



Araştırma Makalesi

Adana'da Domatesten İzole Edilen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* İzolatlarının Bazı Bakırlı Pestisitlere Duyarlılıklarının Araştırılması

Mehmet Ali GÜL¹, Raziye ÇETİNKAYA YILDIZ², Yeşim AYSAN^{1*}

ÖZ

Domates bitkisinde *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*)'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığı önemli bakteriyel bir hastalıktır. Bu çalışma kapsamında Adana ili, Karataş ilçesinde farklı tarlalardan elde edilen *Pst* izolatların bakır içerikli preparatlara duyarlılık düzeyi *in vitro* ve *in vivo* koşullarda incelenmiştir. Yapılan *in vitro* etkinlik çalışmalarında izolatlar 30, 60 ve 90 µg/ml dozlarında bakır sülfat eklenen besi yerlerinde gelişim göstermiş ancak 120 ve 150 µg/ml doz bakır sülfat içeren besi yerlerinde gelişme göstermemiştir. Bu durum Karataş izolatlarının bakırlı preparatlara direnç geliştirmediğini göstermektedir. Ayrıca cam serada yapılan *in vivo* saksı denemelerinde bazı bakırlı bileşikler (Bakır+Mancozeb, Bakır hidroksit, Bakır sülfat, Bakır oksiklorür) ve %1 Harpin proteini içeren ticari preparat uygulamalarının Bakteriyel Benek Hastalığının çıkışını %53.3 ile %86.9 arasında değişen oranlarda engellediği belirlenmiştir. Elde edilen *in vitro* ve *in vivo* çalışma sonuçları, incelenen tarlalarda patojenin çalışmada kullanılan bakırlı bileşikler ile %1 Harpin proteinine karşı direnç geliştirmediğini, hastalığın görülme nedeninin üreticilerin tavsiye edilen ilaçları uygun dozda ve doğru zamanda uygulayamamasından kaynaklanabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Domates, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, bakırlı pestisit, duyarlılık, direnç

***Pseudomonas syringae* pv. *tomato* Isolated from Tomato in Adana. Investigation of the Susceptibility of *tomato* Isolates to Some Copper Pesticides**

ABSTRACT

The Bacterial Speck Disease, caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*), represents a significant bacterial ailment with a notable impact on tomato plants. This study aimed to ascertain the susceptibility levels of *Pst* isolates obtained from various fields in the Karataş district of Adana province, Turkey, when exposed to copper-containing pesticides under both *in vitro* and *in vivo* conditions. The results from *in vitro* efficacy experiments revealed that all isolates exhibited growth on nutrient media supplemented with 30, 60, and 90 µg/ml doses of copper sulphate. However, they failed to grow on media containing 120 and 150 µg/ml doses of copper sulphate, indicating the absence of resistance in the Karataş *Pst* isolates towards copper-based preparations. Furthermore, greenhouse-based *in vivo* pot trials revealed that the application of specific copper-based formulations (Copper+Mancozeb, Copper hydroxide, Copper sulfate, Copper oxychloride), as well as a commercial preparation containing 1% Harpin protein, resulted in varied degrees of inhibition in the incidence of Bacterial Speck Disease, with inhibition percentages ranging from 53.3% to 86.9%. The combined results of both *in vitro* and *in vivo* studies suggest that the pathogen did not develop resistance to the pesticides tested in the examined fields. The occurrence of the disease appears to be related to challenges faced by farmers in adhering to the recommended chemical dosage and application timing.

Keywords: Tomato, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, copper pesticide, susceptibility, resistance

ORCID ID: (Yazar Sırasına Göre)

0009-0009-8203-3722; 0000-0002-1967-8829; 0000-0003-2647-5111

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 04.04.2023

Kabul Tarihi: 16.11.2023

1 Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sarıçam, Adana 2 Biyolojik Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yüreğir, Adana

*E-posta: aysanys@gmail.com

Adana'da Domatesten İzole Edilen *Pseudomonas syringae* pv. tomato İzolatlarının Bazı Bakırlı Pestisitlere Duyarlılıklarının Araştırılması

