

Elazığ ili domates ve biber alanlarında fitoplazma hastalıklarının tespiti ve karakterizasyonu

Detection and characterisation of phytoplasma diseases in tomato and pepper fields in Elazığ province

Deniz ÇAPLIK¹, Serhat KARA², Osman ÇİFTÇİ¹, Feyzullah YILMAZ¹

¹Diyarbakır Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Sur, Diyarbakır, Türkiye.

²Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Mersin, Türkiye.

ARTICLE INFO	ÖZET
<p>Article history: Received / Geliş: 16.09.2022 Accepted / Kabul: 18.01.2023</p> <p>Anahtar Kelimeler: Ca. Phytoplasma trifolii Ca. Phytoplasma solani qPCR Nested PCR Filogenetik</p> <p>Keywords: Ca.phytoplasma solani Ca.phytoplasma trifolii Nested PCR qPCR phylogenetic</p> <p>✉Corresponding author/Sorumlu yazar: Feyzullah YILMAZ Feyzullah.yilmaz@tarimorman.gov.tr</p> <p>Makale Uluslararası Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 Lisansı kapsamında yayınlanmaktadır. Bu, orijinal makaleye uygun şekilde atıf yapılması şartıyla, eserin herhangi bir ortam veya formatta kopyalanmasını ve dağıtılmasını sağlar. Ancak, eserler ticari amaçlar için kullanılamaz. © Copyright 2022 by Mustafa Kemal University. Available on-line at https://dergipark.org.tr/pub/mkutbd</p> <p>This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.</p>  	<p>Bu çalışmada Elazığ iline bağlı Merkez ve Maden ilçelerindeki domates ve biber alanlarında fitoplazma hastalık etmenlerinin durumları belirlenmiştir. Güdümlü örnekleme yöntemine göre yapılan bu sorveyler sonucu 27 bitki örneği toplanmıştır. Moleküler analizler Phytoplasma F, Phytoplasma R ve Phytoplasma Probe üniversal primerleri kullanılarak qPCR ve R16mF2/R16mR1 ile R162Fn/R16R2 üniversal primerleri kullanılarak Nested qPCR ile gerçekleştirilmiştir. Moleküler analizler sonucunda 4 örneğin fitoplazma ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Fitoplazma örneklerinin 16S rDNA bölgesinden elde edilen 1.25 kb'lik amplifikasyon ürünlerine BLAST ve RFLP analizleri uygulanmıştır. Bu analizler sonucunda domates alanlarında tespit edilen 2 örneğin <i>Candidatus</i> phytoplasma solani (ELZ 5, Acc. No:ON171767; ELZ 17, Acc. No:ON171769) ve 1 örneğin <i>Candidatus</i> phytoplasma trifolii (ELZ 25, Acc. No:ON171770) olduğu, biber üretim alanlarında tespit edilen 1 örneğin ise <i>Candidatus</i> phytoplasma trifolii (ELZ 14, Acc. No:ON171768) olduğu belirlenmiştir. Fitoplazma izolatlarına ait 16S rDNA dizilerinin BLAST karşılaştırmasında dünyadaki diğer fitoplazma izolatları ile %99-100 arasında benzerlik gösterdiği, yapılan filogenetik analizler sonucunda ise elde edilen izolatların referans izolatları ile aynı grupta yer aldığı tespit edilmiştir.</p> <p>ABSTRACT</p> <p>The surveys in this study were carried out to determine the status of phytoplasma disease agents in tomato and pepper production areas in the Central and Maden districts of Elazığ province. Molecular analysis were performed with both qPCR using Phytoplasma F, Phytoplasma R and Nested qPCR using R16mF2/R16mR1 and R162Fn/R16R2 universal primers. Following molecular analysis, 4 samples were determined to be infected by phytoplasma. BLAST and RFLP analysis were performed to the 1.25 kb amplification products obtained from the 16S rDNA region of the phytoplasma samples. Following this analysis, it was established that the tomato fields 2 samples were <i>Candidatus</i> phytoplasma solani (ELZ 5, Acc. No:ON171767; ELZ 17, Acc. No:ON171769) and 1 sample was <i>Candidatus</i> phytoplasma trifolii (ELZ 25, Acc. No:ON171770). Also it was determined that 1 sample detected in pepper production areas was <i>Candidatus</i> phytoplasma trifolii (ELZ 14, Acc. No:ON171768). The BLAST comparison of 16S rDNA sequences of phytoplasma isolates were showed a similarity between 99-100% with other phytoplasma isolates around the world. As a result of the phylogenetic analysis of the phytoplasma isolates with 16S rDNA sequences, it was determined that the isolates were in the same group as the reference isolates.</p>
Cite/Atıf	Çaplık, D., Kara, S., Çiftçi, O., & Yılmaz, F. (2023). Elazığ ili domates ve biber alanlarında fitoplazma hastalıklarının tespiti ve karakterizasyonu. <i>Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi</i> , 28 (2), 269-278. https://doi.org/10.37908/mkutbd.1176276

GİRİŞ

Ülkemiz, sahip olduğu coğrafik ve ekolojik koşullar sebebiyle bir çok kültür bitkisi yetiştiriciliğinin yapılmasına olanak sağlamaktadır. Bu bitkiler arasında ise sebzeler önemli bir yer teşkil etmektedir. Gerek insan beslenmesindeki yeri gerekse birim alandan elde edilen ticari getiri nedeniyle sebze yetiştiriciliği büyük önem arz etmektedir. Sebzeler içerisinde özellikle domates (*Solanum lycopersicum*) ve biber (*Capsicum annuum*), üreticiler tarafından en çok yetiştiriciliği yapılan sebzeler arasında yer almaktadır. Ülkemizde domates yetiştiriciliği verilerine bakılacak olursa 1.652.035 da alanda 13.095.258 ton üretim mevcut iken, biber için 802.389 da alanda 3.091.295 ton üretim gerçekleşmiştir. Çalışmanın yürütüldüğü Elazığ ilinde ise domates için 20.063 da alanda 78.542 ton üretim mevcut iken biber için 13.899 da alanda 30.597 ton üretim gerçekleştirilmiştir (TÜİK, 2021).

