ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet Ali GÜL

ADANA'DA DOMATESTE GÖRÜLEN BAKTERİYEL BENEK HASTALIĞININ BAKIRLI PREPARATLARA DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2019

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ADANA'DA DOMATESTE GÖRÜLEN BAKTERİYEL BENEK HASTALIĞININ BAKIRLI PREPARATLARA DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Mehmet Ali GÜL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu Tez 12/04/2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

……..…	……..…….	…...……...……..…
Prof. Dr. Yeşim AYSAN	Prof. Dr. Mustafa MİRİK	Doç. Dr. D.Soner AKGÜL
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof.Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ADANA'DA DOMATESTE GÖRÜLEN BAKTERİYEL BENEK HASTALIĞININ BAKIRLI PREPARATLARA DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Mehmet Ali GÜL

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
YIL:2019, Sayfa: 41
Juri : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
: Prof. Dr. Mustafa MİRİK
: Doç. Dr. D.Soner AKGÜL

Pseudomonas syringae pv. *tomato* (*Pst*)'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığı domatesin en önemli tohum kaynaklı bakteriyel hastalıklarından biridir. Adana ilinin Karataş ilçesinde son beş yıldır aynı tarlalarda görülen hastalık üreticinin ana sorunlarından biri durumundadır. Üreticiler bu hastalığın mücadelesinde bakırlı preparatların yetersiz olduğunu beyan etmektedir. Bu çalışmada, Adana ilinin Karataş ilçesinden izole edilen patojen bakteri izolatıyla yapılan denemelerde, dört farklı bakırlı preparatın ve bir bitki gelişim düzenleyicinin bu hastalığa etkisi araştırılmıştır. *In vitro*'da Bakır sülfat, Bakır oksiklorür, Bakır hidroksit ve Bakır+Mancozeb *Pst*'ye antibakteriyel etki göstermiştir. Harpin proteinin antibakteriyel etkisi bakırlı preparatlara kıyasla daha az olarak değerlendirilmiştir. *In vivo*'da Bakır sülfat, Bakır oksiklorür, Bakır hidroksit, Bakır+Mancozeb ve Harpin proteini bitkinin yeşil aksamına püskürtüldüğünde *Pst*'nin neden olduğu hastalık %53.3-86.9 oranında engellenmiştir. Bakır sülfat ve Bakır oksiklorür en başarılı uygulama olarak saptanmıştır. Bakır uygulamaları domatesin gelişimi üzerine herhangi bir olumsuz etki yapmamıştır. Sonuç olarak, bu hastalığın mücadelesinde halen bakırlı preparatların kullanılabileceği belirlenirken üreticilerin doğru zamanda ilaçlama yapamadıkları kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelime: Domates, Antibakteriyel etki, Bakırlı Preparatlar, Yeşil aksam uygulamaları

ABSTRACT

MSc THESIS

THE INVESTIGATION OF COPPER SUSCEPTIBILITY OF BACTERIAL SPECK DISEASE SEEN IN TOMATOES IN ADANA

Mehmet Ali GUL

CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor : Prof. Dr. Yesim AYSAN
Year:2019, Pages: 41
Jury : Prof. Dr. Yesim AYSAN
: Prof. Dr. Mustafa MIRIK
: Assoc. Prof. Dr. D. Soner AKGUL

Bacterial speck disease caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*) is one of the most important seed-borne bacterial diseases of tomato. Producers declare that copper preparations are insufficient in the fight against this disease. In the study, the antibacterial effects of four different copper containing preparats and a plant growth regulator were investigated *In vitro* and *In vivo* in experiments with pathogen bacteria isolates obtained from Karataş district of Adana province. Copper sulphate, Copper oxychloride, Copper hydroxide and Copper + Mancozeb showed antibacterial effect against to Pst in *In vitro*. The antibacterial effect of Harpin protein was evaluated as less compared to copper containing preparats in *In vitro*. Copper sulfate, Copper oxychloride, Copper hydroxide, Copper + Mancozeb and Harpin proteins were sprayed on the green parts of the plant and the disease caused by Pst was inhibited by 53.3-86.9% in *In vivo*. Copper Sulphate and Copper oxychloride have been deternminated as the most successful applications. Copper applications had no negative effect on tomato plants. As a result, while it was determined that copper preparations could still be used in the struggle of this disease, it was concluded that the producers could not apply the drugs at the right time.

Keyword: Tomato, Copper Containing Preparats, Antibacterial Effect, Foliage Applications

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Domates (*Solanum lycopersicum* L), dünyada ve ülkemizde en fazla yetiştiriciliği yapılan ve ekonomik öneme sahip bir bitkidir. Domatesin verim ve kalitesi fungal, bakteriyel ve viral etmenlerin neden olduğu biyotik ve abiyotik etmenler tarafından olumsuz yönde etkilenir (Arshad ve ark., 2014).

Domateste sorun olan önemli bakteriyel hastalıklar içerisinde *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'(*Pst*) nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığı, farklı *Xanthomonas* türlerinin (*X. euvesicatoria, X. vesicatoria, X. gardneri*, X. perforans) neden olduğu Bakteriyel Leke Hastalığı, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganenesis*'in ve *Ralstonia solanacearum*'un neden olduğu Bakteriyel Solgunluk Hastalığı, *Pectobacterium* ve *Dickeya* türlerinin neden olduğu Yumuşak Çürüklük Hastalığı, farklı *Pseudomonas* türlerinin (*P. corrugata, P. cichorii, P. mediterranea, P. viridiflava, P. fluorescens*) neden olduğu Öz Nekrozu Hastalığı yer almaktadır (Agrawal ve ark., 2012; Jones ve ark., 2014).

Bu çalışmanın ana konusunu oluşturan Domates Bakteriyel Benek Hastalığı dünyada ilk kez 1933 yılında Tayvan ve ABD'de tanılanmıştır (Miller ve Jones, 2014). Domates üretiminin yapıldığı birçok ülkede varlığı tespit edilmiş ve önemli bakteriyel hastalıklar arasında yerini almıştır. *Pst*'nun neden olduğu hastalık, domates bitkisinin gövde, yaprak, sap, çiçek ve meyve sapları gibi tüm toprak üstü aksamlarında kahverenginden siyaha kadar değişen renkte lekeler, meyvelerde ise çapları 1 mm'yi geçmeyen yüzeysel kabarcıklar şeklinde simptomlara neden olmaktadır. Bakteri bitkinin içinde sistemik ilerlemese de tohuma yerleşir farklı alanlara bulaşık tohum veya fideyle bulaşır (Aysan ve Saygılı, 2008; Miller ve Jones, 2014). Ticari fideliklerde gerekli önlemler alınmadığı takdirde ciddi fide kayıplarına neden olur (Aysan ve ark., 2004; Basım ve ark., 2004).

Adana ilinin Karataş ilçesinde tarlada yapılan domates üretiminde son yıllarda bu hastalığın üreticinin ana sorunlarından biri olduğu tespit edilmiştir. Üreticiler farklı bakırlı preparatları uygulasalar bile hastalığı yeterli düzeyde baskılayamadıklarını beyan etmektedirler. Bu bağlamda iki soru akla gelmektedir: (1) üreticiler bu hastalığın mücadelesinde bakırlı preparatları doğru zamanda uygulamamıştır veya (2) bu yörede hastalık etmeni bakırlı preparatlara direnç geliştirmiştir. Bu tez çalıması kapsamında, Adana ilinin Karataş ilçesinden izole edilen patojen bakteri izolatlarıyla yapılan denemelerde, Bakır sülfat, Bakır oksiklorür, Bakır+Mancozeb ve Bakır hidroksit preparatlarının ve bitki gelişim düzenleyici Harpin proteininin etkisi *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırılmıştır.

Bakırlı preparatların *in vitro* koşullarda antibakteriyel etkisi besi yerine bakırlı preperatların eklenmesi yöntemiyle belirlenmiş. Dört farklı tarladan izole edilen *Pst* izolatlarıyla yapılan denemelerin sonucunda bakır sülfat eklenen besi yerlerinden, 30, 60 ve 90 µg/ml dozlarında bakteri geişimi gözlenirken, 120 ve 150 µg/ml dozlarında patojen gelişimi gözlenmemiştir. Bu durum Adana ilinin Karataş ilçesinden izole edilen patojenin bakıra direnç geliştirmediğini göstermektedir.

İklim odasında saksı denemelerinde, ticari bakırlı preparatların (Bakır sülfat, Bakır oksiklorür, Bakır+Mancozeb, Bakır hidroksit) ve hastalıklara dayanıklılığı uyaran bir bitki gelişim düzenleyici olan Harpin proteini'nin bitkiye püskürtülmesiyle Bakteriyel Benek Hastalığı %53.3-86.9 oranında baskılanmıştır. İstatiksel olarak incelendiğinde, uygulamaların tümü hastalığa etki eden başarılı uygulamalar olarak değerlendirilmiştir. Bakır sülfat ve Bakır oksiklorür uygulamaları sırasıyla %86.9 ve %83.6 etki oranlarıyla en başarılı uygulamalar olarak saptanmıştır. Bunların ardından %81.1 oranında hastalığı baskılayan diğer bir etkili uygulama olarak Bakır+Mancozeb gelmektedir. Bakır hidroksit püskürtmesi ise %71.3 oranında hastalığı engelleyen diğer bir başarılı uygulama olmuştur. Çalışmamızda karşılaştırma uygulaması olarak denemelere dahil edilen Harpin proteini, hastalığı %53.3 oranında baskılamıştır. Hiçbir uygulama domates gelişimine herhangi bir olumsuz etki de yapmamıştır. Sonuç olarak, Adana ilinin

