

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**MERSİN İLİ SİLİFKE İLÇESİ ÖRTÜ ALTI DOMATES
YETİŞTİRİCİLİĞİNDE GÖRÜLEN BAKTERİYEL
HASTALIK ETMENLERİNİN TANISI VE YAYGINLIK
DURUMLARININ BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Mehmet SERİN**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ**

Yüksek Lisans Tezi

**Aralık 2020
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**MERSİN İLİ SİLİFKE İLÇESİ ÖRTÜ ALTI DOMATES
YETİŞTİRİCİLİĞİNDE GÖRÜLEN BAKTERİYEL
HASTALIK ETMENLERİNİN TANISI VE YAYGINLIK
DURUMLARININ BELİRLENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Mehmet SERİN**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından FYL-2019-9570 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Aralık 2020
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Mehmet SERİN



YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

“Mersin İli Silifke İlçesi Örtü Altı Domates Yetiştiriciliğinde Görülen Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tanısı ve Yaygınlık Durumlarının Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

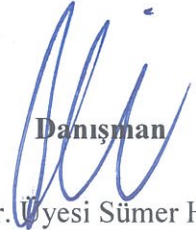
Hazırlayan

Mehmet SERİN



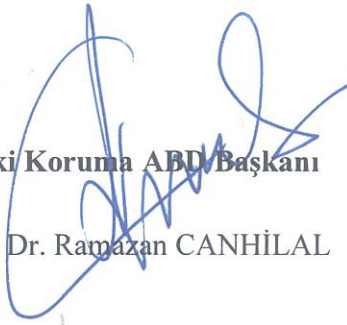
Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ



Bitki Koruma ABD Başkanı

Prof. Dr. Ramazan CANHİLAL



Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ danışmanlığında **Mehmet SERİN** tarafından hazırlanan “**Mersin İli Silifke İlçesi Örtü Altı Domates Yetiştiriciliğinde Görülen Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tanısı ve Yaygınlık Durumlarının Belirlenmesi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Bitki Koruma** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

18/ 12/ 2020

JÜRİ:

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ

Üye : Prof. Dr. Yeşim AYSAN

Üye : Prof. Dr. Doğan IŞIK

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... / /

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışma konusunu veren ve hazırlamam sırasında beni bilgi ve tecrübeleri ile yönlendiren, çalışmalarım süresince her türlü yardımı ve fedakârlığı sağlayan, öğrencisi olmaktan şeref duyduğum değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince emeği geçen değerli arkadaşlarım Ziraat Mühendisi Çağatay ÜNAL, Ziraat Mühendisi Fatma TURGAN, Ziraat Yüksek Mühendisi Hilal ALBAYRAK, Ziraat Mühendisi Betül YAYLACI, Ziraat Mühendisi Resul ALTINDAĞ, Ziraat Yüksek Mühendisi Merve YİĞİT, Ziraat Yüksek Mühendisi Alim AYDIN, Ziraat Yüksek Mühendisi Betül TARHANACI'ya teşekkür ederim.

Eğitim öğretim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Osman TÜRER ve halam Elif TÜRER'e teşekkür ederim.

Ayrıca her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.

Mehmet SERİN

Aralık, 2020, KAYSERİ

**MERSİN İLİ SİLİFKE İLÇESİ ÖRTÜ ALTI DOMATES
YETİŞTİRİCİLİĞİNDE GÖRÜLEN BAKTERİYEL HASTALIK
ETMENLERİNİN TANISI VE YAYGINLIK DURUMLARININ
BELİRLENMESİ**

Mehmet SERİN

**Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2020
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ**

ÖZET

Bu çalışmada Mersin ili Silifke ilçesi merkez ve sekiz farklı mahallesinde örtü altında domates üretimi yapılan 130 serada bakteriyel hastalık surveyi gerçekleştirilmiş ve hastalıkların bölgede yaygınlık durumları tespit edilmiştir. Ayrıca, örtü altında domates üretimi yapan üreticilere anket çalışması yapılarak bitki koruma ve bakteriyel hastalıklar konusundaki bilinçleri analiz edilmiştir. İncelemeler esnasında seralarda yapraklarda kloroz, nekroz, bitkide solgunluk, gövdede yumuşama ve nekrozlar gibi hastalık belirtisi gösteren 39 farklı seradan örnekler alınmıştır. Çalışmada 31 farklı seradan 317 adet bakteriyel izolat elde edilmiştir. İzole edilen bakterilerden 109 tanesi seçilerek LOPAT, çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal testler, MALDI-TOF MS, PCR ve sekans analizi ile tanıları yapılmıştır. Ankete göre üreticilerin daha çok zararlılarla karşılaştığı, hastalık belirtilerini tanıdıkları, ancak hastalığa bakterinin neden olduğunu bilmedikleri gözlenmiştir. Silifke ilçesinde örtü altında domates üretimi yapılan alanlarda bakteriyel etmenlerin yaygınlık oranı %23.8 olarak bulunmuştur. Bölgede domates üretiminde en fazla sorun oluşturan bakteriyel hastalık %17.7 yaygınlık oranı ile *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* iken, bunu %4.6 yaygınlık oranıyla *Stenotrophomonas* spp., %1.5 yaygınlık oranlarıyla *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* izlemiştir. Öz nekrozu etmenlerinden *Pseudomonas corrugata*, *Paenibacillus amylolyticus*, *Paenibacillus polymyxa*, *Microbacterium* sp. ve *Arthrobacter sulfonivorans* %0.8 yaygınlık oranlarıyla bölgede en az saptanan türler olmuştur. Mersin ilinde ilk defa domateste fırsatçı patojen olabilecekleri düşünülen *Stenotrophomonas*, *Paenibacillus*, *Microbacterium* ve *Arthrobacter* cinsinde yer alan bakteriler izole edilmiştir. Bu izolatların domateste patojen olma durumlarının daha fazla çalışma ile ortaya konması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Silifke, *Lycopersicum*, bitki patojeni bakteriler, sörvey

DETERMINATION OF PREVALENCE AND IDENTIFICATION OF TOMATO BACTERIAL DISEASE AGENTS UNDER GREENHOUSES IN SİLİFKE DISTRICT OF MERSİN

Mehmet SERİN

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master Thesis, December, 2020

Supervisor: Assist Prof. Dr. Sümer HORUZ

ABSTRACT

In this study, tomato bacterial disease surveys were conducted in 130 greenhouses located in the center and eight neighborhoods of Silifke and prevalence of the bacterial diseases were evaluated. Moreover, a questionnaire was carried out to analyze the awareness of the farmers about plant protection and plant bacterial diseases. Among surveyed greenhouses, a collection of disease infected plant samples showing chlorosis and necrosis on leaves, wilt, stem rot and pith necrosis were obtained from 39 individual greenhouses. Totaly, 31 out of 39 greenhouses, 317 bacterial strains were isolated from diseased plants. Among them, 109 bacterial strains were identified using LOPAT, physiological and biochemical tests, MALDI-TOF MS, PCR and sequencing tools. It is concluded from the questionnaire that farmers are commonly faced to plant pests, familiar with disease symptoms, however, they are aware of the the causal agent as bacterium in greenhouses. The prevalence of bacterial diseases in tomato growing greenhouses in Silifke, Mersin was recorded as 23.8%. The pathogenic bacterium, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, was widespread by 17.7% in the region followed by a prevalence 4.6% of *Stenotrophomonas* spp. and 1.5% prevalence of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, respectively. The low prevalences of pith necrosis caused by *Pseudomonas corrugata*, *Paenibacillus amylolyticus*, *Paenibacillus polymyxa*, *Microbacterium* sp. and *Arthrobacter sulfonivorans* were 0.8% in the region. The assuming plant opportunistic bacteria *Stenotrophomonas* *Paenibacillus*, *Microbacterium* and *Arthrobacter* spp. were rarely isolated for the first time in Silifke, Mersin. The study suggests that further tests should be conducted to verify their pathogenicity on tomatoes.

Keywords: Silifke, *Lycopersicum*, phytopathogenic bacteria, survey

İÇİNDEKİLER

MERSİN İLİ SİLİFKE İLÇESİ ÖRTÜ ALTI DOMATES YETİŞTİRİCİLİĞİNDE GÖRÜLEN BAKTERİYEL HASTALIK ETMENLERİNİN TANISI VE YAYGINLIK DURUMLARININ BELİRLENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR.....	xi
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Araştırmanın Amacı	6
1.2. Araştırmanın Önemi.....	6
1.3. Literatür Çalışması	7

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal.....	12
2.1.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Bitkisel Materyaller	12

2.1.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Alet, Ekipman ve Kimyasallar.....	12
2.1.3. Moleküler Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar ve Primerler	13
2.2. Yöntem	13
2.2.1. Üretici Anketi	13
2.2.2. Survey Çalışmaları ve Bakteriyel Hastalıkların Yaygınlık Durumlarının Belirlenmesi	14
2.2.3. Domates Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu	15
2.2.4. Hastalık Etmenlerinin Patojenitesi ve Re-İzolatların Elde Edilmesi	15
2.2.5. Biyokimyasal ve Fizyolojik Testler	16
2.2.5.1. Potasyum Hidroksit Testi (KOH)	16
2.2.5.2. Levan Oluşumu	16
2.2.5.3. Oksidaz Testi	16
2.2.5.4. Pektolitik Aktivite Testi.....	17
2.2.5.5. Arginin Dehidrolaz Testi	17
2.2.5.6. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi.....	17
2.2.5.7. Akşam Sefasında (<i>Mirabilis jalapa</i>) Aşırı Duyarlılık Testi.....	18
2.2.5.8. Nişasta Hidrolizi Testi	18
2.2.5.9. İndol Üretimi	18
2.2.5.10. Yumuşak Çürüklük Etmenleri İçin Farklı Sıcaklıklarda Gelişim.....	19
2.2.6. Moleküler Testler	19
2.2.6.1. DNA İzolasyonu	19
2.2.6.2. PCR Reaksiyonun Kurulması	20
2.2.6.3. <i>Pst</i> 'nin PCR ile tanısı.....	20
2.2.6.4. <i>Cmm</i> 'in PCR ile tanısı	20
2.2.6.5. <i>Pcc</i> 'nin PCR ile tanısı.....	21
2.2.6.6. PCR ürünlerinin elektroforez sisteminde yürütülmesi.....	21
2.2.7. MALDI-TOF MS ile Bakteri İzolatlarının Tanısı.....	22

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Üretici Anketi	23
3.2. Domates Seralarında Bakteriyel Hastalıkların Survey Sonuçları.....	37
3.3. Hastalık Etmenlerinin Patojenite Testi ve Re-İzolatların Eldesi.....	40
3.3.1. Yaprak ve çiçeklerden izole edilen bakterilerin patojenite sonuçları.....	41
3.3.2. Bitkide genel solgunluk ve iletim demetinde renk değişiminden izole edilen bakterilerin patojenite sonuçları	41
3.3.3. Gövde çürüklüğünden izole edilen bakterilerin patojenite test sonuçları.....	42
3.3.4. Gövde ve Öz Nekrozu Belirtisi Gösteren Bitkilerden İzole Edilen Bakterilerin Patojenite Test Sonuçları.....	42
3.4. Patojen Bakteri İzolatlarının Fizyolojik ve Biyokimyasal Test Sonuçları.....	44
3.4.1. Potasyum Hidroksit Testi (KOH)	44
3.4.2. Levan Oluşumu.....	44
3.4.3. Oksidaz Testi.....	44
3.4.4. Pektolitik Aktivite Testi	44
3.4.5. Arginin Dehidrolaz Testi	45
3.4.6. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Reaction=HR) testi.....	45
3.4.7. Akşam Sefasında (<i>Mirabilis jalapa</i>) HR Testi	45
3.4.8. Nişastanın Hidrolizi.....	45
3.4.9. İndol Üretimi.....	46
3.5. King B ve YDCA Besi Yerinde Bakterilerin Koloni Morfolojisi.....	47
3.6. Patojen Bakterilerin Tanısının Türe Spesifik PCR ile Desteklenmesi	49
3.6.1. <i>Pst</i> 'nin PCR ile tanısı	49
3.6.2. <i>Cmm</i> 'in PCR ile tanısı.....	50
3.6.3. <i>Pcc</i> 'un PCR ile tanısı.....	50
3.7. MALDI TOF MS İle Bakteri İzolatlarının Tanı Test Sonuçları	50
3.8. Bakteri İzolatlarının Sekans Analizi	52

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Tartışma- Sonuç	53
4.2. Öneriler	59
KAYNAKÇA	61
EKLER.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	72



KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
bp	: Baz çifti
Cmm	: <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>
da	: Dekar
Dch	: <i>Dickeya chrysanthemi</i>
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
g	: Gram
HCl	: Hidroklorik asit
King B	: King's Medium B
KOH	: Potasyum Hidroksit
MALDI-TOF MS	: Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi
ME	: Mikro element:
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
NA	: Nutrient Agar
NB	: Nutrient Broth
nm	: Nanometre
Pca	: <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>atrosepticum</i>
Pcc	: <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	: Hidrojen iyonu konsantrasyonu
Pst	: <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
pv	: Pathovar
SNA	: Sükroz Nutrient Agar
spp	: Türler
TSA	: Trypticase Soy Agar
YDCA	: Yeast dekstroz kalsiyum karbonat agar

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.	Dünya'daki Domates Üretimi (FAO, 2018).....	2
Tablo 2.	Bazı illerin örtü altı domates üretim miktarları (ton) ve ekim alanları (da)	3
Tablo 3.	Mersin ilinde ilçelere göre örtü altı domates üretimi	3
Tablo 4.	Termal cyclarda <i>Pst</i> için kullanılan PCR protokolü.....	20
Tablo 5.	Termal cyclarda <i>Cmm</i> tanısı için kullanılan PCR protokolü.....	21
Tablo 6.	Termal cyclarda <i>Pcc</i> tanısı için kullanılan PCR protokolü	21
Tablo 7.	Survey bilgileri ve seralarda hastalık bulunma oranları.....	38
Tablo 8.	İzolasyon yapılan bitki kısımları alındıkları yerler ve izolat sayısı	40
Tablo 9.	Çalışmada testlenen izolatların fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçları	47
Tablo 10.	MALDI TOF MS testiyle tanılanan bakteriler	51
Tablo 11.	MALDI TOF MS testiyle tanılanan bakterilerin geleneksel tanı test sonuçları	52
Tablo 12.	Bakteri izolatlarının sekans sonuçları	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.2.1.1.	Domates üreticileri ile yapılan anket çalışması	14
Şekil 3.1.1.	Ankete katılan üreticilerin eğitim durumu	23
Şekil 3.1.2.	Bölgedeki üreticilerin sera alanları.....	24
Şekil 3.1.3.	Üreticilerin yetiştirdikleri domates çeşitleri	25
Şekil 3.1.4.	Survey yapılan seralarda görülen fungal hastalıklar	25
Şekil 3.1.5.	Üretim alanlarında görülen bakteriyel kara leke (a) ve gövde çürüklüğü (b) hastalık belirtileri	26
Şekil 3.1.6.	Üreticilerin serada hastalıklara karşı kullandığı fungusitlerin etken maddesi.....	27
Şekil 3.1.7.	Ankete katılan üreticilerin toprak analizi yaptıırma durumları	27
Şekil 3.1.8.	Üreticilerin kullandıkları gübreler.....	28
Şekil 3.1.9.	Üreticilerin seraya giriş zamanı.....	29
Şekil 3.1.10.	Üreticilerin serada hastalıklı bitki gördüklerinde almış oldukları önlemler.....	29
Şekil 3.1.11.	Üreticilerin iş kıyafetlerini değiştirme sıklıkları	30
Şekil 3.1.12.	Üreticilerin kültürel işlemlerde eldiven kullanma durumları	31
Şekil 3.1.13.	Üreticilerin toprak dezenfeksiyonu için yapmış oldukları uygulamalar	31
Şekil 3.1.14.	Üreticilerin ilaç ve doz önerisi aldıkları kişiler	32
Şekil 3.1.15.	Çiftçilerin karşılaştığı bitki koruma problemleri.....	33
Şekil 3.1.16.	Üreticilerin dekara aldıkları verim miktarı.....	33
Şekil 3.1.17.	Üreticilerin bakır içerikli preparatları kullanma sıklıkları.....	34
Şekil 3.1.18.	Üreticilerin kimyasal ilaçları bitkiye uyguladıkları dönemler.....	35
Şekil 3.1.19.	Üreticilerin bitki artıklarını sera içine (a) ve dışına (b) attıkları yerler.....	35
Şekil 3.1.20.	Üreticilerin bitki artıklarını değerlendirme şekli.....	36
Şekil 3.1.21.	Üreticilerin budama makası kullanıp kullanmama durumu	36

Şekil 3.1.22.	Seralarda çalışan insan sayısı	37
Şekil 3.2.1.	Yaprak leke etmenleriyle bulaşık bir seradan görünüm	39
Şekil 3.2.2.	Gövdede yumuşama (a), özde nekroz (b) ve iletim demetinde renklenme (c).....	40
Şekil 3.3.1.	Domates yapraklarında Pst'nin neden olduğu kloroz ve nekrozlar	41
Şekil 3.3.2.	Domates bitkilerinde genel solgunluk (a) ve iletim demetinde nekroz (b).....	41
Şekil 3.3.4.1.	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> (a) ve <i>Stenotrophomonas maltophila</i> ve <i>Paenibacillus amylolyticus</i> (b)'un neden olduğu özde nekrozlar	43
Şekil 3.3.4.2.	<i>Microbacterium</i> sp.'nin gövde üzerinde oluşturduğu düzensiz koyu kahverengi lekeler	43
Şekil 3.4.4.	Yumuşak ve kahverengi çürüklük (a), yumuşak çürüklük (b)	45
Şekil 3.4.1.a.	KOH, b. levan testi, c. oksidaz testi, d. arginin dehidrolaz testi, e. tütünde HR testi, f. akşam sefasında HR testi, g. nişastanın hidrolizi testi	46
Şekil 3.5.1.	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> (a) <i>Stenotrophomonas maltophila</i> (b)	48
Şekil 3.5.2.	<i>Paenibacillus polymxa</i> (a) ve <i>Paenibacillus amylolyticus</i> (b) gelişimi	48
Şekil 3.5.3.	<i>Microbacterium arborescens</i> (a) ve <i>Arthrobacter sulfonivorans</i> (b)	49
Şekil 3.6.1.	Agaroz jelde 650 bp bant oluşumu	49
Şekil 3.7.1.	Gövdede nekroz (a) Özde nekroz (b) İletim demetinde renklenme (c).....	51

GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicum* Mill.) *Solanaceae* familyası içerisinde yer alan bir kültür bitkisidir. Anavatanı Orta Amerika ile Güney Amerika'nın kuzey kesimleridir. Dünya'da ilk olarak Peru ile Meksika'da kültür bitkisi olarak yetiştirilmiş ve buradan Dünya'ya yayılmıştır. Orta çağda Avrupa'ya getirilen domates meyvelerinin o yıllarda zehirli olduğu düşünülerek sadece bahçelerde süs bitkisi olarak yetiştiriciliği yapılmıştır (Durmuş vd., 2018). İtalya domates üretimini yapan ilk Avrupa ülkesidir. Domates İtalya'dan sonra diğer Avrupa ülkelerine yayılmıştır (Peralta ve Spooner, 2007). Ülkemizde ise domates yetiştiriciliği ilk olarak Adana ilinde yapılmıştır (Şeniz, 1992).

Domates insan sağlığını koruyan A, E ve C vitaminlerince çok zengin bir sebze türüdür. Domates % 85 oranında çok güçlü bir antioksidan olan likopen içermektedir (Rhodes, 2008).

Domates taze veya işlem görmüş şekilde tüketilebilen bir sebzedir. Konserve, domates suyu, turşu, salça, kurutulmuş domates ve ketçap olarak değerlendirilmektedir. Türkiye domates salçası ve domates kuru su ihracatında dünyada önemli bir konuma sahiptir (Bayrak ve Kaya, 2009). Türkiye'de üretilen domatesin yaklaşık %25-30'u işlenmekte, kalan miktar taze olarak tüketilmektedir. İşlenmeye alınan toplam domates miktarının %80'i salça, %15'i ise konserve olarak işlenmektedir. Kalan kısım ise ketçap, domates suyu gibi domates ürünlerinin üretimi için kullanılmaktadır (Ertürk ve Çirka, 2015).

Domates Dünya'nın pek çok ülkesinde farklı ekolojiye sahip bölgelerde yetiştiriciliği yapılan ve tüketilen, çevreye uyumu oldukça fazla olan bir sebze türüdür. Sıcak ve ılık iklime adapte olmuş domatesin açık tarlalarda yetiştiriciliği yapıldığı gibi kışları ılık geçen bölgelerde önemli bir örtü altı bitkisi olarak üretimi yapılmaktadır.

Dünyada 4.762.457 hektar alanda 182.256.458 ton domates üretilmektedir. Çin 61.631.581 ton üretimi ile en fazla domates üreten ülkedir. Türkiye ise 12.150.000 ton üretim ile dünyada dördüncü sırada yer almaktadır (Tablo 1) (FAO, 2018).

Tablo 1. Dünya'daki Domates Üretimi (FAO, 2018)

Sıra No	Ülkeler	Ekilen Alan (ha)	Üretim (ton)
1	Çin	1 040 126	61 631 581
2	Hindistan	786 000	19 377 000
3	Amerika Birleşik Devletleri	130 280	12 612 139
4	Türkiye	176 430	12 150 000
5	İran	158 991	6 577 109
6	Mısır	161 702	6 624 733
7	İtalya	97 092	5 798 103
Dünya (toplam)		4 762 457	182 256 458

Ülkemizin bütün bölgelerinde domates yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ülkemizde domatesin üretim amacı bölgelere göre değişmektedir ve bu amaçlara göre üretim şekilleri de farklılık göstermektedir. Bu yüzden üretimi yapılan domates çeşitleri de sanayi ve sofralık olmak üzere iki farklı grupta toplanmaktadır (Vural vd., 2000). Örtü altı domates yetiştiriciliğinde sadece sofralık çeşitlerin turfanda üretimi yapılmaktadır. Tarla koşullarında domates yetiştiriciliğinde ise sanayi ve sofralık çeşitlerin üretimi yapılmaktadır.

Örtü altı sebze yetiştiriciliği, birim alandan yüksek verim ve gelir elde edilmesi ve aynı zamanda bitkisel üretimi yılın her mevsimine yayarak yıl içerisinde düzenli bir iş gücü kullanımı sağlaması nedeniyle tarım sektörümüz içerisinde önemli bir yere sahiptir. Tablo 2 incelendiğinde, ülkemizde 290.256 dekarlık alana kurulu seralarda 4.083.681 ton domates üretilmektedir. Mersin ili 29 652 da alanda 406.880 ton sofralık domates üretimi ile Türkiye'de sofralık domates üretiminde üçüncü sırada yer almaktadır (TUIK, 2019a). Bu üretimin üç milyon ton gibi büyük bir kısmı plastik seralarda gerçekleştirilmektedir.

Tablo 2. Bazı illerin örtü altı domates üretim miktarları (ton) ve ekim alanları (da)

İller	Üretim(ton)	Ekim Alanı (da)
Antalya	2.421.247	176.599
Muğla	581.746	35.497
Mersin	406.880	29.652
Burdur	143.781	8.735
Amasya	59.940	3.046
Diğer	564.728	36.727
Toplam	4.178.322	290.256

Mersin ilinde en fazla örtü altı domates yetiştiriciliği Erdemli ve Akdeniz ilçelerinde yapılırken, tez çalışmasının yürütüldüğü Silifke ilçesinde ise 3.151 dekar alanda 31.510 ton örtü altı domates üretimi yapılmaktadır (Tablo 3) (TUİK, 2019b).

Tablo 3. Mersin ilinde ilçelere göre örtü altı domates üretimi

Sıra No	İlçe Adı	Alan(da)	Üretim (ton)
1	Erdemli	15.710	257.050
2	Akdeniz	8.100	84.100
3	Silifke	3.151	31.510
4	Anamur	1.880	14.720
5	Tarsus	650	7.800
6	Mezitli	50	550
7	Yenişehir	25	375
8	Gülnar	40	341
9	Aydıncık	20	180
10	Bozyazı	13	150
11	Toroslar	13	104
	Toplam	29.652	406.880

Son yıllarda artan küresel ısınmanın etkisiyle birlikte olumsuz iklim koşullarında bitkisel üretimin devamlılığı büyük önem arz etmektedir. Diğer bitkilerin üretiminde olduğu gibi sebze yetiştiriciliğinde de biyotik ve abiyotik stres koşulları üretimi

sınırlamaktadır. Bitkisel üretimde stres; biyotik etmenler (virüs, bakteri, fungus, viroid, fitoplazma, spiroplazma, zararlılar vb.) ve abiyotik etkenler (tuzluluk, kuraklık, alkalilik, düşük ve yüksek sıcaklıklar, besin elementlerinde eksiklik veya fazlalıklar, ağır metaller, hava kirliliği, radyasyon vb.) sebebiyle ortaya çıkmaktadır. Bu etkenler bitkinin büyüme ve gelişmesini olumsuz etkilerken, verim ve kalite düşüklüğüne de yol açmaktadır.