Gerek dünya genelinde gerekse Türkiye'nin önemli domates ve biber yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlarda ürün verimini düşüren, kaliteyi azaltan ve üretimi sınırlayan fungal, bakteriyel ve viral kökenli birçok hastalık etmenleri bulunmakta olup (Çarpar & Sertkaya, 2015; Serin & Horuz, 2022), fitoplazma hastalık etmenleri de bunlar arasında önemli bir yer teşkil etmektedir. Fitoplazma hastalıkları konukçu bitkilerde virüs benzeri belirtiler gösterdiği için hastalıklara sebep olan organizmanın virüs kaynaklı olduğu düşünülmüş (Spaldon, 1958), elektron mikroskobu altında yapılan incelemelerde etmen Mikoplazma Benzeri Organizma (MLO) olarak tanımlanmıştır (Doi ve ark., 1967). Mollicute Taksonomisi Alt Komitesi tarafından bitki patojeni mollicute'leri ifade etmek için bu patojenlerin "Phytoplasma" olarak adlandırılması kabul edilmiştir. Daha sonra moleküler teknikler ile tanımlaması yapılan türler "Candidatus Phytoplasma sp." olarak isimlendirilmiştir (IRPCM, 2004).

Fitoplazmalar diğer bakteriler gibi kültür ortamında geliştirilemeyen, sadece floemde yaşamını sürdürebilen ve hücre duvarı bulunmayan bakteriyel mikroorganizmalardır (Agrios, 2005). Fitoplazmalar Dünya genelinde yetiştiriciliği yapılan kültür bitkileri ile doğal ekosistemlerde yıkıcı kayıplara neden olmakta, orman ağaçları, bağ alanları, meyve bahçeleri, süs bitkileri, yabancı otlar ve patates, patlıcan, domates ve biber gibi birçok sebze hastalık oluşturmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar neticesinde fitoplazma etmenlerinin çok sayıda konukçuda hastalık meydana getirdiği ve 1000 farklı bitki türünü enfekte ettiği bildirilmiştir. Fitoplazmalar yaprak pireleri, bitki pireleri ve psilidler gibi böcek vektörleri ile aşılama gibi kültürel işlemler ayrıca da küsküt gibi yabancı otlarla taşınabilmektedir (Şaş & Sertkaya, 1999; Lee ve ark., 2000; Singh & Singh, 2000; Pracros ve ark., 2006; Weintraub & Beanland, 2006; Bertaccini, 2007; Çarpar & Sertkaya, 2015; Karimi ve ark., 2015). Etmenlerin bitkilerde meydana getirdiği kayıpların yıldan yıla arttığı ve ciddi boyutlara ulaştığı belirtilmektedir (Belli ve ark., 2010).

Ülkemiz tarımı içerisinde önemli bir yer tutan domates ve biberin farklı illerde ve bölgelerdeki yetiştirilen alanlarda çok sayıda araştırma gerçekleştirilmiş olup, yapılan gözlem ve tanılama çalışmaları sonucunda birçok fitoplazma kökenli hastalığın varlığı belirlenmiştir (Çağlar ve ark., 2010; Özdağ & Sertkaya, 2017; Oksal ve ark., 2017; Usta ve ark., 2018; Yılmaz ve ark., 2019; Çarpar & Sertkaya, 2022). Bu kapsamda son yıllarda sebze yetiştiriciliğinde özellikle domates ve biber üretiminin yoğun olarak yapıldığı Elazığ ili Merkez ve Maden ilçelerinde 2020 yılında bu çalışma yürütülmüş ve bu ürünlerin yetiştirildiği alanlarda fitoplazma hastalık etmenlerinin varlığı ortaya konmuştur.

MATERYAL ve YÖNTEM

Arazi çalışmaları

Elazığ ili domates ve biber yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı alanlarda 2020 yılının mayıs ile eylül ayları arasında sörveyler yapılmıştır. GÜdümlü örnekleme metoduna göre (Bora & Karaca, 1970) yapılan arazi çalışmalarında mevcut üretim alanlarının en az %1'i incelenmiş ve alınan şüpheli örnekler etiketlenerek uygun koşullarda laboratuvara getirilmiştir.