Karataş ilçesinde tarlada domates üretimi yapan çiftçilerin bu hastalığın mücadelesinde bakırlı preparatları doğru zamanda uygulamadığı saptanmıştır.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmamın her evresinde yardımlarını esirgemeyen, bana her daim yol gösteren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yeşim AYSAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yüksek Lisans Jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. Mustafa MİRİK ve Sayın Doç. Dr. D.Soner AKGÜL hocalarıma teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Yüksek Lisans çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü değerli hocalarına ve personeline, ayrıca sera çalışmaları süresince her türlü gayretli yardımlarını benden esirgemeyen Bitki Koruma Bölümü arazi çalışanları Cemal YILDIZ ve Vahdettin CANBOLAT'a; çalışmamda kullandığım fidelerin temininde her zaman bana yardımcı olan güler yüzüyle desteğini esirgemeyen Altas Fide temsilcilerinden Özlem ÖZMEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek Lisans eğitimim esnasında çok değerli yardımlarını gördüğüm, çalışmalarım boyunca bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen Dr. Öğr. Üye. Feray KARABÜYÜK'e ve Dr. Raziye ÇETİNKAYA-YILDIZ'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca benden desteklerini esirgemedikleri gibi yüksek lisans çalışmam boyunca da her zaman beni destekleyen biricik annem Kadriye GÜL ve babam İhsan GÜL olmak üzere ailemin tüm fertlerine, bana sonsuz manevi destek olan sevgili eşim Av. Zeynep İpek GÜL'e destek ve sabrı için en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET III
TEŞEKKÜR VII
İÇİNDEKİLER VIII
ÇİZELGELER LİSTESİ X
ŞEKİLLER LİSTESİ XII
SİMGELER VE KISALTMALAR XIV
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 9
3. MATERYAL VE METOD 15
3.1. Materyal 15
3.2. Metod 16
3.2.1. Hasta Bitkilerinin Toplanması, Patojen Bakteri İzolasyonu ve Tanısı 16
3.2.2. Bakırlı Preparatların *Pseudomonas syringae* pv. *tomato'ya In vitro*'da Etkisi 17
3.2.3. Bakırlı Preparatların *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya *In vivo*'da Etkisi 18
4. BULGULAR 21
4.1. Hasta Bitkilerinin Toplanması, Patojen Bakteri İzolasyonu ve Tanısı 21
4.2. Bakırlı Preparatların *Pseudomonas syringae* pv. *tomato'ya In vitro*'da Etkisi 23
4.3. *In vivo*'da Bakırlı Preparatların Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi 25
5. TARTIŞMA 29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 31
KAYNAKLAR 33
ÖZGEÇMİŞ 41

ÇİZELGELER LİSTESİ **SAYFA**

Çizelge 4.1. Bakır sülfatın farklı dozlarının patojen bakteri gelişimine etkisi 24
Çizelge 4.2. Farklı Bakırlı preparatların *in vitro*'da patojen gelişimine etkisi 24
Çizelge 4.3. Bakırlı Preparatların Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi.....26

ŞEKİLLER LİSTESİ **SAYFA**

Şekil 1.1. Domateste *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun oluşturduğu hastalık belirtileri 3
Şekil 3.1. Saksı denemeleri 19
Şekil 3.2. Saksı denemelerinde *Pst* için kullanılan 0-5 skalası 20
Şekil 4.1. Adana ili Karataş ilçesinde, domates tarlasında görülen Bakteriyel Benek Hastalığı 22
Şekil 4.2. Bakteriyel Benek Hastalığının yaprak alanı ve kenarlardaki yanıklık belirtileri 22
Şekil 4.3. Patojenite testinde domates fidelerinde bakteriyel benek belirtileri 23
Şekil 4.4. Petri denemeleri 25
Şekil 4.5. Bakırlı preparatların Bakteriyel Benek Hastalığına etkisi 26
Şekil 4.6. Uygulamalar sonucu ortaya çıkan hastalık belirtileri 27
Şekil 4.7. Pozitif kontrol ve bakır sülfat uygulamasında ortaya çıkan hastalık belirtileri 28
Şekil 4.8. Yeşil aksama uygulanan bitki ekstraktlarının sonucunda bitkilerde ortaya çıkan hastalık şiddeti seviyeleri 28

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
cm	: Santimetre
LSD	: Least Significant Difference
l	: Litre
µl	: Mikrolitre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mmol	: Milimol
Pst	: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*
pv.	: Pathovar
subsp.	: subspecies
TSA	: Tryptic Soy Agar
ºC	: Santigrat derece
%	: Yüzde
Cu^{+2}	: Bakır İyonları
kb	: Kilobase

1. GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicum*) Solanacea familyasından anavatanı güney ve orta Amerika olan, meyvesi yenilebilen otsu bir bitki türüdür (Anonim, 2019). Dünya Tarım ve Gıda Örgütünün 2017 yılı verilerine göre 182.3 milyon ton domatesin 12.75 milyon tonu ülkemizde üretilmektedir (Anonymous, 2017). Domates üretiminde 2. Sırada olan ülkemizde hemen hemen her yörede sera ve açık alanda yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ekonomik olarak önemli bir ürün olan domates biyotik ve abiyotik etmenlerden kaynaklanan ürün kayıpları meydana gelmektedir.

Funguslar, bakteriler, fitoplazmalar, spiroplazmalar, virüsler ve viroidler bitkilerde hastalık yapan mikroorganizlardır. Yaklaşık 400 adet bakteri türü farklı konukçu bitkilerde yanıklık, solgunluk, yaş çürüklük ve doku anormalliği hastalıklarına neden olarak ürün kayıpları oluşturur. Bitki patojeni bakteri türlerinin verdiği ekonomik zarar ve kayıplar göz önüne alınarak bir sıralama yapıldığında *Pseudomonas syringae* adlı bakteri türü ilk sıraya yerleşir (Mansfield ve ark., 2012). Bu hastalık etmeni ılıman iklime sahip ve bol yağış alan yerlerde yaygın olarak görülür *Pseudomonas syringae* pathovarları çeşitli toksinler üreterek konukçusunda yaprak lekeleri, yaprak yanıklıkları, çiçek yanıklıkları, dal ve sürgünlerde yanıklık belirtilerine neden olur. Patojen bakteri uygun olmayan mevsimlerde ağaçların kabuk altı dokusunda, tohumda, toprakta, topraktaki bitki artıklarında ve yabancı otlarda/civardaki konukçu bitkilerde yaşamlarını devam ettirir (Gaignard ve Luisetti, 1993; Mansfield ve ark., 2012).

Pseudomonas syringae'nin farklı bitki türlerini hastalandıran 55 farklı pathovarının olduğu bilinmektedir. Bu pathovarlardan biri domateste hastalık yapan *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'dur. Etmenin domateste neden olduğu hastalık Bakteriyel Benek veya Bakteriyel Kara Leke olarak adlandırılır. Koronatin adlı toksini üreterek domates yapraklarında benek şeklinde lekelere, çiçek yanıklıklarına ve gövdede kara lekeye neden olur (Şekil 1.1). Meyvelerde ise toplu

iğne başını andıran yüzeysel kabarcıklar şeklinde belirtiler oluşur. Patojen bakteri, bitkinin iletim demetlerinde bulunmasa (Jones ve ark., 1991) da tohum çıkarımı esnasında tohuma yerleşir ve farklı alanlara bulaşık tohum veya fide kullanımıyla bulaşır (Aysan ve ark., 2008; Miller ve Jones, 2014). Bu hastalık en önemli zararını tohum kökenli enfeksiyonlardan dolayı fide döneminde yapar. Ticari fideliklerde ortaya çıktığında ciddi fide kayıpları meydana gelir.

Hastalık ilk kez 1933 yılında Tayvan ve ABD'de varlığı rapor edilmiştir (Miller ve Jones, 2014). Sadece domatesi hastalandıran *Pseudomonas syringae* pv. *tomato,* domates üretimi yapan ülkelere bulaşık tohumlarla yayılmıştır. Bazı yıllar uygun iklim şartlarında, bulaşık tohumlarla yoğun inokulum girişi olmuşsa hastalığın salgın durumuna geldiği bilinmektedir (Aysan ve ark., 2005). Bu hastalık ülkemizde ilk defa 1970'li yıllarda Ege (Saygılı, 1975) ve Akdeniz Bölgesi'nde (Çınar, 1977) ortaya çıkmış 2000'li yıllarda Doğu Anadolu Bölgesinde (Sahin, 2001) ve Akdeniz Bölgesi'nde fideliklerde (Aysan ve ark., 2004; Basım ve ark., 2004) sorun olduğu farklı araştırıcılar tarafından ortaya konmuştur.



Şekil 1.1. Domateste *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun oluşturduğu hastalık belirtileri

Bu hastalığın mücadelesinde ilk adım sağlıklı üretim materyali kullanmaktır (Horuz ve ark., 2018). Üretim alanına hastalığın bulaşmasını önleyecek tedbirler alınmalı ve bitki dengeli gübrelenerek hastalıklara karşı daha

dayanıklı olmaları sağlanmalıdır. Üretim alanında kültürel işlemlere, temizlik önlemlerine dikkat edilmeli, budama ve kültürel işlemlerden sonra koruyucu olarak bakırlı preparatlar uygulanmalıdır. Bitkinin hastalıklara dayanıklılıklarını artırmada bitki aktivatörleri, farklı bitki ekstraktları (Karabuyuk ve Aysan, 2015) ve biyolojik mücadele elemanlarından (Aysan ve Çınar, 2002; Cemen ve ark., 2018) destek alınmalıdır. Eğer üretim alanına bir şekilde hastalık bulaşmışsa, hastalıklı bitkiler üretim alanından hemen uzaklaştırılmalıdır. Budama, koltuk alma gibi işlemler esnasında eller ve makaslar hipolu suyla dezenfekte edilmeli, bakırlı preparatlarla kimyasal mücadeleye başlanmalıdır. Üretim sezonu sonunda topraktaki bakteri populasyonunu azaltmak için ya da yok etmek için seralarda solarizasyon (Erkılıç ve ark., 1994; Aysan ve Cinar, 2000) gibi uygulamalar başarı sağlamaktadır.

Domateste görülen bakteriyel hastalıklara karşı etkin bir mücadele sağlamak için, yapraklarda hastalık belirtileri görülür görülmez bakırlı preparatlarla ilaçlamalara başlanması (Goode ve Sasser, 1980) 7-14 gün aralıklarla ilaçlamaların sürdürülmesi, dolu, yağış ve fırtınalı havaların hemen ardından ilaçlamaların tekrarı (Jardine ve Stephens, 1987) önerilmektedir. Örneğin ABD'nin Florida eyaletinde domates üretim alanlarında bir sezonda yaklaşık 15 kez bakırlı preparatlarla ilaçlama yapılmaktadır (Pernezny ve ark., 1995). Bakırın fazla ve yanlış kullanımı sonucu bakteriler bu kimyasala karşı direnç geliştirebilmekte ve bakıra duyarlılık azalışları ortaya çıkmaktadır. Hastalığın endemik olarak hemen hemen her yıl ortaya çıktığı alanlarda bakıra duyarlılığın azalması karşılaşılan bir durumdur. Bu nedenle bu dirençli popülasyon üretim alanına yayıldığında bakterinin genomunda değişiklik olduğundan bu durum nesiller boyu devam etmektedir. Hatta bu patojen bakterinin tohumla farklı ülkelere yayıldığı göz önüne alınırsa, bakıra dirençli patojen popülasyonu farklı ülkelere de yayılma olasılığı vardır.