Örtü altı sebze yetiştiriciliğinde kültürel işlemlerin üreticiler tarafından yeterince ve zamanında yapılmaması, sanitasyon önlemlerine özen gösterilmemesi, bitkiler ıslakken sera içerisinde dolaşılması, havalandırmanın yeterince sağlanamaması, üretim alanında drenajın iyi olmaması, dengeli bitki beslemenin yapılmaması gibi nedenlerden dolayı yıllar içerisinde pek çok hastalık ortaya çıkmıştır (Aysan ve Çınar., 2002). Günümüze kadar yapılan araştırmalarda, domates bitkisini 200'e yakın bitki patojeninin hastalandırdığı farklı araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir (Chetelat, 2014). Bu patojenlerden bitkiye en fazla zarar veren ve ciddi verim kayıplarına neden olan biyotik etmenlerden biri bakterilerdir. Günümüzde domates üretiminde sorun olan önemli bakteriyel hastalıklar olarak *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu bakteriyel benek hastalığı, farklı *Xanthomonas* spp. türlerinin (*X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria*, *X. gardneri*, *X. perforans*) neden olduğu bakteriyel leke hastalığı, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in neden olduğu bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı, *Ralstonia solanacearum*'un neden olduğu bakteriyel solgunluk hastalığı, *Pectobacterium* ve *Dickeya* türlerinin neden olduğu gövde çürüklüğü hastalığı, farklı *Pseudomonas* türlerinin (*P. corrugata*, *P. cichorii*, *P. mediterranea*, *P. viridiflava*, *P. fluorescens*) neden olduğu öz nekrozu hastalığı ve *Rhizobium radiobacter*'un yol açtığı ur hastalığı sıralanabilir (Jones ve ark., 2014). Bu hastalıklar ülkemizde domates üretimi yapılan her bölgede zaman içerisinde tespit edilmiştir (Aysan vd., 2002).

Mersin ilinde araştırmacıların yapmış oldukları farklı çalışmalarda domateslerde bakteriyel yaprak leke etmenlerinden: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, yumuşak çürüklük etmenlerinden: *Pectobacterium caratovorum* ve *Dickeya chrysanthemi*, öz nekrozu etmenlerinden: *Pseudomonas corrugata* ve *Pseudomonas viridiflava* (Güneş ve Aysan, 2018), bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı etmeni *Clavibacter*

michiganensis subsp. *michiganensis* (Çetinkaya-Yıldız, 2007; Ünlü 2018), öz nekrozu etmenlerinden *Pseudomonas cichorii* (Aysan vd., 2002)'nin varlığı tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda örneklemelerin daha çok Erdemli ilçesinde yoğunlaştığı görülmüştür. Silifke ilçesi örtü altı domates üretim alanında sorun olan bakteriyel hastalıklar ile ilgili detaylı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu tez çalışmasının amacı Mersin ili Silifke ilçesinde örtü altı domates üretiminde sorun oluşturan bakteriyel etmenlerin izolasyonu, patojen olma özelliklerinin ortaya konması, fenotipik ve moleküler testlerle bakterilerin kesin tanısının yapılması, ilçedeki ve seradaki yaygınlık durumlarının belirlenmesidir. Bu amaçla 2019 ve 2020 yılları Aralık-Mayıs ayları arasında belirli periyotlarla ilçedeki domates seralarına surveyler gerçekleştirilmiş ve hastalıklı bitki örnekleri toplanmıştır. Tanı çalışmalarında klasik tanı yöntemlerinin yanı sıra, MALDI-TOF MS ile tanı, türe spesifik primerler kullanarak PCR testi ve universal primerlerle sekans analizi gerçekleştirilmiştir.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Araştırmanın Amacı

Önemli bir domates üreticisi olan Mersin ili Silifke ilçesinde bakteriyel hastalıkların durumu konusunda daha önce kapsamlı bir survey çalışması yapılmamıştır. Bu amaçla: ilk önce bölgedeki üreticilere anket çalışması yapılmıştır. Ankette çiftçilerin yetiştirmiş oldukları domates çeşitleri, bakteriyel hastalıkları tanıma durumları, hastalıklara karşı kültürel önlemlere gösterdikleri özen, sanitasyon ve temizlik önlemleri konusunda aldıkları önlemler ile hastalıklara karşı kullandıkları kimyasallar konularında sorular sorularak üreticilerin bakteriyel hastalıklar konusundaki bilinci analiz edilmiştir. Daha sonra Mersin ili Silifke ilçesi örtü altı domates yetiştiriciliğinde sorun teşkil eden bakteriyel hastalık etmenleri izole edilerek, çeşitli fiziksel, biyokimyasal ve moleküler testlerle tanıları yapılmış, sera ve bölgedeki yaygınlık durumları ortaya konmuştur. Patojenlerin kesin tanısı yapıldıktan sonra üreticilere bakteriyel hastalıkların mücadelesi hakkında bilgiler verilerek üreticiler arasında farkındalık yaratılmaya çalışılmıştır.

1.2. Araştırmanın Önemi

Mersin ili Silifke ilçesi Türkiye'nin önemli domates üreticisi olan ilçelerinden biridir. İlçe iç tüketimin yanı sıra ihracatta da ciddi bir paya sahiptir. İhracat yapılan ülkelerin taleplerini karşılamak için ilçede üretilen domatesi hastalık ve zararlılardan korumak dış piyasa ile rekabet şansını artıracaktır. Bakteriyel hastalık etmenleri ile mücadele etmek oldukça zordur ve kimyasal mücadelede etkili bir bakterisit bulunmamaktadır. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde görülen bakteriyel hastalıkların tespiti konusunda yapılan çalışmaların çoğunlukla Çukurova Üniversitesi'nden araştırmacılar tarafından yapıldığı ve Mersin ilinde en fazla sera domatesi üretiminin yapıldığı Erdemli ilçesinde çalışmaların

ve örneklemelerin yoğunlaştığı gözlenmiştir. Mersin ilinin Erdemli ilçesinden sonra en önemli bir diğer ilçesi olan Silifke’de domateslerde sorun yaratan bakteriyel hastalık etmenleriyle ilgili yakın zamanda detaylı bir çalışmanın yapılmadığı görülmüştür. İlçedeki domates üreticileri ile yapılan görüşmelerde seralarında ya da bölgede hangi bakteriyel hastalıkların olduğu, yaygınlıkları ve dolayısıyla mücadele konusunda yetersiz kaldıkları gözlenmiştir. Tamamlanan bu tez çalışmasında sera domatesi üreticilerinin bakteriyel hastalıkları tanıyabilmesi sağlanarak bakteriyel hastalıklarla mücadelede alacakları önlemler konusunda bilgilendirmeler yapılmıştır. Böylelikle üreticilerin gereksiz ve yanlış kimyasal kullanımından uzaklaşması sağlanarak entegre mücadeleyi tercih etmeleri konusunda bilinçlenmelerine yardımcı olunmuştur.

1.3. Literatür Çalışması

Domates üretiminde dünyada söz sahibi olan ülkemizde fidelik, sera ve tarlada yetiştirilen domateslerde sorun olan bakteriyel hastalıkların belirlenmesi ve tanısı üzerine farklı yıllarda çeşitli araştırmacılar tarafından çalışmalar yürütülmüştür. Bu çalışmalar aşağıda sıralanmıştır.

Kahveci (1987), Antalya ilinde örtü altı ve tarla domates yetiştiriciliğinde bakteriyel hastalıklara neden olan etmenleri ve bunların yaygınlık oranlarını belirlemek amacıyla Aralık 1985 ile Temmuz 1986 tarihleri arasında yapmış olduğu surveyler sonucunda *Clavibacter michiganensis* pv. *michiganensis* (Cmm) ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst)’ nun varlığını tespit etmiştir. Seralarda Cmm il düzeyinde %1.75 oranında, Pst ise dikkate alınmayacak derecede az bulunmuştur. Tarlada ise Cmm %12.85, Pst %2.73 oranlarında saptanmıştır.

Öktem ve Benlioğlu (1993), Orta Anadolu Bölgesi’nde 14 ilde (Afyon, Ankara, Bolu, Burdur, Çankırı, Eskişehir, Isparta, Kayseri, Kırşehir, Konya, Nevşehir, Niğde, Yozgat ve Zonguldak) domates ekim alanlarında 354 örnekleme noktasında domateste sorun olan bakteriyel hastalıkların surveyini yapmışlardır. Surveyler sonucunda Afyon dışındaki 13 ilde Cmm’e rastlamışlardır. Hastalığın en yoğun olduğu iller sırayla Isparta (%5.25), Yozgat (%4.67), Ankara (%3.71), Çankırı (%1.8) ve Niğde (%1.4) olarak saptanmıştır ve diğer illerde ise %0.07-0.71 arasında değişen oranlarda hastalık etmenini saptamışlardır.

Özyılmaz (2001), 1999-2000 yıllarında Aydın iline ait 13 ilçede örtü altında domates üretimi yapılan alanlarda *Cmm*, *Pseudomonas corrugata* ve yumuşak çürüklüğe neden olan etmenlerin varlığını saptamak için survey çalışmaları yapmıştır. Survey alanlarında *P. corrugata* ve yumuşak çürüklük etmenlerine rastlamazken, *Cmm*'e Çine ilçesinde iki, Incirlioğlu ilçesinde bir serada olmak üzere üç serada rastladığını bildirmiştir.

Üstün ve Saygılı (2001), survey çalışmaları ile domateslerde öz nekrozu hastalığına neden olan bakteriyel etmenlerin Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde bulunduğunu tespit etmişlerdir. Akdeniz Bölgesi'nden elde ettikleri örneklerde öz nekrozuna yol açan etmenleri *Pseudomonas cichorii*, *Dickeya chrysanthemi*, *P. viridiflava*, *Pectobacterium carotovorum*, *P. mediterranea*, *P. corrugata* ve *P. fluorescens* olarak tanılamışlardır. Bu hastalıkların Akdeniz Bölgesi'ndeki seraların %6-17'sinde var olduğunu bildirmişlerdir. Akdeniz Bölgesi'nde sorun olan bu etmenlerin bölgedeki yaygınlık durumunun %1-3 olduğunu bildirmişlerdir. Ege Bölgesi'nde ise öz nekrozuna neden olan etmenlerin %42'si *P. viridiflava*, %26'sı *P. cichorii*, %16'sı *P. carotovorum*, %14'ü *Pseudomonas* spp., %2'si *P. corrugata* olarak bildirilmiştir. Ege Bölgesi'ndeki domates seralarının %20.89-28.57'sinin öz nekrozu etmenleri ile bulaşık olduğunu rapor etmişlerdir.

Aksoy (2002), Samsun ilinde bakteriyel hastalık etmenlerini ve yaygınlık oranlarını sekiz ilçede 1037.9 dekar alanda gerçekleştirdiği surveylerle belirlemiştir. Bakteriyel etmenleri fizyolojik, biyokimyasal ve patojenite özelliklerine göre tanılamıştır. Samsun ili domates üretimi yapılan alanlarda *Cmm* (% 0.64), *P. carotovorum* (% 0.22), *P. corrugata* (% 0.53), *Pst* (% 0.42) ve *Xanthomonas vesicatoria* (% 1.70) olmak üzere beş farklı bakteriyel hastalık etmeninin varlığını tespit etmiştir.

Çetinkaya-Yıldız (2002), Mersin ili Erdemli ilçesi domates seralarında yapmış olduğu surveylerde yumuşak çürüklük belirtisi gösteren bitki örneklerini toplamıştır. Surveyler sonucunda 24 adet yumuşak çürüklük etmeni izole etmiştir. Morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre izolatların 17 tanesini *P. carotovorum* ve yedisini de *D. chrysanthemi* olarak tanılamıştır.

Yılmaz (2005), Antalya ilinde (Aksu, Serik, Manavgat, Alanya, Gazipaşa, Finike ve Kumluca) yapmış olduğu surveylerde öz nekrozu hastalığı belirtisi gösteren domates bitkilerinden örnekler toplamıştır. Bitki patojen bakterilerin tanısında, LOPAT testleri

ve türe spesifik primerler kullanarak PCR ile kesin tanımlarını yapmıştır. Surveyler sonucunda Antalya ilinde öz nekrozu etmenlerinden *P. corrugata* ve *P. mediterranea*'nin varlığını bildirmiştir.

Tekman (2005), Adana ve Mersin illerinde örtü altında domates üretimi yapılan seralarda survey çalışması yapmıştır. Mersin ili Erdemli ve Tarsus ilçelerinden, Adana ilinde ise Yumurtalık ve Ceyhan ilçelerinden 16 adet bakteri izolatu elde etmiştir. Bu izolatlardan domates gövdesinde öz nekrozuna neden olan etmenleri *Pseudomonas* spp. olarak tanılamıştır.

Umesha (2006), Hindistan'ın Karnataka eyaletinde, domates üretim alanlarında yapmış olduğu survey çalışmasında *Cmm*'i hastalıklı bitkilerden ve domates tohumlarından izole etmiştir. Üretim alanlarında hastalık oranı %25-48 arasında değişmiştir. *Cmm* ile bulaşık arazilerin %46 sında patojenin tohuma kadar bulaşma gösterdiğini bildirmiştir.

Çetinkaya-Yıldız (2007), yapmış olduğu doktora tez çalışmasında Adana, Mersin, Antalya, Bursa, Artvin, İzmir illerinde domates üretimi yapılan alanlardan *Cmm* simptomsu gösteren bitki örnekleri toplamıştır. Bu örneklerden 57 adet bakteri izolatu elde etmiştir. İzolatların tamamını patojenite, morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal, serolojik ve moleküler testlerle *Cmm* olarak tanılamıştır.

Belgüzar (2014), 2011 ve 2012 yıllarında Tokat ilinde tarlada domates üretiminin yoğun olarak yapıldığı Merkez, Pazar, Turhal, Niksar ve Erbaa ilçelerinde surveyler yaparak domateste *Cmm*'in bölgedeki ve tarladaki bulunma oranlarını belirlemiştir. 2011 yılında hastalığın tarlada bulunma oranını ortalama %9.64, 2012 yılında ise %4.98 olarak belirlemiştir. Bölgede hastalığın bulunma oranlarını ise 2011 yılında Merkez'de %88.88, Niksar'da %54.54, Erbaa'da %52.38, Turhal'da %46.15 ve Pazar'da %18.18 olarak, 2012 yılında ise Erbaa'da %61.90, Merkez'de %52.85, Turhal'da %47.72, Pazar'da %44.44 ve Niksar'da ise hastalık olmadığını belirlemiştir.

Karabüyük vd. (2014), 2013-2014 yıllarında Adana'da ticari fideliklerde ve açık tarla domates üretim alanlarında sorun olan bakteriyel etmenleri tespit etmişlerdir. Domates yetiştiriciliği yapılan 770 dekar alanda ve iki ticari fidelikte survey çalışması yapmışlardır. Survey çalışmaları sonucunda yedi tarladan 62 bakteri izolatu, fideliklerden ise 48 bakteri izolatu elde etmişlerdir. Bu izolatları Gram reaksiyonu, King

B besi yerinde Floresan pigmentasyon, Nişasta hidrolizasyonu, LOPAT ve patojenite testlerine göre *Pst* ve *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* olarak tanımlanmışlardır.

Öztürk (2016), 2015 ve 2016 yılları arasında Samsun ili Bafra ve Çarşamba ilçelerinde domates üretim alanlarında sorun olan bakteriyel hastalık etmenlerini belirlemek amacıyla 20 köy ve 80 arazide survey çalışması yapmıştır. Survey çalışmaları sonucunda 126 adet bakteriyel izolat elde etmiştir. Elde edilen izolatlardan morfolojik, fizyolojik, moleküler ve patojenite testlerine göre 28 tanesinin patojen olduğunu belirlemiştir. Bu izolatlardan 15 tanesini *Pst*, 12 tanesini *Cmm* ve birini de *P. syringae* pv. *syringae* olarak tanımlamıştır.

Bayman (2017), Diyarbakır ilinde yapmış olduğu çalışmada Kayapınar, Ergani, Bismil, Yenişehir ve Çınar ilçelerinde domates yetiştiriciliğinde sorun teşkil eden bakteriyel hastalık etmenlerini ve yaygınlık oranlarını belirlemiştir. Yapmış olduğu surveylerden 20 bakteriyel izolat elde etmiştir. Çalışma ile domates alanlarında *Cmm*'i %40.62, *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*'yı %9.37, *Pst*'yi %3.12 ve *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*'u ise %6.25 oranlarında yaygın bulmuştur.

Güneş ve Aysan (2018), Mersin ilinin Erdemli ilçesinde örtü altı domates yetiştiriciliğinde sorun olan bakteriyel hastalıkları ve yaygınlık durumlarını belirlemek için 63 sera incelemesi yapmıştır. Survey çalışmalarında 43 hastalıklı bitki örneğinden yaptığı izolasyonlarda beş farklı patojenik türe ait 113 bakteri izolatı elde etmiştir. İzolatların tanısında morfolojik, biyokimyasal, fenolojik ve moleküler testleri kullanmıştır. Survey sonuçlarına göre yaprak leke etmenlerinden *Pst* %17, yumuşak çürüklük etmenlerinden *P. carotovorum* %6 ve *D. chrysanthemi* %2, öz nekrozu etmenlerinden *P. corrugata* %4 ve *P. viridiflava* ise %2 yaygınlık oranları ile hastalıklı bitki örneklerinden en fazla izole edilen patojen türler olarak bulmuştur.

Ünlü (2018), Mersin ili Erdemli (Kocahasanlı, Püstüllü, Kızıl En) ve Silifke (Delikkaya, Ovacık) ilçelerinde survey çalışması yapmıştır. Yapmış olduğu surveyler sırasında dört adet tarla ve beş adet domates serasından *Cmm* belirtisi gösteren 28 adet örnek toplamıştır. İzolasyonu yapılan hastalıklı bitki örneklerinden yedi adet *Cmm* izolatı elde etmiştir.

Sunyar (2019), Iğdır ilinin Aralık, Tuzluca, Karakoyunlu ilçelerinden ve Iğdır merkezde domates üretimi yapılan alanlarda survey çalışması yapmıştır. Toplamış olduğu örneklerden 98 adet bakteri izolatu elde etmiştir. Bakteri izolatlarını floresan pigment üretimi, gram reaksiyonu, LOPAT özelliklerine göre tanılamıştır. Tanıyı desteklemek için Mikrobiyal Identifikasyon Sistem (MIS) ve BIOLOG Gen III sisteminden faydalanmıştır. Testleme sonucunda sekiz izolatu *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, iki tanesini *P. viridiflava* ve bir adedini de *Pst* olarak tanılamıştır.



2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

Mersin ilinin Silifke ilçesinde yapılan survey çalışması ile örtü altı domates yetiştiriciliğinde sorun teşkil eden bakteriyel hastalık etmenlerinin izolasyonu, patojenitesi, morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler tanısı ile yaygınlık oranları tespit edilmiştir. Bu amaçla LOPAT testleri, nişastanın hidrolizi, indol testi gibi klasik testler ile, MALDI-TOF MS ile tanı ve türe spesifik primerler ile PCR testleri ve sekans analizi yapılarak bakterilerin tanısı desteklenmiştir.

2.1. Materyal

2.1.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Bitkisel Materyaller

Çalışmada, Mersin ilinin Silifke ilçesindeki domates üretim alanlarından elde edilen hastalıklı bitki örnekleri, patojenite çalışmalarında Hazara F1 çeşidine ait domates fideleri, aşırı duyarlılık testleri için tütün (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun) ve akşam sefası (*Mirabilis jalapa*) bitkileri, pektolitik aktivite testinde ise taze patates yumruları bitkisel materyal olarak kullanılmıştır.

2.1.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Alet, Ekipman ve Kimyasallar

Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma Birimi'ndeki laboratuvarlarda bulunan manyetik karıştırıcı (Heidolph), terazi (IKA), otoklav (HIRAYAMA HV-50), inkübatör (NUVE), erlen çalkalayıcı (Heidolph), tüp karıştırıcı (Heidolph), buzdolabı ve derin dondurucu (Thermo), tüp çalkalayıcı (IKA), bitki yetiştirme kabini (NÜVE), pH metre (OHAUS), mikropipet seti (EPPENDORF), steril kabin (NÜVE), thermocycler (BIO RAD), DNA jel görüntüleme ve dökümantasyon sistemi (BIO RAD), su banyosu (NÜVE) ve spektrofotometre (Shimadzu) kullanılmıştır.

Tez çalışmasında kimyasal olarak; N,N,N',N'-Tetrametilenetilendiamin (Merck), HCl (Merck), Glucose (Carlo Erba), Tryptone (Acumedia), Phenol red, L-Arginine (Merck), CaCO₃ (Merck), Ethidium Bromür (Fluka), PCR Master Mix (Fermantas), Glycerol (Carlo Erba), Agar (Merck), Peptone (Acumedia), Potasyum Bromide (Merck), K₂HPO₄ (Merck), MgSO₄.7H₂O (Merck), Sucrose (Merck), Yeast Extract (Merck), NaOH (Merck) KOH (Merck) gibi kimyasallar besi yeri hazırlığında ve çeşitli testler için kullanılmıştır.

2.1.3. Moleküler Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar ve Primerler

PCR çalışmalarında PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific Dream Taq Green), 6x DNA Loading Dye (Thermo Scientific), Water nuclease-free (Thermo Scientific), Agaroz (Sigma) ve TAE buffer (Thermo scientific) kullanılmıştır.

PCR çalışmalarında *Cmm* için Cmm5 (5'-GCGAATAAGCCCATATCAA-3') ve Cmm6 (5'-CGTCAGGAGGTTCGCTAATA-3') primer çifti, *Pst* için Pst1 (5'-GGC GCT CCC TCG CAC TT-3) ve Pst2 (5'-GGT ATT GGC GGC GGT GC-3') primerleri, *P. carotovorum subsp. carotovorum* için Y1 (5'-TTA CCG GAC GCC GAG CTG TGG CGT-3') ve Y2 (5'-CAG GAA GAT GTC GTT ATC GCG AGT-3') primerleri kullanılmıştır. Kullanılan bu primerler Sentegen firmasında sentezlettirilerek çalışmada kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Üretici Anketi

Mersin ili Silifke ilçesinde domates üretimi yapan 130 çiftçi ile anket çalışması yapılmıştır (Şekil 2.2.1). Ankette üreticilerin domates üretim alanlarında karşılaştıkları hastalıklar, üretim alanında hastalık olduğunda yaptıkları işlemler, bitkilere uyguladıkları pestisit ve gübreler, uyguladıkları sanitasyon önlemleri, bitki koruma açısından sık karşılaştıkları problemler ve kimyasal ilaçları uyguladıkları dönemler hakkında sorular yöneltilmiştir. Yapılan anket çalışması ile ilçedeki ankete katılan çiftçi profili ortaya konulmuştur. Anket soruları Ek-1'de verilmiştir.



Şekil 2.2.1.1. Domates üreticileri ile yapılan anket çalışması

2.2.2. Survey Çalışmaları ve Bakteriyel Hastalıkların Yaygınlık Durumlarının Belirlenmesi

Mersin İli Silifke ilçesi merkez, Atayurt, Atakent, Arkum, Sökün, Kurtuluş, Çayır, Çeltikçi ve Narlıkuyu mahallelerinde domates yetiştiriciliği yapılan 500 m² den büyük plastik seralar Ocak, Şubat, Mart, Mayıs aylarında gezilmiştir. Sera incelemeleri 15-22.01.2019, 19-26.02.2019, 18-25.03.2019, 10-18.05.2019 ve 01-14.02.2020 tarihlerinde olmak üzere toplam beş kez yapılmıştır. Çalışmada Bora ve Karaca (1970)'in bölümlü örnekleme yöntemi kullanılmıştır. İncelenen seralardaki domates bitkilerinde yapraklarda sararma, kahverengileşme, genel ya da tek taraflı solgunluk, gövdede yumuşama ve nekrozlar gibi farklı tipte hastalık belirtisi gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır. Alınan örnekler peçeteye sarılarak polietilen torbalar içerisine konulmuştur. Her bir örnek için bilgiler içeren kağıtlar hazırlanarak torbalar içinde muhafaza edilmiştir. Toplanan bitki örnekleri Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Araştırma Birimindeki Fitopatoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Hastalık etmenlerinin bölgedeki yaygınlığını belirlemek amacıyla survey yapılan sera sayısı bakteriyel hastalık tespit edilen sera sayısına oranlanmıştır. Örnekleme yapılırken her serada tesadüfi olarak 100 bitki sayılmış, seradaki hasta bitki yüzdesi saptanarak

hastalığın seradaki yaygınlık oranı tespit edilmiştir. Yapılan tez çalışmasıyla bölgede bulunan bakteriyel hastalıkların yaygınlık oranı tespit edilmiştir.

2.2.3. Domates Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu

Enfekteli bitkinin hastalıklı ve sağlıklı dokusunu içerecek şekilde yaprak, iletim demeti ya da gövde kısmından 2-3 mm büyüklüğünde bitki dokuları steril bir bistüri yardımıyla kesilerek %70 alkol emdirilmiş steril pamuk arasında 30-40 saniye bekletilmiş ve yüzeyden dezenfekte edilmiştir. Hemen ardından doku kısımları steril porselen havanlara aktarılmış ve iyice ezilmişlerdir. İçerisine 2 ml steril saf su eklenmiş ve süspanse edilmiştir. Elde edilen süspansiyondan bir öze dolusu (10µl) alınarak King B (King et al., 1954) besi yerine iki tekrarlı olarak üç çizgi yöntemi ile çizimleri yapılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987). Petriler 25°C’de inkübatörde 2-3 gün inkübe edildikten sonra gelişen koloniler incelenmiştir. Bakteri gelişimi gözlenen petrilere farklı tipteki kolonilerden saflaştırma işlemi yapılmıştır. Saflaştırılan izolatlar ilerleyen çalışmalarda kullanılmak üzere cam tüpte (16x160 mm) eğik olarak hazırlanmış YDCA besi yerinde +4°C’deki buzdolabında ve gliserin (%20) içerisinde -20°C’de deepfreeze saklanmıştır.