DNA izolasyon çalışmaları

Arazi çalışmalarında toplanan ve laboratuvara getirilen domates ve biber bitkilerinden Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, 69104) kullanılarak total DNA izolasyonları yapılmıştır (Green ve ark., 1999). İzolasyonlar sonucu elde edilen total DNA'lar analizler yapılincaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR) analizleri

Arazi çalışmaları kapsamında toplanan domates ve biber örneklerinin qPCR ile analiz çalışmaları Christensen ve ark. (2004)'nin kullandığı metoda göre yapılmıştır. Bu metoda göre toplam hacim 20 µl olacak şekilde 10 µl ITaq Universal Probe Supermix (Bio-rad, 172-5130), 0.75 µl phytoplasma F (10 pmol) primer, 2.25 µl phytoplasma R (10 pmol) primer, 0.5 µl phytoplasma probe (10 pmol), 4.5 µl su ve 2 µl total DNA kullanılmıştır. qPCR aşamaları 50 °C'de 2 dk, 95 °C'de 10 dk ve 45 döngü boyunca 95 °C'de 15 sn, 60 °C'de 60 sn olacak şekilde yapılmıştır. Fitoplazma etmenlerinin teşhisi için yapılan qPCR analizinde Ct değeri 40'ın altında olan örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir. qPCR analizinde kullanılan primer ve prob bilgileri Çizelge 1'de verilmiştir.

Nested qPCR analizleri

Yapılan qPCR analizleri neticesinde fitoplazma etmenleri ile bulaşık olduğu tespit edilen domates ve biber örnekleri SYBR Green boyası kullanılarak Nested qPCR yöntemi ile analiz edilmiştir (Yılmaz, 2020). İki aşamalı yapılan bu metoda göre birinci aşamada, toplam hacim 20 µl olacak şekilde 10 µl SYBR® Green Master Mix (Bio-rad, 172-5120), 0.4 µl R16mF2 primer (10 pmol), 0.4 µl R16mR1 primer (10 pmol), 7.2 µl su ve 2 µl DNA kullanılmıştır. İkinci aşama ise birinci aşamada kullanılan bileşenler ve miktarlar aynı olmakla birlikte birinci aşamadan elde edilen PCR ürünleri $1/50$ oranında seyreltilmiş ve R162Fn ile R16R2 primerleri kullanılmıştır (Lee ve ark., 1993). Nested qPCR çalışmalarında kullanılan döngüler; 95 °C'de 5 dk, 40 döngü boyunca 95 °C'de 40 sn, 55 °C'de 60 sn, 72 °C'de 90 sn ve finalde 72 °C'de 5 dk olacak şekilde yapılmıştır. Nested qPCR analizinde kullanılan primerlere ait bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. qPCR ve Nested qPCR çalışmalarında kullanılan primer ve prob bilgileri

Table1. Primers and prob information used in qPCR and Nested qPCR

	Primer adı	Dizilimi	Baz Uzunluğu	Referans
qPCR	Phytoplasma F	5'-CGTACGCAAGTATGAACTTAAAGGA-3'	75 bp	Christensen ve ark., 2004
	Phytoplasma R	5'-TCTTCGAATTAACAACATGATCCA-3'		
	Phytoplasma Probe	5'-FAM-TGAAGGACTCCGCACAAGCG-TAMRA-3'		
Nested PCR (I.aşama)	R16mF2	5'-CATGCAAGTCGAACGGA-3'	1.80 kb	Lee ve ark., 1993
	R16mR1	5'-CTTAACCCCAATCATCGAC-3'		
Nested PCR (II.aşama)	R16F2n	5'-GAAACGACTGCTAAGACTGG-3'	1.25 kb	
	R16R2	5'-TGACGGGCGGTGTGTACAAACCCCG-3'		

Agaroz jel elektroforez

Nested qPCR sonrası %1.2'lik agaroz jele (Prona agarose, 084518PF) yükleme boyası (6X DNA loading dye, Thermo Scientific) kullanılarak; 1 kb DNA ladder (Thermo Scientific, 020020-500), pozitif örnek olarak 'Ca. phytoplasma solani' (Loewe, 08004PC), su kontrol ve 15 µl PCR ürünü yüklenerek, 80 volt'ta 70 dk süre ile yürütülmüştür. Daha sonra jel 10 dk EtBr ile boyanmış ve jel görüntüleme sisteminde bant profilleri incelenmiştir. Pozitif örnekler steril bistiiri ile kesilerek 1.5 ml'lik steril tüplere aktarılmış ve sekans analizleri için ilgili firmaya gönderilmiştir.

DNA sekans analizi

Pozitif sonuç veren örneklerden elde edilen Nested qPCR ürünlerinin sekans analizleri BM Labosis firmasına yaptırılmıştır. Elde edilen sekans verileri Geneious (Yeni Zelanda, R6) programı kullanılarak analiz edilmiş ve National Center for Biotechnology Information (NCBI) veri tabanında BLAST yapılarak kontrol edilmiştir.

In silico kesim enzimleriyle sanal RFLP analizleri

Domates ve biber örneklerinde pozitif bulunan fitoplazma izolatlarının 16S rDNA bölgeleri pDRAW programı ile 17 farklı restriksiyon enzimi (*AluI*, *BamHI*, *BfaI*, *BstUI (ThaI)*, *DraI*, *EcoRI*, *HaeIII*, *HhaI*, *HinfI*, *HpaI*, *HpaII*, *KpnI*, *Sau3AI (MboI)*, *MseI*, *RsaI*, *SspI* ve *TaqI*) kullanılarak sanal olarak kesim işlemine tabii tutulmuştur (Lee ve ark., 1998). Ayrıca programda sanal olarak kesimi yapılan fragmentler yine sanal olarak %1'lik agaroz jel elektroforez yürütülmüş ve jel görüntüsü oluşturulmuştur (Şekil 3).