Bakırlı preparatların geçmişini incelediğimizde, 1880'li yıllarda Pierre Marie Alexis Millardet isimli Fransız biyolog tarafından Fransa'nın Bordo bölgesinde asmalardaki mildiyö hastalığının mücadelesi için geliştirildiği

bilinmektedir. Bakır sülfat, sönmüş kireç ve su karıştırılarak hazırlanan bu ilk fungisite "Bordo Bulamacı" adı verilmiş ve o tarihten bugüne kadar, hem organik hem de geleneksel üretimlerde bakteriyel ve fungal hastalıklardan korunmak için kullanılmaktadır. Etkisi içindeki bakır iyonlarından (Cu^{+2}) kaynaklanmaktadır. Bitki yüzeyindeki suda çözünen bakır iyonları fungal ve bakteriyel etmenlere etki eder. Bordo bulamacı tedavi edici değil sadece koruyucu özellikte bir fungusittir. Bakır iyonlarının etki mekanizmasından dolayı fungal etmenlerin bakıra direnç geliştirmesi bugüne kadar rastlanmış bir durum değildir. Ancak bu preparatların yanlış kullanımı sonucu, bakterilerin bu metale direnç geliştirmesi üzerine pek çok yayın bulunmaktadır.

ABD'nin Kaliforniya eyaletinde bakteriyel benek hastalığına neden olan *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun bakıra dayanıklı izolatları belirlenmiş ve bu hastalığa karşı mücadelede bakırlı preparatların etkisizliği saptanmıştır (Cooksey, 1990). *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatlarında bakır dayanıklılığının plasmit kaynaklı olduğu göstermiştir (Bender ve Cooksey, 1987).

Bakteriler yanlış dozda bakır kullanımı sonucu, adaptasyon yoluyla bakıra direnç geliştirmişse bu durum bakterinin genlerinden kaynaklanmadığından, bir süre sonra uygun dozda bakır kullanıldığında bakteri tekrar bakıra duyarlı hale gelir. Ancak yoğun bakır kullanımı sonucu bakterinin genomunda değişiklik olmuşsa bakteri tekrar bakıra duyarlı hale maalesef gelemez. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun bakıra duyarlılık azalışı plazmitlerle bulunan genlerle yönetildiği ortaya konmuştur (Bender ve Cooksey, 1987; Bondarczuk ve Piotrowska-Seget, 2013; Lamichhane ve ark., 2018). Farklı bakteri türleriyle yapılan çalışmalar sonucunda, bakterilerde bakıra direnç geliştirmede veya duyarlılık azalışında etki eden beş ana mekanizmanın olduğu kanıtlanmıştır (Yin ve ark., 2017; Lamichhane ve ark., 2018). Bu beş mekanizma aşağıda sıralanmıştır.

1. *copA* genleri tarafından yönetilen, bir direnç mekanizması olan efflux ATPaz pompa sistemiyle bakır iyonları bakteri sitoplazmasından periplazmik boşluğa atılır (Rensing ve Grass, 2003),

2. *cus* sistemi olarak adlandırılan, *cusA* genleri tarafından yönetilen bu sistemde, bakırın bakteri hücresi içine taşınması engellenir (Outten ve ark., 2001);
3. *pco* sistemi olarak adlandırılan, bakır oksidasyonundan sorumlu multibakır oksidaz proteinlerinin bakırı periplazmik boşluğa gönderdiği sistem (Rouch ve Brown, 1997);
4. *cueO* sistemi olarak adlandırılan, bakır direncinden sorumlu ana mekanizma olan ve *Escherichia coli*'de de bulunan bu sistemde, multibakır oksidaz proteinleri yine bakırı periplazmik boşluğa gönderir (Outten ve ark., 2001; Rensing ve Grass, 2003);
5. *tcrB* sistemi olarak adlandırılan, *Enterococcus faecium*'da bulunan bu sistemde, ağır metal taşıyıcıları CPX-type ATPaz ile ilişkili olarak görev yapar (Henrik ve Frank, 2002).

Eğer bir ülkede bakıra dirençli bakteri popülasyonu varsa bu bakterinin neden olduğu bakteriyel hastalıkların yönetiminde bakırlı preparatların kullanımı etkisiz olacaktır. Bu nedenle bakırlı preparatların kullanıldığı halde etkin bir mücadelenin sağlanamadığı alanlarda araştırmalar yapılarak bakıra direnç veya duyarlılık azalışı sorunun olup olmadığının ortaya konulması gerekir. Ardından uygun mücadele stratejilerinin uygulanması gerekir.

Doğu Akdeniz Bölgesinde Adana'nın Karataş ilçesinde açık alanda Mart-Haziran ayları arasında domates üretimi yapılmaktadır. Bu yörede *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığı sorunuyla hemen hemen her yıl karşılaşılmaktadır. Domates üretim sezonu boyunca fungal ve bakteriyel hastalıkların mücadelesinde bakırlı preparatlar başta olmak üzere pek çok pestisit kullanmaktadır. Bunlar yeşil aksama püskürtme yapıldığı gibi bulamaç haline getirilerek gövdeye sürüldüğü ve tavsiye edilen dozun çok üzerine çıkıldığı yapılan arazi gözlemleriyle saptanmıştır. Üreticilerin pek çoğu önerilen dozda ve 7-10 gün aralıklarla yapılan bakır uygulamalarının yetersiz kaldığını belirtmektedir.

Bu durum bakıra karşı bakteriyel patojenlerin duyarlılığının azaldığı veya üreticilerin doğru zamanda uygun bakırlı preparatları kullanmadıkları düşüncelerini akla getirmektedir. Bu bağlamda, domates yetiştirilen alanlardan hasta bitki örnekleri toplanarak patojen bakteri izolasyonu yapılmış ve etmenin bakıra duyarlılık düzeyini ortaya koymak bu çalışmada amaçlanmıştır. Ayrıca dört farklı bakırlı preparatın *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığına etki düzeyi araştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda, etkin hastalık yönetimi için uygun mücadele stratejilerini belirlemek hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Adaskaveg ve Hine (1985) ABD'nin Arizona eyaletinde ve Meksika'da biber yetiştirilen tarlalarda bakteriyel leke belirtilerinden izole ettikleri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* izolatlarının bakıra duyarlılık durumunu araştırdıklarında Arizona izolatlarının bakıra duyarlıyken Meksika izolatlarının bakıra direnç geliştirdiğini saptamışlardır. Sera koşullarında, Meksika izolatlarıyla yapılan etkinlik denemelerinde, farklı bakırlı preparatların etkisiz olduğu buna karşın zineb içerikli kimyasalların başarılı olduğunu bildirmişlerdir.

Sundin ve ark., (1989) ABD'nin Michigan eyaletinde 1987 ve 1988 yıllarında 12 farklı kiraz (*Prunus avium* L) ve vişne (*P. cerasus* L) bahçesinden izole edilen 137 adet *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* izolatının bakıra direnç durumunu araştırmışlardır. Çalışmada, 1987 yılında elde edilen 17 izolatın ve 1988 yılında elde edilen 29 izolatın bakıra dirençli olduğu ve bu özelliğin bakterinin plazmitiyle ilgili olduğunu bildirmişlerdir.

Cooksey (1990) ABD'nin Kaliforniya eyaletinde bakteriyel benek hastalığına neden olan *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun bakıra dirençli izolatlarını tespit etmiş ve bu hastalığa karşı mücadelede bakırlı preparatların etkisizliğinin nedeni olarak bu durumu göstermiştir.

Ritchie ve Dittapongpitch (1991) ABD'nin Kuzey Karolina eyaletinde dört yıl boyunca bakteriyel leke hastalığıyla bulaşık 32 adet domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ve biber (*Capsicum annuum* L) tarlalarından izole edilen 70 adet *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* izolatının bakıra ve streptomisine direnç durumunu araştırılmıştır. İzolatların %63'ünün bakıra ve %30'unun streptomisine dirençli olduğu belirlenmiştir. Streptomisine dirençli izolatların tümünün bakıra da dirençli olduğu saptanmıştır.

Pernezny ve ark., (1995) Çek Cumhuriyeti ve Slovakya'da 1992 ve 1993 yılları arasında hasta domates bitkilerinden izole edilen 89 adet *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ve 28 adet *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* izolatının

bakıra direnç durumunu araştırmışlardır. Doğu Avrupa'dan toplanan izolatlar ABD'nin Florida eyaletindeki laboratuvarda incelenmiş ve sonuçlar yorumlanmıştır. ABD'nin Florida eyaletinde bir domates üretim sezonunda yaklaşık 15 kez bakırlı preparatlarla ilaçlama yapılırken bu sayı Çek Cumhuriyeti ve Slovakya'da sadece iki veya üç olmaktadır. Bu nedenle Doğu Avrupa izolatlarını bakıra dirençli bulmamışlardır. Ancak birkaç izolatın streptomisine dirençli olduğunu ve bu izolatların bakıra duyarlılığında azalış olduğunu bildirmişlerdir. Çek Cumhuriyeti ve Slovakya'da patojen bakteri popülasyonunun bakıra direnç geliştirmemesi için gereksiz ilaçlamadan kaçınılması gerektiği ve bakırla maneb veya mancozeb içerikli preparatların birlikte kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Benlioğlu ve Benlioğlu (1998) Ege Bölgesi'nden izole edilen 33 adet *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatlarının bakırlı preparatlar (bakır oksiklorür, bakır oksit, bakır hidroksit) ve ethylenebis-dithiocarbamate'lı fungisitlere (maneb ve mancozeb) karşı direnç durumunu araştırmışlardır. Tüm izolatların 4.8 gr/l bakıra dirençli olduğunu ve bakırın daha yüksek dozlarına da değişen oranlarda direnç oluştuğunu belirtmişlerdir.

