of resistance in Cabbage to black rot. *Phytopathology*, 62(2), 247-252.
- Yan, X., Tao, J., Luo, H. L., Tan, L. T., Rong, W., Li, H. P., & He, C. Z. (2019). A type III effector *XopLXcc8004* is vital for *Xanthomonas campestris* pathovar *campestris* to regulate plant immunity. *Research in microbiology*, 170(3), 138-146.



EKLER

Ek 1. 2019 yılı arazi sürvey verileri

Ek 2. NCBI’de kayıtlı karşılaştırmalı genom analizinde kullanılan *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* izolatlarına ait bilgiler



Ek 1. 2019 yılı arazi sürvey verileri

Lokasyon adı	İl	İlçe	Köy/Mahalle	Tarla alanı (da)	S (%)	I (%)	P (%)
AT1	AMASYA	Taşova	Umutlu	3	3,11	12	100
AT2	AMASYA	Taşova	Umutlu	3	2,67	8	100
AT3	AMASYA	Taşova	Umutlu	3	4,67	10	100
AT4	AMASYA	Taşova	Umutlu	2	3,33	10	100
AT5	AMASYA	Taşova	Umutlu	2	6,67	20	100
AT6	AMASYA	Taşova	Umutlu	2	3,33	10	100
AM1	AMASYA	Merkez	Karaköprü	1	1,33	8	100
AM2	AMASYA	Merkez	Kızılca	3	0,00	0	0
AM3	AMASYA	Merkez	Kızılca	2,50	0,00	0	0
AM4	AMASYA	Merkez	Kızılca	3	24,67	62	100
AM5	AMASYA	Merkez	Kızılca	1	9,33	20	100
AM6	AMASYA	Merkez	Kızılca	2	6,22	20	100
AM7	AMASYA	Merkez	Kızılca	0,7	0,00	0	0
AM8	AMASYA	Merkez	Kızılca	1	8,00	28	100
AM9	AMASYA	Merkez	Kızılca	0,2	0,00	0	0
AM10	AMASYA	Merkez	Kızılca	0,2	0,00	0	0
AM11	AMASYA	Merkez	Kızılca	1	0,67	6	100
AS1	AMASYA	Suluova	Yolpınar	0,5	12,22	30	100
AS2	AMASYA	Suluova	Yolpınar	1	0,44	4	100
AMN1	AMASYA	Merzifon	Bulak	2	24,00	60	100
AMN2	AMASYA	Merzifon	Bulak	1	0,22	2	100
AMN3	AMASYA	Merzifon	Bulak	4	2,00	6	100
AMN4	AMASYA	Merzifon	Bulak	3	3,33	10	100
AMN5	AMASYA	Merzifon	Bulak	1	0,00	0	0
AMN6	AMASYA	Merzifon	Bulak	1	1,33	4	100
AG1	AMASYA	Gümüşhacıköy	Yeniköy	7	6,67	20	100
AG2	AMASYA	Gümüşhacıköy	Yeniköy	0,2	0,89	4	100
AG3	AMASYA	Gümüşhacıköy	Yeniköy	0,2	8,89	24	100
AG4	AMASYA	Gümüşhacıköy	Yeniköy	1	5,33	20	100
AG5	AMASYA	Gümüşhacıköy	Yeniköy	0,2	4,67	14	100
AG6	AMASYA	Gümüşhacıköy	Yeniköy	1	42,89	90	100
AH1	AMASYA	Hamamözü	Merkez	0,1	29,33	56	100
AH2	AMASYA	Hamamözü	Damladere	0,1	3,33	10	100
AH3	AMASYA	Hamamözü	Damladere	2	0,00	0	0
AH4	AMASYA	Hamamözü	Damladere	2	12,67	30	100
AH5	AMASYA	Hamamözü	Damladere	2	37,56	90	100
ÇM1	ÇORUM	Merkez	Merkez	6	0,00	0	0
ÇM2	ÇORUM	Merkez	Tarhan	1	0,00	0	0
ÇM3	ÇORUM	Merkez	Boğabağı	0,10	0,00	0	0
ÇM4	ÇORUM	Merkez	Boğabağı	0,10	0,00	0	0
ÇM5	ÇORUM	Merkez	Boğabağı	2	2,44	14	100
ÇM6	ÇORUM	Merkez	Boğabağı	2,50	1,11	6	100
ÇS1	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	4	0,00	0	0
ÇS2	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	5	2,22	20	100
ÇS3	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	3,50	1,11	10	100
ÇS4	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	1	0,00	0	0
ÇS5	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	3,50	0,00	0	0
ÇS6	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	5	0,00	0	0
ÇS7	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	4	7,56	20	100
ÇS8	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	7	0,00	0	0
ÇS9	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	7	0,67	6	100
ÇS10	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	8	2,22	12	100
ÇS11	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	10	1,11	6	100
ÇS12	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	12	1,11	10	100
ÇS13	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	8	0,00	0	0