Filogenetik çalışmalar

Fitoplazma örneklerine ait 16S rDNA gen bölgelerinden beklenen bant büyüklüğüne sahip PCR ürünlerinin çift yönlü dizileme sonuçları gerekli temizleme işlemlerinden sonra MEGA X (Kumar ve ark., 2018) programı kullanılarak filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 4).

BULGULAR ve TARTIŞMA

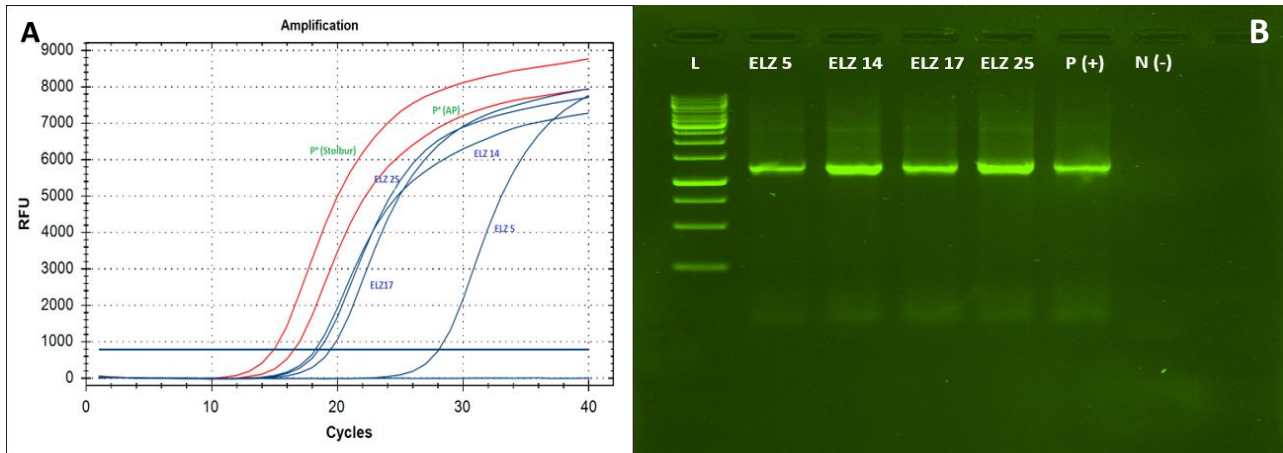
Elazığ ilinde sebze yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı domates ve biber alanlarındaki fitoplazma etmenlerini belirlemek için yaprak kıvrılması, bodurlaşma, yapraklarda sararma ve morarma gibi belirti gösteren 27 bitkiden örnek toplanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Domates ve biber alanlarında fitoplazma simptomsu (ok) gösteren örnekler
Figure 1. Tomato and pepper samples showing phytoplasma symptoms (arrow) in the field

Fitoplazma varlığını belirlemek amacıyla domates ve biber örneklerinden izole edilen toplam DNA'lara qPCR analizi uygulanmış ve toplanan 27 domates ve biber örneği ile yapılan testlemeler neticesinde domateste 3, biberde ise 1 adet örnekte fitoplazma etmeni tespit edilmiştir (Çizelge 2). Fitoplazma ile bulaşık olduğu belirlenen domates ve biber örnekleri Nested qPCR yöntemi ile testlenmiş ve elde edilen PCR ürünleri jel elektroforezde koşturulmuştur. Yapılan analiz sonucunda su kontrolde herhangi bir bant oluşmazken, pozitif kontroller ile birlikte qPCR ve Nested qPCR ile pozitif olduğu belirlenen 4 örnek 1.25 kb boyutunda DNA bandı oluşturmuştur (Şekil 2). Ülkemizde fitoplazma etmenlerinin araştırılması ile ilgili yapılmış çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardan biri; 2010