Scheck ve Pscheidt (1998) ABD'nin Oregon eyaletindeki süs bitkileri üreten fidanlıklardan 1995-1997 yılları arasında hasta leylak (*Syringa vulgaris* L.) bitkilerinden izole ettikleri bakıra dirençli ve duyarlı olan *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* izolatlarına farklı bakırlı preparatların etkisini araştırmışlardır. Çalışmada metalik bakır oranı %6-50 arasında değişen, farklı formülasyonlarda hazırlanmış 14 bakırlı preparat kullanılmıştır. Bakteriyel izolatların yarısında bakıra duyarlılığın azaldığını ancak dirençli popülasyonun olmadığını bildirmişlerdir.

Cazorla ve ark., (2002) İspanya ve Portekiz'de hasta mango ağaçlarından izole edilen 117 adet *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* izolatının %59'unun bakır sülfata dirençli olduğunu saptamışlardır. Çalışmada, *copABCD* primerleriyle yapılan moleküler analizlerde bakır sülfata dirençli popülasyonun çoğunun 62-

kb'lık plazmit tipiyle ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. İspanya ve Portekiz'de mangolarda sorun olan yanıklık hastalığının mücadelesinde kullanılan bakır sülfatın etkisinin istenilen düzeyde olmama nedeninin bu dirençli popülasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Martin ve ark., (2004) Avustralya'da pek çok biber üreticisi 12 hafta boyunca önerilen dozda bakır sülfat kullanmalarına rağmen *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'nın neden olduğu bakteriyel leke hastalığıyla yeterli şekilde mücadele edemediklerini bildirmiştir. Farklı biber tarlalarından 1999 ve 2000 yıllarında toplanan izolatların tümü, besi yerinde en yüksek bakır sülfat dozunda gelişmiştir. Bu çalışmayla, Avustralya'da bakıra dirençli *Xanthomonas* popülasyonun varlığı rapor edilmiştir.

Mirik ve ark., (2007) Türkiye'nin Doğu Akdeniz Bölgesinde Adana ve Osmaniye illerinde 2002-2004 yılları arasında biberlerden izole ettikleri 67 adet *Xanthomonas axonopodis* (syn: *campestris*) pv. *vesicatoria* izolatının bakır sülfata duyarlılık durumunu petri denemeleriyle araştırmışlardır. İzolatların tümü 100 µg/ml dozundaki bakır sülfata ve 20 µg/ml dozundaki streptomisine dirençli bulunmuştur.

Araújo ve ark., (2012) Brezilya'da *Xanthomonas euvesicatoria, X. vesicatoria, X. perforans* ve *X. gardneri*'nin neden olduğu domateste bakteriyel leke hastalığının mücadelesinde kullanılan bakırlı bileşiklerin yetersiz olduğu tespitinden sonra farklı tarlalardan izole edilen 94 *Xanthomonas* izolatının bakıra olan duyarlılığını (duyarlı, nisbeten duyarlı, dirençli, çok dirençli) ortaya koymuşlardır. Bakır sülfata çok dirençli herhangi bir izolat tespit edilmemiştir. Sadece *X. euvesicatoria* ve *X. perforans* izolatları bakıra duyarlı bulunmuştur. Bazı tarlalarda *X. perforans* izolatlarının bakıra duyarlı ve dirençli popülasyonlarının karışımı tespit edilmiştir.

Aiello ve ark., (2015) İtalya'nın Sicilya adasında 2010 ile 2014 yılları arasında mangodan (*Mangifera indica*) izole edilen 71 adet *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* izolatları arasında *cusCBA* genleri içeren bakıra dirençli izolatların

varlığını belirlemişlerdir. Toplam 71 izolatla yapılan çalışmada, 44 izolatın oldukça yüksek dozdaki bakıra dirençliyken, 16 izolat bakıra dirençli, 11 izolatın ise bakıra direnç geliştirmeye başladığı saptanmıştır. Bahçelerde kullanılan bakırlı preparatların hastalık mücadelesinde yetersiz olma nedeninin bakıra dirençli bu popülasyonlardan kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Abbasi ve ark., (2015) Kanada'nın Ontario eyaletinde domates yetiştirilen 18 tarladan bakteriyel leke hastalığı belirtisi gösteren hasta bitkilerden 96 adet *Xanthomonas* izolatı elde etmiş ve bunların bakıra direncini petri denemeleriyle araştırmışlardır. Farklı konsantrasyonlarda bakır içeren MGY besi yerinde yapılan çalışmada, 11 izolat bakıra karşı duyarlı bulunurken 87 izolatın 1 mmol/l veya daha yüksek konsantrasyonlarda bakıra dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Domates tarlalarında bu hastalığın etkili mücadelesini yapabilmek için öncelikle bakıra duyarlılık düzeyinin belirlenmesi gerektiği, ardından bakıra direnç geliştirmemiş popülasyona karşı bakırlı preparatların kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir. Bakıra dirençli popülasyonun bulunduğu alanlarda ise bakırlı preparatlara alternatif mücadele programlarının oluşturulması gerektiğini vurgulamışlardır.

Behlau ve ark., (2017) Latin Amerika ülkelerinde lahanagillerde bakteriyel leke hastalığına neden olan *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*'in farklı izolatlarını toplamışlar ve bakıra direnç durumunu araştırdıklarında plazmit kökenli direnç geliştirmiş izolatları tespit etmişlerdir. Bu hastalığın mücadelesinde artık geliştirilecek çözümlerin bakıra dirençli izolatlar üzerine yoğunlaşması gerektiğini belirtmişlerdir.

McLeod ve ark., (2017) Güney Afrika'nın Limpopo bölgesinde domateste *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun bakıra dayanıklı popülasyonuyla mücadelede bakırlı preparatlarla birlikte bitki aktivatörlerinden acibenzolar-S-methyl ve *Bacillus subtilis* içeren biyolojik mücadele preparatlarını kullanmışlardır. Bakıra dayanıklı popülasyonla mücadelede bitkiyi hastalıklara karşı dayanıklı kılmak ve biyolojik mücadelenin önemine dikkat çekmişlerdir.

Petriccione ve ark., (2017) İtalya'da 2014-2015 üretim sezonunda bahar aylarında kivi (*Actinidia deliciosa*) bitkilerinden izole edilen *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* ve yağmur damlalarından izole edilen *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* izolatlarının plazmit kökenli bakıra dirençli popülasyonun varlığını moleküler olarak tespit etmişlerdir. Bu hastalığın mücadelesinde sürdürülebilir stratejiler geliştirirken bakıra dirençli popülasyonların göz önünde bulundurulması gerektiğini vurgulamışlardır.

Zhang ve ark., (2017) ABD'nin Florida eyaletinde 2009 ve 2010 yılları arasında hasta fasulye bitkilerinden 35 adet *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* izolatı elde etmişler ve bunların bakıra duyarlılık düzeyini araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan 35 izolatın 28'inin yani izolatların %80'inin bakır hidroksite direnç geliştirdiğini bu nedenle hastalık yönetiminde mancozeb içerikli bakırlı preparatların kullanımına öncelik verilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Areas ve ark., (2018) Brezilya'da *Xanthomonas euvesicatoria*'nın neden olduğu biber bakteriyel leke hastalığının mücadelesinde kullanılan bakır ve çinko sülfatın etkisinde azalış olduğu düşüncesiyle 59 adet patojenik bakteri izolatının çinko ve bakır sülfatın farklı dozlarına (50, 100, 200 ve 400 µg/ml) direnç durumunu araştırmışlardır. İzolatların tümünün 100 µg/ml dozundaki çinko sülfata ve izolatların %86.4'ünün de 200 µg/ml dozundaki bakır sülfata direnç geliştirdiğini saptamışlardır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Patojen İzolat: Adana'nın Karataş ilçesinde tarlada yetiştirilen hasta domates bitkilerinden izole edilen ve tanılanan 12 adet *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatı çalışmada kullanılmıştır.

Besi Yerleri: Patojenin çoğaltılmasında Pseudomonas Agar F (10 gr Protose Pepton, 10 gr Tryphtone, 10 ml Gliserin, 1.5 gr K2HPO4, 1.5 gr MgSO4 7H2O, 15 gr Agar 1000 ml distile su), bakterilerin saklanmasında Yeast Dekstroz Kalsiyum Karbonat Agar (YDCA) (Distilled Water 1 l, Dextrose 20 gr/l, Yeast extract 10 gr/l, CaCO3 light powder 20 gr/l, Agar 20 gr/l), bakırlı preparatlarla yapılan ilaç denemelerinde Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck 1.05458.0500; 40 gr/l) besi yerleri kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987; Saygılı ve ark., 2006).

Domates Fideleri: Saksı denemelerinde Gentar tohumculuğa (Seyhan, Adana) ait baharlık bir domates çeşidi olan 2115 çeşidi kullanılmıştır. Denemelerde kullanılan domates fideleri, ticari bir fidelik olan Atlas Fide (Yeniyayla Köyü, Sarıçam, Adana) firması tarafından yetiştirilmiştir. Fideler 15-20 günlük olduğunda 3:1 oranında toprak ve torf karışımı içeren saksılara (8.5x8.5 cm) şaşırtılmıştır.

İklim Odası: Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde bulunan, 16:8 saat aydınlatmalı, %75 nem, 25±2 ºC sıcaklık, klima ile ısıtılan/soğutulan iklim odası koşullarında saksı denemeleri yapılmıştır.

Ticari Preparatlar: Çalışmada aşağıda özellikleri verilen beş farklı ticari preparat kullanılmıştır.

Bakır+Mancozeb: % 70 Mancozeb + % 21 Metalik bakır içeren, Ertar firması tarafından pazarlaması yapılan Mass Tri Forte ticari isimli ilaç çalışmada kullanılmıştır (http://ertar.net/portfolio-archive/masstriforte/).

Bakır Hidroksit: % 50 metalik bakıra eşdeğer %77 Bakır hidroksit [$Cu(OH)_2$] içeren, Adama firması tarafından pazarlaması yapılan Deltapir ticari

isimli ilaç çalışmada kullanılmıştır (https://www.adama.com/turkey/tr/bitki-koruma/fungisitler/deltapir-50-wp).

Bakır Oksiklorür: % 50 metalik bakıra eşdeğer Bakır oksiklorür ($CuCl_2.2H_2O$) içeren, Adama firması tarafından pazarlaması yapılan Negri 50WP ticari isimli ilaç çalışmada kullanılmıştır (https://www.adama.com/turkey/tr/bitki-koruma/fungisitler/negri-50-wp).