Ek 1. (devam)

Lokasyon adı	İl	İlçe	Köy/Mahalle	Tarla alanı (da)	S (%)	I (%)	P (%)
ÇS14	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	6	1,56	10	100
ÇS15	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	10	2,00	10	100
ÇS16	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	7	3,56	16	100
ÇS17	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	12	3,11	12	100
ÇS18	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	4	8,00	20	100
ÇS19	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	3	0,22	2	100
ÇS20	ÇORUM	Sungurlu	Demirşeyh	7	1,33	8	100
ÇOK1	ÇORUM	Osmancık	Yenidanişment	1	0,22	2	100
ÇOK2	ÇORUM	Osmancık	Yenidanişment	0,30	0,00	0	0
ÇOK3	ÇORUM	Osmancık	Yenidanişment	0,50	0,67	6	100
ÇOK4	ÇORUM	Osmancık	Yenidanişment	0,30	0,00	0	0
ÇOK5	ÇORUM	Osmancık	Gecek	0,10	0,00	0	0
ÇOK6	ÇORUM	Osmancık	Gecek	1	0,00	0	0
ÇOK7	ÇORUM	Osmancık	Gecek	0,20	0,00	0	0
ÇOK8	ÇORUM	Osmancık	Gecek	1	0,00	0	0
TE1	TOKAT	Erbaa	Kaleköy	2	8,67	22	100
TE2	TOKAT	Erbaa	Kaleköy	1	5,78	16	100
TE3	TOKAT	Erbaa	Karayakı	2	0,00	0	0
TE4	TOKAT	Erbaa	Karayakı	6	0,00	0	0
TE5	TOKAT	Erbaa	Karayakı	7	0,00	0	0
TE6	TOKAT	Erbaa	Yenimahalle	4	0,00	0	0
TE7	TOKAT	Erbaa	Yenimahalle	2	3,56	8	100
TN1	TOKAT	Niksar	Buzköy	2	1,33	4	100
TN2	TOKAT	Niksar	Buzköy	1	1,33	4	100
TN3	TOKAT	Niksar	Buzköy	0,5	5,11	14	100
TN4	TOKAT	Niksar	Yeşilhisar	0,1	0,00	0	100
TN5	TOKAT	Niksar	Yeşilhisar	1	3,33	10	100
TN6	TOKAT	Niksar	Yeşilhisar	1	8,22	26	100
TN7	TOKAT	Niksar	Yeşilhisar	0,1	0,00	0	0
TN8	TOKAT	Niksar	Yeşilhisar	0,1	8,89	20	100
TN9	TOKAT	Niksar	Yeşilhisar	0,5	10,89	30	100
TN10	TOKAT	Niksar	Yeşilhisar	1	5,33	12	100
TN11	TOKAT	Niksar	Yeşilhisar	2	8,22	18	100
TN12	TOKAT	Niksar	Yeşilhisar	2	9,78	20	100
TN13	TOKAT	Niksar	Direkli	6,50	5,11	18	100
TN14	TOKAT	Niksar	Direkli	0,5	0,00	0	0
TN15	TOKAT	Niksar	Direkli	5	1,33	4	100
TN16	TOKAT	Niksar	Direkli	10	4,89	16	100
TN17	TOKAT	Niksar	Buzköy	0,5	0,00	0	100
TN18	TOKAT	Niksar	Buzköy	2,50	5,33	16	100
TN19	TOKAT	Niksar	Günlüce	0,1	0,00	0	0
TR1	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	2	1,56	6	100
TR2	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	0,2	1,33	4	100
TR3	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	0,3	7,56	20	100
TR4	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	1	4,22	14	100
TR5	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	0,2	3,78	10	100
TR6	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	0,2	0,00	0	0
TR7	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	0,2	4,44	16	100
TR8	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	0,5	0,00	0	0
TR9	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	1	1,78	8	100
TR10	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	0,2	0,00	0	0
TR11	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	0,2	50,67	100	100
TR12	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	0,2	0,00	0	0
TR13	TOKAT	Reşadiye	Bostankolu	0,25	0,89	4	100
TM1	TOKAT	Merkez	Hasanbaba	0,2	0,00	0	0

Ek 1. (devam)