Giriş

Domates (*Solanum lycopersicum*) *Solanaceae* familyasından meyvesi yenilebilen otsu bir bitki olup, içermiş olduğu vitamin, protein, kalsiyum, yağ ve demir ile tercih edilen besleyici bir besin kaynağıdır. Ülkemizde ve dünyada en çok üretilen, tüketilen ürünlerden biri olan domates, taze olarak tüketilmesinin yanı sıra, dondurulmuş ve işlenmiş olarak da birçok alanda kullanılabilir. Domates uygun iklimsel ve ekolojik koşullar sayesinde ülkemizde örtü altında ve açık alanda yıl boyunca yetiştirilebilmektedir. Dünyada 2020 yılında üretilen 186.821.216 ton domatesin yaklaşık %35'lik kısmı Çin (64.768.158 ton) tarafından karşılamakta olup Çin'i Hindistan, Türkiye, Amerika Birleşik Devletleri ve Mısır takip etmektedir (Anonymous, 2022).

Birçok biyotik ve abiyotik etmen domates yetiştiriciliğinde verim ve kalite kayıplarına neden olmaktadır. Biyotik faktörlerden biri olan bakteriyel hastalıklar bitkilerde solgunluk, yaprak, meyve ve dallarda lekeler, yanıklık, yaş çürüklük, iletim demetlerinde kahverengileşme ve doku anormallığı oluşturan yaklaşık 400 adet bakteri türünü içermektedir. *Pseudomonas syringae*'nin 55 farklı pathovarinin kültür bitkilerinde hastalığa neden olduğu rapor edilmiştir. Bitkilerde hastalık oluşturan ve büyük ekonomik kayıplara neden olan patojen bakteri türleri içerisinde *Pseudomonas syringae*'nin en üst sıraya yerleştiği bildirilmiştir (Mansfield ve ark., 2012). Bu patojenik türe ait pathovarlardan biri olan *Pst* domateste Bakteriyel Benek Hastalığına neden olmaktadır. Bu patojenik tür ürettiği fitotoksinler ile farklı kültür bitkilerinde toprak üstü aksamda yanıklıklar oluşturmaktadır. (Gaignard ve Luisetti, 1993). Bu hastalık ilk kez Tayvan ve Amerika Birleşik Devletleri'nde 1933 yılında rapor edilmiş, domates üretimi yapan ülkelere ise bulaşık tohumlarla yayılmıştır (Aysan ve ark., 2005, Miller ve Jones, 2014). Bakteriyel Benek Hastalığı ülkemizde ilk defa Akdeniz kıyı şeridinde örtü altı domates yetiştiriciliğinde saptanmıştır (Saygılı, 1975; Çınar, 1977). Daha sonra Doğu Anadolu bölgesinde (Sahin, 2001) ve ticari fideliklerde varlığı bildirilmiştir (Aysan ve ark., 2004; Basım ve ark., 2004). Bu hastalık ile

mücadelede yapılması gereken ilk işlem hastaliksız tohum ve fide kullanmaktır (Horuz ve ark., 2018). Domates yetiştirilen alanlara bu patojenin girişini önlemek için gerekli kültürel önlemler alınmalı, hijyen kurallarına dikkat edilmelidir. Bakırlı preparatlar doğru zamanda ve doğru dozlarda bitkiye püskürtülmelidir.

Bitkide bakteriyel hastalıklar ile kimyasal mücadeleye alternatif mücadelede dayanıklılığı teşvik eden bitki aktivatörleri, antibakteriyel etkinliğe sahip tıbbi ve aromatik bitki uçucu yağ ve ekstraktları (Soylu ve ark., 2003; Mengüllüoğlu ve Soylu, 2012; Karabuyuk ve Aysan, 2015; Bozkurt ve ark., 2020), çinko, bakır ve gümüş nanopartiküllerin kullanımı (Şahin ve ark., 2021; Soylu ve ark., 2022) ve faydalı bakteriyel antagonist ve bitki gelişimini teşvik eden (PGPB) bakteriler (Aysan ve Çınar, 2002; Bozkurt ve Soylu, 2019; Duman ve Soylu, 2019) ile bakteriyofajlar (Cemen ve ark., 2018) yer almaktadır. Domates bakteriyel hastalıklarıyla başarılı bir şekilde mücadele sağlayabilmek için hastalık belirtileri ortaya çıktığında bakır içerikli kimyasallar ile ilaçlamalara başlanması (Goode ve Sasser, 1980), ilaçlamaların 7-14 gün aralıklarla devam ettirilmesi, özellikle yağmur ve dolu yağışlarının ardından bakır içerikli kimyasalların yeniden püskürtülmesi (Jardine ve Stephens, 1987) önerilmektedir.