Bakır Sülfat: 65.82 gr/l metalik bakıra eşdeğer Copper (II) sulfate 5-hydrate ($CuSO_45H_2O$) içeren, Adama firması tarafından pazarlaması yapılan Mastercop ticari isimli ilaç çalışmada kullanılmıştır (https://www.adama.com/turkey/tr/bitki-koruma/fungisitler/mastercop.html).

Harpin Proteini: %1 harpin proteini içeren, Plant Healty Care firması tarafından üretilen Messenger ticari isimli preperat çalışmada kullanılmıştır. *Erwinia amylovora* isimli bakterinin harpin proteinini (HarpinEa) içermektedir. Bitki aktivatörü olarak ruhsatlandırılmıştır. Formulasyonu ıslanabilir kuru granül (WDG)'dur ve 15 gr/da dozunda kullanımı önerilmektedir (http://amc-tr.com/Detay_messengerc2ae-gold-42.html).

3.2. Metod

3.2.1. Hasta Bitkilerinin Toplanması, Patojen Bakteri İzolasyonu ve Tanısı

Adana ili Karataş ilçesinde, açık alanda yetiştirilen tarla domateslerinde her yıl bakırlı preparatlarla en az üç kere ilaçlama yapmalarına rağmen, her yıl Bakteriyel Benek Hastalığı belirtisinin ortaya çıktığını beyan eden dört üretici tarlası mayıs ayında ziyaret edilmiştir. Hastalık belirtisi gösteren bitkilerden örnekler toplanmış ve gazete kağıdına sarılarak Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümündeki laboratuvara getirilmiştir.

Örneklerdeki toprak bulaşıklığını uzaklaştırmak için yapraklar çeşme suyunda yıkanmıştır. Filtre kağıdı üzerinde kurutulan yaprakların lekeli kısımlarından hasta ve sağlam dokuları içeren yerden izolasyon için 1 – 2 cm'lik bir parça steril bistüri ile kesilerek örnek alınmıştır. İzolasyon örneği %70'lik

alkolle silinerek yüzeyden dezenfekte edilmiş ve steril havanda 3 ml steril su içinde homogenize edilmiştir. Steril kabinde 15 dakika beklendikten sonra homogenattan bir öze dolusu alınarak Pseudomonas Agar F besi yerine üç çizgi ekim metoduyla izolasyon gerçekleştirilmiştir. İzolasyon petrileri 25 ^{o}C'de 48 saat inkübasyondan sonra incelenmiş ve besi yerinde dominant olarak gelişen, fluoresan pigment üreten bakteri kolonileri seçilerek yeni besi yerine saflaştırılmıştır. Saflaştırma petrileri 25 ^{o}C'de 48 saat inkübe edildikten sonra gelişen saf kültürlerin tek kolonisinden alınıp, eğik olarak cam tüplerde hazırlanmış YDCA besi yerine çizilip 4 ^{o}C'de saklanmıştır. Saf kültürlerin ayrıca uzun süre muhafazası için tek koloniler %40'lık gliserin içine alınarak eksi 20 ^{o}C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

Patojenite testlerinde, saf patojen bakteri kültürleri TSA besi yerinde geliştirildikten sonra spektrofotometre'de A600: 0.2 (10^{8} hücre/ml) yoğunluğunda süspansiyonları hazırlanmıştır. Her bir süspansiyon iki adet domates bitkisinin alt yapraklarına bir el pülverizatörüyle püskürtülerek domates fidelerine bulaştırılmıştır. Patojenle bulaştırılan bitkiler iklim odasında muhafaza edilmiş ve günlük olarak bakımları yapılmıştır. İnokulasyondan 10 gün sonra, yapraklarda kloroz ve nekrozu içeren tipik hastalık belirtisi gösteren bitkilerden reizolasyonlar yapılarak re-izolatlar elde edilmiş ve kültürler YDCA eğik ortamında +4°C'de saklanmıştır.

Patojen olduğu kanıtlanmış re-izolatların LOPAT (levan oluşumu, oksidaz testi, patateste pektolitik aktivite, arginindehidrolaz testi, tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu) özellikleri ortaya konarak tanı çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Çalışmada her tarladan izole edilen birer adet olmak üzere toplam dört adet *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatı kullanılmıştır.

3.2.2. Bakırlı Preparatların *Pseudomonas syringae* pv. *tomato'ya In vitro*'da Etkisi

İzolatların bakıra karşı duyarlılıkları testlenirken Mirik ve ark., (2007)'nın kullandığı yöntemden yararlanılmıştır. Taze hazırlanan 100 ml Pseudomonas Agar

F besi yerleri otoklavda steril edildikten sonra 50ºC'deki su banyosunda bekletilmiş ve içerisine farklı bakır sülfat (cupric sulfate, Merck) dozları (30, 60, 90, 120 ve 150 µg/ml) eklenmiştir. İyice karıştırılan besi yerleri steril petri kaplarına dökülmüştür. Farklı dozlarda bakır sülfat içeren besi yerleri donduktan sonra 48 saatlik 10^8 hücre/ml popülasyonundaki *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* süspansiyonundan her bir petriye 100 µl bagetle bakteri süspansiyonu yayma işlemi yapılmıştır. Kontrol olarak, bakırlı preparat içermeyen besi yerine sadece patojen bakteri yayılmıştır. Her uygulama için 10'ar adet petri çalışmada kullanılmıştır. Petriler 48 saat 25ºC'deki inkübatörde inkübe edildikten sonra kontrol petrilerde bakteri kolonileri gözlendikten hemen sonra bakteriyel gelişimin varlığına/yokluğuna göre değerlendirme yapılmıştır.

Ayrıca ticari olarak satın alınan Bakır hidroksit, Bakır + Mancozeb, Bakır oksiklorür, Bakır sülfat ve Harpin proteini'nin önerilen dozları, 0.22 µm pore büyüklüğündeki filtreden geçirilerek soğuk sterilize edilmiş ve 50^0C'ye soğutulan 100 ml Pseudomonas Agar F besi yerine eklenmiştir. Yukarıda anlatıldığı gibi patojen bakteri aşılaması yapılıp benzer şekilde değerlendirme yapılmıştır. Böylece ticari preparatların laboratuvar şartlarında patojen gelişimine olan etkisi araştırılmıştır.

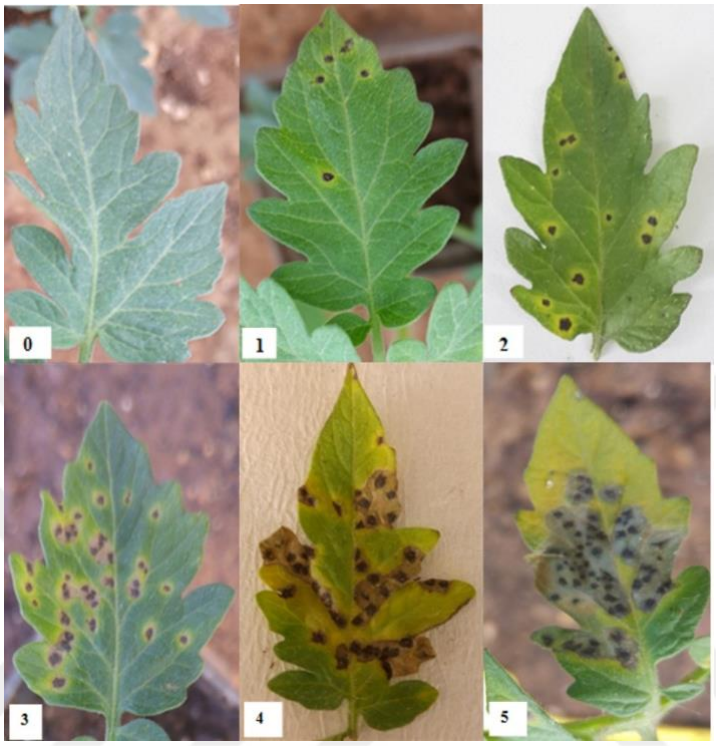
3.2.3. Bakırlı Preparatların *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya *In vivo*'da Etkisi

Çalışmanın bu aşamasında, ticari preparatların *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığını engelleme oranlarını ortaya koymak amaçlanmıştır. Ticari olarak satın alınan Bakır hidroksit, Bakır + Mancozeb, Bakır oksiklorür, Bakır sülfat ve Harpin proteini'nin önerilen dozu saksıda yetiştirilen domates fidelerine püskürtüldükten bir gün sonra Adana ili Karataş ilçesinden izole edilen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatının 10^8 hücre/ml yoğunluktaki süspansiyonu yapraklara püskürtülmüştür. Pozitif kontrol olarak bitkiler sadece patojen ile negatif kontrol olarak steril suyla inokule

edilmiştir. Her bir uygulama için 10 bitki olmak üzere toplam 70 adet domates fidesi kullanılmıştır. Çalışma Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde bulunan iklim odası koşullarında yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak sadece patojenle bulaştırılmıştır. Pozitif bitkilerde tipik hastalık belirtisi olan yaprakta kloroz ve nekrozlar görülünce şekil 3.2'de çizilen 0-5 skalasına (0: hastalık belirtisi yok; 1: yaprak alanının %1-15 lekeli; 2: yaprak alanının %16-30 lekeli; 3: yaprak alanının %31-45 lekeli; 4: yaprak alanının %46-60 lekeli; 5: yaprak alanının %61'den fazlası lekeli) göre tüm bitkiler değerlendirilmiştir (Karabüyük, 2018). Uygulamaların etkisi, pozitif kontrol ile karşılaştırılarak Abbott formülüyle hesaplanmıştır (Karman, 1971). Elde edilen skala değerleri Tawsend-Heuberger formülünden faydalanılarak hastalık şiddetine dönüştürülmüştür. İstatistiki farklar hesaplanırken, LSD çoklu karşılaştırma testinde $P \leq 0.05$ önem düzeyinde aynı istatistiki grupta yer alan uygulamalar aynı harfle işaretlenmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir.