2.2.4. Hastalık Etmenlerinin Patojenitesi ve Re-İzolatların Elde Edilmesi

Bakteriyel hastalık etmenleri ile enfekteli domates bitkilerinden izole edilen bakteri izolatlarının patojenitesi 3-5 yapraklı dönemde bulunan Hazara F1 çeşidi sağlıklı domates fidelerinde yapılmıştır. İzole edilen saf bakteriler King B besi yerinde geliştirilmiş ve izolatların bu taze kültürlerinden süspansiyon hazırlanmıştır. Süspansiyonlar spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0.2 absorbans değerinde 10^7 hücre/ml yoğunluğuna ayarlanmıştır. Ardından yapraktaki kloroz ve nekrozlardan elde edilen izolatlar yaprağa püskürtme yöntemi ile bitkilere inokule edilmiştir. İletim demetinde oluşan renklenme, gövdede nekroz ve yumuşama sonucu izole edilen bakteri izolatları ise steril bir enjektör yardımıyla gövdeye tek noktadan (50-100 µl) enjekte edilmiştir. İnokule edilen bitkiler test kabinine yerleştirilerek (16 saat ışık, 8 saat karanlık, 27°C sıcaklık, %70-80 nisbi nem) hastalık belirtileri gözleninceye kadar bekletilmişlerdir. İnokulasyonlardan yaklaşık 15-30 gün sonra enfekteli fidelerde oluşan belirtiler değerlendirilmiştir. Belirti gösteren bitkilerden King B besi yerine re-

izolasyonlar yapılmış ve böylelikle re-izolatların KOCH Postulatı işlemleri tamamlanmıştır. Re-izolatlar eğik olarak hazırlanmış YDCA besi yerinde +4 °C'deki buzdolabında ve gliserin (%20) içerisinde -20 ve -80°C'de deepfreeze de saklanmıştır. Klasik ve moleküler tanı çalışmalarında bu re-izolatlar kullanılmıştır.

2.2.5. Biyokimyasal ve Fizyolojik Testler

2.2.5.1. Potasyum Hidroksit Testi (KOH)

Lam üzerine pastör pipet yardımıyla 1 damla taze hazırlanan %3'lük potasyum hidroksit solüsyonu damlatılarak üzerine Nutrient Agar (NA) (Ek 2) besi yerinde taze şekilde geliştirilen izolatlar plastik özeyle alınarak solüsyona dairesel hareketlerle bulaştırılmıştır. Öze 15-20 saniye sonra yukarı kaldırıldığında vizkoz yapışkanimsi bir sünmenin olması pozitif olarak değerlendirilmiştir. KOH ile bakterilerin hücre duvarı parçalanmakta, sitoplazma ve nükleer materyal açığa çıkmaktadır ve oluşan bu vizkoz yapı bunları içermektedir. Bu durumun gözlendiği izolatlar gram negatif, sünmenin olmadığı izolatlar ise gram pozitif olarak değerlendirilmiştir (Fahy ve Hayward, 1983).

2.2.5.2. Levan Oluşumu

Sakkaroz Nutrient Agar (SNA) (Ek 2) besi yerine taze bakteriyel izolatlar çizgi ekim yöntemiyle çizildikten sonra petriler 25 °C 'de inkübatörde 3- 4 gün süreyle inkübe edilmiştir. Petrilerde gelişen kubbemsi, kalın, beyaz, konveks, mukoid koloniler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

2.2.5.3. Oksidaz Testi

Bu test için taze hazırlanan % 1'lik N; N; N; N- Tetramethyl - 1.4 phenylene diammonium diclorid eriyiğinden steril filtre kağıdına pastör pipet yardımıyla bir damla damlatılmıştır. Damlatılan solüsyonun üzerine izolatların 48 saatlik taze kültürü platin öze ile bulaştırıldığında 20 saniye içinde oluşan koyu mor renk değişimi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

2.2.5.4. Pektolitik Aktivite Testi

Pektolitik aktivitenin belirlenmesi testi için taze ve hastalıksız patates yumruları iki defa saf su ile yıkanmış ve kuruduktan sonra yüzey dezenfeksiyonu için %70 lik alkol patates yumrularının üzerine püskürtülmüştür. Daha sonra kurumaya bırakılmıştır. Steril bıçak yardımı ile patates yumrularının kabuğu soyulduktan sonra 2 cm kalınlığında dilimlenerek içinde nemli steril kurutma kağıdı bulunan steril cam petrilere yerleştirilmiştir. Yerleştirilen patates dilimlerine 48 saatlik taze bakteri izolatları öze yardımı ile inokule edilmiştir. Patates dilimlerine bakteri izolatları inoküle edildikten sonra petrilerin kapağı parafilm ile sarılmıştır. Bakteri bulaştırılan patates dilimleri $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'deki inkübatörde 2 günlük inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda inokule edilen bölgede yumuşama, içe çökme, kararma ve kötü koku oluşumu pozitif olarak kabul edilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Kontrol olarak steril saf su kullanılmıştır.

2.2.5.5. Arginin Dehidrolaz Testi

Bu test *Pseudomonas* spp. türleri için yapılmıştır. Hazırlanan besi yeri Ek 2'de verilmiştir. Taze olarak petride geliştirilen izolatlardan öze yardımıyla tek bir bakteri kolonisi alınarak tüplere aşılanmış ve üzerleri 2-3 ml steril parafin veya mineral yağ ile kaplanmıştır. Daha sonra tüpler $24-26^{\circ}\text{C}$ 'deki inkübatörde 7- 14 gün süreyle inkübe edilmiştir. Ortamın açık pembe renginin kırmızıya dönüşmesi durumunda reaksiyon pozitif olarak değerlendirilmiştir.

2.2.5.6. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi

Bakteri izolatları Tryptic Soy Agar (TSA) (Klement et al.1990). (Ek 2) besi yerine çizilerek 25°C 'deki inkübatörde 48 saat inkübe edilmiştir. Taze bakteri izolatlarından bir öze dolusu alınarak içerisinde sıvı besi yeri bulunan tüplere aktarılmıştır. Tüpler iyice tüp karıştırıcısında karıştırılmış, solüsyonun homojen olması sağlanmıştır. Hazırlanan karışımın konsantrasyonu spektrofotometre yardımıyla 10^9 hücre/ml'ye ayarlanmıştır. Tütün (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun) bitkisinin yaprak damar aralarına steril enjektör yardımı ile bakteriyel izolatların süspansiyonları enjekte edilmiştir. Tütün bitkileri test kabineye yerleştirilerek (16 saat ışık, 8 saat karanlık, 27°C sıcaklık, %70-80 nisbi nem) 24-48 saatlik bir inkübasyon sonucunda inokule edilen alanlarda oluşan

nekrotik ve su emmiş lekeler pozitif reaksiyon olarak kabul edilmiştir. Negatif kontrol olarak tütün bitkisine steril saf su enjekte edilmiştir.

2.2.5.7. Akşam Sefasında (*Mirabilis jalapa*) Aşırı Duyarlılık Testi

Domateste patojen *Cmm* tütün yerine akşam sefası (*Mirabilis jalapa*) bitkisinin yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturmaktadır. Bu amaçla *Cmm* olduğu şüphelenilen izolatlar TSA besi yerine çizilerek 25°C'de inkübatörde 72 saat süreyle geliştirilmiştir. Taze bakteri izolatlarından öze yardımıyla alınarak cam tüplerde bulunan 9 ml steril saf su içerisinde süspanse edilmişlerdir. Hazırlanan süspansiyondan steril bir enjektör yardımı ile alınarak *Mirabilis jalapa* bitkisinin yaprağının iki epidermis tabakası arasına enjekte edilmiştir. Bakteri enjekte edilen akşam sefası bitkileri 24-48 saatlik bir inkübasyon süresince kontrol edilerek inokule edilen alanlarda oluşan nekrotik ve su emmiş lekeler pozitif reaksiyon olarak kabul edilmiştir. Kontrol olarak steril saf su kullanılmıştır.

2.2.5.8. Nişasta Hidrolizi Testi

Bu test domateste patojen *Xanthomonas* spp. türlerinin tanısı için yapılmıştır. İzolatlar, nişasta içeren besi yerine (Ek 2) çizildikten sonra 24-26 °C'de inkübatörde inkübe edilmiştir. Bakteri gelişimi gerçekleşen petrilerin üzerine 5 ml kadar Lugol Solusyonu (300 ml'ye 1 gr iodine, 2 gr potasyum iodine) damlatılmış, gelişen bakterilerin etrafında açık alanların oluşması pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

2.2.5.9. İndol Üretimi

Yumuşak çürüklük etmenlerinden *Pcc*, *Pca* ve *Dch* olabileceğini düşündüğümüz izolatlar için yapılmıştır. Patojen bakteriler TSA besi yerinde geliştirildikten sonra tüplerde bulunan indol besi yerine (10 gr tryptone, 5 gr yeast extract, 1000 ml su, pH:7.4) aşılanmıştır. İndol üretim testi için 26±2°C'de 2 gün süreyle tüplerde sıvı besi yerinde geliştirilmiş olan izolatlara pipetle 1 ml kovacs ayırıcı damlatılmış ve tüpün üst kısmında halka şeklinde oluşan kırmızı-pembe renk pozitif olarak, sarı-kahverengi renk oluşumu ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Dickey ve Kelman, 1988).

2.2.5.10. Yumuşak Çürüklük Etmenleri İçin Farklı Sıcaklıklarda Gelişim

Yumuşak çürüklük etmenlerini tanımlayabilmek için farklı sıcaklıklarda (27, 33.5, 37 ve 39°C) gelişme yetenekleri incelenmiştir. Patojen bakteri izolatları TSA besisi yerine çizilerek 27, 33.5, 37 ve 39°C'deki inkübatörde 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda petrilere gelişme olup olmadığı incelenmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

2.2.6. Moleküler Testler

2.2.6.1. DNA İzolasyonu

Klasik testlere göre *Pst*, *Cmm* ve *Pcc* olarak tanımlanan izolatların tanımlarını desteklemek amacıyla moleküler testler yapılmıştır. Bu amaçla izolatlardan DNA izolasyonu Qiagen marka DNA izolasyon kiti kullanılarak yapılmıştır. Firmanın belirttiği protokole göre izolasyon işlemi tamamlanmıştır. Buna göre;

TSA besisi yerinde 23-25°C'de 48 saat geliştirilen saf bakteri kültürlerinden tek bir koloni alınarak cam tüplerdeki 4.5 ml lik NB sıvısı besisi yerine aşılanmıştır. Aşılanan tüpler çalkalayıcıda 25°C de 250 rpm hızda 1 gün çalkalanmıştır. Ertesi gün gelişen bakteri kültüründen 700 µl alınmış ve 2 ml hacimli santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Her bir bakteriyel süspansiyon 5000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant (üstteki sıvı kısım) atılarak dibeye çöken pellet kısmına 1 ml steril saf su eklenerek vortekslenmiş ve tekrar 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj yapılmıştır. Mikrosantrifüj tüp içerisindeki DNA pelletine 180 µl enzimatik lysis buffer eklenmiştir ve pellet homojen karışacak şekilde iyice vortekslenmiştir. Örnekler 37 °C sıcaklıktaki inkübatörde en az 30 dakika inkübe edilmiştir. Süre bitiminde tüplerin içerisine sırasıyla 25 µl Proteinaz K ve 200 µl ethanol-süz Buffer AL eklenerek vortekslenmiştir. Örnekler 56 °C' deki su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Bekletilen örnekler 200 µl ethanol (%96-100) eklenerek vortekslenmiştir. Vortekslenen örnekler yaklaşık 600 µl olarak DNeasy mini spin tüplerine aktarılmış ve 16000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Altta kalan toplama tüpü atılmış, üstteki DNeasy mini spin tüpleri yeni bir toplama tüpüne konulmuştur. Üzerine 500 µl Buffer AW1 eklenerek 16000 rpm'de tekrar 1 dakika santrifüjlenmiştir. Bir önceki aşama tekrarlanarak üzerine 500 µl Buffer AW2 eklenmiş ve 16000 rpm'de 3 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Son aşama olarak DNeasy mini spin tüpleri 2 ml lik yeni mikrosantrifüj tüplerine yerleştirilmiş, üzerine

200 µl AE eklenerek 16000 rpm hızda 1 dakika boyunca santrifüjlenerek DNA'nın tüpe geçmesi sağlanmıştır. DNA'lar PCR çalışmalarında kullanılmak üzere -20 °C de muhafaza edilmiştir.

2.2.6.2. PCR Reaksiyonun Kurulması

PCR reaksiyonunun içeriği 25 µl olacak şekilde (12.5 µl PCR Master Mix, 1.0 µl Forward ve Reverse primerler (10 pmol), 8.5 µl ultra saf su, 2 µl genomik DNA) hazırlanmıştır. DNA hariç diğer malzemeler bir ependorf tüpte hazırlanarak karıştırılmıştır. Daha sonra PCR tüplerinin her birine 23 µl olarak bölüştürülmüş, en son bakteri DNA'sı belirtilen tüplere 2 µl olarak eklenmiştir Kontrol tüplerine sadece PCR karışımı eklenmiştir.

2.2.6.3. *Pst*'nin PCR ile tanısı

Yaprak lekelerinden elde edilen floresan özellikteki bakteri izolatlarında *Pst*'yi tanılamak için Bereswill et al. (1994) tarafından geliştirilen ve bakterilerde koronatin toksini üreten gen bölgesini kodlayan primerler ve PCR protokolü kullanılmıştır. Termal cyclerda *Pst* için kullanılan PCR protokolü Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Termal cyclerda *Pst* için kullanılan PCR protokolü

Program Adımları	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	95	2	1
Denatürasyon	95	1	37
Primer Bağlanması	54	2	37
Uzama	72	2	37
Son Uzama	72	5	1
Bekleme	4	Süresiz	

2.2.6.4. *Cmm*'in PCR ile tanısı

Patojen bakteri *Cmm*'in PCR ile tanısında Dreier et al. (1995) tarafından geliştirilen *pat-1* bölgesini kodlayan primerler ile türe spesifik PCR yöntemi kullanılmıştır. Termal cyclerda *Cmm* tanısı için kullanılan PCR protokolü Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Termal cyclerda *Cmm* tanısı için kullanılan PCR protokolü

Program Adımları	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	94	5	1
Denatürasyon	94	1	30
Primer Bağlanması	47	1.50	30
Uzama	72	1	30
Son Uzama	72	5	1
Bekleme	4	Süresiz	

2.2.6.5. *Pcc*'nin PCR ile tanısı

Pcc tanısında Darrasse et al. (1994) tarafından geliştirilen ve pektolitik enzim üreten bakterilerin *pel* gen bölgesini kodlayan primerler ve PCR protokolü kullanılmıştır. Termal cyclerda *Pcc*'nin moleküler tanısı için programlanan PCR protokolü Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Termal cyclerda *Pcc* tanısı için kullanılan PCR protokolü

Program Adımları	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika)	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	94	5	1
Denatürasyon	94	0.30	35
Primer Bağlanması	65	0.30	35
Uzama	72	0.45	35
Son Uzama	72	5	1
Bekleme	4	Süresiz	

2.2.6.6. PCR ürünlerinin elektroforez sisteminde yürütülmesi

200 ml'lik 1X TAE buffer içerisine 2.4 gr agaroz eklenmiş ve mikrodalga fırında eriyinceye kadar kaynatılmıştır. 50°C'ye kadar soğutulduktan sonra taraklar tanka yerleştirilmiş ve jel tankına %1.2'lik agaroz dökülmüştür. Agaroz jel donduktan sonra taraklar dikkatlice çıkarılmıştır. Daha sonra elektroforez tankının içerisine jeli örtecek şekilde TAE buffer eklenmiştir. PCR sonucu elde edilen ürünlerden 5 µl alınarak agaroz jelde ilgili kuyucuklara mikropipetle inokule edilmiştir. Oluşan bantların moleküler

ağırlıklarını belirlemek amacıyla ilk ve son kuyucuğa 2 µl 100 bp'lik moleküler işaretleyici eklenmiştir. Agaroz jel 110 voltta 70 miliamper akım uygulanarak 2 saat süreyle koşturulmuştur. Jel koşturulduktan sonra etidyum bromür (10mg/ml) bulunan bir kapta 10 dakika bekletilerek oluşan bantların boyama işlemi yapılmıştır. Boyama işleminden sonra oluşan bantlar UV ışığı yayan transliminatörde incelenmiş ve fotoğraflanmıştır. Örneklerde *Pst* tanısı için 650 bp, *Cmm* için 614 bp ve *Pcc* tanısı için 434 bp büyüklüğünde bant varlığı/yokluğu yönünden incelemeler yapılmıştır.

2.2.7. MALDI-TOF MS ile Bakteri İzolatlarının Tanısı

PCR ile tanısı mümkün olmayan bakteri izolatlarının fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçlarını destekleyici olarak matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) tekniğine dayalı yöntemle tanıları yapılmıştır. Bu analiz Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır. Sonuçlar değerlendirilirken yeşil ve sarı renkli ve en yüksek skor ile (≥ 1.70) benzerlik gösteren bakteri türleri dikkate alınmıştır (Uysal vd. 2019)

2.2.8. Bakteri İzolatlarının Sekans Analizi

Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testler, MALDI-TOF MS ile tanıya ek olarak beş adet izolatan bakterilere spesifik universal primerler (27F ve 1492R) kullanılarak 16S rRNA gen bölgesini çoğaltan PCR testi yapılmıştır (Lane, 1991). Her bir izolata ait PCR ürünü BM Labosis firmasına gönderilmiş, ürünlerin purifikasyonu ve çift yönlü sekans analizi hizmet yoluyla yaptırılmıştır. Firmanın gönderdiği sekans sonuçları Bioedit programında düzenlenmiş, elde edilen tek nükleotit dizilimi FASTA formatına çevrilmiştir. Elde edilen FASTA formatındaki nükleotit dizisi National Center for Biotenchnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) websitesinde nükleotit BLAST ekranında sistemde kayıtlı yüksek benzerlik gösteren bakteri türleri ile karşılaştırılmıştır. Tüm testler göz önünde bulundurulmuş ve en yüksek nütleotit benzerliği gösteren türler seçilerek tanıları yapılmıştır.

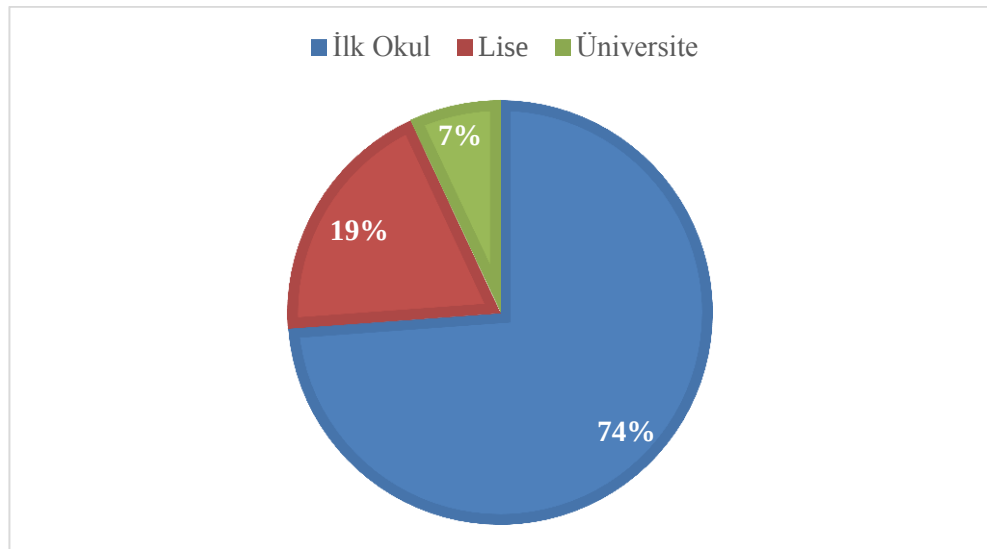
3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Üretici Anketi

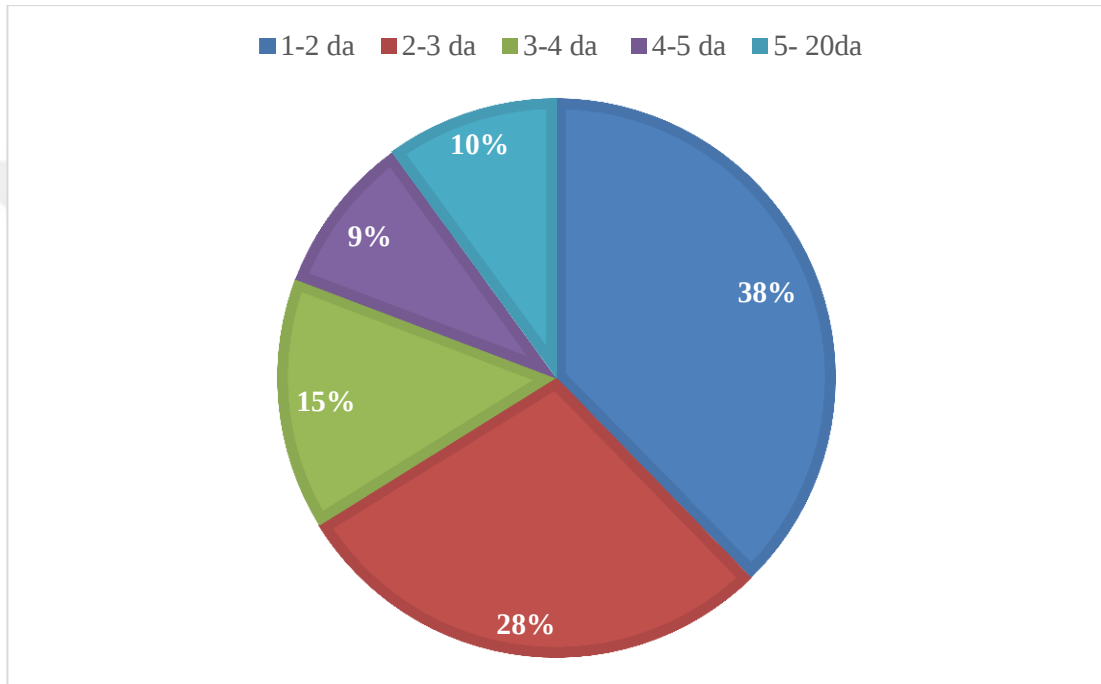
Mersin ili Silifke ilçesinde örtü altında domates üretimi yapılan alanlarda 130 üretici ile görüşme yapılarak anket formları doldurulmuştur. Üretici seraları incelenirken üreticilere serada bulunan hastalıklar ve bu hastalıklar ile nasıl mücadele etmeleri gerektiği hakkında bilgiler verilmiştir. Hastalık tespit edilen seralarda fungal, bakteriyel ve viral etmenlerin bitkilerde oluşturdukları benzer ve ayırt edici belirtiler gösterilmiş ve bu etmenleri ayırt edebilmeleri için farkındalık yaratılmaya çalışılmıştır. Yapılan anket çalışması ile elde edilen sonuçlar aşağıda sıralanmıştır.

Yapılan anket çalışmasında üreticilerin eğitim durumları sorulduğunda, %74 gibi büyük bir bölümünün ilkokul, % 19'u lise ve ankete katılan çiftçilerin % 7'si ise üniversite mezunu oldukları kaydedilmiştir (Şekil 3.1.1).



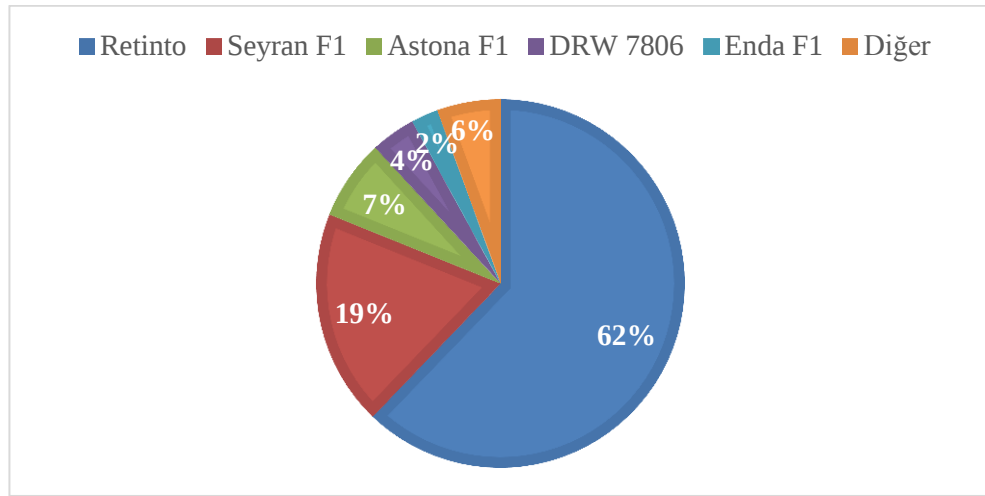
Şekil 3.1.1. Ankete katılan üreticilerin eğitim durumu

Ankete katılan üreticilerin domates üretimi yaptıkları sera alanları 1-20 dekar arasında değişkenlik göstermektedir. Domates üretimi yapılan sera büyüklükleri değerlendirildiğinde, üreticilerden %38'si 1-2 dekarlık alanda üretim yaparken, %9'u ise 4-5 dekarlık alanda domates üretimi yaptıklarını beyan etmişlerdir. Bölgede anket çalışmasına katılan üreticilerden 49 üreticinin 1-2 dekar büyüklüğünde, 13 üreticinin ise 5 dekar ve üzeri büyüklüğünde serası bulunmaktadır (Şekil 3.1.2).