Lokasyon adı	İl	İlçe	Köy/Mahalle	Tarla alanı (da)	S (%)	I (%)	P (%)
TM2	TOKAT	Merkez	Hasanbaba	1	0,00	0	0
TM3	TOKAT	Merkez	Hasanbaba	1	6,67	20	100
TM4	TOKAT	Merkez	Hasanbaba	0,5	0,00	0	0
TM5	TOKAT	Merkez	Hasanbaba	0,2	7,33	18	100
TM6	TOKAT	Merkez	Hasanbaba	6	0,00	0	0
TM7	TOKAT	Merkez	Hasanbaba	3	0,00	0	0
TM8	TOKAT	Merkez	Gezirlik	0,5	1,33	4	100
TM9	TOKAT	Merkez	Gezirlik	0,5	0,00	0	0
TM10	TOKAT	Merkez	Gezirlik	0,5	1,33	4	100
TM11	TOKAT	Merkez	Gezirlik	0,5	0,00	0	0
TM12	TOKAT	Merkez	Gezirlik	0,2	2,00	6	100
TM13	TOKAT	Merkez	Gezirlik	0,2	0,00	0	0
TM14	TOKAT	Merkez	Gezirlik	0,1	0,00	0	0
TM15	TOKAT	Merkez	Yeşilova	0,3	0,00	0	0
TM16	TOKAT	Merkez	Yeşilova	0,5	2,00	6	100
TM17	TOKAT	Merkez	Çerçi	2	1,33	4	100
TM18	TOKAT	Merkez	Çerçi	5	0,00	0	0
TM19	TOKAT	Merkez	Küçükbağlar	2	3,33	10	100
TM20	TOKAT	Merkez	Küçükbağlar	1	0,00	0	0
TM21	TOKAT	Merkez	Küçükbağlar	2	0,00	0	0
TM22	TOKAT	Merkez	Küçükbağlar	2	5,33	16	100
TP1	TOKAT	Pazar	Esentepe	1	0,00	0	0
TP2	TOKAT	Pazar	Esentepe	5	3,33	10	100
TP3	TOKAT	Pazar	Merkez	4	5,56	14	100
TP4	TOKAT	Pazar	Merkez	0,2	4,00	12	100
TP5	TOKAT	Pazar	Menteşeköyü	7	6,22	16	100
TP6	TOKAT	Pazar	Menteşeköyü	2	8,89	24	100
TP7	TOKAT	Pazar	Üzümlören	0,1	0,00	0	0
TP8	TOKAT	Pazar	Üzümlören	0,1	6,67	20	100
TP9	TOKAT	Pazar	Bağlarbaşı	2	18,00	46	100
TP10	TOKAT	Pazar	Bağlarbaşı	0,1	1,33	4	100
TT1	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	1	24,44	60	100
TT2	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	5	3,33	10	100
TT3	TOKAT	Turhal	Hamam	3	3,33	10	100
TT4	TOKAT	Turhal	Hamam	1	0,00	0	0
TT5	TOKAT	Turhal	Hamam	1	0,00	0	0
TT6	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	6	1,33	4	100
TT7	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	0,2	6,00	18	100
TT8	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	7	10,00	26	100
TT9	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	10	7,56	20	100
TT10	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	7	2,67	8	100
TT11	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	10	0,00	0	0
TT12	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	5	0,00	0	0
TT13	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	4	0,00	0	0
TT14	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	8	0,00	0	0
TT15	TOKAT	Turhal	Dökmetepe	7	2,00	6	100
SH1	SAMSUN	Havza	Yenice	2	0,00	0	0
SH2	SAMSUN	Havza	Yenice	2	4,89	16	100
SH3	SAMSUN	Havza	Yenice	3	0,00	0	0
SH4	SAMSUN	Havza	Yenice	0,5	0,00	0	0
SH5	SAMSUN	Havza	Yenice	0,2	0,00	0	0
SH6	SAMSUN	Havza	Yenice	2	0,00	0	0
SH7	SAMSUN	Havza	Ersandık	0,2	0,00	0	0
SH8	SAMSUN	Havza	Ersandık	0,3	0,00	0	0
SH9	SAMSUN	Havza	Ersandık	1	8,67	22	100

Ek 1. (devam)