Şekil 3.1. Saksı denemeleri



Şekil 3.2. Saksı denemelerinde *Pst* için kullanılan 0-5 skalası

4. BULGULAR

4.1. Hasta Bitkilerinin Toplanması, Patojen Bakteri İzolasyonu ve Tanısı

Adana ili Karataş ilçesinde, tarlada yetiştirilen domates üretim alanlarına yapılan ziyarette, üreticiler her yıl Bakteriyel Benek Hastalığını gördüklerini (Şekil 4. 1), bir üretim sezonunda en az üç kere bakırlı preparatlarla ilaçlama yapmalarına rağmen, ilaçların etkisiz olduğunu beyan etmişlerdir. Kullandıkları fideleri, ticari fide firmalarından hazır fide olarak satın aldıklarını, domates çeşidi olarak her yıl 5656'yı yetiştirdiklerini, fideleri dikmeden önce hastalık belirtileri yönünden incelemediklerini, herhangi bir belirtiye dikkat etmediklerini bildirmişlerdir. Kullandıkları bakır preparatları her yıl zirai ilaç bayisinden, fiyat karşılaştırması yaparak ucuz olanı seçerek kullandıklarını beyan etmişlerdir.

Tarlada hastalığın sıra boyunca ilerlemediği, farklı noktalarda ortaya çıktığı gözlenmiştir. Hasta bitkilerin yaprak kenarlarında şerit şeklinde yanıklıklara, yapraklarda iri lekelere (kloroz ve nekroz), bazen bu lekelerin birleşerek geniş yaprak yanıklıklarına neden olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4. 2).

Bakteriyel Benek Hastalığı belirtisi gösteren, bakırlı preparatların etkisiz olduğunu beyan eden dört üretici tarlasından alınan hasta bitki örneklerinden 12 adet patojen bakteri izole edilmiştir. Patojenite testlerinde, izolatların tümü domates fidelerine inokulasyondan 10 gün sonra, yapraklarda kloroz ve nekrozu içeren tipik hastalık belirtisi (Şekil 4. 3) göstermiş ve patojen oldukları kanıtlanmıştır. Yapılan re-izolasyonlar sonucu 24 adet re-izolat elde edilmiştir.

Virülensliği yüksek, patojen olduğu kanıtlanmış dört adet izolat ile yapılan tanı çalışmalarında, re-izolatların tümünün fluoresan tipte koloniler ürettiği, levan oluşumu pozitif, oksidaz reaksiyonu negatif, patateste pektolitik aktivite yeteneği negatif ve tütünde tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu pozitif olarak saptanmıştır. İzolatların tümü limon ve fasulye meyvelerinde hastalığa neden olmamış ve patojen bakteri *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* olarak tanılanmıştır.



Şekil 4.1. Adana ili Karataş ilçesinde, domates tarlasında görülen Bakteriyel Benek Hastalığı



Şekil 4.2. Bakteriyel Benek Hastalığının yaprak alanı ve kenarlardaki yanıklık belirtileri



Şekil 4.3. Patojenite testinde domates fidelerinde bakteriyel benek belirtileri

4.2. Bakırlı Preparatların *Pseudomonas syringae* pv. *tomato'ya In vitro*'da Etkisi

Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi, Pseudomonas Agar F besi yerine beş farklı dozda (30, 60, 90, 120 ve 150 µg/ml) bakır sülfat eklenerek dört farklı tarladan elde edilen virülensliği en yüksek *Pseudomonas* izolatlarına karşlı etkileri araştırıldığında, ilk üç dozda (30, 60 ve 90 µg/ml) tüm izolatlar besi yerinde gelişirken 120 ve 150 µg/ml dozda bakır sülfat içeren besi yerlerine ekimi yapılan izolatların hiçbirinde patojen bakterinin gelişimi olmamıştır.

Çizelge 4.1. Bakır sülfatın farklı dozlarının patojen bakteri gelişimine etkisi

Bakır sülfat Dozları	**Bakteri İzolatları**			
	Tarla-1	**Tarla-2**	**Tarla-3**	**Tarla-4**
30 µg/ml	+	+	+	+
60 µg/ml	+	+	+	+
90 µg/ml	+	+	+	+
120 µg/ml	-	-	-	-
150 µg/ml	-	-	-	-

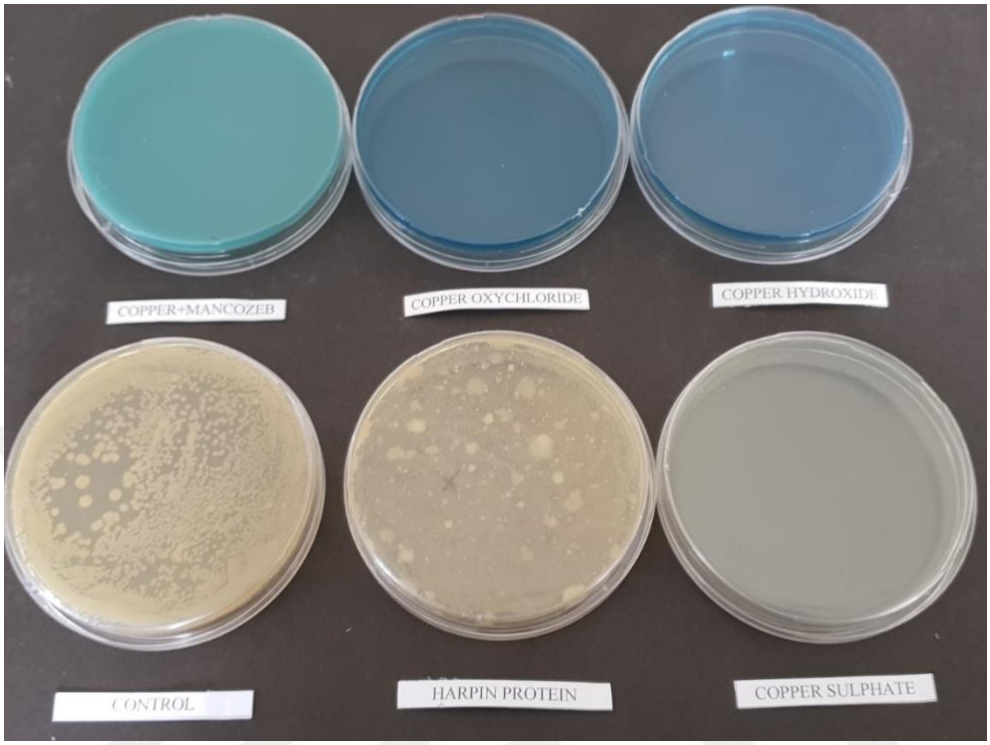
-: bakteriyel gelişim yok +: bakteriyel gelişim var

Ticari olarak satın alınan farklı bakırlı preparatların (Bakır hidroksit, Bakır + Mancozeb, Bakır oksiklorür, Bakır sülfat) ve Harpin proteini'nin 100mg/ml dozunu içeren besi yerinde *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun gelişimi araştırıldığında, Çizelge 4.2 ve Şekil 4.4'de görüldüğü gibi bakteri gelişimi sadece harpin proteini içeren preparatta saptanmıştır. Harpin proteini içeren besi yerinde patojen bakteri gelişimi kontrol petrilerdeki kadar iyi gelişirken bakır sülfat içeren besi yerinde birkaç koloni de olsa zayıf gelişimin olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı Bakırlı preparatların *in vitro*'da patojen gelişimine etkisi

Bakırlı preparatlar	**Bakteri İzolatları**			
	Tarla-1	**Tarla-2**	**Tarla-3**	**Tarla-4**
Bakır Hidroksit	-	-	-	-
Bakır + Mancozeb	-	-	-	-
Bakır Oksiklorür	-	-	-	-
Bakır Sülfat	-	-	-	-
Harpin Proteini	+	+	+	+

-: bakteriyel gelişim yok +: bakteriyel gelişim var



Şekil 4.4. Petri denemeleri

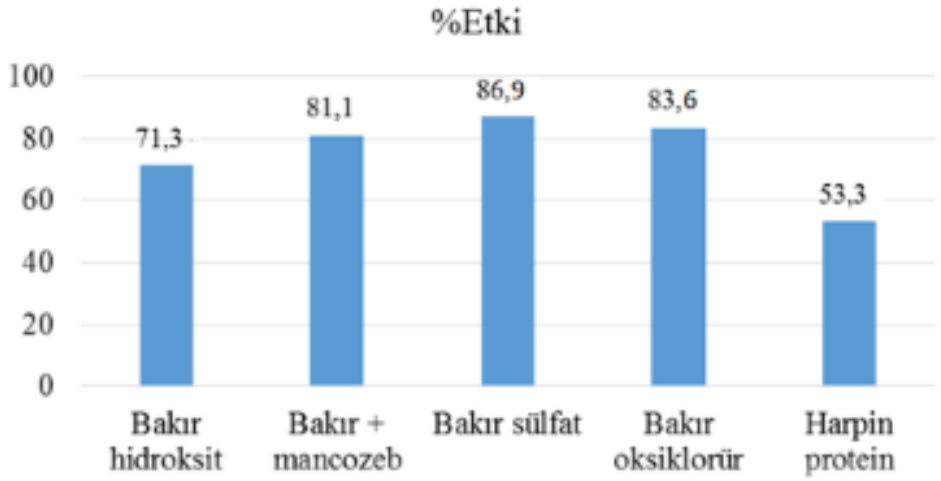
4.3. *In vivo*'da Bakırlı Preparatların Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi

Üreticiler tarafından bakırlı preparatların etki etmediği beyan edilen Adana ili Karataş ilçesindeki domates tarlasından izole edilen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatıyla yapılan çalışmada, ticari bakırlı preparatların (Bakır hidroksit, Bakır + Mancozeb, Bakır oksiklorür, Bakır sülfat) ve hastalıklara dayanıklılığı uyaran bir bitki gelişim düzenleyici olan Harpin proteini'nin Bakteriyel Benek Hastalığını %53.3-86.9 oranında baskıladığı saptanmıştır (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.5, 4.6). Elde edilen verilerle yapılan istatistiki analizler sonucunda uygulamalar pozitif sonuçtan farklı gruplarda yer almalarından dolayı etkili olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.3. Bakırlı Preparatların Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi

Uygulamalar	Hastalık Skala Değerleri						%Etki
	T1	T2	T3	T4	T5	Ort	
Bakır hidroksit	1.7	1.3	0.7	1.3	0.8	1.2 c	71.3
Bakır + mancozeb	0.8	0.7	0.5	0.7	1.2	0.8 b	81.1
Bakır sülfat	1.0	0.5	0.3	0.7	0.2	0.5 a	86.9
Bakır oksiklorür	0.8	0.7	0.7	0.7	0.5	0.7 a	83.6
Harpin protein	0.8	2.8	1.3	2.8	1.7	1.9 d	53.3
Pozitif Kontrol	3.8	3.8	4.7	3.7	4.3	4.1 e	

*Sütun içerisinde farklı harfi içeren ortalamalar LSD (0.05) testine göre farklıdır



Şekil 4.5. Bakırlı Preparatların Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi

Pozitif kontrol olarak sadece patojenle bulaştırılan domates bitkilerinde ortalama skala değeri 4.1 olarak belirlenmiş ve istatiksel olarak tek bir grubu oluşturmuştur. En etkili uygulama olarak saptanan bakır uygulaması hastalığı %86.9 oranında engellemiştir. Bu iki uygulama istatiksel olarak ayrı bir grubu oluşturmuştur. Diğer bir istatistiki grupta yer alan Bakır + Mancozeb uygulaması,

hastalığa % 81.1 oranında etki eden başarılı diğer bir uygulama olmuştur. Bakır hidroksit püskürtmesi sonucu hastalık %71.3 oranında engellenmiş ve bu uygulama da ayrı bir istatistiki grup olmuştur. En az etkili uygulama ise hastalığı %53.3 oranıyla baskılayan bir bitki aktivatörü olan Harpin Proteini olmuştur.