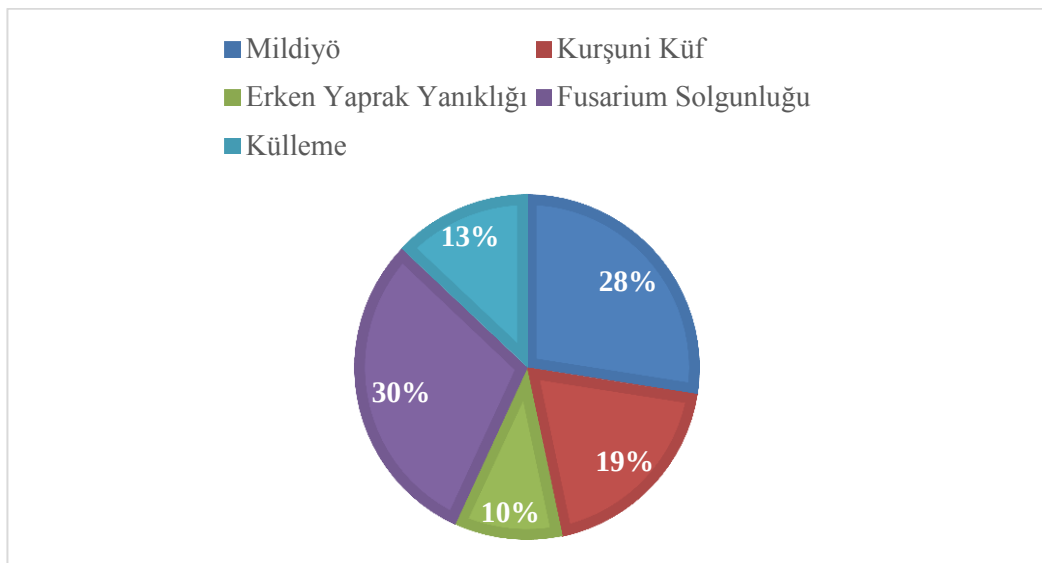
Şekil 3.1.2. Bölgedeki üreticilerin sera alanları

Domates çeşitlerinin hastalık ve zararlılara dayanıklılık/duyarlılık düzeyinde farklılıklar olabilmektedir. Bu nedenle kullanılan çeşit ile hastalıklara duyarlılık arasındaki ilişkiyi yorumlamak amacıyla üreticilerin yetiştirdikleri domates çeşitleri sorulmuştur. Anket çalışmasına katılan 130 çiftçiden 79'u Retinto F1, 24'ü Seyran F1, 9'u Astona F1, 5'i DRW 7806, 3'ü Enda F1 ve 7 tanesi farklı çeşitleri kullandıklarını bildirmişlerdir. Mersin ili Silifke ilçesinde üreticilerin büyük bölümünün sera yetiştiriciliğinde Retinto F1 domates çeşidini tercih ettikleri görülmektedir (Şekil 3.1.3).



Şekil 3.1.3. Üreticilerin yetiştirdikleri domates çeşitleri

Domates, dünyada yaygın olarak üretimi yapılan ve farklı şekillerde tüketilen önemli sebze türlerinden biridir. Domatesi hastalandıran birçok fungal, bakteriyel, viral, fitoplazma gibi etmenler bulunmaktadır. Survey yapılan 130 domates serası incelendiğinde bölgede domatesi hastalandıran daha çok fungal etmenler olduğu gözlemlenmiştir. İncelenen seralarda en yaygın *Fusarium* solgunluğu ve mildiyö hastalıkları olduğu, bu iki etmeni takiben kurşuni küf, külleme ve erken yaprak yanıklığı hastalıklarının zarar oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 3.1.4). Bakteriyel hastalık olarak daha çok bakteriyel kara leke hastalığı (Şekil 3.1.5a), öz nekrozu ve gövde çürüklüğü (Şekil 3.1.5b) zararına incelenen seralarda rastlanmıştır.

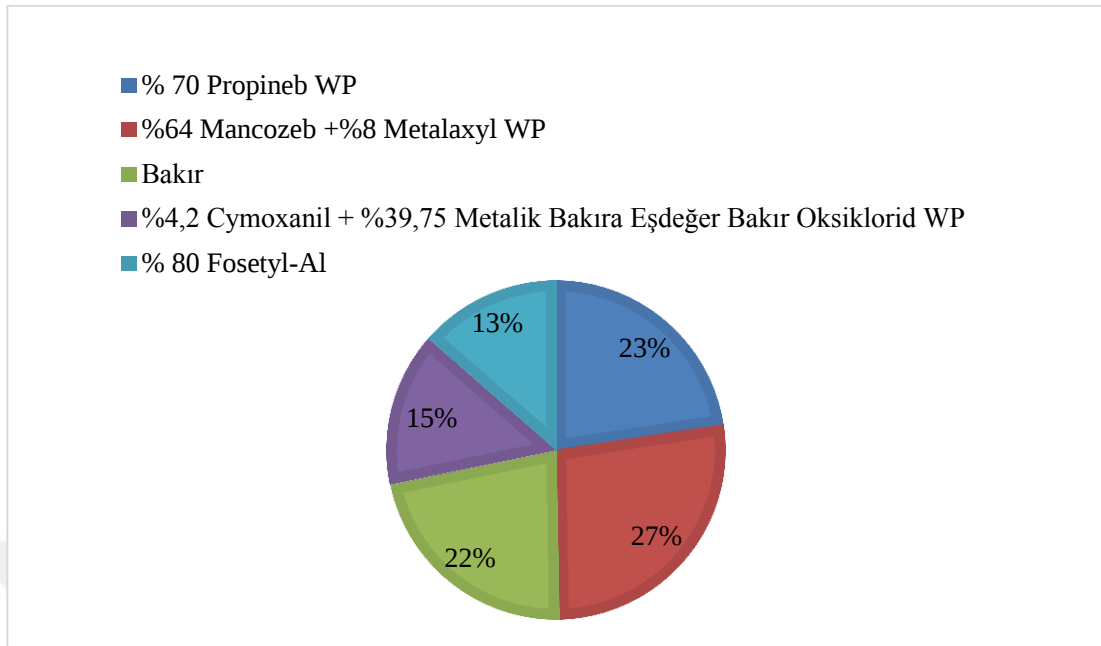


Şekil 3.1.4. Survey yapılan seralarda görülen fungal hastalıklar



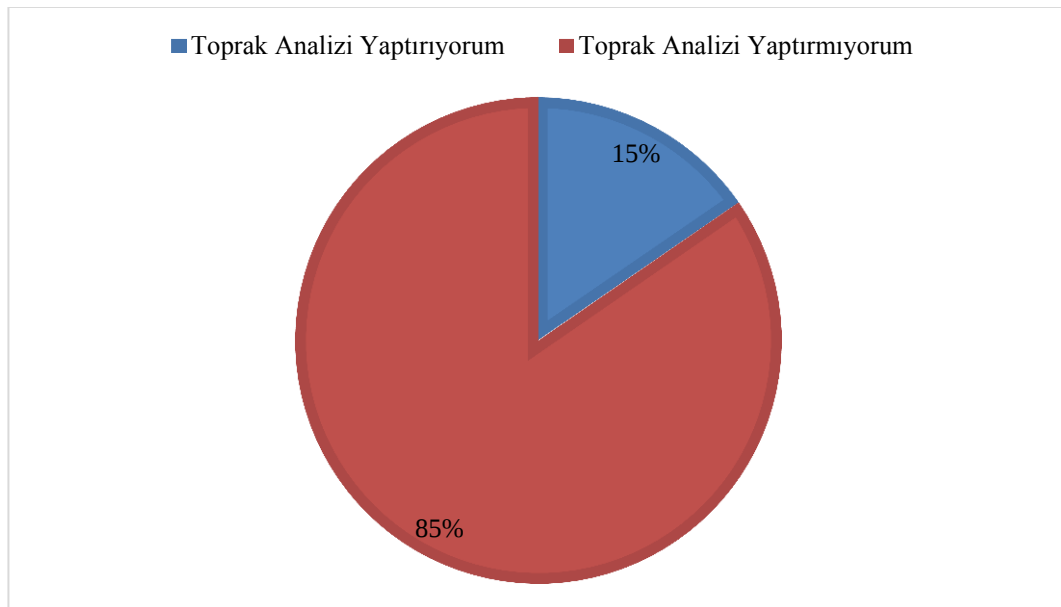
Şekil 3.1.5. Üretim alanlarında görülen bakteriyel kara leke (a) ve gövde çürüklüğü (b) hastalık belirtileri

Domates hastalıkları ile mücadelede yoğun olarak pestisitlerden faydalanılmaktadır. Kullanılan pestisitlerin hangi hastalıklara etkili olduğunu bilmek, pestisitlerin kullanım dozu, içeriği ve uygulama zamanı hastalıkla mücadelede önemlidir. Bu sebeple üreticilere kullandıkları bitki koruma ürünleri sorulmuştur. Şekil 3.1.6’da görüldüğü gibi bölgede en fazla %64 Mancozeb +%8 Metalaxyl etken maddeli fungusitler ıslanabilir toz (WP) formunda kullanılmaktadır. Propineb etken maddeli ilaçların 2019 yılında kullanımının yasaklanması ile birlikte 2020 yılındaki surveyler sırasında yapılan anket çalışmalarında üreticilerin bu yasağa uyduğu ve Propineb içerikli kimyasalları kullanmadıkları görülmüştür.



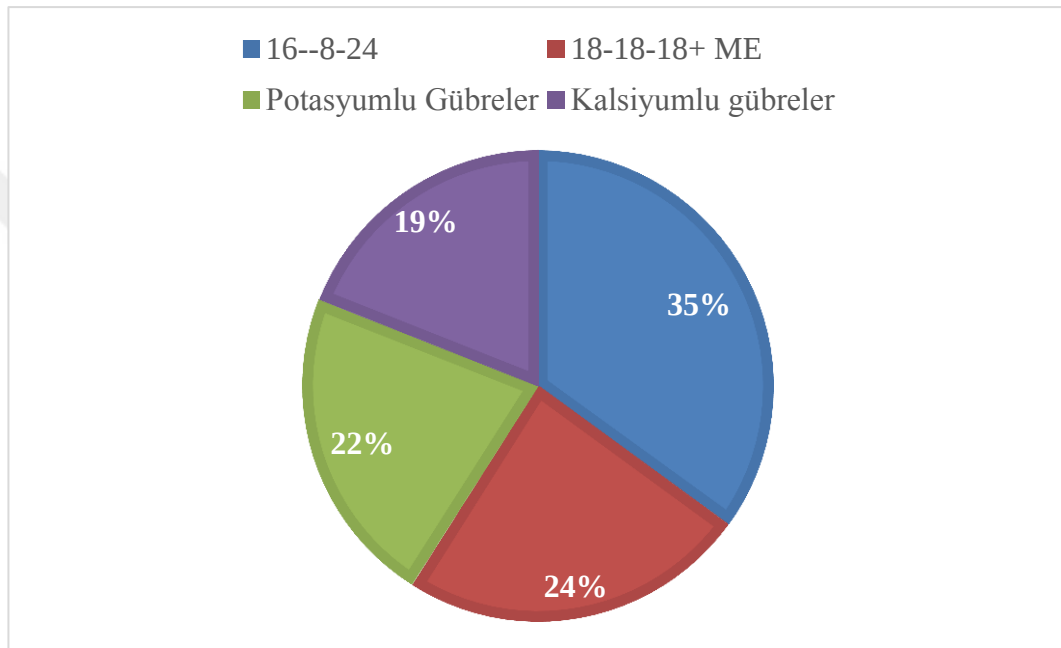
Şekil 3.1.6. Üreticilerin serada hastalıklara karşı kullandığı fungusitlerin etken maddesi

Bitkinin yeterli ve gerekli elementleri alabilmesi için toprakta bulunan minerallerin analiz edilmesi gereklidir. Ankete katılan üreticilere gübreleme öncesi toprak analizi yaptırıyor musunuz sorusu sorulmuştur. Üreticilerin vermiş oldukları cevaplar incelendiğinde üreticilerin %85'inin toprak analizi yaptırmadıkları görülmüştür (Şekil 3.1.7).



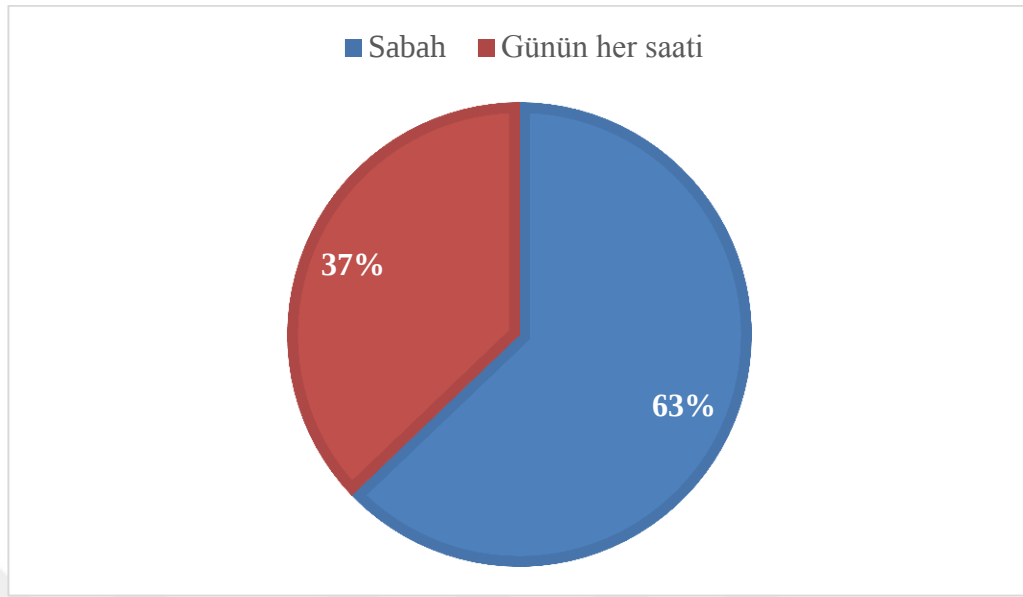
Şekil 3.1.7. Ankete katılan üreticilerin toprak analizi yaptırma durumları

Sağlıklı bir bitki yetiştirmek için doğru gübreleme yapmak büyük önem arz etmektedir. Bitkinin fizyolojik durumuna göre uygun zamanda, uygun miktarda gübre verilmesi verim ve kaliteyi arttırmaktadır. Bitki beslemenin iyi yapılması bitkide hastalık ve zararlılara karşı da koruyuculuk görevi üstlenmektedir. Bu nedenle üreticilere hangi gübreleri ne sıklıkla kullandıkları sorulmuştur. Üreticiler en fazla %35 oranla 16-8-24 (N-P-K) gübresini kullanmaktadır (Şekil 3.1.8).



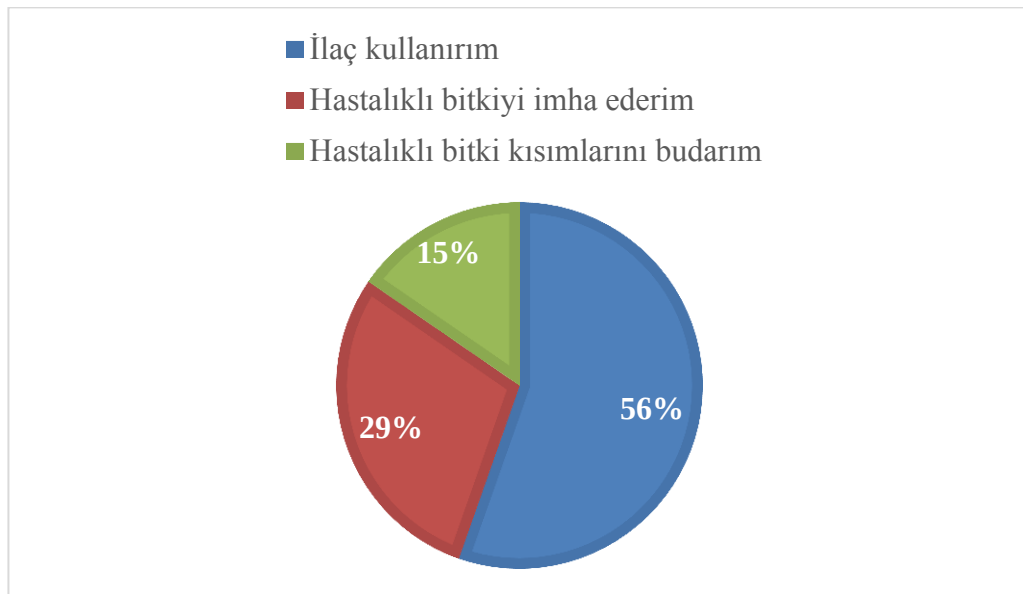
Şekil 3.1.8. Üreticilerin kullandıkları gübreler

Hastalıkların yayılmasında ve bulaşmasında nem önemli bir faktördür. Sera içerisinde bitkiler ıslakken ve sera içerisinde nem oranı yüksek olduğunda kültürel işlemler yapmak hastalıkların sera içerisinde diğer sağlıklı bitkilere ulaşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle üreticilerin sera içerisinde çalışmaya başladıkları zaman dilimi sorulmuştur. Anket çalışmasına göre çiftçiler seraya girdiklerini bildirmiştir. Üreticilerin verdikleri cevaplar incelendiğinde %63'ü serada nem oranının azaldığı sabah saat 10:00'dan itibaren seraya girdiğini, %37'si ise seraya günün her saati giriş yaptığını belirtmiştir (Şekil 3.1.9).



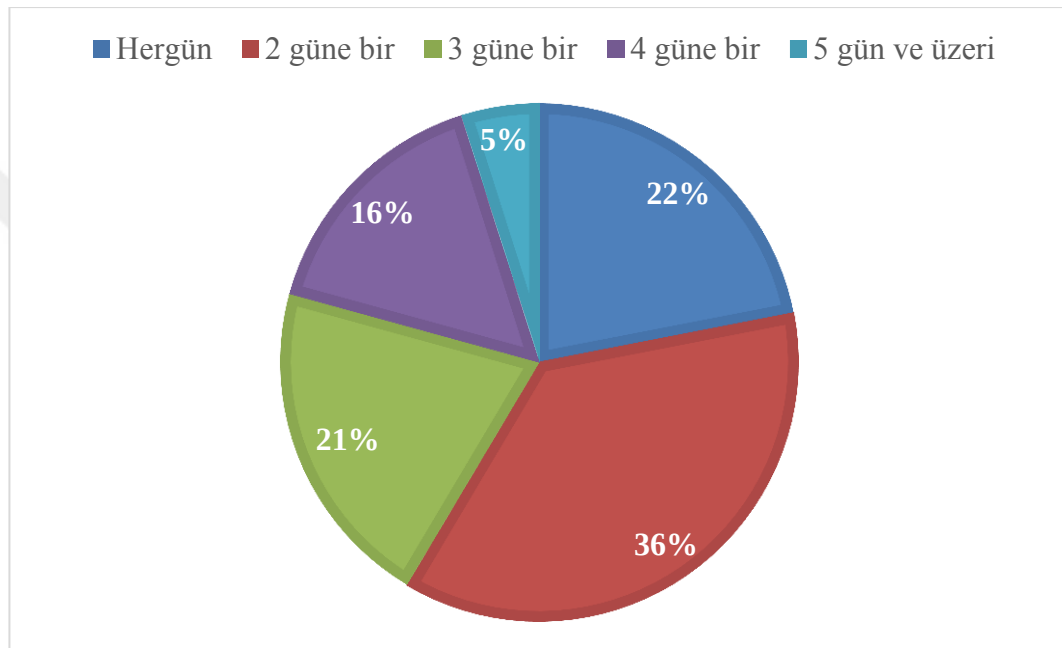
Şekil 3.1.9. Üreticilerin seraya giriş zamanı

Üretim alanında hastalıklı bitki olduğunda diğer sağlıklı bitkilere de bulaşma riski bulunmaktadır. Bu bulaşma, genellikle su, böcekler, insan faaliyeti ve çevre faktörlerinin etkisiyle gerçekleşir. Anket yapılan üreticilere üretim alanında hastalıklı bitki görüldüğünde ne gibi önlemler alıyorsunuz sorusu sorulmuştur. Çiftçilerin verdikleri cevaplar incelendiğinde hastalık önlemi olarak %56'sı kimyasal ilaç kullandığını, %29'u hastalıklı bitki örneğini imha ettiğini ve %15'i ise hastalıklı bitki kısımlarını budadığını ifade etmiştir (Şekil 3.1.10).



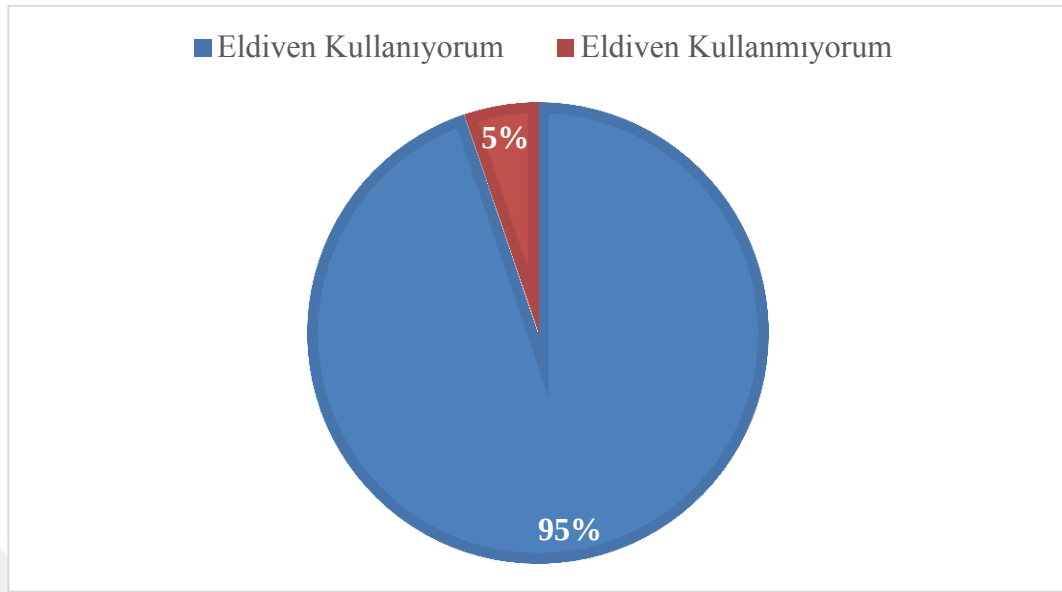
Şekil 3.1.10. Üreticilerin serada hastalıklı bitki gördüklerinde almış oldukları önlemler

Üreticiler sera içerisinde çalışırken hastalıkların yayılmasına aracılık etmektedir. Özellikle fungal sporlar ve bakteriyel etmenler insanların kıyafetine yapışarak hastalığın henüz var olmadığı alanlara yayılabilmektedir. Bu amaçla anket çalışmasında üreticilere serada çalışma kıyafetlerini hangi sıklıkla değiştiriyorsunuz sorusu sorulmuştur. Alınan cevaplar incelendiğinde üreticilerin %36'sı 2 güne 1 çalışma kıyafetlerini değiştirirken, %22'si her gün değiştirmektedir (Şekil 3.1.11).



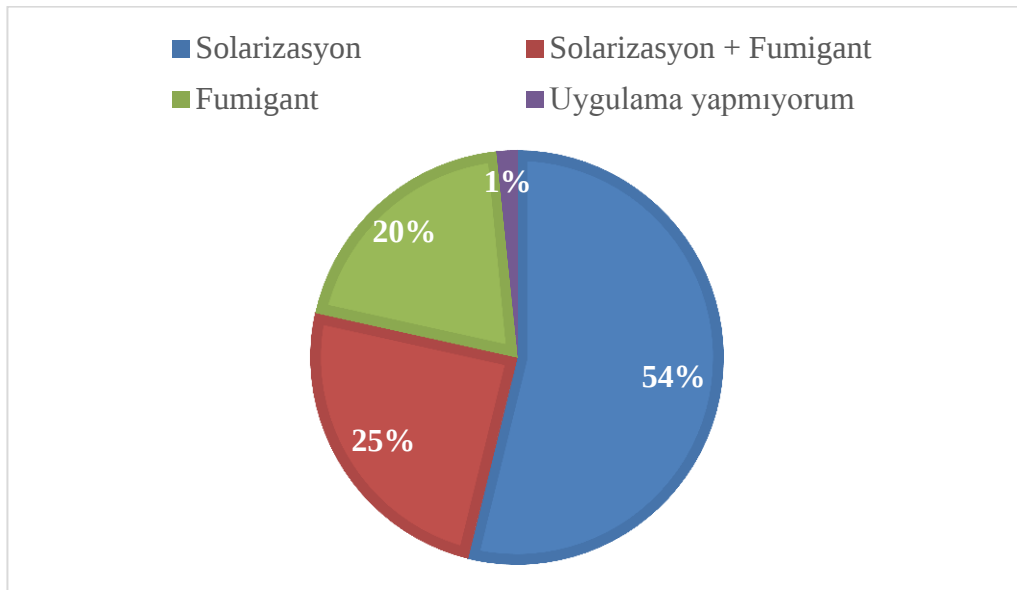
Şekil 3.1.11. Üreticilerin iş kıyafetlerini değiştirme sıklıkları

Hastalıkların yayılmasını engellemek için kültürel işlemler sırasında alınan önlemler bulaşma riskini azaltmaya yardımcı olur. Bu amaçla üreticilere kültürel işlemler sırasında eldiven kullanıyor musunuz sorusu sorulmuştur. Üreticilerin e %95'i kültürel işlemler sırasında eldiven kullanmaktadır (Şekil 3.1.12).