yılında Kayseri, Sivas, Adana ve Kahramanmaraş illeri domates ve patates üretimi yapılan alanlarda gerçekleştirilmiş, alınan 40 bitki örneği fitoplazma etmenleri açısından incelenmiş ve 32 örneğin *Ca.phytoplasma solani* ile enfekteli olduğu belirlenmiştir (Çağlar ve ark, 2010). 2016 yılında Malatya ilinde biber yetiştiriciliği yapılan alanlarda yapılan başka bir çalışmada, 4 biber örneği, 4 yabancı ot örneği ve 9 yaprak piresi örneği fitoplazma etmenleri açısından incelenmiş ve tüm örneklerden *Ca. phytoplasma trifolii* etmeni tespit edilmiştir (Oksal ve ark., 2017). Hatay ili ve ilçelerinde 2016-2019 yılları arasında yapılan bir çalışmada 450 biber, 35 susam, 5 domates, 7 fesleğen ve 20 tarla sarmaşığı bitkisi fitoplazma etmenleri açısından incelenmiş ve bitkilerde *Ca.phytoplasma solani* ile *Ca.phytoplasma trifolii* tespit edilmiştir (Çarpar & Sertkaya, 2022). 2017 yılında ise Van ilinde ticari olarak domates yetiştiriciliği yapılan alanlardan belirti gösteren ve göstermeyen toplam 100 örnek ile bir çalışma gerçekleştirilmiş ve örneklerin fitoplazma ile bulaşıklık oranının %11 olduğu belirlenmiş. Ayrıca rastgele seçilen 4 örneğin sekans analizleri gerçekleştirilmiş ve 2 örneğin *Ca.phytoplasma solani* diğer 2 örneğin ise *Ca.phytoplasma trifolii* olduğu belirlenmiştir (Usta ve ark., 2018). 2018 yılında Şanlıurfa ili Birecik, Siverek, Bozova ve Haliliye ilçelerinde biber üretimi yapılan alanlarda yapılan bir çalışmada ise alınan 28 örnekten 18'inin fitoplazma ile bulaşık olduğu ve etmenin *Ca. phytoplasma trifolii* olduğu belirlenmiştir (Mezreli, 2018). Yine 2018 yılında Diyarbakır ili domates alanlarında yapılan bir çalışmada simptomsuz olarak alınan 278 örnekten yapılan analizler sonucu 1 örnekte *Ca. phytoplasma solani* ve 6 örnekte ise *Ca. phytoplasma trifolii* tespit edilmiştir (Yılmaz, 2020). 2019 yılında Diyarbakır ili Çınar, Bismil ve Sur ilçelerinde biber yetiştiriciliği yapılan alanlardan alınan 51 örnek fitoplazma etmenleri açısından analiz edilmiş ve 33 örnekte *Ca. phytoplasma solani* tespit edilmiştir (Alar, 2019). 2018-2021 yılları arasında yapılan bir başka çalışmada Şanlıurfa ili Birecik, Siverek ve Haliliye ilçelerinde marul yetiştiriciliği yapılan alanlardan alınan 94 örneğin 56'sında fitoplazma tespit edilmiş ve tespit edilen etmenlerin ise *Ca. phytoplasma asteris*, *Ca. phytoplasma aurantifolia* ve *Ca. phytoplasma phoenicum* olduğu belirlenmiştir (Akkurak, 2022).



Şekil 2. A) qPCR amplifikasyon eğrisi B) Nested qPCR sonucu pozitif bulunan örneklerin jel görüntüsü

N-: Su kontrol, L: DNA 1kp ladder, ELZ 5-ELZ 14-ELZ 17 ve ELZ 25 pozitif bulunan örnekler, P+: Pozitif kontrol

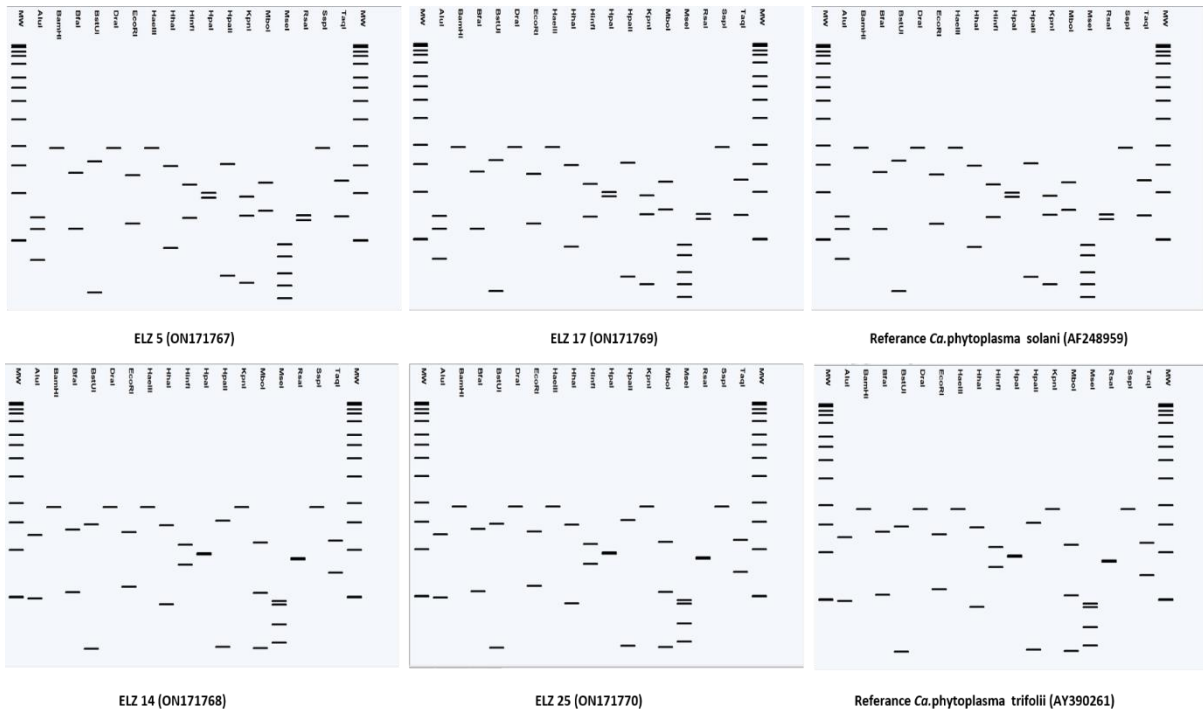
Figure 2. A) qPCR amplification curve B) Gel image of samples with positive nested qPCR results N: Water control L: DNA 1kb ladder, ELZ 5-ELZ 14-ELZ 17 and ELZ 25 pozitif positive samples, P+: Positive control

Çizelge 2. Sörveylerin yapıldığı il, ilçe, alınan örnek sayıları, tespit edilen enfekteli bitki sayısı ve bulunma oranları
Table 2. The province and district where the surveys were conducted, the number of samples taken, the number of infected plants detected and their rate of occurrence