Lokasyon adı	İl	İlçe	Köy/Mahalle	Tarla alanı (da)	S (%)	I (%)	P (%)
SH10	SAMSUN	Havza	Yenice	5	0,00	0	0
SH11	SAMSUN	Havza	Kocapınar	0,2	0,00	0	0
SÇ1	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	2	21,33	56	100
SÇ2	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	4	8,67	30	100
SÇ3	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	16	2,44	10	100
SÇ4	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	6	3,33	10	100
SÇ5	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	8	0,00	0	0
SÇ6	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	5	2,44	10	100
SÇ7	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	4	4,00	12	100
SÇ8	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	7	3,33	10	100
SÇ9	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	7	9,56	30	100
SÇ10	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	4	3,33	10	100
SÇ11	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	4	2,44	10	100
SÇ12	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	2	10,00	26	100
SÇ13	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	2	2,00	6	100
SÇ14	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	0,2	0,00	0	0
SÇ15	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	8	0,00	0	0
SÇ16	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	3	0,00	0	0
SÇ17	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	3	0,89	4	100
SÇ18	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	3	12,00	40	100
SÇ19	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	8	2,00	6	100
SÇ20	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	0,5	6,67	20	100
SÇ21	SAMSUN	Çarşamba	Köklük	1	7,56	20	100
SÇ22	SAMSUN	Çarşamba	Ovacık	0,2	2,00	6	100
SÇ23	SAMSUN	Çarşamba	Ovacık	1	0,89	4	100
SÇ24	SAMSUN	Çarşamba	Ovacık	0,1	3,33	10	100
SÇ25	SAMSUN	Çarşamba	Ovacık	0,3	5,33	20	100
SV1	SAMSUN	Vezirköprü	Yukarınarlı	0,3	2,00	6	100
SV2	SAMSUN	Vezirköprü	Yukarınarlı	2	15,56	44	100
SV3	SAMSUN	Vezirköprü	Yukarınarlı	0,5	5,56	14	100
SV4	SAMSUN	Vezirköprü	Yukarınarlı	1	20,67	46	100
SV5	SAMSUN	Vezirköprü	Yukarınarlı	3	53,33	92	100
SV6	SAMSUN	Vezirköprü	Yukarınarlı	3	34,44	70	100
SV7	SAMSUN	Vezirköprü	Yukarınarlı	0,3	15,33	34	100
SV8	SAMSUN	Vezirköprü	Yukarınarlı	5	0,00	0	100
SV9	SAMSUN	Vezirköprü	Yukarınarlı	3	39,56	72	100
SV10	SAMSUN	Vezirköprü	Yukarınarlı	5	8,22	18	100
SL1	SAMSUN	Ladik	Aşağıgölyazı	3	5,56	14	100
SL2	SAMSUN	Ladik	Aşağıgölyazı	4	4,44	12	100
SO1	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Kumcuaz Mevki	17	2,00	6	100
SO2	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Kumcuaz Mevki	17	2,67	8	100
SO3	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Tepeköy	4	2,22	8	100
SO4	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Tepeköy	2	1,33	4	100
SO5	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Tepeköy	1	3,33	10	100
SO6	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Tepeköy	2	4,00	12	100
SO7	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Tepeköy	7	3,11	8	100
SO8	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Tepeköy	4	1,33	4	100
SO9	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Tepeköy	2	6,67	20	100
SO10	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Tepeköy	3	5,33	16	100
SO11	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Tepeköy	1	1,33	4	100
SO12	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Çandır	4	3,78	14	100
SO13	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Çandır	2	1,33	4	100
SO14	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Çandır	3	2,00	6	100
SO15	SAMSUN	Ondokuzmayıs	Çandır	0,5	1,33	4	100
SA1	SAMSUN	Alaçam	Doyran	0,2	4,44	12	100

Ek 1. (devam)