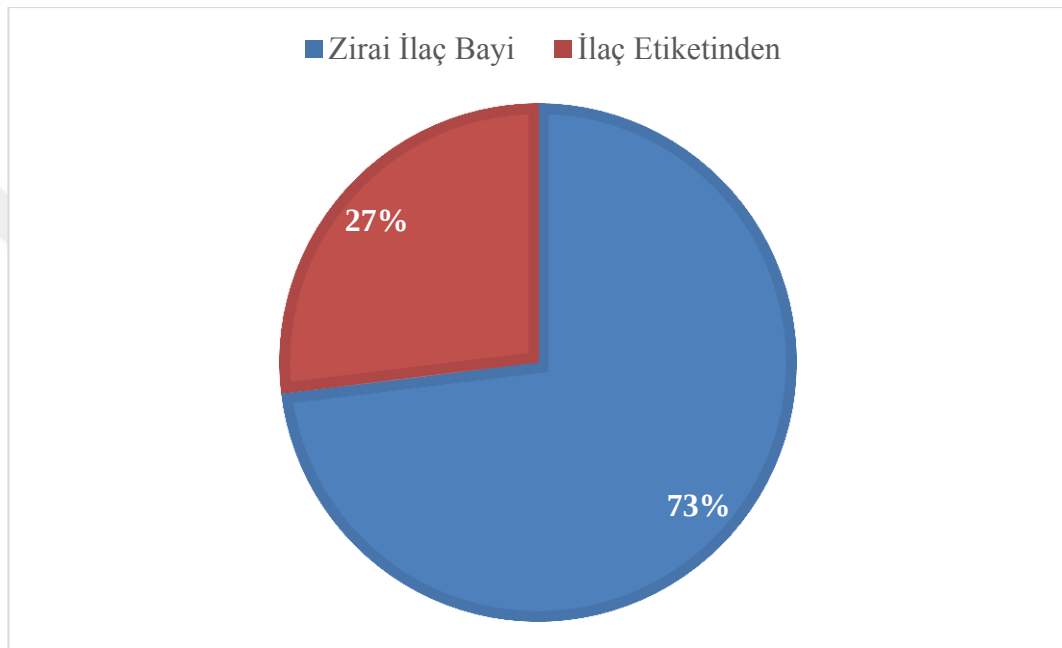
Şekil 3.1.12. Üreticilerin kültürel işlemlerde eldiven kullanma durumları

Bazı bitki hastalık etmenleri çeşitli formlarda toprakta yaşamını devam ettirebilmektedir. Bu yüzden toprak kökenli hastalıklar için toprağın dezenfekte edilmesi önemlidir. Toprak dezenfeksiyonu yapılmadığında toprakta kalan hastalık etmenleri bir sonraki üretim sezonuna taşınmaktadır. Bu amaçla üreticilere toprak dezenfeksiyonu için ne tür işlemler yaptıkları sorulmuştur. Üreticilerin vermiş oldukları cevaplar incelendiğinde %54'ü sadece solarizasyon, %25'i solarizasyon+ fumigant, %20'si sadece fumigant uygulamakta, %1'i ise hiçbir uygulama yapmamaktadır (Şekil 3.1.13).



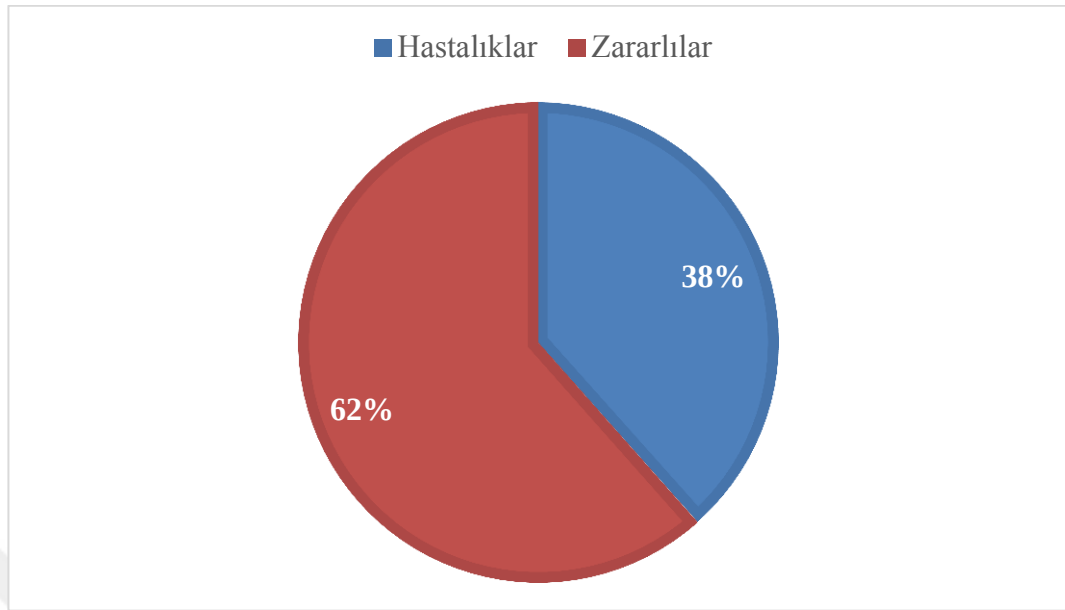
Şekil 3.1.13. Üreticilerin toprak dezenfeksiyonu için yapmış oldukları uygulamalar

Bitkilere uygulama yapılan koruma ve tedavi edici ilaçların seçimi ve dozu önemlidir. İlaç seçimi ve dozunun uygun olmaması ilaçtan beklenen etkinin yetersiz olmasına, dolayısıyla üreticilere ekonomik kayıp, fazla iş gücü, fitotoksite ve çevre kirliliğine neden olmaktadır. Bu nedenle üreticilere ilaç ve uygulama doz önerisini kimden aldıkları sorulmuştur. Alınan cevaplar incelendiğinde ilaç ve doz önerisini üreticilerin %73'ü Ziraî ilaç bayisinden, %27'si ilaç etiketinden almaktadır (Şekil 3.1.14).



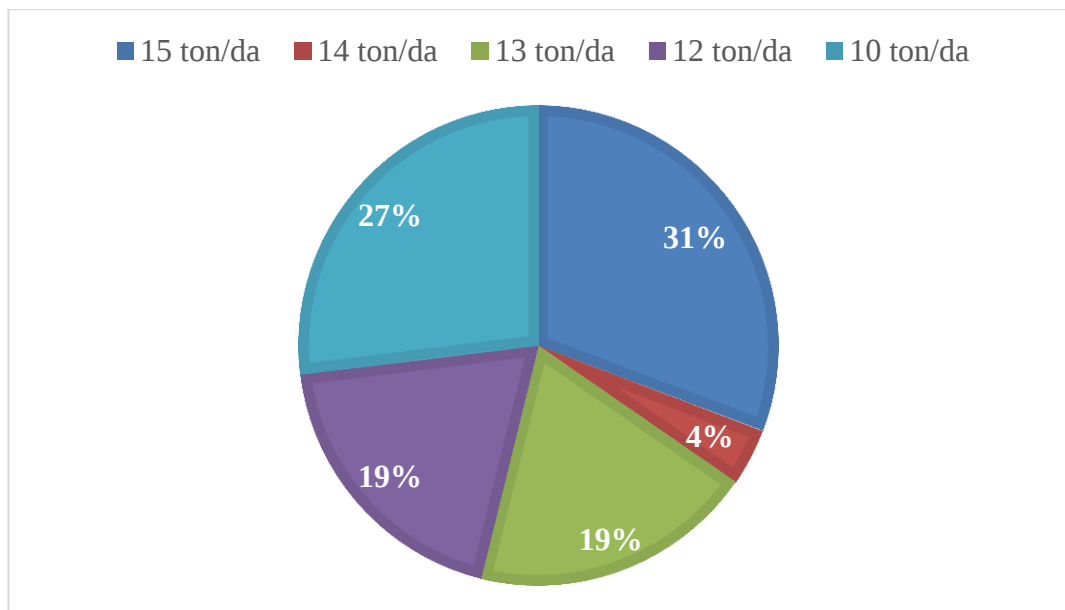
Şekil 3.1.14. Üreticilerin ilaç ve doz önerisi aldıkları kişiler

Domates üretiminde hastalıklar, zararlılar ve yabancı otlar önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Üreticilere domates yetiştiriciliği sırasında bitki koruma açısından karşılaştıkları en önemli problemin ne olduğu sorulmuş, üreticilerin %62'si zararlılar, %38'i hastalıklar cevabını vermiştir (Şekil 3.1.15).



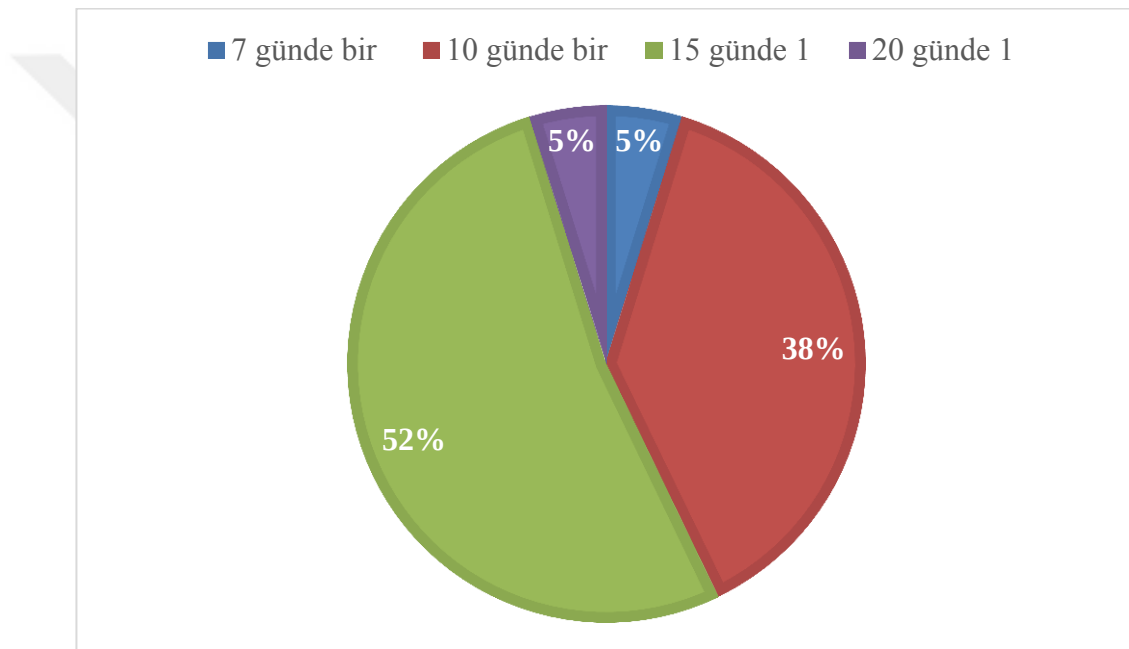
Şekil 3.1.15. Çiftçilerin karşılaştığı bitki koruma problemleri

Silifke ilçesinde üreticilerin küçük işletmeler şeklinde üretim yaptıkları görülmektedir. Bu yüzden küçük alanlardan yüksek verim almak ekonomik açıdan önemlidir. Anketimizde üreticilere dekara ne kadar verim alıyorsunuz sorusu sorulmuştur. Alınan cevaplar incelendiğinde dekara 10 -15 ton arasında verim aldıkları görülmüştür. Üreticilerin %31'i en yüksek verim oranı ile dekara 15 ton verim almaktadır (Şekil 3.1.16).



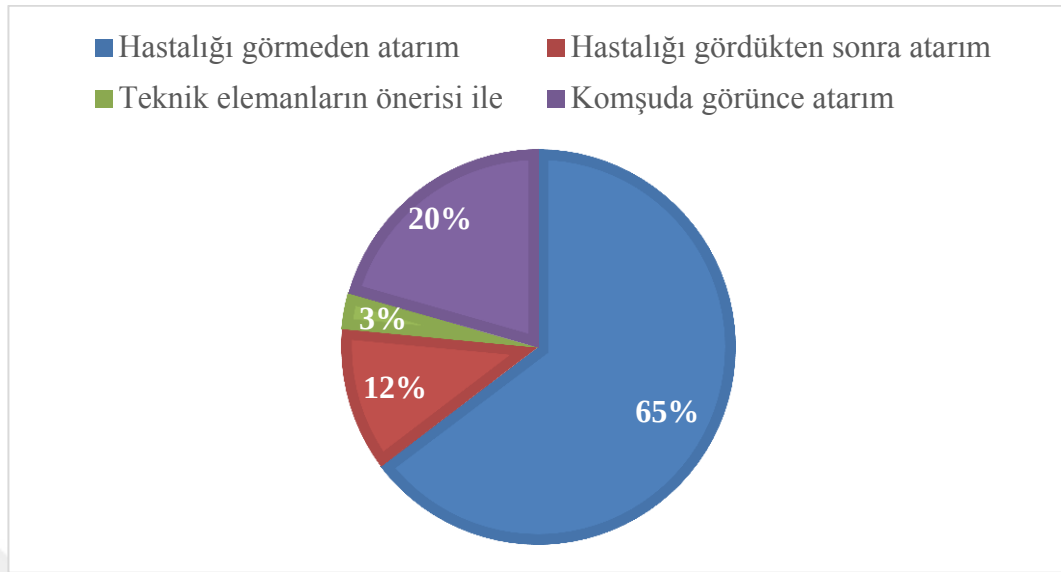
Şekil 3.1.16. Üreticilerin dekara aldıkları verim miktarı

Bakteriyel hastalıklar ile kimyasal mücadelede sadece bakır içerikli preparatlar kullanılmaktadır. Bu amaçla anket yapılan üreticilere bakır içerikli preparatları ne sıklıkla kullanıyorsunuz sorusu sorulmuştur. Üreticilerin vermiş olduğu cevaplar incelendiğinde üreticilerin %52'si 15 güne bir, %38'i 10 güne bir, %5'i 7 güne bir, %5'i 20 güne bir bitkilere bakırlı bileşikleri uyguladığını ifade etmiştir. Üreticiler bakırlı ilaçların domates bitkisinin gelişimini durdurduğunu, meyve üzerinde kalıntı bıraktığını ve çiçeklerin dökülmesine neden olduğunu düşündükleri için ilaçlamayı genellikle bitkinin çiçeklenme dönemine kadar yaptıklarını ifade etmişlerdir (Şekil 3.1.17).



Şekil 3.1.17. Üreticilerin bakır içerikli preparatları kullanma sıklıkları

Anket yapılan üreticilere kimyasal ilaçları hangi dönemde uyguluyorsunuz sorusu sorulmuştur. Üreticilerin %65 gibi büyük bir çoğunluğu hastalığı görmeden önce, %20'si komşuda görünce, %12'si hastalığı gördükten sonra ve %3'ü ise teknik eleman önerisi ile kimyasal ilaçları bitkiye uyguladığını ifade etmiştir (Şekil 3.1.18).

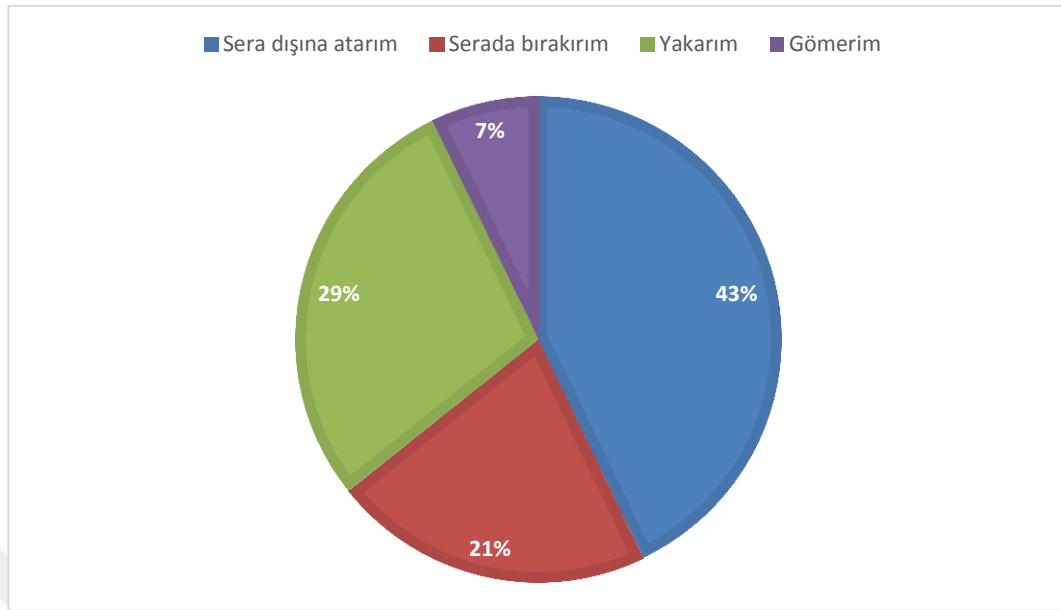


Şekil 3.1.18. Üreticilerin kimyasal ilaçları bitkiye uyguladıkları dönemler

Hastalıkla bulaşık bitki artıkları en önemli inokulum kaynaklarıdır. Hastalıklı bitki artıkları sera içerisinde veya seraya yakın alanlarda bırakılmamalıdır. Sera içerisinde sanitasyon işlemlerine özen gösterilmelidir. Bu amaçla üreticilere bitki artıklarını nasıl yok ettikleri sorulmuştur. Üreticilerin vermiş oldukları cevaplar incelendiğinde üreticilerin %43'ünün sera dışına attığı (Şekil 3.1.19b), %29'unun yaktığı, %21'inin serada bıraktığı (Şekil 3.1.19a), %7'sinin ise gömdükleri gözlenmiştir (Şekil 3.1.20). Bazı üreticilerin sezon sonunda bitki artıklarını iyice parçalayıp sera içerisinde yeşil gübre olarak solarizasyon için serilen örtünün altında bıraktıkları görülmüştür.

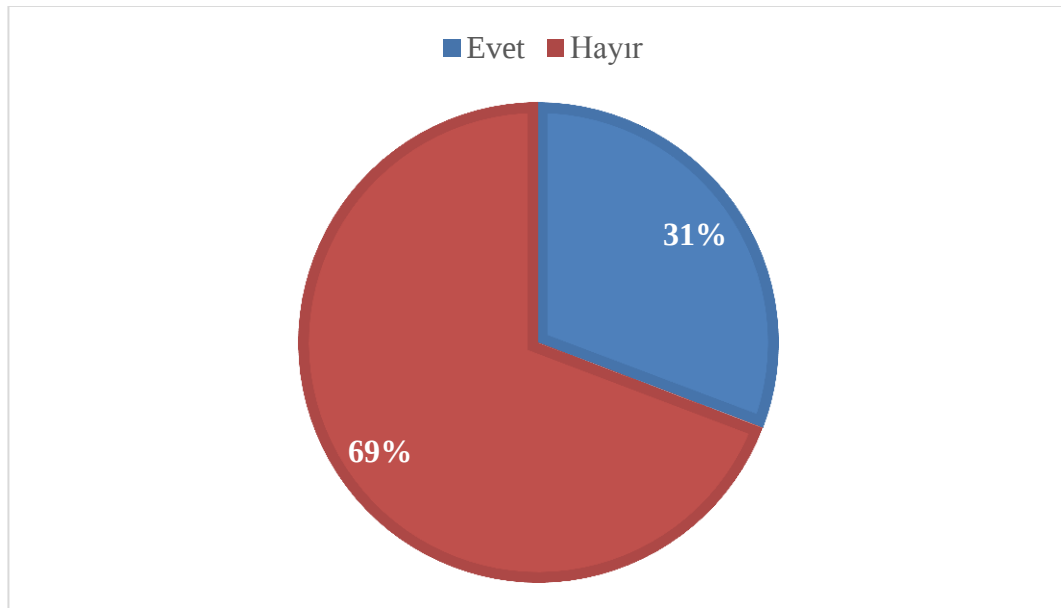


Şekil 3.1.19. Üreticilerin bitki artıklarını sera içine (a) ve dışına (b) attıkları yerler



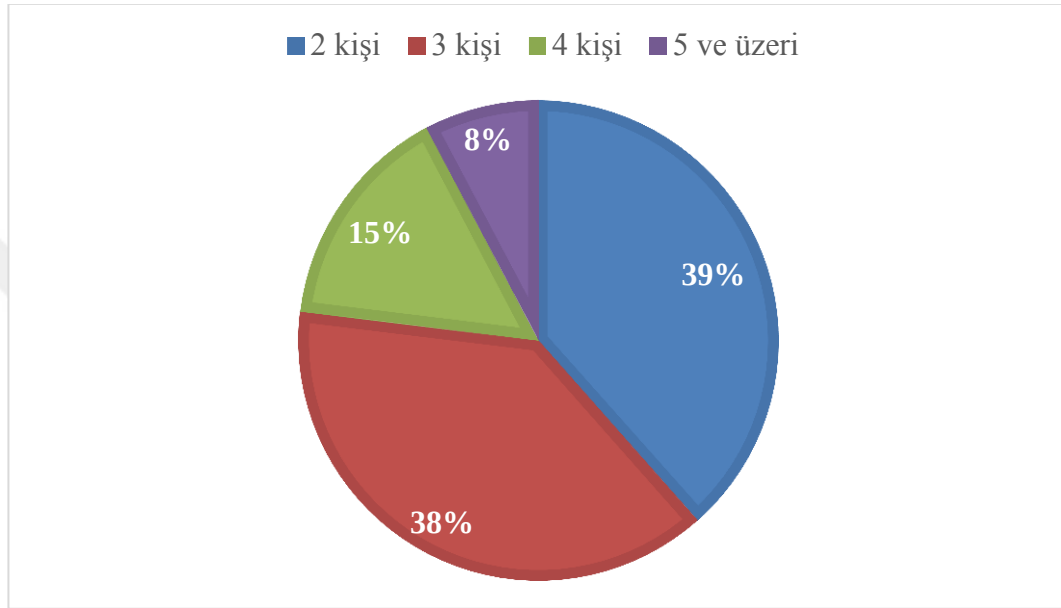
Şekil 3.1.20. Üreticilerin bitki artıklarını değerlendirme şekli

Bakteriyel hastalıkların taşınmasında kültürel işlemler sırasında kullanılan aletler önemli bir paya sahiptir. Bu nedenle ankete katılan üreticilere kültürel işlemler sırasında budama makası kullanıp kullanmadıkları sorusu sorulmuştur. Üreticilerin vermiş oldukları cevaplar incelendiğinde %69'u budama makası kullanmazken, %31'i budama makası kullanmaktadır (Şekil 3.1.21).



Şekil 3.1.21. Üreticilerin budama makası kullanıp kullanmama durumu

İnsanlar bitki hastalıklarının taşınmasında en önemli faktörlerdendir. Bu amaçla üreticilere serada çalışan insan sayısı sorulmuştur. Üreticilerin verdiği cevaplar incelendiğinde %39'u 2 kişi, %38'i 3 kişi, %15'i 4 kişi ve %8'i 5 ve üzeri kişi çalışmaktadır (Şekil 3.1.22). İlçe de seracılık faaliyetleri genellikle küçük aile işletmesi şeklinde yapılmaktadır. O yüzden fazla işçi gereksinimi duymamaktadırlar.



Şekil 3.1.22. Seralarda çalışan insan sayısı

3.2. Domates Seralarında Bakteriyel Hastalıkların Survey Sonuçları

Tez çalışması kapsamında Mersin İli Silifke ilçesinde (Atayurt, Atakent, Arkum, Sökün, Kurtuluş, Çeltikçi, Çayır, Narlıkuyu mahallelerinde) domates üretimi yapılan 130 sera beş farklı tarihte incelendiğinde, ilk sera incelemesi olan 15-22.01.2019 tarihlerinde 15 adet serada herhangi bir bakteriyel hastalığa rastlanmamıştır. İkinci sera incelemesi 19-26.02.2019 tarihleri arasında 25 serada yapılmış ve bu seralardan 10 tanesinde bakteriyel hastalıklar tespit edilmiştir. Bu hastalıklı seralarda, sera içi hastalık oranı yaprak lekesi %5-20, bakteriyel kanser ve solgunluk %1 olarak tespit edilmiştir. Üçüncü sera incelemeleri olan 18-25.03.2019 tarihlerinde 32 sera incelenmiş ve 12 tanesinde bakteriyel hastaklara rastlanmıştır. Bu hastalıklı seralarda sera içi hastalık oranı yaprak lekesi %10-100 ve gövde çürüklüğü %3 olarak tespit edilmiştir. Dördüncü sera incelemeleri 10-18.05.2019 tarihleri arasında 48 serada yapılmış ve seralardan 7 tanesinde bakteriyel hastalığa rastlanmıştır. Bu hastalıklı seralarda sera içi hastalık oranı

yaprak lekesi %5-90 ve gövde çürüklüğü %2 olarak tespit edilmiştir. Beşinci sera incelemeleri 01-14.02.2020 tarihleri arasında 10 serada yapılmış ve 2 tanesinde bakteriyel hastalığa rastlanmıştır. Bu hastalıklı seralarda sera içi hastalık oranı yaprak lekesi %3-84, bakteriyel kanser ve solgunluk %2 ve öz nekrozu hastalığı %1 olarak tespit edilmiştir. Surveyi gerçekleştirilen 130 farklı seranın 31 tanesinde (%23.85) bakteriyel hastalıklar gözlenmiştir (Tablo 7).

Tablo 7. Survey bilgileri ve seralarda hastalık bulunma oranları

No	Survey Tarihi	İncelenen Sera Adedi	Hastalıklı Sera Adedi	Bulunan Hastalıklar	Hastalığın serada bulunma oranı (%)
1	15-22.01.2019	15	0	-	0
2	19-26.02.2019	25	10	Yaprak lekesi Bakteriyel Kanser ve solgunluk	5-20 1
3	18-25.03.2019	32	12	Yaprak lekesi Gövde çürüklüğü	10-100 3
4	10-18.05.2019	48	7	Yaprak lekesi Gövde çürüklüğü	5-90 2
5	01-14.02.2020	10	2	Yaprak lekesi Bakteriyel Kanser ve solgunluk Öz nekrozu	3-84 2 1
Toplam		130	31		



Şekil 3.2.1. Yaprak leke etmenleriyle bulaşık bir seradan görünüm

İncelenen seralarda yapraklarda sararma, kahverengileşme (Şekil 3.2.1), bitkide genel solgunluk, gövdede yumuşama (Şekil 3.2.2a), öz kısmında nekrozlar (Şekil 3.2.2b) ve iletim demetinde renk değişimi (Şekil 3.2.2c) gibi hastalık belirtileri tespit edilmiştir. Hastalıklı 39 farklı seradan alınan bitki örneklerinden, bakteriyolojik yöntemlere göre King B besi yerine yapılan izolasyonlar sonucuna göre 317 tane farklı tip ve renkte koloni yapısına sahip bakteri izolatları saflaştırılmıştır (Tablo 8). İzole edilen izolatlar YDCA besi yerine alınarak +4 °C’ de ileri çalışmalarda kullanılmak üzere saklanmıştır.