Alınan örnek sayısı, tespit edilen fitoplazma sayısı ve oranı							
		İlçe düzeyinde alınan örnek sayıları	Alınan kültür bitkisi		Tespit edilen fitoplazma sayısı		Fitoplazma bulunma oranı %
			Domates	Biber	Domates	Biber	
Elazığ	Merkez	15	10	5	2	0	14,81
	Maden	12	6	6	1	1	
Toplam		27	16	11	3	1	

In silico kesim enzimleriyle sanal RFLP analizleri

Fitoplazmalara ait ve PCR ile çoğaltılan 16S rDNA gen bölgelerinin sekans analizleri sonuçları neticesinde Elazığ ili domates alanlarından alınan 2 örnekte (ELZ 5, ELZ 17) *Ca. phytoplasma solani* (Acc.No: ON171767, Acc.No: ON171769) ve 1 örnekte (ELZ 25) *Ca. phytoplasma trifolii* (Acc.No: ON171770) tespit edilirken, biber üretim alanlarından alınan 1 örnekte (ELZ 14) *Ca. phytoplasma trifolii* (Acc.No: ON171768) varlığı belirlenmiştir. ELZ 5 ve ELZ 17 izolatlarının 16S rDNA dizilerine ait sanal RFLP desenlerinin *Ca. phytoplasma solani* (AF248959) referans izolatıyla, ELZ 14 ve ELZ 25 izolatlarının ise *Ca. phytoplasma trifolii* (AY390261) referans izolatı ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 3).

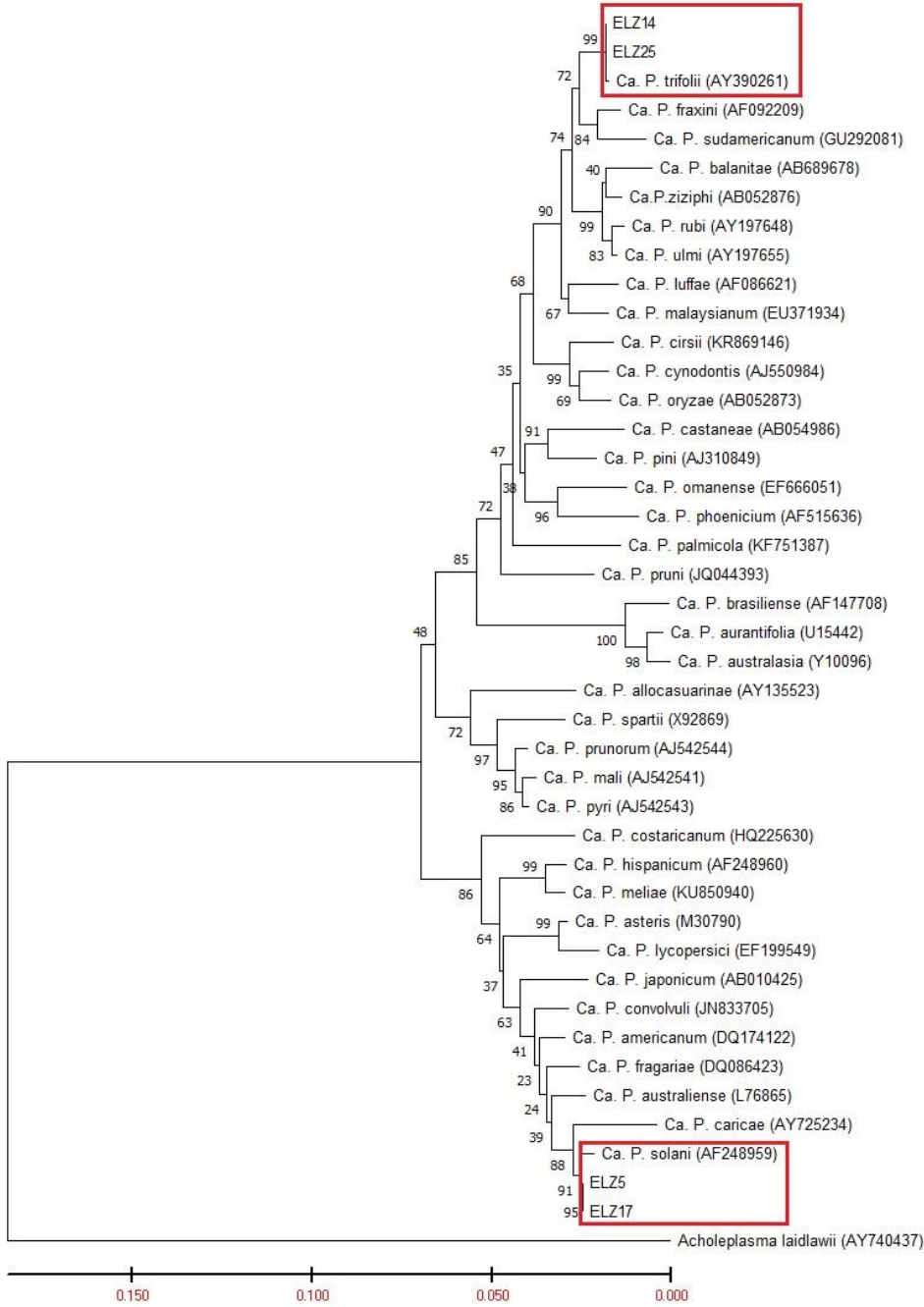


Şekil 3. Tespit edilen fitoplazma izolatları ile referans izolatların sanal RFLP jel görüntüsü
Figure 3. Virtual RFLP gel images of detected phytoplasmas and reference isolates