Lokasyon adı	İl	İlçe	Köy/Mahalle	Tarla alanı (da)	S (%)	I (%)	P (%)
SA2	SAMSUN	Alaçam	Doyran	4	6,89	18	100
SA3	SAMSUN	Alaçam	Doyran	0,2	1,33	4	100
SA4	SAMSUN	Alaçam	Doyran	0,2	5,56	14	100
SA5	SAMSUN	Alaçam	Doyran	0,3	5,11	14	100
SA6	SAMSUN	Alaçam	Doyran	0,2	2,00	6	100
SA7	SAMSUN	Alaçam	Doyran	0,3	17,56	38	100
SA8	SAMSUN	Alaçam	Doyran	2	7,56	20	100
SA9	SAMSUN	Alaçam	Yeniköy	6	8,89	24	100
SA10	SAMSUN	Alaçam	Yukarıelma	0,3	33,56	70	100
SA11	SAMSUN	Alaçam	Soğukçam	7	8,89	24	100
SA12	SAMSUN	Alaçam	Soğukçam	10	25,56	54	100
SA13	SAMSUN	Alaçam	Soğukçam	12	0,00	0	0
SA14	SAMSUN	Alaçam	Soğukçam	5	5,56	14	100
SB1	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	8	0,22	2	100
SB2	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	8	0,00	0	0
SB3	SAMSUN	Bafra	Adaköy	5	1,11	6	100
SB4	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	5	0,00	0	0
SB5	SAMSUN	Bafra	Türbe	10	5,78	20	100
SB6	SAMSUN	Bafra	Türbe	3	6,00	22	100
SB7	SAMSUN	Bafra	Türbe	3	1,11	6	100
SB8	SAMSUN	Bafra	Türbe	6	16,22	50	100
SB9	SAMSUN	Bafra	Türbe	4	1,56	10	100
SB10	SAMSUN	Bafra	Türbe	6	3,33	10	100
SB11	SAMSUN	Bafra	Kuşçular	4	1,56	6	100
SB12	SAMSUN	Bafra	Kuşçular	2	2,44	6	100
SB13	SAMSUN	Bafra	Kuşçular	5	3,78	10	100
SB14	SAMSUN	Bafra	Kuşçular	1	5,56	14	100
SB15	SAMSUN	Bafra	Kuşçular	1	3,11	8	100
SB16	SAMSUN	Bafra	Kuşçular	5	6,67	20	100
SB17	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	4	5,78	16	100
SB18	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	1	2,00	6	100
SB19	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	1	3,78	14	100
SB20	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	7	14,89	42	100
SB21	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	6	6,89	18	100
SB22	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	5	4,22	10	100
SB23	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	4	5,78	12	100
SB24	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	6	9,33	20	100
SB25	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	12	15,11	44	100
SB26	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	6	10,44	30	100
SB27	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	7	5,78	16	100
SB28	SAMSUN	Bafra	İkiztepe	12	37,33	84	100
SB29	SAMSUN	Bafra	Harız	4	5,56	14	100
SB30	SAMSUN	Bafra	Harız	6	48,00	100	100
SB31	SAMSUN	Bafra	Harız	10	18,22	44	100
SB32	SAMSUN	Bafra	Harız	3	5,56	14	100
SB33	SAMSUN	Bafra	Harız	2	1,56	6	100
SB34	SAMSUN	Bafra	Harız	4	2,44	10	100
SB35	SAMSUN	Bafra	Harız	3	22,00	50	100
SB36	SAMSUN	Bafra	Harız	2	4,89	16	100
SB37	SAMSUN	Bafra	Harız	4	2,44	10	100
SB38	SAMSUN	Bafra	Harız	15	11,11	36	100
SB39	SAMSUN	Bafra	Harız	9	2,44	10	100
SB40	SAMSUN	Bafra	Harız	10	3,56	12	100
SB41	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	4	16,44	52	100
SB42	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	25	8,00	24	100

Ek 1. (devam)

Lokasyon adı	İl	İlçe	Köy/Mahalle	Tarla alanı (da)	S (%)	I (%)	P (%)
SB43	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	10	8,44	24	100
SB44	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	15	8,22	26	100
SB45	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	6	14,67	44	100
SB46	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	15	6,89	26	100
SB47	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	15	54,22	100	100
SB48	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	10	52,22	82	100
SB49	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	4	5,56	14	100
SB50	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	3	6,22	16	100
SB51	SAMSUN	Bafra	Koşuköy	8	8,22	26	100
SB52	SAMSUN	Bafra	Koşuköy	5	10,67	28	100
SB53	SAMSUN	Bafra	Koşuköy	3	0,89	4	100
SB54	SAMSUN	Bafra	Koşuköy	4	1,33	4	100
SB55	SAMSUN	Bafra	Yeşilyazı	6	5,56	14	100
SB56	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	2	3,11	12	100
SB57	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	5	9,78	32	100
SB58	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	10	3,11	12	100
SB59	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	18	7,11	24	100
SB60	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	28	8,89	28	100
SB61	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	25	25,78	60	100
SB62	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	10	10,00	26	100
SB63	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	10	18,00	42	100
SB64	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	15	16,44	40	100
SB65	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	20	11,33	30	100
SB66	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	10	7,33	26	100
SB67	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	5	8,67	30	100
SB68	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	4	5,78	20	100
SB69	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	6	3,56	12	100
SB70	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	6	2,89	10	100
SB71	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	5	10,89	34	100
SB72	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	6	6,44	22	100
SB73	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	7	4,00	16	100
SB74	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	30	13,33	40	100
SB75	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	4	7,11	20	100
SB76	SAMSUN	Bafra	Osmanbeyli	15	15,11	36	100
SB77	SAMSUN	Bafra	Kaygusuz	20	23,56	60	100
SB78	SAMSUN	Bafra	Kaygusuz	20	51,11	100	100
SB79	SAMSUN	Bafra	Kaygusuz	4	35,33	74	100
SB81-1	SAMSUN	Bafra	Kaygusuz	10	4,44	12	100
SB81-2	SAMSUN	Bafra	Kaygusuz	6	30,00	70	100
SB82	SAMSUN	Bafra	Lengerli	10	2,89	10	100
SB83	SAMSUN	Bafra	Lengerli	12	15,56	40	100
SB84	SAMSUN	Bafra	Lengerli	10	28,89	60	100
SB85	SAMSUN	Bafra	Sarıkaya	30	35,56	72	100
SB86	SAMSUN	Bafra	Türbe	55	5,78	16	100
SB87	SAMSUN	Bafra	Karınca	8	29,33	64	100
SB88	SAMSUN	Bafra	Türbe	4	30,89	58	100
SB89	SAMSUN	Bafra	Türbe	10	24,44	80	100
SB90	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	8	5,78	20	100
SB91	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	7	26,67	60	100
SB92	SAMSUN	Bafra	Bakırpınar	5	6,22	16	100
SB93	SAMSUN	Bafra	Bakırpınar	4	5,56	14	100
SB94	SAMSUN	Bafra	Kuşçular	10	24,00	52	100
SB95	SAMSUN	Bafra	Adaköy	10	8,22	26	100
SB96	SAMSUN	Bafra	Sarıkaya	2	15,56	40	100
SB97	SAMSUN	Bafra	Sarıkaya	14	27,11	68	100