Şekil 3.2.2. Gövdede yumuşama (a), özde nekroz (b) ve iletim demetinde renklenme (c)

Tablo 8. İzolasyon yapılan bitki kısımları alındıkları yerler ve izolat sayısı

Mahalle	İzolasyon Yapılan Bitki Parçası			Toplam İzolat Sayısı
	Yaprak	Gövde	Çiçek Sapı	
Kurtuluş	22	16	-	38
Sökün	-	5	-	5
Atakent	21	64	5	90
Atayurt	25	120	-	145
Çayır	7	7	-	14
Çeltikçi	4	4	-	8
Arkum	3	11	-	14
Narlıkuyu	-	3	-	3
Toplam	82	230	5	317

3.3. Hastalık Etmenlerinin Patojenite Testi ve Re-İzolatların Eldesi

Hastalıklı bitkilerden elde edilen 317 adet izolat içerisinde renk ve koloni tipine göre seçilen 109 farklı izolat ile patojenite çalışması yapıldığında, 109 adet bakteri izolatının patojen olduğu belirlenmiştir.

3.3.1. Yaprak ve çiçeklerden izole edilen bakterilerin patojenite sonuçları

Yaprak lekesi ve çiçek yanıklığı belirtisinden izole edilen 76 adet izolat, domates yaprağına püskürtüldüğünde 10-14 gün sonra yapraklarda kloroz ve nekroz içeren yaprak lekeleri (Şekil 3.3.1) tespit edilmiştir.



Şekil 3.3.1 Domates yapraklarında Pst'nin neden olduğu kloroz ve nekrozlar

3.3.2. Bitkide genel solgunluk ve iletim demetinde renk değişiminden izole edilen bakterilerin patojenite sonuçları

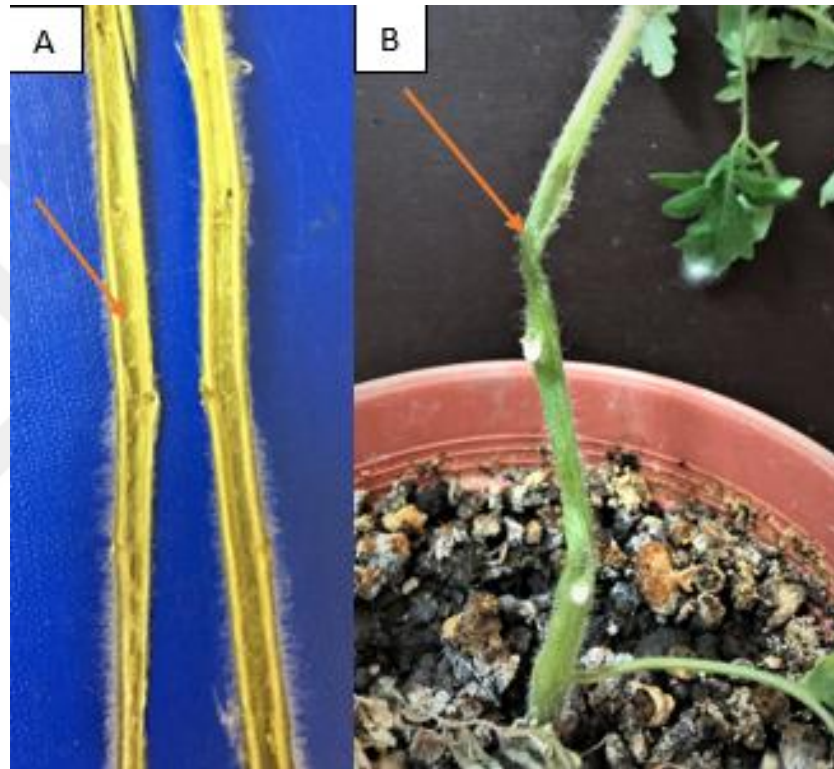
Bitkide tek taraflı solgunluk, gövde ve iletim demetinde renk değişimi belirtisi gösteren bitkilerden izole edilen 5 adet izolat, domates gövdesine steril enjektör yardımıyla inokule edildiğinde 15-20 gün sonra bitkide solgunluk ve iletim demetinde renk değişimi belirtileri gözlenmiştir.



Şekil 3.3.2. Domates bitkilerinde genel solgunluk (a) ve iletim demetinde nekroz (b)

3.3.3. Gövde çürüklüğünden izole edilen bakterilerin patojenite test sonuçları

Gövdede oluşan çürüklük belirtilerinden izole edilen 6 adet izolat domates bitkisinin gövdesine tek bir noktadan steril enjektör yardımıyla inokule edildiğinde 3-7 gün sonra bitkide genel solgunluk, öz kısmının tamamen boşalması (Şekil 3.3.3.1a), gövdenin dış yüzeyinde su emmiş ve grimsi yeşil renkte lekeler (Şekil 3.3.3.1b) şeklinde belirtiler gözlenmiştir.



3.3.4. Gövde ve Öz Nekrozu Belirtisi Gösteren Bitkilerden İzole Edilen Bakterilerin Patojenite Test Sonuçları

Yapraklarda sararma, bitki boyuna kesildiğinde özde nekroz, gövde üzerinde düzensiz koyu kahverengi nekrotik alanların olduğu bitkilerden izole edilen 22 adet izolat domates bitkisinin gövdesine tek bir noktadan steril enjektör yardımıyla inokule edildiğinde 15-20 gün sonra bitki boyuna kesildiğinde öz kısmında nekrozlar (Şekil 3.3.4.1a,b) ve gövde üzerinde düzensiz koyu kahverengi lekelerin (Şekil 3.3.4.2) olduğu gözlenmiştir.



Şekil 3.3.4.1. *Stenotrophomonas rhizophila* (a) ve *Stenotrophomonas maltophila* ve *Paenibacillus amylolyticus* (b)'un neden olduğu özde nekrozlar



Şekil 3.3.4.2. *Microbacterium* sp.'nin gövde üzerinde oluşturduğu düzensiz koyu kahverengi lekeler

Patojenite testi tamamlanan 109 adet bakteriyel izolatın tümü domates bitkilerini hastalandırarak, inokule edildikleri bitki kısımlarda beklenen hastalık belirtilerini göstermiş ve domates bitkisinde patojen oldukları tespit edilmiştir. Hastalık belirtisi gözlenen yaprak, gövde, öz kısmı ve iletim demetlerinden yeniden izolasyonlar gerçekleştirilmiş ve her bakteri için dört adet re-izolat olmak üzere 436 adet bakteri izolatu saflaştırılmıştır. Patojenite çalışmalarında elde edilen re-izolatlar ile tanı çalışmalarına geçilmiştir.

3.4. Patojen Bakteri İzolatlarının Fizyolojik ve Biyokimyasal Test Sonuçları

3.4.1. Potasyum Hidroksit Testi (KOH)

Bu çalışma bakterilerin hücre duvarları arasındaki farklılığı belirlemek amacıyla yapılmış ve 109 re-izolatın 105'inin gram negatif, 4 izolatın ise gram pozitif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.4.1a).

3.4.2. Levan Oluşumu

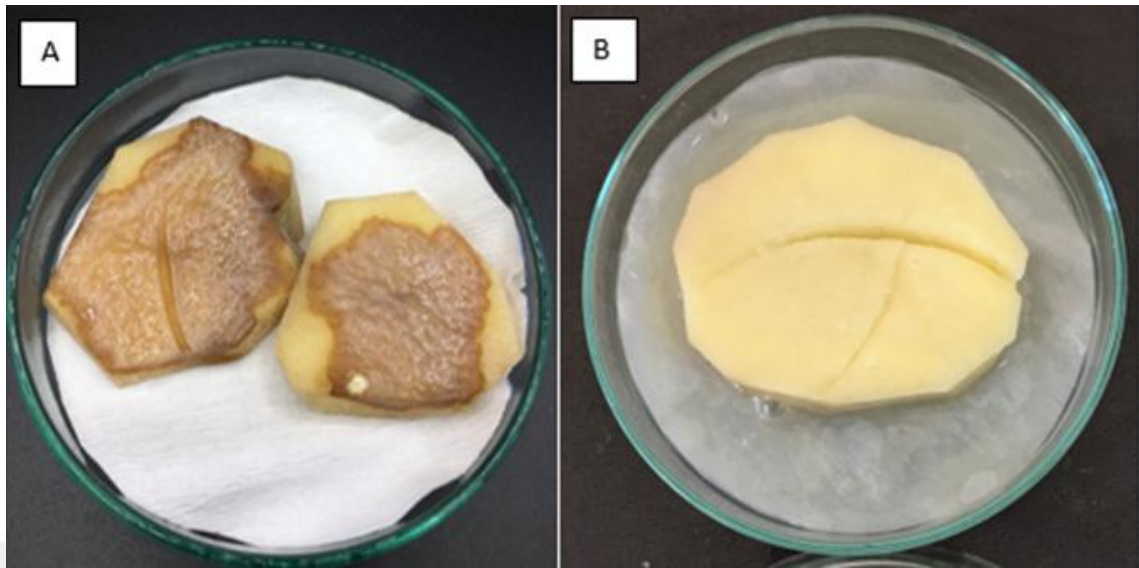
SNA besiyerine çizilen bakterilerin sükrozu kullanması sonucunda petride mukoid ve kubbemsi şekilde gelişen koloniler incelenmiş ve 109 izolatın 84 tanesi levan tipte koloniler üretirken 27 tanesi levan negatif koloni yapısına sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.4.1b).

3.4.3. Oksidaz Testi

Bu test sitokrom oksidaz enzimini üreten bakterileri ayırt etmek için yapılmış ve çalışma sonucunda 24 adet patojen bakteri izolatu oksidaz pozitif iken 87 bakteri izolatu oksidaz testine negatif reaksiyon oluşturmuştur (Şekil 3.4.1c).

3.4.4. Pektolitik Aktivite Testi

Bu test yumuşak çürüklük simptomsu gösteren bitkilerden izole edilen bakterilere yapılmış ve 109 izolattan 3 tanesi patates dilimlerinde yumuşak ve kahverengi çürüklük oluştururken (Şekil 3.4.4.1a), 5 tanesi de patates dilimlerinde yumuşak çürüklük ve kötü koku oluşturarak (Şekil 3.4.4.1b) pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.4.4. Yumuşak ve kahverengi çürüklük (a), yumuşak çürüklük (b)

3.4.5. Arginin Dehidrolaz Testi

Patojenite çalışması sonucunda elde edilen 109 adet re-izolata bu test yapılmış ve sadece 1 tane izolat pozitif sonuç vermiştir (Şekil 3.4.1d).

3.4.6. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Reaction=HR) testi

Patojen olduğu bilinen 107 farklı re-izolat tütün (*Nicotiana tabacum*) bitkisinin yapraklarının iki epidermis tabakasının arasına steril enjektör yardımı ile enjekte edildiğinde, izolatların 99 tanesi pozitif sonuç vermiştir (Şekil 3.4.1e).

3.4.7. Akşam Sefasında (*Mirabilis jalapa*) HR Testi

Domateste patojen *Cmm* izolatları akşam sefası (*Mirabilis jalapa*) bitkisinin yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturmaktadır. *Cmm* olabileceğini düşündüğümüz 6 farklı izolat *Mirabilis jalapa* bitkisine enjekte edilmiş ve inkübasyon süresinde tüm izolatlar akşam sefası bitkisinin yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonu göstererek pozitif sonuç vermiştir (Şekil 3.4.1f).

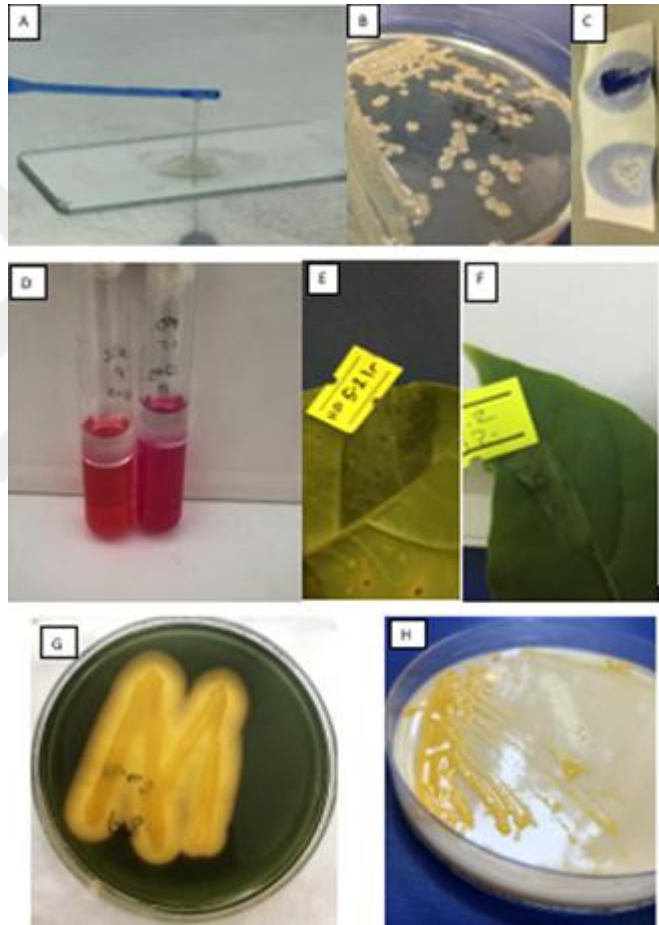
3.4.8. Nişastanın Hidrolizi

Bu test bakterilerde nişasta molekülünü parçalamada görev yapan amilaz enziminin var olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılmış ve 18 izolat ile yapılan çalışmada 10

izolatın nişasta hidrolizi negatif iken 8 izolat pozitif reaksiyon göstermiştir (Şekil 3.4.1g).

3.4.9. İndol Üretimi

Bu test yumuşak çürüklük etmenleri *Pcc*, *Pca* ve *Dch* ayırt etmek için yapılmıştır. Pektolitik aktivite sonucu pozitif olan 6 farklı izolatın hiçbirinin indol üretmediği görülmüştür.



Şekil 3.4.1.a. KOH, b. levan testi, c. oksidaz testi, d. arginin dehidrolaz testi, e. tütünde HR testi, f. akşam sefasında HR testi, g. nişastanın hidrolizi testi

Mersin ilinin Silifke İlçesinde örtü altında domates üretimi yapılan alanlardan toplanan örneklerden izole edilen patojen bakterilerin tanısında kullanılan fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçları Tablo 9’da verilmiştir. İzole edilen 76 adet *Pst* izolatu gram negatif özellikte, LOPAT testlerinden SNA besiyerinde levan tipte koloni gelişimi ve tütünde HR testi pozitif sonucunu vermiş ve tüm isolatlar LOPAT 1a (+---+) grubunda

yer almışlardır. 5 adet *Cmm* izolatu gram pozitif özellik göstermiş ve akşam sefası bitkisinde aşırı duyarlılık reaksiyonu pozitif olmuştur. Yumuşak çürüklüğe neden olan *Pcc* ve *Paenibacillus* spp. etmenleri ise gram negatif özellikte, LOPAT testlerinden pektolitik aktivite ve tütünde HR testleri pozitif (--+++) sonuç vermiştir (Tablo 11). Bu bakterilerin indol üretemediği de görülmüştür. Ayrıca yumuşak çürüklük etmenlerinden *Pectobacterium* spp. 27°C ve 33,5°C’de gelişmiş, 37°C ve 39°C de gelişim göstermemiştir. Klasik testler sonucunda 22 adet izolat farklı reaksiyonlar göstermiştir (Tablo 9).

Tablo 9. Çalışmada testlenen izolatların fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçları

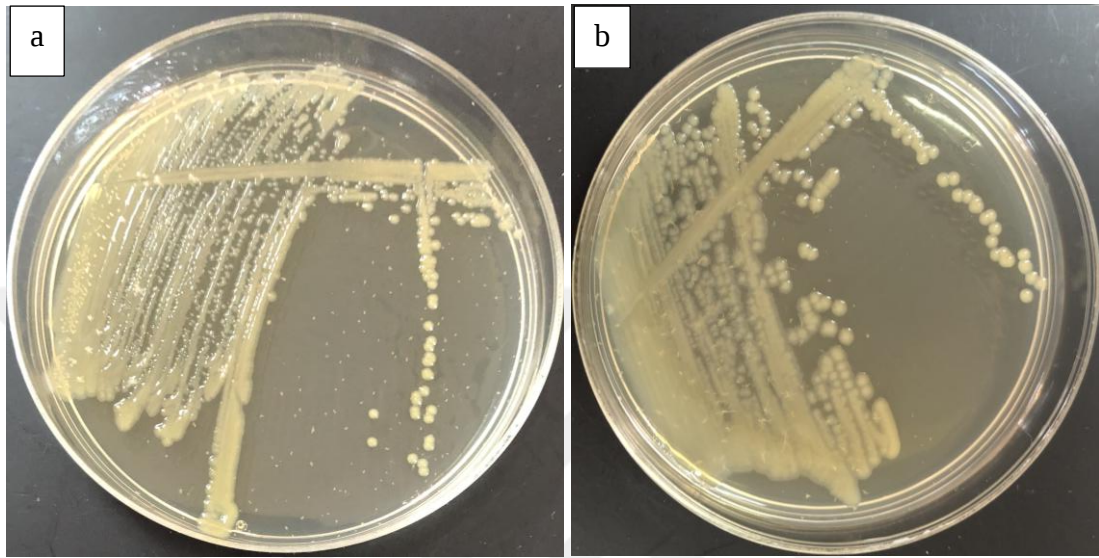
Testler	<i>Pst</i> (76 adet)	<i>P. corrugata</i> (1 adet)	<i>Pcc</i> (5 adet)	<i>Cmm</i> (5 adet)	Diğer (22 adet)
Gram	-	-	-	+	-
Levan	+	+	-	-	-
Oksidaz	-	+	-	-	D
Patateste Pektolitik Aktivite	-	-	+	-	D
Arginin Dehidrolaz	-	+	-	-	-
Tütün HR	+	+	+		D
İndol Üretimi	-	-	-	-	-
<i>Mirabilis jalapa</i> HR	-	-	-	+	D
Nişastanın Hidrolizi	-	-	-		D

+: pozitif reaksiyon; -: negatif reaksiyon; D: değişken reaksiyon gösteren bakteri izolatları

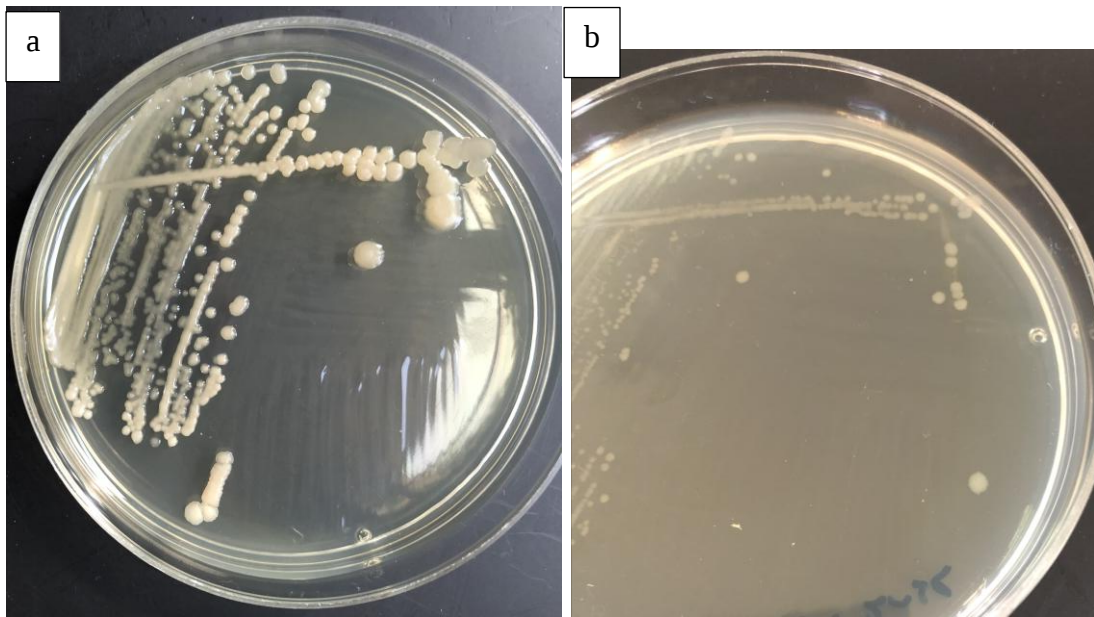
3.5. King B ve YDCA Besi Yerinde Bakterilerin Koloni Morfolojisi

King B besiyeri üzerine çizilen patojenler renk ve koloni morfolojisi bakımından incelenmiştir. Yaprak ve çiçek lekelerinden elde edilen *Pst*’nin krem renkte ve sanki rüzgarla savrulmuş gibi bir koloni yapısı olduğu görülmüştür. İletim demetinden ve özde nekrozlardan izole edilen *Cmm* sarı renkte ve *Stenotrophomonas* spp. krem-sarı, mukoid özellikte gelişmiştir (Şekil 3.5.1). Yumuşak çürüklük etmenleri *Pcc* ve *Paenibacillus polymyxa* (Şekil 3.5.2a) ile öz nekrozuna yol açan *Paenibacillus amylolyticus* (Şekil 3.5.2b) ise krem renkli koloniler görülmüştür. *Microbacterium*

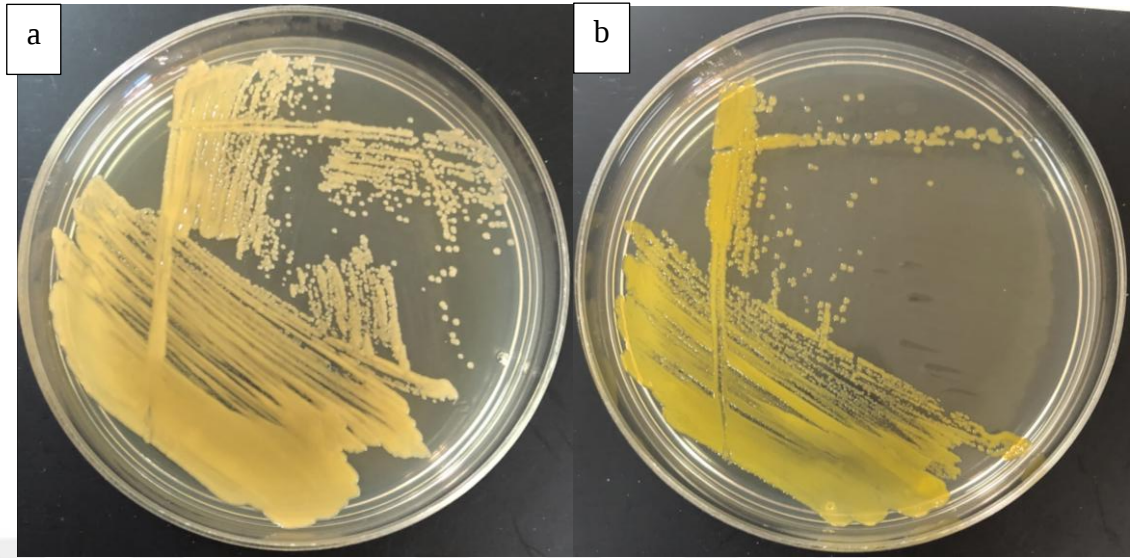
arborescens ve *Arthrobacter sulfonivorans* KB besiyerinde iki farklı sarı tonunda gelişmiştir (Şekil 3.5.3). YDCA besiyerine *Cmm* olduğunu düşündüğümüz izolatlar ile ve sarı ve mukoid gelişim gösteren 18 tane bakteri izolatı üç çizgi yöntemi ile çizildiğinde, izolatlardan 13 tanesi sarı renkli ve mukoid yapıda gelişmiştir.



Şekil 3.5.1 *Stenotrophomonas rhizophila* (a) *Stenotrophomonas maltophila* (b)



Şekil 3.5.2. *Paenibacillus polymxa* (a) ve *Paenibacillus amylolyticus* (b) gelişimi

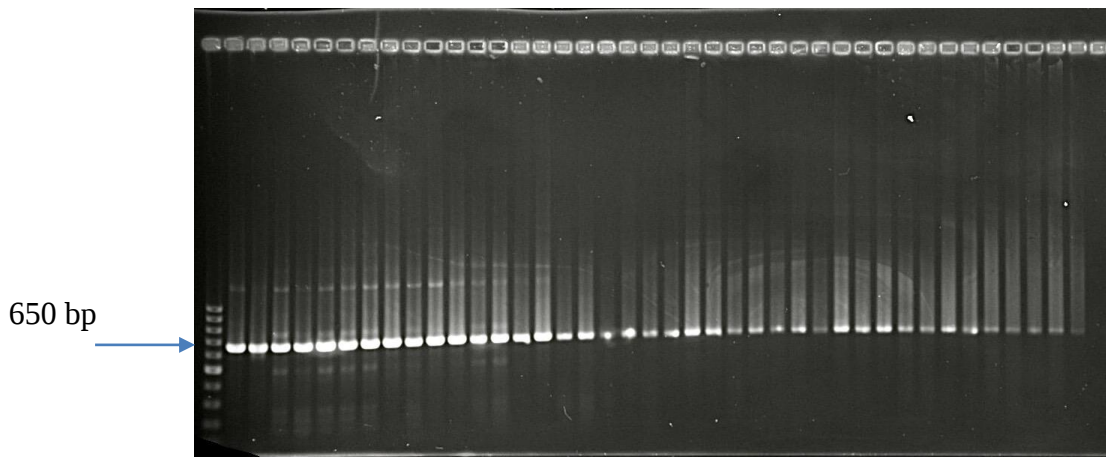


Şekil 3.5.3. *Microbacterium arborescens* (a) ve *Arthrobacter sulfonivorans* (b)

3.6. Patojen Bakterilerin Tanısının Türe Spesifik PCR ile Desteklenmesi

3.6.1. *Pst*'nin PCR ile tanısı

Geleneksel tanı yöntemleri sonucunda 76 adet re-izolat *Pst* olarak tanılanmıştır. Tanılanan bu re-izolatlardan hastalıklı bitki örnekleri alınan seraları, survey yapılan alanları, yetiştirilen domates çeşitlerini temsil edecek şekilde 40 adet re-izolat seçilerek koronatin toksini üreten gen bölgesini kodlayan primerler kullanılarak türe spesifik PCR çalışması yapılmış ve tüm izolatlar agaroz jel üzerinde 650 bp büyüklüğünde bantlar oluştuğu saptanmıştır (Şekil 3.6.1). Böylece 76 izolatın *Pst* olduğu PCR testiyle de kanıtlanmıştır.