Filogenetik çalışmalar

Fitoplazma izolatlarına ait 16S rDNA dizilerinin BLAST karşılaştırmasında dünyadaki diğer fitoplazma izolatları ile %99-100 arasında benzerlik gösterdiği tespit edilmiş, bitkilerde hastalık oluşturan 40 farklı fitoplazma türü ile

yapılan filogenetik analizler sonucunda ise ELZ 5 ve ELZ 17 izolatlarının *Ca. phytoplasma solani* ile ELZ 14 ve ELZ 25 izolatlarının ise *Ca. phytoplasma trifolii* referans izolatu ile aynı kısımda yer aldığı tespit edilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Tespit edilen fitoplazma izolatlarının bitkilerde hastalık oluşturan diğer fitoplazma türleri ile akrabalık ilişkisi

Figure 4. The phylogenetic relationship of the detected phytoplasma isolates with other phytoplasma species that cause disease in plants

Sonuç olarak, gerek insan beslenmesinde ciddi yer tutan gerekse önemli bir gelir getirici faaliyet olan sebze yetiştiriciliğinde giderek artan oranda fitoplazma etmenleri kaynaklı sorunlar görülmeye başlanmıştır. Fitoplazmaların geniş konukçu aralığına sahip olması, vektörler ile hızlı bir şekilde farklı alanlara yayılması, yetiştiriciler için önemli verim, kalite ve ekonomik kayıplara neden olması bu etmenlerin önemini arttırmaktadır. Bu çalışma ile son yıllarda Dünya’da ve ülkemizde sebzeçilik yapılan alanlarda giderek artan ve ciddi kayıplara neden olan fitoplazma etmenlerinin Elazığ ili domates ve biber yetiştiriciliği yapılan alanlarındaki varlığı araştırılmıştır. 2020 yılında yapılan arazi sörveyleri sırasında domates alanlarından 16 ve biber alanlarından 11 örnek olmak üzere toplanan 27 örnek ile bu çalışma yürütülmüş ve bu alanlar fitoplazma etmenleri yönünden taranmıştır. Sonuç olarak Elazığ ili domates alanlarında 2 örnekte *Ca. phytoplasma solani* (Acc.No: ON171767, Acc.No: ON171769) ve 1 örnekte *Ca. phytoplasma trifolii* (Acc.No: ON171770) tespit edilirken, biber üretim alanlarından toplanan 1 örnekte *Ca. phytoplasma trifolii* (Acc.No: ON171768) varlığı belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucu Elazığ ili domates ve biber alanlarında tespit edilen *Ca. phtoplasma solani* ve *Ca. phtoplasma trifolii*’nin karantinaya tabii organizmalar olması, geniş bir konukçu aralığına sahip olması, vektörler ile hızlıca farklı kültür bitkilerine yayılması gibi özellikleri nedeniyle dikkatli olunması gereken bir patojenlerdir. Yetiştiricilik yapılan alanlarda görülmesi halinde bulaşık bitkilerin hemen imha edilmesi ve önleyici tedbirlerin uygulanması önemlidir. Ayrıca bu çalışma ile tespit edilen fitoplazma etmenleri Elazığ ili domates ve biber yetiştiriciliği yapılan alanlar için ilk kayıt niteliğindedir.

ÇIKAR ÇATIŞMA BEYANI

Yazar(lar) çalışma konusunda çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

ARAŞTIRMACILARIN KATKI ORANI BEYANI

Yazarlar çalışmaya eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

ETİK ONAY BEYANI

Bu makalede insan veya hayvan deneklerle herhangi bir çalışma bulunmaması nedeniyle etik onaya gerek duyulmamaktadır.

KAYNAKLAR

- Agrios, G.N. (2005). *Plant Diseases Caused by Prokaryotes: Bacteria and Mollicutes*. Plant Pathology (Fifth Edition), Academic Press, San Diego, 615-703. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-047378-9.50018-X>
- Akkurak, H. (2022). Şanlıurfa ili marul üretim alanlarında enfeksiyona sebep olan fitoplazma etmenleri, neden oldukları biyokimyasal değişimler ve sürdürülebilir tarım kapsamında fitoplazmaların kontrolünde *Bacillus subtilis*’in etkinliğinin araştırılması. Doktora Tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bil. Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 82 s.
- Alar, Y. (2019). Diyarbakır ilinde biber üretim alanlarında bulunan fitoplazmaların moleküler yöntemlerle saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 33 s.
- Belli, G., Bianco, P.A., & Conti, M. (2010). Grapevine yellows in Italy: past, present and future. *Journal of Plant Pathology*, 303-326. <https://www.sipav.org/main/jpp/index.php/jpp/article/view/172/39>
- Bertaccini, A. (2007). Phytoplasmas: diversity, taxonomy and epidemiology. *Frontiers in Bioscience*, 12, 673-689. <https://doi.org/10.2741/2092>
- Bora, T., & Karaca, İ. (1970). Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi. Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın, İzmir, 167s.