Ek 1. (devam)

Lokasyon adı	İl	İlçe	Köy/Mahalle	Tarla alanı (da)	S (%)	I (%)	P (%)
SB98	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	20	32,00	72	100
SB99	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	3	33,56	78	100
SB100	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	15	28,00	60	100
SB101	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	12	27,56	56	100
SB102	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	8	13,11	30	100
SB103	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	5	10,00	26	100
SB104	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	5	24,89	56	100
SB105	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	7	31,11	64	100
SB106	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	10	30,22	60	100
SB107	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	12	26,67	56	100
SB108	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	3	29,78	60	100
SB109	SAMSUN	Bafra	Kaygusuz	20	25,11	50	100
SB110	SAMSUN	Bafra	Kaygusuz	12	24,89	48	100
SB111	SAMSUN	Bafra	Kaygusuz	15	16,89	40	100
SB112	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	7	16,22	50	100
SB113	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	6	64,89	100	100
SB114	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	8	36,89	68	100
SB115	SAMSUN	Bafra	Türbe	12	5,78	20	100
SB116	SAMSUN	Bafra	Türbe	18	29,78	64	100
SB117	SAMSUN	Bafra	Türbe	10	24,44	56	100
SB118	SAMSUN	Bafra	Türbe	20	25,78	56	100
SB119	SAMSUN	Bafra	Türbe	22	8,44	20	100
SB120	SAMSUN	Bafra	Türbe	8	4,89	16	100
SB121	SAMSUN	Bafra	Türbe	8	5,78	20	100
SB122	SAMSUN	Bafra	Türbe	5	29,33	56	100
SB123	SAMSUN	Bafra	Türbe	4	7,56	20	100
SB124	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	8	28,44	60	100
SB125	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	6	8,00	24	100
SB126	SAMSUN	Bafra	Karpuzlu	10	4,44	16	100
SB127	SAMSUN	Bafra	Ağıllar	6	12,67	30	100

S: Hastalık şiddeti (*Severity*), **I:** Hastalığın bulunma oranı (*Incidence*), **P:** Hastalığın yaygınlık oranı (*Prevalence*)

Ek 2. NCBI’de kayıtlı karşılaştırmalı genom analizinde kullanılan *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* izolatlarına ait bilgiler