Bakırlı preparatların yüksek dozda ve yanlış kullanımı sonucu bakteriyel etmenler, bitki koruma ürünlerine karşı direnç geliştirebilmekte ve bakterilerde bakıra duyarlılık azalışları görülmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinin Kaliforniya eyaletinde Cooksey (1990) tarafından yapılan bir çalışmada, domates üretim alanlarında *Pst*'nin bakırlı preparatlara direnç kazanmış popülasyonları saptanmış ve bu hastalığın mücadelesinde bakır içerikli kimyasalların etkinliğinin azaldığı bildirilmiştir. Farklı bir çalışmada ise *Pst* popülasyonlarında bakıra direncin kaynağının plasmid olduğu rapor edilmiştir (Bender ve Cooksey, 1987).

Bitki patojeni bu mikroorganizmalar bakırlı preparatların yanlış dozda uygulanması sonucunda adaptasyon şeklinde bakırlı preparatlara direnç geliştirmiş ise bu olay mikroorganizmanın genlerinden

Adana'da Domatesten İzole Edilen *Pseudomonas syringae* pv. tomato İzolatlarının Bazı Bakırlı Pestisitlere Duyarlılıklarının Araştırılması

kaynaklanmadığı için uygun dozda bakır kullanımı ile zamanla bakteri tekrar bakıra duyarlılık kazanabilmektedir. Ancak yanlış dozlarda ve yoğun olarak yapılan kimyasal uygulaması patojenik mikroorganizmanın genlerinde değişime neden olmuşsa, bakterinin yeniden bakırlı preparatlara duyarlı hale gelmesi söz konusu değildir. *Pst*'de bakırlı preparatlara duyarlılık azalışının plazmidlerde bulunan genlerle kontrol edildiği farklı yıllarda yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Bender ve Cooksey, 1987; Bondarczuk ve Piotrowska-Seget, 2013; Lamichhane ve ark., 2018).

Adana ili, Karataş ilçesinde açık alanda gerçekleştirilen domates yetiştiriciliğinde bu hastalığın yakın zamanda üreticinin temel problemlerinden biri olduğu saptanmıştır. Yetiştiriciler kimyasal olarak bakır içerikli bitki koruma ürünlerini püskürttüklerinde hastalığın istenilen şekilde baskılanmadığını bildirmektedirler. Bu durumda iki olasılık değerlendirilebilir. (1) yetiştiriciler bu etmen ile mücadelede bakırlı bitki koruma ürünlerini doğru zamanda püskürtmemiştir veya (2) bu üretim alanlarında *Pst* bakırlı preparatlara karşı direnç oluşturmuştur.

Bu çalışmada Adana ili, Karataş ilçesinde kimyasal ilaçlamalardan beklenen etkinlikleri alamadıkları beyanında bulunan üreticilerin tarlalarından izole edilen *Pst* izolatlarıyla yapılan denemelerde bitki gelişim düzenleyici Harpin proteini ile bakır sülfat, bakır oksiklorür bakır hidroksit ve bakır+Mancozeb içerikli kimyasalların patojeni baskılama yeteneği *in vitro* ve *in vivo* şartlarda incelenmiştir. Ayrıca, çalışma sonucunda elde edilen veriler kullanılarak hastalık yönetiminde etkin olarak kullanılacak mücadele stratejilerini ortaya koymak hedeflenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Adana ili, Karataş ilçesinde hasta domates tarlalarından elde edilen *Pst* izolatları, Gentar tohumculuğa (Seyhan, Adana) ait 2115 çeşidi domates fideleri, %1 harpin proteini içeren Messenger (Plant Healty Care) isimli ticari preparat, Bakır Sülfat, Bakır Oksiklorür, Bakır Hidroksit ve Bakır+Mancozeb içeren Bitki Koruma Ürünleri ile *Pseudomonas* Agar F besi yeri (10 gr Protose Pepton, 10 gr Tryptone, 10 ml Gliserin, 1.5 gr K₂HPO₄, 1.5 gr MgSO₄

7H₂O, 15 gr Agar 1000 ml distile su) çalışmada kullanılmıştır.