Şekil 4.6. Uygulamalar sonucu ortaya çıkan hastalık belirtileri

Sonuç olarak, doğru zamanda uygulandığında farklı bakırlı preparatların *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığını etkili şekilde baskılamış olduğu yapılan bu çalışmayla kanıtlanmıştır. Adana ili Karataş ilçesindeki domates tarlalarından izole edilen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatlarının bakırlı preparatlara karşı dayanıklılık geliştirmediği belirlenmiştir.



Şekil 4.7. Pozitif kontrol ve bakır sülfat uygulamasında ortaya çıkan hastalık belirtileri



Şekil 4.8. Yeşil aksama uygulanan bitki ekstraktlarının sonucunda bitkilerde ortaya çıkan hastalık şiddeti seviyeleri

Tarımsal üretimin en önemli sorunlardan biri, ürünlerin kalite ve veriminde azalmaya neden olan bitki koruma problemleridir. Domates yetiştiriciliğinde hem tarlada hem de serada yapılan üretimlerde en önemli bitki koruma sorunlarından biri bakteriyel hastalıklardır. Bakteriyel hastalıkların mücadelesinde, patojen üretim alanına bulaşmadan önce pek çok önlem alınmalıdır. Bunlar arasında karantina önlemleri, hastalıksız üretim materyali kullanımı, üretim esnasında bitkiyi yaralanmadan korumak, temizlik ve hijyene önem verilmesi sayılabilir. Hastalık etmeni bakteriler bir şekilde üretim alanına giriş yapmışsa ve etmen sistemik olarak bitkide yayılmıyorsa hastalık mücadelesinde bakırlı preparatlar başarıyla kullanılır.

Domateste *Pst*'nin neden olduğu bakteriyel benek hastalığının mücadelesinde üreticiler yeşil aksam püskürtmelerinde başarılı şekilde bakırlı preparatları kullanırlar. Bakırın fazla ve yanlış kullanımı sonucu bakteriler bu kimyasala karşı dayanıklılık geliştirebilmekte ve bakıra duyarlılık azalışları ortaya çıkmaktadır (Cooksey, 1990; Pernezny ve ark., 1995; Benlioğlu ve Benlioğlu, 1998; McLeod ve ark., 2017).

Adana ilinin Karataş ilçesinde tarlada yetiştiriciliği yapılan domates üretiminde son yıllarda bu hastalığın büyük sorun olduğu şikayetleri tarafımıza ulaşmıştır. Üreticiler farklı bakırlı preparatları uygulasalar bile hastalığı yeterli düzeyde baskılayamadıklarını beyan etmektedirler. Üreticiler bu hastalığın mücadelesinde bakırlı preparatları doğru zamanda uygulayıp uygulamadıkları veya bu yörede hastalık etmeninin bakırlı preparatlara direnç geliştirme durumunun olup olmadığı üzerine bu çalışmada irdelenmiştir.

Bu tez çalışması sonucunda, Adana ilinin Karataş ilçesinden izole edilen patojen bakteri izolatlarıyla yapılan denemelerde, Bakır sülfat, Bakır oksiklorür, Bakır+Mancozeb, Bakır hidroksit ve Harpin proteininin *Pst*'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığının mücadelesinde başarıyla kullanılabileceği gösterilmiştir. Sonuç olarak bu yörede bakırlı preparatlara direnç geliştirme sorunu

tespit edilmemiştir. Muhtemelen üreticilerin bu hastalıkla mücadelede ilaçlama zamanını kaçırdıkları düşünülmektedir. Bizim çalışmamızın aksine Ege Bölgesi'nde yapılan bir araştırmada 33 adet *Pst* izolatının tümünün 4.8 gr/l bakıra dirençli olduğunu ve bakırın daha yüksek dozlarına da değişen oranlarda direnç oluştuğunu bildirilmiştir (Benlioğlu ve Benlioğlu, 1998). Bizim çalışmamızda kullandığımız izolat sayısının azlığı nedeniyle farklı bulgular elde etmiş olabileceğimiz kanaatine varılmıştır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda fazla sayıda izolatla çalışılarak, bu konunun daha detaylı araştırılması gerektiği de açıktır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma sonucunda Adana ilinin Karataş ilçesinden izole edilen Bakteriyel Benek Hastalığı etmeni *Pst*'nun bakırlı preparatlara (Bakır sülfat, Bakır oksiklorür, Bakır+Mancozeb, Bakır hidroksit) direnç geliştirmediği, duyarlılığında herhangi bir azalış olmadığı ve bu hastalığın mücadelesinde bakırlı preparatların başarıyla kullanılabileceği sonucu elde edilmiştir.

Domates üreticisinin bu hastalık belirtisini iyi tanıması gerekmektedir. Tarlada hastalığı iyi bir şekilde takip ederek, ilk hastalık belirtileri görülür görülmez ilaçlama zamanını kaçırmadan yapraklara püskürtme yapılması önerilir.

Bakırlı preparatlara duyarlılık azalışı veya direnç araştırması yapacak araştırıcıların da fazla sayıda bakteri izolatıyla çalışma yapılması önerilir.

KAYNAKLAR

Abbasi, P.A., Khabbaz, S.E., Weselowski, B., Zhang, L., 2015. Occurrence of copper-resistant strains and a shift in *Xanthomonas* spp. causing tomato bacterial spot in Ontario. Canadian Journal of Microbiology, 2015, Vol. 61, No: pp, 753-761.

Adaskaveg, J. E., and R. B. Hine. 1985. Copper tolerance and zinc sensitivity of Mexican strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. Plant Dis. 69:993-996.

Aiello, D., Ferrante, P., Vitale, A., Polizzi, G., Scortichini, M., and Cirvilleri, G., 2015. Characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* isolated from mango in sicily and occurrence of copper-resistant strains. Journal of Plant Pathology (2015), 97 (2), 273-282.

Anonymous, 2019. Food and Agriculture Organization of The United Nations Database. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC. Erişim Tarihi; 15.04.2019

Araújo, E.R., Pereira, R.C., Ferreira, M.A.S.V. Quezado-Duval, A.M., Café-Filho, A.C., 2012. Sensitivity of *Xanthomonas* causing tomato bacterial spot to copper and streptomycin and *in vivo* infra-specific competitive ability in *Xanthomonas perforans* resistant and sensitive to copper. Journal of Plant Pathology, 94 (1), 79-87.

Areas, M.S., Gonçalves, R. M., Soman, J.M., Sakate, R.K., Gioria, R., Silva Júnior, T. A. F., and Maringoni, A.C., 2014. Prevalence of *Xanthomonas euvesicatoria* on Pepper in Brazil. Journal of Plant Pathology https://doi.org/10.1111/jph.12349

Agrawal, K., Sharma, D.K., and Jain, V.K., 2012. Seed-Borne Bacterial Diseases of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and Their Control Measures: A Review. International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences 2 (2) 173-182.

Arshad, W., Haq, I., Waheed, T.M., Mysore, K.S., and Mirza, B., 2014. *Agrobacterium*-Mediated Transformation of Tomato with a rolB Gene Results in Enhancement of Fruit Quality and Foliar Resistance against Fungal Pathogens. PLoS ONE 9 (5) e96979.

Aysan, Y. and O. Cinar, 2000. Soil solarization: an alternative control method for *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. IOBS/WPRS Working Group on Integrated Control in Protected Crops in Mediterranean Climate. 24-28 April, Antalya Turkey. IOBC WPRS Bulletin 23 (1) 83-87.

Aysan, Y. ve Ö. Çınar, 2002. Tohum kökenli *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı antagonistlerin etkisi. Türkiye V. Biyolojik Mücadele Kongresi. 4-7 Eylül, Erzurum.

Aysan, Y., Mirik, M., Sahin, F., and Çetinkaya-Yıldız, R., 2004. Outbreak of Bacterial Speck Disease in a Nursery in The Eastern Mediterranean Region of Turkey. 3rd Balkan Symposium on Vegetables & Potatoes, 6-10 September, 2004, Bursa Turkey. Acta Horticulturae 729: 441-443.

Aysan, Y., Şahin, F. and Saygılı, H., 2008. Bitki Bakteri Hastalıkları Kitabı. Meta Basım Matbaacılık, İzmir, s: 49-50; 123-124; 183-185

Aysan, Y., Saygılı, H., Şahin F. and Çetinkaya-Yıldız, R., 2005. Present status of Bacterial Stem Rot on tomato in Turkey. Acta Hort. (ISHS) 695: 97-100.

Basim H; Basim E; Yilmaz S; Dickstein ER; Jones JB, 2004. An outbreak of bacterial speck caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* on tomato transplants grown in commercial seedling companies located in the Western Mediterranean Region of Turkey. Plant Disease, 88(9):1050. http://www.apsnet.org

Behlau, F., Gochez, A.M., Lugo, A.J., Elibox, W., Minsavage, G.V., Potnis, N., White, F.F., Ebrahim, M., Jones, J.B., and Ramsubhag, A., 2017. Characterization of a unique copper resistance gene cluster in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* isolated in Trinidad, West Indies. pp 671–681. European Journal of Plant Pathology

Bender, C. L., and D. A. Cooksey, 1987. Molecular Cloning Of Copper Resistance Genes from *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. J. Bacteriol. 169:470-474.