Şekil 3.6.1. Agaroz jelde 650 bp bant oluşumu

3.6.2. *Cmm*'in PCR ile tanısı

Geleneksel tanı test sonuçlarına göre 5 re-izolat *Cmm* olarak tanılanmıştır. *Pat*-1 bölgesini kodlayan primerler ile yapılan PCR çalışması sonucunda tüm izolatlar agaroz jelde 614 bp büyüklüğünde bantlar oluşturmuş ve tümünün *Cmm* olduğu PCR testiyle de teyit edilmiştir.

3.6.3. *Pcc*'un PCR ile tanısı

Geleneksel tanı yöntemleri sonucunda 5 adet re-izolat *Pcc* olarak tanılanmış ve tanının desteklenmesi amacıyla pektolitik enzim üreten bakterilerin *pel* gen bölgesini kodlayan primerler ile yapılan PCR çalışmasında tüm izolatlar 434 bp büyüklüğünde bantlar oluşturmuştur.

3.7. MALDI TOF MS İle Bakteri İzolatlarının Tanı Test Sonuçları

İzolasyon yapılan bitkilerde gövdede (Şekil 3.7.1a) ve özde nekrozlar (Şekil 3.7.1b) iletim demetinde renklenme (Şekil 3.7.1c) olan kısımlardan alınan bakteri izolatlarının tanısını desteklemek için MALDI-TOF MS yönteminden yararlanılmıştır. Bu nedenle patojenite, morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlerle cins/tür düzeyinde tanısı yapılamayan 20 adet izolat MALDI-TOF MS ile tanılanmıştır. En yüksek benzerlik oranlarına göre 8 izolat *Stenotrophomonas rhizophila* (1.62-1.92) (Şekil , 8 izolat *Stenotrophomonas maltophila* (≥ 1.50 -2.30), 1 izolat *Microbacterium arborescens* (1.84), 1 izolat *Arthrobacter sulfonivorans* (1.36), 2 izolat *Paenibacillus amylolyticus* (≥ 2.00), 1 izolat *Paenibacillus polymxa* (2.00) ve 1 izolat *Pseudomonas corrugata* (1.90) olarak tanılanmıştır (Tablo 10).



Şekil 3.7.1. Gövdede nekroz (a) Özde nekroz (b) İletim demetinde renklenme (c)

Tablo 10. MALDI TOF MS testiyle tanılanan bakteriler

No	İzolat adı	Koloni rengi	Hastalık belirtisi	Bakteri türü
1	AY 2-1-1	Krem- Sarı	Gövdede ve özde nekroz	<i>S. rhizophila</i>
2	AY 2-1-2	Krem- Sarı	Gövdede ve özde nekroz	<i>S. rhizophila</i>
3	AY 2-1-3	Krem- Sarı	Gövdede ve özde nekroz	<i>S. rhizophila</i>
4	AY 2-1 Sarı 3	Krem- Sarı	Gövdede ve özde nekroz	<i>S. rhizophila</i>
5	AY 2-1 Sarı 5	Krem- Sarı	Gövdede ve özde nekroz	<i>S. rhizophila</i>
6	YY 1-1	Sarı	Gövdede ve özde nekroz	<i>M. arborescens</i>
7	YY 1-3	Krem- Sarı	Gövdede ve özde nekroz	<i>A. sulfonivorans</i>
8	KU 1-1	Beyaz	Özde nekroz	<i>Pb. amylolyticus</i>
9	KU 3-1	Beyaz	Özde nekroz	<i>Pb. amylolyticus</i>
10	SG 2-1	Krem- Sarı	İletim demetinde ve özde nekroz	<i>S. maltophila</i>
11	SG 2-3	Krem- Sarı	İletim demetinde ve özde nekroz	<i>S. maltophila</i>
12	SG 4-2	Krem- Sarı	İletim demetinde ve özde nekroz	<i>S. rhizophila</i>
13	SG 4-3	Krem- Sarı	İletim demetinde ve özde nekroz	<i>S. rhizophila</i>
14	ŞS 2-4	Krem	Gövdede ve özde nekroz	<i>S. maltophila</i>
15	MS 3-1-2	Krem	Yumuşak çürüklük	<i>Pb. polymyxa</i>
16	MS 6-1	Sarı	Gövdede ve özde nekroz	<i>S. rhizophila</i>
17	MD 1-5	Krem	Özde nekrozlar	<i>P. corrugata</i>
18	HU 2-2	Krem	Özde nekrozlar	<i>S. maltophila</i>
19	HU 2-3	Krem	Özde nekrozlar	<i>S. maltophila</i>
20	ST 1-1	Krem	Özde nekrozlar	<i>S. maltophila</i>

Tablo 11. MALDI TOF MS testiyle tanılanan bakterilerin geleneksel tanı test sonuçları

Bakteri Türü	Gram +/-	Domateste patojenite	LOPAT	Nişasta Hidrolizi	Hastalık Belirtisi
<i>S. rhizophila</i> (8 Adet)	-	+	DD	D	Gövde, öz ve iletim demetinde nekrozlar
<i>S. maltophila</i> (8 Adet)		+	D	D	Gövde, öz ve iletim demetinde nekrozlar
<i>M. arborescens</i> (1 Adet)	-	+	---	+	Gövde ve özde nekroz
<i>A. sulfonivorans</i> (1 Adet)	-	+	---	+	Gövde ve özde nekroz
<i>Pb. amylolyticus</i> (2 Adet)	-	+	++++	-	Özde nekroz
<i>P.b. polymyxa</i> (1 Adet)	-	+	---+	-	Yumuşak çürüklük
<i>P. corrugata</i> (1 Adet)	-	+	---+	-	Özde nekroz

+: pozitif reaksiyon; -: negatif reaksiyon; D: değişken reaksiyon gösteren bakteri izolatları, *: testin üç, **: testin iki defa yapıldığını göstermektedir

3.8. Bakteri İzolatlarının Sekans Analizi

Klasik yöntemler ve MALDI TOF MS sonuçlarına göre seçilen beş adet izolatın sekans analizi yapıldığında izolatlar NCBI kayıtlı bakteri tür/cinsleriyle %97-99 oranında benzerlik göstermiştir. MALDI TOF MS sonucunu destekler şekilde 1 izolat *Stenotrophomonas rhizophila* (%97.25) ile 1 izolat *Paenibacillus amylolyticus* (%98.80) ile benzerlik göstermiştir. MD 1-5 kodlu izolat *Pseudomonas* sp. (%98.21), ST 1-1 kodlu izolat *Stenotrophomonas* sp. (%98.23) ve YY 1-1 kodlu izolat ise *Microbacterium* sp. (%99.07) ile yüksek oranda benzerlik göstermişlerdir (Tablo 12).

Tablo 12. Bakteri izolatlarının sekans sonuçları

İzolat kodu	Eşleştiği Bakteri Türü	NCBI Benzerlik oranı (%)
AY 2-1 Sarı 3	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	97.25
KU 3-1	<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	98.80
MD 1-5	<i>Pseudomonas</i> sp.	98.21
ST 1-1	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	98.23
YY 1-1	<i>Microbacterium</i> sp.	99.07

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1.Tartışma- Sonuç

Türkiye’de en fazla üretimi yapılan sebzelerin başında domates gelmektedir. Doğu Akdeniz Bölgesi’nde yer alan Mersin ili domates üretiminde önemli bir paya sahiptir. Domates üretimi Mersin ilinde hem örtü altında turfanda üretim hem de yaylalarda yazın tarla üretimi olarak yapılmaktadır. Mersin ilinde örtü altı domates yetiştiriciliği ağırlıklı olarak Erdemli ve Silifke ilçelerinde yapılmaktadır. Günümüzde modern seracılığın gelişmesi ile birlikte 12 ay boyunca bir serada domates üretimi yapılabilmektedir. Domates üretiminin artması ve üretim sezonunun uzaması ile birlikte sera içerisindeki kültürel işlemlerin önemi de artmaktadır. Sera yetiştiriciliğinin çiftçiler tarafından tercihinin artmasıyla birlikte domateslerde biyotik ve abiyotik kaynaklı sorunlar da artmaktadır. Gerekli kültürel işlemlerin tam yapılamaması, hastalık ile bulaşık fidelerin kullanılması, sürekli monokültür tarım yapılması, seraların yeterince havalandırılmaması, seraların drenajının iyi olmaması, bitkiler ıslak iken kültürel işlemlerin yapılması, serada çalışan insanların uzun süre aynı kıyafetleri giymesi, bilinçsiz gübreleme ve ilaçlama yapılması ve bitki artıklarının sera içerisinde veya yakınında bırakılması domates hastalıklarının oluşmasına ve sera içerisinde yayılmasına sebep olmaktadır. Ülkemiz de dahil birçok ülkede yapılan araştırmalarda birçok araştırıcı bakterileri de içine alan 200’e yakın bitki patojeninin domatesi hastalandırdığını rapor etmiştir (Chetelat, 2014). Bu bakteriyel etmenlerden domateste en fazla ekonomik kayıplara neden olan etmenler olarak *Pseudomonas* ve *Xanthomonas* cinslerine ait patojenler olduğu bildirilmiştir (Basim vd., 2004a; Aysan vd., 2005; Popović ve Ivanović, 2015; Mensi et al., 2018).

Doğu Akdeniz Bölgesi'nde bulunan Mersin'de özellikle Erdemli ilçesinde domateslerde görülen bakteriyel hastalıklarla ilgili 1970'li yıllardan günümüze kadar farklı araştırmacılar tarafından tamamlanmış çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar incelendiğinde 1980 yılına kadar *Pst* ve *Cmm* izole edilmiş (Çınar, 1980), 2000'li yıllarda ise bunlara ilaveten öz nekrozu etmenleri (*Pseudomonas corrugata*, *P. viridiflava*, *Pseudomonas* sp. *P. mediterranea*) ile gövde çürüklüğü etmenlerinin (*Pectobacterium caratovororum* ve *Dickeya chrysanthemi*) varlığı bildirilmiştir (Aysan vd., 2002). Mersin ili Erdemli ilçesindeki domates seralarında görülen hastalıklar ile ilgili genellikle Adana iline yakın olmasından dolayı Çukurova Üniversitesi'nde görev yapan araştırmacılar tarafından çalışma yapılmış ve en güncel çalışmanın 2017 yılında tamamlandığı görülmüştür. Ancak yapılan literatür araştırmaları sonucunda Mersin ili Silifke ilçesinde seralarda yetiştirilen domatestede hastalık oluşturan bakteriyel etmenler üzerine sadece 2018 yılında bir çalışmaya rastlanmıştır (Ünlü, 2018), bu çalışmada da Silifke'nin tek bir mahallesindeki tarladan izolat temin edildiği, hastalığın yaygınlık durumunun çalışılmamış olduğu görülmüştür. Tüm ilçeyi dikkate aldığımızda özellikle seralarda domatestede görülen bakteriyel hastalıklar ve bu hastalıkların yaygınlıkları konusunda kapsamlı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Yapılan tez çalışmasında Mersin ili Silifke ilçesinde yoğun olarak domates üretimi yapılan Merkez, Atayurt, Atakent, Arkum, Sökün, Kurtuluş, Çayır, Çeltikçi ve Narlıkuyu mahallelerinde 500 m²'den büyük plastik seralarda Ocak-Mayıs ayları arasında 130 farklı üreticinin serası bakteriyel hastalıklar yönünden incelenmiştir. İncelenen seralarda yapraklarda sararma, kahverengi lekeler, solgunluk, gövdede yumuşama ve nekrozlar gibi farklı tipte hastalık belirtisi gösteren 39 farklı üreticiden örnekler alınmıştır. Toplanan örneklerden yapılan izolasyon sonucunda 317 tane farklı renk ve koloni yapısına sahip bakteri izolatı elde edilmiştir. İzole edilen 317 izolat arasından bakterilerin koloni özelliği ve rengine göre seçilen 109 izolat ile patojenite çalışması yapılmıştır. Seçilen tüm izolatların domates bitkisinde patojen olduğu tespit edilmiştir. Patojenite çalışması sonucu elde edilen re-izolatların tanısında gram reaksiyonu, LOPAT testleri, indol üretimi, nişastanın hidrolizi, *Mirabilis jalapa*'da HR, türe spesifik PCR, MALDI-TOF MS ve sekans analizi yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Tez çalışmasının ilk kısmında ziyaret edilen sera üreticilerine bir anket uygulaması yapılmıştır. Ankette çiftçilerin domates çeşidi tercihleri, bakteriyel hastalıkları tanıma durumları, hastalıklara karşı kültürel önlemlere gösterdikleri özen, sanitasyon ve temizlik önlemleri konusunda aldıkları önlemler ile hastalıklara karşı kullandıkları kimyasallar konularında sorular sorularak üreticilerin bakteriyel hastalıklar konusundaki bilinci analiz edilmiştir. Yapılan sera incelemelerinde üreticilerin büyük çoğunluğunun kışlık dikime uygun Retinto F1 çeşidini tercih ettiği belirlenmiştir. Bu çeşidi özellikle domateste sorun çeşitli viral ve fungal hastalıklara, soğuğa dayanımı ve güçlü bitki yapısı nedeniyle tercih ettiklerini paylaşmışlardır. Üreticilerin karşılaştıkları bitki koruma sorunlarının daha çok zararlılar olduğu, bunu hastalıkların izlediği bildirilmiştir. Üreticilerin çoğunun hastalık belirtilerini tanıdığı, bu belirti tiplerine göre yerel isimler verdikleri (*Pst*'ye yağlı kanser, *Cmm*'e yan felci), ancak hastalığa bir bakterinin neden olduğunu bilmedikleri gözlenmiştir.

Hastalıkların sera içine bulaşmasında ve yayılmasında önemli faktörlerden biri insandır. İncelenen seralarda kendilerinin haricinde, teknik eleman ya da dışardan gelen birinin seraya hastalık getirebileceğinin farkında olan üreticiler olduğu, bu nedenle survey sırasında bazı seralara giriş yapılmasına izin vermeyen üreticiler ile karşılaşmıştır. Sera büyüklüğüne göre üreticilerin büyük çoğunluğunun 1-2 dekarlık alanda üretim yapması ve aile işletmesi şeklinde sadece 1-2 kişinin serada tüm işlemleri yapıyor olması nedeniyle hastalıkların bulaşması ve yayılmasında değişkenlik görülmüştür. Özellikle kültürel işlemlerden budama esnasında büyük çoğunluğunun makas kullanmadığı ve makas dezenfeksiyonu için sodium hipoklorit kullanmadıkları, ancak budama esnasında eldiven kullandıkları anket verilerine yansımıştır. Benzer şekilde Gaffaroğlu (2018) Erdemli ilçesinde domates seralarında üreticilerin bakteriyel hastalıkları pek tanımadığını, kültürel işlemler esnasında eldiven kullanıp, ancak, makas ve el temizliğine pek dikkat etmediklerini vurgulamıştır.

Bitki bakteri hastalıkları ile bitki besleme ve gübreleme arasında ilişki bulunmaktadır. Yeterli ve bilinçli besleme için toprak analizi yaptırılması bitki hastalıklarının önlenmesi açısından önemlidir. Üreticilerin büyük çoğunluğunun toprak analizi yaptırmadığı ve en fazla 16-8-24 (N-P-K) gübresini kullandıklarını, ayrıca hastalıklara dayanımı arttırdığı için potasyumlu ve kalsiyumlu gübreleri de kullandıklarını ifade

etmişlerdir. Üreticilerin bitki besleme ile hastalıklar arasında bir ilişki olduğunun farkında oldukları ama toprak analizi konusunda bilinçsiz oldukları görülmüştür. Aynı şekilde Güneş (2017) Erdemli ilçesinde yürüttüğü surveylerde aynı durumla karşılaşmış ve çiftlerin hastalıklara dayanımda kalsiyumlu ve yapraktan gübreleri tercih ettiklerini bildirmiştir.

Yapılan sera incelemelerinde üreticiler özellikle gövdede görülen hastalıklara karşı gövdeye taş koyarak bakterili öz suyu akıttıklarını ifade etmişlerdir. Yanlış bilinen bu yöntemle hastalık etmenini serada yaydıkları görülmüştür. Bölgeye yaptıkları surveylerde aynı durumdan Aysan vd., (2002), Güneş (2017) ve Gaffaroğlu (2018) bahsetmiş ve bu tez çalışması ile doğru bilinen yanlış yöntemin hala geleneksel şekilde devam ettiği gözlenmiştir.

Bakteriyel hastalıklarla mücadelede antibiyotik kullanımının yasak olması ve kimyasal mücadelenin yetersiz kalması nedeniyle hastalığın mücadelesinde kültürel önlemler ön plana çıkmaktadır. Bunların içerisinde sanitasyon önlemlerinden üreticilerin hastalıklı bitki örneklerini seradan uzaklaştırmak yerine %56 gibi büyük bir kısmının ilaç uyguladıkları, bitki kalıntılarını seradan uzaklaştıran üreticilerin de %43 oranında olduğu görülmüştür. Bakteriyel hastalıkların kimyasal mücadelesinde tek kullanılan ilaç bakır içerikli preparatlardır. İncelenen seralarda bakır içerikli preparatları fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerine karşı kullandıkları, bakırlı ilaçları uygulama dönemleri sorulduğunda büyük çoğunluğu hastalığı görmeden koruyucu amaçlı bakırlı preparatları uyguladıklarını belirtmişlerdir. Ancak bu preparatları çiçeklenme dönemine kadar uygulamaları nedeniyle bakteriyel hastalıklarla kimyasal mücadelede yetersiz kaldıkları görülmüştür.

Domates bitkisinde bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı etmeni *Cmm* EPPO A2 karantina listesinde yer almaktadır (EPPO, 2020). Bu hastalık ülkemizde domates üretimi yapılan tüm bölgelerde görülmektedir. Tokgönül (1998)'ün bildirdiğine göre ilk olarak İç Anadolu Bölgesi'nde saptanmıştır. Ardından günümüze kadar pek çok bölgede varlığı rapor edilmiştir (Çınar, 1980; Karaca ve Saygılı, 1982; Şahin vd., 2002; Basım vd., 2004b; Belgüzar 2014). Mersin ili Erdemli ilçesinde farklı araştırmacılar *Cmm* bakterisini izole etmiş ve tanılamışlardır (Çınar, 1980; Çetinkaya-Yıldız, 2007; Güneş, 2017). Bizim çalışmamıza benzer şekilde, Ünlü (2018) yaptığı tez çalışmasında Silifke

ilçesinin Delikkaya mahallesinde tarladan ve Erdemli ilçesinde seradan *Cmm*'i izole etmiş ve tanılamıştır. Tez çalışmamızda Silifke ilçesi Atayurt ve Kurtuluş mahallelerinde 2 farklı üreticinin Seyran F1 çeşidi domateslerinden 5 adet *Cmm* bakterisi izole edilmiş ve klasik yöntemler ve türe spesifik PCR ile tanılanmıştır. Bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığının bölgedeki oranı %1.54 olarak bulunmuştur.

Yaprak leke etmenlerinden *Pst*'nin neden olduğu domates bakteriyel kara leke hastalığı Mersin ilinin Erdemli ilçesinde (Aysan, 1999; Güneş, 2017; Cemen vd. 2018; Karabüyük, 2018) farklı yıllarda izole edilmiş ve tanılanmıştır. Silifke ilçesinde yaptığımız tez çalışmasında domateste sorun olan bakteriyel etmenlerin büyük çoğunluğunu *Pst*'nin oluşturduğu görülmüştür. Survey yapılan 23 farklı üreticinin seralarından toplam 76 adet *Pst* izole edilmiş ve klasik yöntemler ve PCR testleriyle tanılanmışlardır. Hastalığın bölgede bulunma oranı %17.7 olarak saptanmış, hastalığın bölge için hala önemli bir tehdit olduğu saptanmıştır.

Mersin ilinde domates öz nekrozu etmenleri üzerine en kapsamlı çalışma 2000 ve 2002 yıllarında Aysan vd. (2002) tarafından yapılmıştır. Yapmış oldukları çalışmada, Mersin ilinin Erdemli ve Silifke ilçeleri ile Hatay ilinin Samandağ ilçesinde örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan alanlardan *Pseudomonas corrugata*, *P. cichorii*, *P. viridiflava*, *P. fluorescens* ve tanılanmayan *Pseudomonas* türlerini izole etmiş ve tanılamışlardır. Tekman (2005), tez çalışmasında Mersin ili Tarsus ve Erdemli ilçelerinde öz nekrozuna neden olan *Pseudomonas* türlerinin var olduğunu bildirmiştir. İmriz ve Çınar (2015), Mersin ve Adana illerinde domates seralarından *P.cichorii* ve *P.corrugata*'yı izole etmiş ve tanılamışlardır. Güneş (2017), tez çalışmasında, Erdemli ilçesinde *P. corrugata* ve *P. viridiflava* izole etmiş ve tanılamıştır. Tanılamış olduğu öz nekrozu etmenlerinin yaygınlık durumlarını *P. corrugata* (%4), *P. viridiflava* (%2) olarak bildirmiştir. Silifke ilçesinde yapmış olduğumuz tez çalışmasında öz nekrozu etmenlerinden Atayurt mahallesinden bir üreticinin serasından *Pseudomonas corrugata* izole edilmiş, klasik yöntemler ve MALDI-TOF MS ile tanılanmıştır.

Yumuşak çürüklük etmenleri domates üretim alanlarında ciddi zararlara neden olmaktadır. En büyük zararı ise örtü altı domates yetiştiriciliğinde yapmaktadırlar. Yumuşak çürüklük etmenlerinden *Pcc* ve *Dch* Türkiye'de ilk kez 1994 yılında Doğu Akdeniz Bölgesindeki domates seralarında tespit edilmiştir (Aysan vd. 2005). Mersin

ilindeki *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Dickeya chrysanthemi* etmenlerinin yaygınlık oranı %24-32 olarak bildirilmiştir (Aysan ve Çınar, 2001). Aysan vd. (2005) ilerleyen yıllarda yapmış oldukları bir çalışmada yumuşak çürüklük etmenlerinin yaygınlık durumunun %25 olduğunu bildirmişlerdir. Güneş (2017) Mersin ilinin Erdemli ilçesinde yapmış olduğu tez çalışmasında 2 adet *Pectobacterium carotovorum*, 5 adet *Dickeya chrysanthemi* izolatu elde etmiş, yaygınlık durumlarını ise %6 ve %2 olarak tespit etmiştir. Tez çalışmamızda Silifke ilçesinde 2 farklı üreticinin serasından 5 adet *Pectobacterium carotovorum* izole edilmiş ve tanılanmıştır.

Bölgede ilk defa öz nekrozu hastalığı belirtisine neden olan, gram negatif ve pektolitik enzim üreten *Paenibacillus amylolyticus* ve yumuşak çürüklük hastalığı belirtisine neden olan, gram negatif ve pektolitik enzim üreten *Paenibacillus polymyxa* adlı iki patojenik tür tanılanmıştır. *Paenibacillus* türleri gram pozitif özellikli olmasına karşın, Mohammadi (2018) yapmış olduğu doktora tez çalışmasında bizim çalışmamıza benzer şekilde bitkiden elde edilmiş gram negatif *Paenibacillus* türlerini çalışmasında kullanmıştır. Bakteriyel etmen toprak (Teeraphatpornchai et al 2003), taşıyını substratı (Validov et al 2006) ve kahve çekirdeği (Sakiyama et al 2001) gibi çeşitli ortamlardan faydalı mikroorganizma olarak izole edilmiş, ancak bitkilerde patojen olduğuna dair herhangi bir bilgiye ulaşılammıştır. İki farklı üretici serasından izole ettiğimiz iki farklı türün domatestede gerçek patojen olma potansiyelleri konusunda yeterince bilgimiz bulunmamaktadır.

Yapılan surveylerde 5 üreticinin serasından alınan 12 farklı bitkiden izole edilen, özde ve iletim demetinde nekroz belirtilerine neden olan *Stenotrophomonas maltophila* ve *S. rhizophila* türleri izole edilmiş, domates fidelerinde üç defa tekrarlanan patojenite testi, LOPAT testleri, çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal testler, MALDI-TOF MS ve sekans analiz sonuçlarına göre tanılanmıştır. İzolatların tümü domatesi hastalandırmış, levan tipte koloni gelişimi ve patatesi pektolite etme özelliği göstermezken, tümü oksidaz pozitif reaksiyon vermiştir. *Stenotrophomonas maltophila* olarak tanılanan iki izolat ve 1 adet *S. rhizophila* türü arginin dehidrolize etmiş, geriye kalan tüm *Stenotrophomonas maltophila* ve *S. rhizophila* türleri negatif reaksiyon oluşturmuştur. *Stenotrophomonas maltophila* ve *S. rhizophila* türlerinde tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu da değişkenlik göstermiştir. Aynı şekilde nişasta hidrolizi testinde de izolatlar arasında değişkenlik

saptanmıştır. *Pst* den sonra %4,6 yaygınlık oranı gibi yüksek oranda *Stenotrophomonas* türleri elde edilmiştir. Yine bu türler bitkilerden çoğunlukla bitki büyüme düzenleyici endofit bakteri olarak izole edilmiştir (Wozniak et al 2019) Ayrıca pamukta *Rhizoctonia solani* ile biyolojik mücadelede toprağa uygulanmış, bitkide dayanıklılık mekanizmalarını harekete geçirdiği saptanmıştır (Selim et al 2017). İnsan patojeni oldukları da bildirilirken (Guzek et al 2017; Steffen et al 2020), bitki patojeni olduklarına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle etmenlerin fırsatçı patojen olabilecekleri ve bitkiyi hastalandırabilecekleri düşünülmektedir.