- Christensen, N.M., Nicolaisen, M., Hansen, M., & Schulz, A. (2004). Distribution of phytoplasmas in infected plants as revealed by real-time PCR and bioimaging. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 17 (11), 1175-1184. <https://doi:10.1094/mpmi.2004.17.11.1175>
- Çağlar, B.K., Elbeaino, T., Küsek, M., Pehlivan, D., Fidan, H., & Portakaldalı, M. (2010). Stolbur phytoplasma infections in potato and tomato plants from different locations in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*, 39 (1-3), 1-8.
- Çarpar, H., & Sertkaya, G. (2015). Doğu Akdeniz Bölgesi'nde fitoplazma hastalıklarının durumu. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20 (2), 76-82.
- Çarpar, H., & Sertkaya, G. (2022). Investigation on phytoplasma diseases, their potential insect vectors and other hosts in pepper (*Capsicum annuum* L.) growing areas of Hatay-Turkey. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27 (2), 241-252. <https://doi.org/10.37908/mkutbd.1060097>
- Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K., & Asuyama, H. (1967). Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows or paulownia witches' broom. *Annual Phytopathology Society of Japan*, 33, 259-266. <https://doi.org/10.3186/jjphytopath.33.259>
- Green, M.J., Thompson, D.A., & MacKenzie, D.J. (1999). Easy and efficient DNA extraction from woody plants for the detection of phytoplasmas by polymerase chain reaction. *Plant Disease*, 83 (5), 482-485. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.5.482>
- IRPCM (2004). 'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 1243-1255. <http://dx.doi.org/10.1099/ijs.0.02854-0>
- Karimi, M.R., Paltrinieri, S., Contaldo, N., Kamali, H., Sajadinejad, M., Ajami, M.R., & Bertaccini, A. (2015). Phytoplasma detection and identification in declining pomegranate in Iran. *Phytopathogenic Mollicutes*, 5 (2), 95-99. <https://doi.org/10.5958/2249-4677.2015.00067.5>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35 (6), 1547. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Lee, I.M., Davis, R.E., & Gundersen-Rindal, D.E. (2000). Phytoplasma: phytopathogenic mollicutes. *Annual Review of Microbiology*, 54, 221-255. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.221>
- Lee, I.M., Gundersen-Rindal, D.E., Davis, R.E., & Bartoszyk, I.M. (1998). Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48 (4), 1153-1169. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1153>
- Lee, I.M., Hammond, R.W., Davis, R.E., & Gundersen, D.E. (1993). Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasma-like organisms. *Phytopathology*, 83 (8), 834-842. <https://doi.org/10.1094/phyto-83-834>.
- Mezreli, Z. (2018). Şanlıurfa ili biber yetiştirilen alanlarda fitoplazmaların moleküler yöntemlerle saptanması ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 38 s.
- Oksal, H.D., Apak, F.K., Oksal, E., Tursun, N., & Sipahioglu, H.M. (2017). Detection and molecular characterization of two 'Candidatus Phytoplasma trifolii' isolates infecting peppers at the same ecological niche. *International Journal of Agriculture and Biology*, 19 (6), 1372-1378. <https://doi.org/10.17957/ijab/15.0420>
- Özdağ, Y., & Sertkaya, G. (2017). Investigation on viruses causing yellowing disease in pepper in Hatay-Turkey. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22, 16-22

- Pracros, P., Renaudin, J., Eveillard, S., Mouras, A., & Hernould, M. (2006). Tomato flower abnormalities induced by stolbur Phytoplasma infection are associated with changes of expression of floral development genes. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 19, 62-68. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0062>
- Serin, M., & Horuz, S. (2022). Mersin ili Silifke ilçesinde yer alan domates seralarında görülen bakteriyel hastalıkların yaygınlıklarının belirlenmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27 (2), 241-252. <https://doi.org/10.37908/mkutbd.1026011>
- Singh, D., & Singh, S.J. (2000). Chilli little leaf - a new Phytoplasma disease in India. *Indian Phytopathology*, 53, 309-310.
- Spaldon, E. (1958). *Stolbur and similar virus diseases causing seedlessness of plants*. (pp. 25-33). In: E. Spaldon, C. Blattny, and V. Bojnansky, (Ed.) Proc. Conf. On Stolbur, Smolenice, Slovak Acad. Publishing House, Bratislava.
- Şaş-Sertkaya, G. (1999). Transmission of *Spiroplasma citri* and sesame phyllody to test plants by grafting, dodder and insect vector. First Internet Conference on Phytopathogenic Mollicutes. *Jornal of Plant Pathology*, 82 (1), 73-75.
- TÜİK (2021). Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (Erişim Tarihi: 12 Eylül 2022).
- Usta, M., Güller, A., & Sipahioğlu, H.M. (2018). Molecular analysis of *Candidatus* Phytoplasma trifolii and *Candidatus* Phytoplasma solani' associated with phytoplasma diseases of tomato (PDT) in Turkey. *International Journal of Agriculture and Biology*, 20 (9), 1991-1996. <https://doi.org/10.17957/ijab/15.0721>
- Weintraub, P.G., & Beanland, L. (2006). Insect vector of Phytoplasmas. *Annual Review of Entomology*, 51, 91-111. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151039>
- Yılmaz, S., Çağlar, B.K., & Djelouah, K. (2019). Molecular characterization of Phytoplasma diseases of pepper in Turkey. *Journal of Phytopathology*, 167, 479-483. <https://doi.org/10.1111/jph.12820>
- Yılmaz, A.S. (2020). Diyarbakır ili domates üretim alanlarındaki fitoplazma hastalıklarının moleküler yöntemler ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 48 s.