İzolat ismi	NCBI erişim no	Orijin	İrk	Dizileme teknolojisi	Birleştirme ve hizalama (assembly) yöntemi
3811	NZ_CP025750	-	İrk 1	PacBio; Illumina MiSeq	SPAdes v. 3.9.0
B100	NC_010688	Germany	İrk 1	Sanger dideoxy sequencing	PHRAP v. 2006
CFBP 1869	NZ_CM002545.1	Ivory Coast	İrk 1	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
Xca5	NZ_HF570389.1	-	İrk 1	-	-
ATCC 33913	NC_003902.1	United Kingdom	İrk 3	-	-
CFBP 5817	NZ_CM002673.1	Chile	İrk 4	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
SB80	NZ_CP089952	Turkey	İrk 4	Oxford Nanopore GridION	Flye v. 2.8.1-b1676
Xcc-C7	NZ_CP077958.1	India	İrk 4	PacBio	Flye assembler v. Glimmer3
8004	NC_007086.1	United Kingdom	İrk 9	-	-
BJSJQ20200612	NZ_CP069085	China	-	Oxford Nanopore	Canu v1.5 v. Racon v3.4.3
XCC2144	NZ_JAHBQN010000001.1	Belgium	-	Illumina; Nanopore	SPAdes v. Unicycler Galaxy version 0.4.8.0
GBBC 3229	NZ_JAHBQQ010000001.1	Belgium	-	Illumina; Nanopore	SPAdes v. Unicycler Galaxy version 0.4.8.0
GBBC 1372	NZ_JAHBRD010000001.1	Belgium	-	Illumina; Nanopore	SPAdes v. Unicycler Galaxy version 0.4.8.0
GBBC 1412	NZ_JAHBRC010000001.1	Belgium	-	Illumina; Nanopore	SPAdes v. Unicycler Galaxy version 0.4.8.0
GBBC 3236	NZ_JAHBQP010000001.1	Belgium	-	Illumina; Nanopore	SPAdes v. Unicycler Galaxy version 0.4.8.0
GBBC 1429	NZ_JAHBQY010000001.1	Belgium	-	Illumina; Nanopore	SPAdes v. Unicycler Galaxy version 0.4.8.0
GBBC 820	NZ_JAHBRH010000001.1	Belgium	-	Illumina; Nanopore	SPAdes v. Unicycler Galaxy version 0.4.8.0
GBBC 1419	NZ_JAHBQZ010000001.1	Belgium	-	Illumina; Nanopore	SPAdes v. Unicycler Galaxy version 0.4.8.0
GBBC 1414	NZ_JAHBRB010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.0
GBBC 1072	NZ_JAHBRE010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.0
GBBC 1071	NZ_JAHBRF010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.0
GBBC 821	NZ_JAHBRG010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.0
K13014	NZ_JAHBQO010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.0
GSXT20191014	NZ_CP069084.1	China	-	Oxford Nanopore	Canu v1.5 v. Racon v3.4.3
NCPPB 528	NZ_JAJFNA010000001.1	United Kingdom	-	Illumina NovaSeq	SPAdes v. 3.15.1
CaNP1C	NZ_JAFFQO010000121.1	Trinidad and Tobago	-	Illumina HiSeq	shovill v. 1.1.0
Ar1PC2	NZ_JAFFQP010000160.1	Trinidad and Tobago	-	Illumina HiSeq	shovill v. 1.1.0
WHRI10003	NZ_QVAK01000001.1	Germany	-	Illumina MiSeq	SPAdes v. 3.12.0
WHRI10004	NZ_QVAL01000001.1	Germany	-	Illumina MiSeq	SPAdes v. 3.12.0

Ek 2. (devam)

İzolat ismi	NCBI erişim no	Orijin	İrk	Dizileme teknolojisi	Birleştirme ve hizalama (assembly) yöntemi
Ar1BCA1	NZ_JAFFQL010000130.1	Trinidad and Tobago	-	Illumina HiSeq	shovill v. 1.1.0
B-1459	NZ_CDNB01000026.1	Germany	-	-	-
BrA1	NZ_LMTU01000046.1	Trinidad and Tobago	-	Illumina MiSeq	CLC NGS Cell v. 5.0
Cf3C	NZ_JAFFQN010000158.1	Trinidad and Tobago	-	Illumina HiSeq	shovill v. 1.1.0
GBBC 3220	NZ_JAHBQS010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.0
GBBC 3226	NZ_JAHBQR010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.0
GBBC 1415	NZ_JAHBRA010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.0
GBBC 1456	NZ_JAHBQW010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.0
GBBC 3216	NZ_JAHBQU010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.0
GBBC 1431	NZ_JAHBQX010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.1
GBBC 3217	NZ_JAHBQT010000001.1	Belgium	-	Illumina MiniSeq	SPAdes v. Unicycler Galaxy v.0.4.8.2
MAFF 301176	NZ_JACAWT010000001.1	Japan	-	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 1.05
MAFF 106771	JADQDU000000000.1	Japan	-	Ion PGM	CLC Genomics Workbench v. 20
MAFF 302021	NZ_AP019684	Japan	-	PacBio RSII	Unicycler v. 0.4.6
17	NZ_CP011946.1	Taiwan	-	Illumina	Velvet v. 1.2
MAFF 106712	AP019682.1	Japan	-	PacBio RSII	Unicycler v. 0.4.6
Xcc8004_Xcc1	NZ_CP029483.1	United Kingdom	-	PacBio; Illumina HiSeq	HGAP v. 3; pilon v. 1.21
Xcc8004_Xcc2	NZ_CP029484.1	France	-	PacBio; Illumina HiSeq	HGAP v. 3; pilon v. 1.21
WHRI8960	NZ_QUZS01000001.1	United Kingdom	-	Illumina MiSeq	SPAdes v. 3.12.0
CFBP 1119	HG764951.1	France	1	-	-
CFBP 4953	HG764953.1	Belgium	-	-	-
CFBP 4956	HG764956.1	Belgium	-	-	-
CFBP 6863	HG764958.1	Germany	-	-	-
CN11	NZ_HG531772.1	-	-	-	-
CN12	NZ_HG531777.1	-	-	-	-
CN13	HG752432.1	-	-	-	-
CN14	NZ_CP017317.1	China	-	PacBio	HGAP v. 3; Circlator v. 1.2.1
CN15	NZ_CP017323.1	China	-	PacBio	HGAP v. 3; Circlator v. 1.2.1
CN16	NZ_CP017389.1	China	-	PacBio	HGAP v. 3; Circlator v. 1.2.1
CN18	HG764945.1	-	-	-	-
CN19	HG764942.1	-	-	-	-