Mersin ilinin Silifke ilçesinde yapılan tez çalışması sonucunda örtü altı domates üretiminde hastalık oluşturan bakteriyel etmenlerin yaygınlık oranı %23.8 olarak bulunmuştur. İlçede domates üretiminde en fazla sorun oluşturan bakteriyel hastalık %17.7 yaygınlık oranı ile *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* olduğu saptanmıştır. *Cmm* ve *Pcc* %1.5, öz nekrozu etmenlerinden *Pseudomonas corrugata* %0.8 yaygınlık oranı ile bulunmuştur. Mersin ilinde ilk defa yararlı olarak bilinen bakterilerden, gram negatif *Bacillus* türleri bulunmuştur. *Paenibacillus amylolyticus* ve *Paenibacillus polymyxa* %0.8 yaygınlık oranı ile bölgede bulunmuştur. Domates bitkisinde patojen olan gram negatif *Microbacterium* sp. ve *Arthrobacter sulfonivorans* %0.8 yaygınlık oranı ile bulunmuştur. Bu durum bölgede özellikle bitki dayanıklılığın zayıf olduğu dönemlerde, bitkilerde bulunan endofit faydalı bakterilerin fırsatçı patojen olarak domatesi hastalandırdığı düşünülmektedir.

4.2. Öneriler

Bölgedeki domates üreticilerinin %85'inin toprak analizi yaptırmadıkları görülmüştür. Bu da bilinçsiz gübreleme yapmalarına neden olmaktadır. Genel olarak çoğunluğu aşırı gübre kullandığından sera topraklarında bazik ortam oluşmakta ve dolayısıyla bozulmaya neden olmaktadırlar. Bölgedeki üreticilerin toprak analizi yaptırmayı teşvik edilerek daha bilinçli bir gübreleme yapmaları önerilmektedir.

Üreticilerin %64'ünün sezon sonunda bitki artıklarını imha etmedikleri görülmüştür. Bunun sonucunda hastalıklı bitkiler bölgedeki domates seralarına inokulum kaynağı oluşturmaktadır. Bölgedeki üreticilerin bitki artıklarını toprağa gömerek imha etmeleri ya da kompost yapımında değerlendirilmesi önerilmektedir.

Bölgedeki üreticilerin %74'ünün ilkokul mezunu oldukları görülmüştür. Bölgedeki üreticilere domates yetiştiriciliğinde yapılan kültürel işlemler, hastalık ve zararları ile mücadele hakkında seminerler düzenlenerek üreticilerde farkındalık yaratılması önerilir.

Serada yetiştirilen domateslerde sorun olan gövde çürüklüğü hastalığına karşı üreticilerin bitkinin gövdesini jilet ile keserek gövde içindeki eksudatları akıttıkları görülmüştür. Üreticilere bu uygulamanın hatalı olduğu ve böyle bitkileri imha etmeleri gerektiği konusunda daha çok bilgilendirmelerin yapılması gerekmektedir.

Bu çalışma ile ülkede ilk defa domateste patojen olabilecekleri varsayılan bakteriyel türlerin daha detaylı çalışılması ve ileride domateste önemli hastalıklar arasına girebilme potansiyellerinin irdelenmesi gerekmektedir.

Bakteriyel hastalıklar seralarda nemin kontrol edilemediği durumlarda şiddetli enfeksiyonlar oluşturmaktadır. Bu nedenle üreticilerin nem yönetimi konusunda bilinçlendirilmesi gerekmektedir.

Bakteriyel hastalıklar zaman zaman seralarda çok ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Mücadelesinin zor olduğu bu hastalıklarla mücadele için en az iki yıllık bir münavebe yapılması fayda sağlayacaktır.

KAYNAKÇA

- Aksoy, H.M., 2002. Samsun ilinde domates bakteriyel hastalıkları ve yaygınlıkları. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara, 118 s.
- Aysan, Y., 1999. Domates Bakteriyel Kara Leke Hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) Tanımlanması. Irklarının Belirlenmesi ve Kimyasal Savaşma Alternatif Yöntemlerin Saptanması Üzerinde Araştırmalar. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 105 s.
- Aysan, Y. ve Çınar, Ö., 2001. Doğu akdeniz bölgesi domates seralarında bakteriyel gövde nekrozu hastalığının yaygınlığı ve bu seralarda yapılan gözlemler. *Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi*, 3-8 Eylül 2001, Tekirdağ, 51-56s.
- Aysan, Y. ve Çınar, Ö., 2002. Tohum kökenli *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı antagonistlerin etkisi. *Türkiye V. Biyolojik Mücadele Kongresi*. 4-7 Eylül, Erzurum 409-416s.
- Aysan, Y., Yıldız, N., Ülke, G., Çınar, Ö., Yücel, F. ve Yıldız Çetinkaya, R., 2002. Doğu Akdeniz Bölgesi domates seralarında gövde nekrozuna neden olan bakteriyel hastalık etmenlerinin saptanması, epidemiyolojileri ve entegre mücadelesi üzerine araştırmalar. Tübitak Araştırma Projesi (Proje no: 2364) Sonuç Raporu, Adana, 126s.
- Aysan, Y., Cetinkaya-Yildiz, R., Saygili, H., Sahin, F., 2005. Present status of bacterial stem rot on tomato in Turkey. *1st international symposium on tomato diseases*, June 21-24, 2004, Orlando, FL, Acta Horticulturae, pp.97-100.
- Aysan, Y., Mirik, M., Çetinkaya, Yıldız, R., Küsek, M., 2005. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun yayılmasında tohum kökenli inokulumun rolü. *Türkiye II. Tohumculuk Kongresi*, 9-11 Kasım, Adana, 353s.
- Basim H., Basim E., Jones J., Minsavage G., Dickstein E., 2004a. Bacterial spot of tomato and pepper caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* in the Western Mediterranean region of Turkey. **Plant Disease**, **88**, 85-85s.

- Basim, E., Basim, H., Dickstein E.R. and Jones J.B., 2004b. Bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on greenhouse-grown tomato in the Western Mediterranean Region of Turkey. **Plant Disease**, **88**, 1048.
- Bayman, S., 2017. Diyarbakır ilinin Merkez Kayapınar, Ergani ve Bismil ilçelerinde domates üretim alanlarındaki bakteriyel hastalıkların morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine bağlı tanıları ve yaygınlık oranlarının belirlenmesi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Diyarbakır, 63 s.
- Bayrak, S., ve Kaya, M., 2009. Dünya taze domates ve işlenmiş domates ürünleri piyasası önemli ülkelerdeki son durum. **AİB Araştırma Serisi**, **59**, 1-27.
- Belgüzar, S., 2014. Tokat İlinde Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığının Yaygınlığı ve Etmenin (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) Tanılanması. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Tokat, 158 s.
- Bereswill, S., Bugert, P., Völksch, B., Ullrich, M., Bender, C.L. and Geider, K., 1994. Identification and Relatedness of Coronatine-Producing *Pseudomonas syringae* Pathovars by PCR Analysis and Sequence Determination of the Amplification Products. **Applied and Environmental Microbiology**, **60**, 2924-2930.
- Bora, T. ve Karaca, İ., 1970. Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi. Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No:167, E.Ü. Matbaası, Bornova-İzmir, s8.
- Cemen, A., Saygılı, H., Horuz, S., Aysan, Y., 2018. Potential of bacteriophages to control bacterial speck of tomato (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*). **Fresenius Environmental Bulletin**, **27**, 9366-9373.
- Chetelat R.T., 2014. Tomato diseases, pests and disorders. 1-5, In: Compendium of Tomato Diseases and Pests 2nd edition (Eds: J.B. Jones, T.A. Zitter, T.M. Momol, and S .Miller). APS Press. St. Paul, Minnesota, 55121, USA.

- Çetinkaya-Yıldız, R., 2002. Doğu Akdeniz bölgesi plastik domates seralarında gövde nekrozuna neden olan *Erwinia chrysanthemi*'nin tanısı, ırklarının belirlenmesi ve epidemiyolojisi üzerinde araştırmalar. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 74s.
- Çetinkaya-Yıldız, R., 2007. Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis Et. Al.'nin Tanılanması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler ile Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 173s
- Çınar, Ö., 1980. Bakteriyel Domates Solgunluğu Hastalığı (*Corynebacterium michiganense* (Erwin. F. Smith) Jensen)'nin Tanımı, Savaş Yöntemleri ve Etmene Karşı Dayanımlı Domates Çeşitleri Üzerine Araştırmalar. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 160s.
- Darrasse, A., Priou, S., Kotoujansky, A. and Bertheau, Y., 1994. PCR and Restriction Length Polymorphism of a Pel Gene as a Tool to Identify *Erwinia Carotovora* In Relation To Potato Diseases. **Applied and Environmental Microbiology**, **60**,1437-1443.
- Dreier, J., Bermpohl, A. and Eichenlaub, R., 1995. Southern hybridization and PCR for specific detection of phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Phytopathology**, **85**, 4, 462-8.
- Dickey, R.S., Kelman, A., 1988. Erwinia: "Carotovora" or soft rot group. 44-59. In: Laboratory Guide for Identification of plant pathogenic bacteria, (Ed: N.W. Schaad). 2 ed. APS Press. St. Paul, Minnesota, 55121, USA.
- Durmuş, M., Yetgin, Ö., Abed, M.M., Haji, E.K., Akçay, K., 2018. Domates bitkisi, besin içeriği ve sağlık açısından değerlendirmesi. **International Journal of Life Sciences and Biotechnology**, **1**(2): 59-74.
- EPPO, 2020. European and Mediterranean Plant Protection Organization (Web page: https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A2_list), (Erişim tarihi: December 2020).

- Ertürk, E. Y. ve Çirka, M., 2015. Türkiye’de ve Kuzey Doğu Anadolu Bölgesi (KDAB)’nde Domates Üretimi ve Pazarlaması. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi**, 25(1):84-87.
- Fahy, P.C., Hayward, A.C., 1983. Media and methods for isolation and diagnostic tests, 337-378. In *Plant Bacterial Disease; A Diagnostic Guide*. Eds P.C. Fahy, G.J. Persley) Academic Press, Sydney, Australia.
- FAOSTAT, 2018. Food And Agriculture Organization Of United Nation Statistic Data (Web page: <http://faostat.fao.org>), (Erişim tarihi: Nisan 2020).
- Gaffaroglu, S., 2018 Farklı Bitki Besleme Programlarının Domates Gövde Çürüklüğü (*Pectobacterium carotovorum*) Hastalığına Etkisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 67s.
- Guzek A, Korzeniewski K, Tomaszewski D, Rybicki Z, Zwolińska E., 2017. Bacteriological assessment of pneumonia caused by gram-negative bacteria in patients hospitalized in intensive care unit. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, 955:39-46.
- Güllü, M.; Ulukuş, I., 1985. Studies on the pathogenicity and the identification by using serological methods of a bacterial agent (*Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense* 'Smith' Jensen) which causes tomato wilt in greenhouses of Antalya province. **The Journal of Turkish Phytopathology**, 14 (2): 65-68.
- Güneş, M., 2017. Mersin İli Erdemli İlçesinde Seralarda Yetiştirilen Domateslerde Görülen Bakteriyel Etmenlerin Tanısı ve Yaygınlığı. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma AnaBilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 97s.
- Gunes, M. ve Aysan, Y. 2016. Tomato bacterial diseases in plastic greenhouses and fields in Mersin, Turkey. In *V International Symposium on Tomato Diseases: Perspectives and Future Directions in Tomato Protection 1207* (pp. 311-314).
- İmriz, G. ve Çinar, Ö., 2015. ELISA-Based and traditional diagnosis methods for identification of *Pseudomonas cichorii* and *Pseudomonas corrugata* causing pith necrosis on tomato plants. **Journal of Bahri Dagdas Crop Research** 3(1):7-13.

- Jones, J.B., Zitter, A.T., Momol, T.M. and Miller, S.A., 2014. Diseases Caused By Bacteria Major Bacterial Diseases. *Compendium of Tomato Diseases and Pests Second, USA*, p:50-63.
- Kahveci, E., 1987. Antalya ili domates alanlarında bakteriyel hastalıklar üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 39 s.
- Karabüyük, F., Kirli, M.M., Horuz. S. ve Aysan, Y., 2014. Adana’da domateslerde fidelik ve tarlada sorun olan tohum kökenli bakteriyel hastalıklar. *5. Uluslararası Katılımlı Tohumculuk Kongresi*, 19-23 Ekim 2014, Diyarbakır 682-684.
- Karabüyük, F., 2018. Bitki Ekstraktlarının Domates Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. Ç.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 103s.
- Karaca, İ., ve Saygılı, H., 1982. Batı Anadolu’nun bazı illerinde domates ve biberde görülen bakteriyel hastalıkların oranı, etmenleri ve konukçu çeşitlerinin duyarlılığı üzerine araştırmalar. *III. Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, 12-15 Ekim 1982, Adana, 182-192.
- King, E.O., Ward, M.K. and Raney, D.E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and flouresin. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, **44**, 301-307.
- Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D.C., 1990. Methods in Phytobacteriology. Akademia Kiado, Budapest, 547 s.
- Lane, D.J., 1991. 16S/23S rRNA Sequencing. 115-175 In: Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematic, (Eds: E. Stackebrandt, and M. Goodfellow) John Wiley and Sons, New York, USA.
- Lelliot, R.A. and Stead, D.E., 1987. Methods For the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. Black Well Scientific Puplication, 157 p, Oxford, USA.
- Mensi, I., Jabnoun-Khiareddine, H., Zarrougui, N.E., Zahra, H., Cesbron, S., Jacques, M. A., Daami-Remadi, M., 2018. First report of tomato bacterial speck caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in Tunisia, New Disease Reports, 38, 21.

- Mohammadi, P., 2018. Domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* Subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.)'nin biyoajan bakteriler kullanılarak mücadele imkanlarının araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Erzurum, 125s
- Öktem, Y.E. ve Benlioğlu, K., 1993. Orta Anadolu Bölgesinde Domates Ekim Alanlarında Bakteriyel Hastalıklar Üzerine Araştırmalar. **Bitki Koruma Bülteni**, **33**:1-7.
- Öztürk, S., 2016. Samsun ili domates üretim alanlarındaki bakteriyel hastalık etmenlerinin moleküler tanısı. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Samsun, 75 s.
- Özyılmaz, Ü., 2001. Aydın ilinde sera domateslerinde toprak kaynaklı bakteriyel hastalıkların saptanması. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 52 s.
- Peralta, I.E., Spooner, D.M., 2007. History, Origin and Early Cultivated of Tomato. 1-27, *In: Genetic Improvement of Solanaceous Crops* (Eds: M.K. Razdan, A.K. Mattoo) Science Publishers, Enfield, USA.
- Popović, T., Ivanović, Z., 2015. First Report of *Pseudomonas viridiflava* causing pith necrosis of tomato (*Solanum Lycopersicum*). **Serbia, Diseases Notes**, **99** (7), 1033.
- Rhodes, D. 2008. Olericulture- Vegetable Growing. (Purdue University) (**Web page:** <https://hort.purdue.edu/rhodcv/hort410/genint/ge00001.html>) (Erişim tarihi: Nisan 2020).
- Sahin, F., Uslu, H., Kotan, R. and Donmez, F., 2002. Bacterial canker, caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*, on tomatoes in eastern Anatolia region of Turkey. **Plant Pathology**, **51**:399.
- Sakiyama, C.C.H. Paula, E.M. Pereira, P.C. Borges, A.C. and Silva, D.O., 2001. Characterization of pectin lyase produced by an endophytic strain isolated from coffee cherries. **Letters in Applied Microbiology**, **33**, 117-121.

- Selim, Hend M.M., Gomaa, Nafisa M., Essa, Ashraf M.M., 2017. Application of endophytic bacteria for the biocontrol of *Rhizoctonia solani* (Cantharellales: ceratobasidiaceae) damping-off disease in cotton seedlings, **Biocontrol Science and Technology**, 27(1), 81-95,
- Steffen, L.M., Pezzin, L.S., Sulis, N., Steffen, N., Pinto, L.A. 2020. Upper airway findings and markers of lung disease progression in patients with cystic fibrosis. **International Archives of Otorhinolaryngology**, 24(4) E434-E437.
- Sunyar, B., 2019. Iğdır' da domates (*Solanum lycopersicon* L.)'te hastalık yapan bakterilerin izolasyonu ve tanısı. Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Iğdır, 94 s.
- Şeniz, V., 1992. Domates, Biber ve Patlıcan Yetiştiriciliği. Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı, Yayın No: 26, 174s.
- Teeraphatpornchai, T., Nakajima-Kambe, T., Shigeno-Akutsu, Y., 2003. Isolation and characterization of a bacterium that degrades various polyester-based biodegradable plastics. **Biotechnology Letters**, 25, 23–28.
- Tekman, H., 2005. Domateste Öz Nekrozuna Neden Olan Tanılamayan *Pseudomonas* spp. İzolatlarının Morfolojik, Fizyolojik, Biyokimyasal ve Serolojik Yöntemlerle Tanılanması ve Karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 52 s.
- Tokgönül, S., 1998. Ticari Domates Tohumlarında Bakteriyel Solgunluk Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis*)'nin 166 Etmeninin Saptanması ve Mücadele Olanakları Üzerine Araştırmalar. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, Doktora Tezi, 93s.
- TUİK, 2019a. Türkiye İstatistik Kurumu. (Web page: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>), (Erişim tarihi: Nisan 2020) ve
- TUİK, 2019b. Türkiye İstatistik Kurumu. (Web page: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>), (Erişim tarihi: Nisan 2020)
- Umesha, S. 2006. Occurrence of bacterial canker in tomato fields of Karnataka and effect of biological seed treatment on disease incidence. **Crop Protection**, 25: 375-381.

- Uysal, A., Kurt, Ş., Soylu, S., Soylu, E.M., Kara, M., 2019. Yaprığı yenen sebzelerdeki mikroorganizma türlerinin MALDI-TOF MS (matris destekli lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş süresi kütle spektrometresi) tekniği kullanılarak tanınması. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi**, 29(4), 595-601
- Ünlü, N., 2018. Bitkisel Ekstraktların Domates Bakteriyel Kanseri Hastalığı (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) üzerine antibakteriyel etkileri. Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Niğde, 71s.
- Üstün, N.; Saygılı, H., 2001. Pith necrosis on greenhouse tomatoes in Aegean region of Turkey. *11th Congre Mediterranean Phytopathological Union and 3rd Congre, 2001 Sociedade Portuguesa de Fitopatologia*, 17–20 September 2001, Evora, Portugal, pp.70-73.
- Validov, S., Kamilova, F., Qi, S., Stephan, D., Wang, J.J., Makarovaand, N., Lugtenberg, B., 2006. Selection of bacteria able to control *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in stonewool substrate. **Journal of Applied Microbiology**, 102,461-471.
- Vural, H., Eşiyok D., Duman, İ., 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 440 s,
- Woźniak M., Gałazka A., Tyśkiewicz R., Jaroszuk-Ścisł J., 2019. Endophytic bacteria potentially promote plant growth by synthesizing different metabolites and their phenotypic/physiological profiles in the Biolog GEN III microplate(TM) test. **International Journal of Molecular Sciences**, 20 (21): 5283.
- Yılmaz, S., 2005. Batı Akdeniz bölgesinde domates bakteriyel öz nekrozu hastalığında sebep olan *Pseudomonas corrugata* ve *Pseudomonas mediterranea* izolatlarının elde edilmesi, multiplex-PCR ve real time PCR (RT-PCR) ile hızlı tanınması. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Antalya, 65 s.

EKLER

EK 1.

Çiftçi Adı Soyadı		
Yetiştirilen Domates Çeşidi		
Üretim Alanı (da)		
Mahalle İsmi		
Üretim Alanında Hastalıklı Bitki Sayısı		
Üretim Alanında Görülen Hastalıklar		
Kullanılan İlaçlar		
Kullanılan Gübreler		
Günün Hangi Saatlerinde Seraya Giriyorsunuz?		
Hastalık Olduğunda Ne gibi Önlemler Alıyorsunuz		
Kültürel İşlemler Sırasında Eldiven kullanıyor musunuz?	A) Evet	B) Hayır
Dezenfeksiyon için Neler Yapıyorsunuz?		
Kıyafetlerinizi Hangi Sıklıkla Değiştiriyorsunuz?		
Toprak Dezenfeksiyonu İçin Toprağa ne tür İşlemler Yapıyorsunuz?		
İlaç ve Doz Önerisini Kimden Alıyorsunuz?	A) Zirai İlaç Bayi	B) İlaç Etiketinden
Bitki Koruma Açısından en önemli sorun Nedir?	A) Hastalık	B) Zararlı
Çiftçi Eğitim Durumu		
Dekar da ortalama ne kadar verim alıyorsunuz?		
Toprak Analizi Yaptırıyor musunuz?	A) Evet	B) Hayır
Bakırlı İlaçları Ne sıklıkla Kullanıyorsunuz?		
Kimyasal İlaçları Hangi Dönemde Uyguluyorsunuz?	A) Hastalığı görmeden atarım B) Hastalığı gördükten sonra atarım	C) Teknik elemanların Önerisi İle D) D)Komşuda görünce
Bitki Artıklarını Nasıl Yok Ediyorsunuz?	A) Seranın dışına atarım B) Sera da Bırakırım	C) Yakarım D) Gömerim
Kültürel İşlemler de Budama Makası Kullanıyor musuz?	A) Evet	B) Hayır
Serada Çalışan Kişi Sayısı Ne kadar?	A)2 B)3	C) 4 D) 5 ve daha fazlası

EK 2: TEZ ÇALIŞMASINDA KULLANILAN BESİ YERLERİ

Tez Çalışmasında Kullanılan Besi Yerleri

Nutrient Agar (NA): 20 g hazır NA (Merck) 1L saf su içinde çözdürülmüştür. Besi yeri cam şişeler içerisinde otoklavda 121°C’de 20 dakika steril edilmiştir ve 50°C’ye kadar soğutulduktan sonra sterilize kabin içerisinde petrilere dökülerek donmaya bırakılmıştır (Lelliot ve Stead 1987).

Nutrient Broth (NB): 8 g NB (Merck) 1 L saf su içerisinde çözdürülmüştür ve hazırlanan besi yeri otoklavda 121°C’de 20 dakika steril edildikten sonra soğumaya bırakılmıştır (Lelliot ve Stead 1987).

Tryptic Soy Agar (TSA): 20 g hazır TSA 1L saf su içinde çözdürülmüştür. Besi yeri cam şişeler içerisinde otoklavda 121°C’de 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir ve 50°C’ye kadar soğutulduktan sonra steril kabin içerisinde petrilere dökülerek donmaya bırakılmıştır (Klement et al.1990).

King’s Medium B (King B): 10 g Proteose Pepton, 10 g Tryptone, 10 ml Gliserin, 1.5 g K_2HPO_4 , 1.5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1L saf su içinde çözdürülmüştür ve ph 7.2’ye ayarlanmıştır. Hazırlanan besi yeri otoklavlanmak üzere cam şişelere eklenmiştir. Litreye 15 g Agar olacak şekilde şişelere eklenmiştir. Karışım 121°C’de 20 dakika süreyle otoklavda steril edilmiştir (King et al.1954).

Yeast Dekstroza Kalsiyum Karbonat Agar (YDCA): 10 g Yeast-extract, 20 g Glucose, 20 g $CaCO_3$, 15 g Agar 1L saf su içerisinde çözdürülmüştür. Besiyeri cam tüplere 9-10 ml olarak bölüştürülmüş ve kapakları kapatılmıştır. Ardından otoklavda 121°C’de 20 dakika süreyle sterilize edilmiş ve 50°C’ye kadar soğutulduktan sonra tüpler karıştırıcıda hafif karıştırıldıktan sonra besi yeri eğik şekilde donmaya bırakılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987).

Sakkaroz Nutrient Agar (SNA): 20 g hazır NA (Merck), 50g Sakkaroz 1 L su saf su içerisinde çözdürülmüştür. Otoklavda 121°C’de 20 dakika sterilizasyondan sonra besi yerleri steril kabin içerisinde petrilere dökülerek donmaya bırakılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987).

Thornley 2A Besi Yeri: 1g Proteose Pepton (Acumedia), 5g NaCl (Merck), 0.3 g K_2HPO_4 (Merck), 3g Agar (Merck), 0,01 g Phenol red, 10g L-Arginine ortam içeriği agar dışında tartılıp üzerine 1L saf su eklendikten sonra manyetik karıştırıcı (1500 rpm hızda ve 55 °C) yardımı ile karıştırılmış, pH 7.2' ye ayarlanmış ve agar ilavesinden sonra homojenize edilmiştir. Homojenize edilmiş karışımdan 4,5 ml pipet yardımı ile alınarak cam tüplere paylaştırılmış ve 121 °C'de 20 dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

Nişastanın Hidrolizi: 20 g hazır NA (Merck), 2g Eriyebilen nişasta 1L saf su içerisinde çözünmüştür. Karışım 121 °C'de 20 dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiştir.

Lugol Solusyonu: 1 g Iodine ve 2g Potassium İodide 300 ml saf su içerisinde çözünmüştür (Lelliot ve Stead, 1987).

İndol Üretim Testi: 1L saf su içerisine 10 gr Tryptone (sigma) ve 5 g Yeast extract (Merck) eklenerek hazırlanan karışım özünönceye kadar karıştırılmış ve pH 7,4 olarak ayarlanmıştır. Elde edilen karışımdan 5 ml tüplere aktarılarak 121°C'de 15 dk otoklavda steril edilmiştir (Dickey ve Kelman, 1988).

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Mehmet SERİN
Uyruğu: Türkiye (T.C)
Doğum Tarihi ve Yeri: 01.01.1995- Silifke.
Medeni Durum: Bekar
e-mail: mserin349@gmail.com
Yazışma Adresi: mserin349@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Bitki Koruma	2020
Lisans	Erciyes Üniversitesi, Bitki Koruma	2018
Lise	Anadolu Teknik Lisesi, Bilişim Teknolojileri Silifke / Mersin	2013

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2020	Bayer Türk Kimya Sanayi Limited Şirketi	8 ay
2017	Hektaş Ticaret A.Ş	3 ay

YABANCI DİL

İngilizce