Benlioğlu, K., and Benlioğlu, S., 1998. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı bakır dayanıklılığı üzerinde araştırmalar. 8. Türkiye Fitopatoloji Kongresi.21-25 Eylül, Ankara

Bondarczuk ve Piotrowska-Seget, 2013. Molecular basis of active copper resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. Cell Biol Toxicol (2013) 29:397–405

Cai, J., Wang, M., Zhao, X., Zhang, Y., and Yuan, X., 2017. Antimicrobial Activity of *Laminaria japonica* Extract against Bacterial Canker of Tomato Disease Agent *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Journal of Applied anf Food Quality 90: 183-190.

Cazorla, F.M., Arrebola, E., Sesma, A., Pérez-García, A., Codina, J.C., Murillo, J., Vicente, A., 2002. Copper Resistance in *Pseudomonas syringae* Strains Isolated from Mango Is Encoded Mainly by Plasmids. Pages 909-916. Spain.

Cemen, A., H. Saygili, S. Horuz, Y. Aysan, 2018. Potential of bacteriophages to control bacterial speck of tomato (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*). FEB-Fresenius Environmental Bulletin 27 (12A) 9366-9373.

Çınar, Ö., 1977. Doğu Akdeniz Bölgesi domateslerinde görülen bakteriyel kara leke hastalığı etmeni (*Pseudomonas tomato* Okabe)'nin biyokimyasal yöntemlerle tanımı. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yıllığı 8 (4) 288-296.

Cooksey, D.A., 1990. Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 1990. 28:201-209.

Erkılıç, A., Ö. Çınar, and Y. Aysan, 1994. Effects of soil solarization and chemical methods on bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) on tomato. 9th Congres of the Mediterrenean Phytopathological Union. 397-399. September 18-24, Kusadasi, Aydin, Turkey.

Gaignard and Luisetti, 1993. INRA, station de pathologie végétale et phytobactériologie, centre d'Angers, 42, rue G-Morel, BP 57, F49071 Beaucouzé Cedex, France

Goode, D. J. and Sasser, M., 1980. Prevention the key to controlling bacterial spot and bacterial speck of tomato. Plant Dis. 64:831-834.

Henrik, H., and Frank, M., 2002. tcrB, a Gene Conferring Transferable Copper Resistance in *Enterococcus faecium*: Occurrence, Transferability, and Linkage to Macrolide and Glycopeptide Resistance. Danish Veterinary Institute, DK-1790 Copenhagen V, Denmark.

Horuz, S., Ocal, A., and Aysan, Y., 2018. Efficacy of hot water and chemical seed treatments on bacterial speck of tomato in Turkey. FEB-Fresenius Environmental Bulletin 27 (5) 3185-3190.

Jardine, D. J., and Stephens, C. T., 1987. A predictive system for timing applications of chemical by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Phytopathology 77:In press.

Jones, J. B., Stall, R. E., and Zitter, T.A., 1991. Compendium of Tomato Diseases, St. Paul, Minnesota, USA: American Phytopathological Society, 73 pp.

Jones, J.B., Zitter, T.A, Momol, T.M., and Miller, S.A., 2014. In: Compendium of Tomato Diseases and Pests, Second Edition, APS Press, Minnesota, USA, 50-70p.

Karabüyük, F., 2018. Bitki Ekstraktlarının Domates Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı.

Karabuyuk, F., and Y. Aysan, 2015. Antibacterial Effects of Plant Extracts on Tomato Bacterial Diseases (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Xanthomonas vesicatoria* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*). 1st International Congress On Applied Biological Sciences, 16-20 September 2015 Üsküp (Makedonya). Abstracts Book page 81.

Karman, M., 1971. Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler, Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. Bölge Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü, İZMİR-Bornova, 279

Kaya, C., 2017. Organik Tarımda Bitki Koruma Ürünlerinin Seçimi ve Doğru Kullanımı, Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/DİYARBAKIR.

Kotan, R., Cakir, A., Ozer, H., Kordali, S., Cakmakci, R., Dadasoglu, F., Dikbas, N., Aydın, T., and Kazaz, C., 2014. Antibacterial Effects of *Origanum onites* against Phytopathogenic Bacteria: Possible Use of The Extracts from Protection of Disease Caused by Some Phytopathogenic Bacteria. Scientia Horticulturae, 172: 201-220.

La Torre, A., Lovino, V., and Caradonia, F., 2018. Copper in Plant Protection: Current Situation and Prospects. Phytopathologia Mediterranea, 57 (2) 201−236.

Lamichhane et all., 2018. Thirteen decades of antimicrobial copper compounds applied in agriculture.

Lelliot, R.A. ve Stead, D.E., 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Blackwell Scientific Publications, Oxford. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. 1987 pp.vii + 216pp. ref.11.

Mansfield et al., 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology (2012)13 (6), 614–629

Martin, H.L., and Hamilton, V.A., 2004. Copper Tolerance in Australian Populations of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Contributes to Poor Field Control of Bacterial Spot of Pepper. Plant Disease Volume 88, Number 9, Pages 921 – 924. http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.9.921

McLeod, A., Masimba, T., Jensen, T., Serfontein, K., and Coertze, S., 2017. Evaluating spray programs for managing copper resistant *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* populations on tomato in the Limpopo region of South Africa. Pages 32-42

Miller, S.A., and Jones, J.B., 2014. Bacterial Speck. (J.B Jones, T.A Zitter, T.M. Momol and S.A. Miller, Edition) In: Compendium of Tomato Diseases and Pests, Second Edition, The American Phytopathological Society, 54-55p.

Mirik, M., Aysan, Y., Özden, Ç., 2007. Copper Resistant Strains of *Xanthomonas axonopodis* pv *vesicatoria* Doidge Dye in eastern Mediterranean Region in Turkey, Journal of Plant pathology, vol. 89, pp. 153-154,

Outten, F. W., Huffman, D. L, Hale, J. A., and O'Halloran T. V., 2001. The independent cue and cus systems confer copper tolerance during aerobic and anaerobic growth in Escherichia coli. J Biol Chem. 2001;276:30670–7.

Öcal, A., 2015. Farklı Tohum Uygulamalarının Domates Bakteriyel Kara Leke Hastalığına Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı.

Pernezny, K., Kůdela, V., Kokošková, B., and Hládká, I.., 1995. Bacterial diseases of tomato in the Czech and Slovak Republics and lack of streptomycin resistance among copper-tolerant bacterial strains. Crop Prot., 14(4), 267-270. doi:10.1016/0261-2194(94)00010-6

Petriccione, M., Zampella, L., Mastrobuoni, F., and Scortichini, M., 2017. Occurrence of copper-resistant *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* strains isolated from rain and kiwifruit orchards also infected by *P. s*. pv. *actinidiae*. Eur. J. of Plant Pathol. 149(4), 953–968. https://doi.org/10.1007/s10658-017-1246-1

Rensing C, and Grass G., 2003. *Escherichia coli* mechanisms of copper homeostasis in a changing environment. FEMS Microbiol Rev. 2003;27:197–213.

Ritchie, D.F., and Dittapongpitch, V., 1991. Copper and streptomycin resistant strains and host differentiated races of *Xanthomonas xampestris* pv. *vesicatoria* in North Carolina. Plant Dis. 75:733-736.

Rouch, D.A., Brown, N.L., 1997. Copper-inducible transcriptional regulation at two promoters in the *Escherichia coli* copper resistance determinant pco. Microbiology. 1997;143:1191–202

Sahin, F., 2001. Severe outbreak of bacterial speck caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, on field-grown tomatoes in eastern Anatolia region of Turkey, Plant Pathology, 50 (6), 799.

Saygılı, H., 1975. Investigation on new bacterial disease of tomatoes in Ege, The Journal of Turkish Phytopathology, 4: 83-88.

Saygılı, H., Şahin, F. and Aysan Y., 2006. Fitobakteriyoloji. Meta Basım Matbaacılık, İzmir, 530s.

Scheck, H.J., and Pscheidt, J.W., 1998. Effect of Copper Bactericides on Copper-Resistant and -Sensitive Strains of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Department of Botany and Plant Pathology, Oregon State University, Corvallis 97331-2902

Sundin, G. W., Jones, A. L., and Fulbright, D. W., 1989. Copper resistance in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* from cherry orchards and its associated transfer *in vitro* and *in planta* with a plasmid. Applied and environmental microbiology, Apr. 1993, p. 1018-1024.

Milijašević, S., Todorović, B., Potočnik, I., Rekanović, E., and Stepanović, M., 2009. Effects of Copper Based Compounds, Antibiotics and A Plant Activator on Population Sizes and Spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in Greenhouse Tomato Seedlings. Pesticides Phytomedicine Belgrade Journal, 24: 19-27.

Yang, R., Luo, C., Chen Y., Wang G., Xu, Y., and Shen Z., 2013. Copper-Resistant Bacteria Enhance Plant Growth and Copper Phytoextraction. International Journal of Phytoremediation, 15 (6) 573-584.

Yin ve ark., 2017. Effects of Copper Addition on Copper Resistance, Antibiotic Resistance Genes, and *intl1* during Swine Manure Composting. Frontiers in Microbiology. 8:344

Zhang, S., Fu, Y., Mersha, Z., and Pernezny, K., (2017). Assessment of copper resistance in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, the pathogen of halo blight on snap bean. Crop Protection. Volume 98, August 2017, Pages 8-15

ÖZGEÇMİŞ

Mehmet Ali GÜL. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana'da tamamladıktan sonra, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği Bölümü'nde üniversite eğitimine başladı, 2008 yılımda mezun olduktan sonra Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü'nde Yüksek Lisansa başlamıştır. 2010 yılında BOR İnş. Ltd. Şti.'de TİGH Projesi kapsamında ziraat mühendisi olarak çalışmaya başlamıştır. 2011 yılında askerlik görevini yerine getirdikten sonra, sırayla POLENTAR Tarım, İNTER Tarım, SAFA Tarım'da çalışmış ve 2016 yılında kasım ayında ADAMA TURKEY Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti.'de çalışmaya başlamış ve hâlen aynı iş yerinde Teknik Satış Temsilcisi olarak çalışma hayatına devam etmektedir.