Ek 2. (devam)

İzolat ismi	NCBI erişim no	Orijin	İrk	Dizileme teknolojisi	Birleştirme ve hizalama (assembly) yöntemi
CN20	HG794502.1	-	-	-	-
CN12	NZ_CP017310.1	China	-	PacBio	HGAP v. 3; Circlator v. 1.2.1
CN18	NZ_CP017319.1	China	-	PacBio	HGAP v. 3; Circlator v. 1.2.1
ICMP 21080	NZ_CP012145.1	New Zealand: Southbridge	-	Illumina HiSeq	Velvet v. 1.0
ICMP 4013	NZ_CP012146.1	New Zealand: Auckland	-	Illumina HiSeq	Velvet v. 1.0
CFBP 6865R	NZ_CM002537.1	Australia	-	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
147	NZ_CM002632.1	Brazil	4	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
CFBP 1124	NZ_CM002627.1	France	8	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
CFBP 1712	NZ_CM002541.1	France	5	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
CFBP 1713	NZ_CM002580.1	France	5	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
CFBP 4954	NZ_CM002547.1	Belgium	/	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
CFBP 4955	NZ_CM002551.1	Belgium	9	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
CFBP 5130	NZ_CM002556.1	/	7	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
CFBP 5683	NZ_CM002558.1	France	3	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
CN01	NZ_CM002584.1	China	-	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
CN03	NZ_CP017308.1	China	-	PacBio	HGAP v. 3; Circlator v. 1.2.1
CN10	NZ_CM002605.1	China	-	Illumina HiSeq	SOAPdenovo v. 2.04; Velvet v. 1.2.02
CN17	NZ_CP017307.1	China	-	PacBio	HGAP v. 3; Circlator v. 1.2.1

:-Belirtilmemiş

ÖZ GEÇMİŞ

Songül ERKEN MERAL, Samsun Bafra Anadolu Lisesi'ni bitirdikten sonra Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma bölümünden 2013 yılında mezun oldu. 2016 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bitki Koruma Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programını tamamladıktan sonra MEB Yurt Dışı Lisansüstü Eğitim bursunu kazanarak İngiltere'de University of Bath'da Moleküler mikrobiyoloji alanında ikinci yüksek lisansını 2017 yılında tamamladı. Daha sonra 2018 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bitki Koruma Ana Bilim Dalında doktora programına başladı. 2018 yılından itibaren Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Bitki Sağlığı Bölümü'nde Bakteriyoloji alanında teknik personel olarak görev yapmaktadır.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-2183-3269

Yayınlar:

1. Kaya Altop, E., **Erken Meral, S.**, Zandstra, B. H., & Mennan, H. (2022). Target-Site Point Mutation Conferring Resistance to ALS Herbicides in Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum* L.). *Phytoparasitica*, 50(5), 1133-1142.
2. **Erken Meral, S.**, Bibi, S., Díaz Rodríguez, C. A., Menković, J., Bernal, A. J., & Koebnik, R. (2022). Complete Genome Sequence of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* SB80, a Race 4 Strain Isolated from White Head Cabbage in Turkey. *Microbiology Resource Announcements*, 11(3), e00022-22.

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. TUBİTAK 2214-A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Bursu (2022).
2. Milli Eğitim Bakanlığı, Yurt Dışı Lisansüstü Eğitim Bursu (YLSY) (2016).