Hasta Bitkilerden Patojenik Mikroorganizmanın Eldesi

Çalışma alanı Adana iline bağlı Karataş ilçesinde bulunan hasta domates üretim alanlarıdır. Her yıl bakırlı preparatlarla ilaçlama yapmalarına rağmen Bakteriyel Benek Hastalığı ile etkili bir şekilde mücadele edemediğini bildiren dört adet üreticiye ait tarlalardan Mayıs ayında hasta bitki örnekleri toplanmıştır. Hasta bitki örnekleri gazete kâğıdına sarıldıktan sonra Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü, Bakteriyoloji laboratuvarına ulaştırılmıştır. Laboratuvara getirilen örneklerden hastalıklı ve sağlıklı doku parçalarını içerecek şekilde 1-2 cm'lik izolasyon örnekleri alınmıştır. Örnekler alkol (%70) ile yüzeyden dezenfekte edilmiş, ardından temiz bir havanda ezilmiş ve steril su eklenerek homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat 15 dakika bekletildikten sonra, steril kabinde *Pseudomonas* Agar F besi yerinde üç çizgi ekim metodu kullanılarak izolasyon yapılmıştır. Petriler bakteri kolonilerinin gelişimini sağlamak için 25°C'de 48 saat inkübatörde tutulmuştur. *Pseudomonas* Agar F besi yerinde dominant olarak gelişim gösteren ve fluoressan pigmentasyona sahip bakteri kolonileri seçilip saflaştırılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987; Schaad, 2001; Saygılı ve ark., 2006).

Patojenite Testi

Patojenite testlerinde kullanılmak üzere saf *Pst* izolatları *Pseudomonas* Agar F besi yerinde taze olarak geliştirilmiş ve saf suyla süspansiyonlar (A₆₀₀: 0.2 yaklaşık 10⁸ hücre/ml) hazırlanmıştır. İnokulasyon için süspansiyonlar plastik el pülverizatörü yardımı ile her izolat için iki adet domates bitkisinin alt yapraklarına püskürtülmüş ve domates fidelerine patojen bulaştırılmıştır. İklim odasında tutulan inokule edilmiş bitkiler günlük olarak incelenmiştir. Patojenite işleminden yaklaşık 10 gün sonra, domates yeşil aksamında tipik hastalık belirtisi olan kloroz ve nekroz belirtisi gösteren bitkilerden geriye izolasyonlar gerçekleştirilmiştir. Ayrıca izolatların patojenite özellikleri fasulye ve limon meyvelerinde de testlenmiştir (Lelliot ve Stead, 1987; Schaad, 2001; Saygılı ve ark., 2006).

Adana'da Domatesten İzole Edilen *Pseudomonas syringae* pv. tomato İzolatlarının Bazı Bakırlı Pestisitlere Duyarlılıklarının Araştırılması

Bakteri İzolatlarının Biyokimyasal Testlerle Tanınması

Patojenite testleri tamamlanan *Pst* popülasyonlarının LOPAT karakterleri Lelliot ve Stead (1987)'e göre yapılmıştır. Survey yapılan tarlalardan elde edilen izolatlardan birer adet seçilmiş ve çalışmada dört adet patojenik bakteri izolatuvarı kullanılmıştır.

Bakırlı Preparatların *In vitro* Koşullarda *Pst*'ye Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi

İzolatların bakırlı preparatlara karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesinde Mirik ve ark., (2007)'nin önerdiği metot kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan Harpin proteini ve bakırlı preparatlar 0.22 µm çaplı filtreden geçirilerek soğuk sterilizasyon yöntemi ile steril edilmiştir. *Pseudomonas* Agar F besi yeri 100'er ml olarak taze hazırlanmış ve 50°C'ye ayarlanmış su banyosunda 2 saat bekletilmiştir. Ardından beş farklı bakır sülfat (cupric sulfate, Merck) dozu (30, 60, 90, 120 ve 150 µg/ml) besi yerlerine ilave edilmiştir. Farklı dozlarda bakır sülfat içeren petrilere 48 saat geliştirilen 10⁸ hücre/ml yoğunluktaki *Pst* süspansiyonlarından 100'er µl yayılmıştır. Kontrol uygulaması olarak bakır sülfat içermeyen, *Pseudomonas* Agar F besi yerine yayılan *Pst* kültürü kullanılmıştır (Öztürk ve Soylu, 2022). Çalışmada farklı bakır dozları için 10 tekrar olacak şekilde besi yeri kullanılmıştır. Petrilere 25°C'de inkübe edilmiş, kontrol uygulamasında bakteri kolonilerinin gelişimi gözlemlendiğinde uygulama yapılan petrilere incelenerek değerlendirme *Pst* popülasyonunun besi yerinde gelişip gelişmemesine göre yapılmıştır. Ayrıca ticari olarak üretilen Harpin proteini (15 gr/da), Bakır sülfat (150 ml/100 l su), Bakır oksiklorür (300 g/100 l su), Bakır hidroksit (250 g/da) ve Bakır+Mancozeb (300 g/100 l su)'in önerilen dozlarının yukarıda detaylı olarak açıklanan yöntem kullanılarak laboratuvar şartlarında patojen gelişimine olan etkisi araştırılmıştır. Bu yolla ticari preparatların laboratuvar koşullarında patojen gelişimine olan etkisi ortaya konulmuştur.

Bakırlı Preparatların *In vivo* Koşullarda *Pst*'ye Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmanın bu kısmında bakır içeren ticari bitki koruma ürünlerinin domates Bakteriyel Benek Hastalığını engelleme oranlarının belirlenmesi

hedeflenmiştir. Kullanılan Harpin proteini (15 gr/da), Bakır sülfat (150 ml/100 l su), Bakır oksiklorür (300 g/100 l su), Bakır hidroksit (250 g/da) ve Bakır+Mancozeb (300 g/100 l su)'in önerilen dozları domates fidelerine püskürtme şeklinde uygulanmıştır. Uygulamadan bir gün sonra *Pst*'nin bölge izolatuvarı kullanılarak hazırlanan 10⁸ hücre/ml yoğunluktaki süspansiyon, uygulama yapılmış yapraklara püskürtülmüştür. Pozitif kontrol amacıyla bitkilere sadece patojenik mikroorganizma, negatif kontrol olarak ise steril su püskürtülmüştür. Her uygulama iki domates fidesi içeren 5 tekerrürlü olarak yapılmış, toplamda 70 adet domates fidesi ile çalışılmıştır. Denemeler Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümüne ait ısıtmasız cam serada yürütülmüştür. Pozitif kontrol uygulamasında tipik hastalık belirtileri olan yaprakta kloroz ve nekrozlar gözlemlendiğinde Karabüyük (2018) tarafından geliştirilen 0-5 skalası (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) kullanılarak bitkiler değerlendirilmiştir. Abbott formülü kullanılarak uygulamaların etkinliği, pozitif kontrol ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Skala değerlerinin hastalık şiddetine dönüştürülmesinde Tawsend-Heuberger formülünden faydalanılmıştır (Karman, 1971). İstatistiksel analizlerde, uygulamalar arasındaki farkların hesaplanmasında Anova istatistik programında, LSD çoklu karşılaştırma testi P<0.05 önem düzeyinde kullanılmıştır. Aynı istatistiksel grupta yer alan uygulamalar aynı harfle işaretlenerek sonuçlar yorumlanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Hasta Bitkilerden Patojenik Mikroorganizmanın Eldesi

Adana ili, Karataş ilçesinde tarla domatesi yetiştiriciliği yapılan alanlarda yürütülen surveylerde, yetiştiriciler her yıl bu hastalığın tarlalarında ortaya çıktığını, belirtileri gördüklerini, fide dikiminden hasata kadar olan dönemde en az üç kere bakırlı bitki koruma ürünlerini yeşil aksama püskürtmelerine rağmen kimyasalların mücadelede yetersiz olduğunu

Adana'da Domatesten İzole Edilen *Pseudomonas syringae* pv. tomato İzolatlarının Bazı Bakırlı Pestisitlere Duyarlılıklarının Araştırılması

ifade etmişlerdir. Üreticiler, fidelerini kendileri yetiştirmediklerini, ticari fideliklerden satın aldıklarını bildirmişlerdir. Bu yörede yaygın domates çeşidi olarak 5656'yı tercih ettiklerini, fideleri tarlaya aktarmadan önce hastalık belirtilerini yönünden herhangi bir inceleme yapmadıklarını beyan etmişlerdir. Tercih ettikleri bakırlı bitki koruma ürünlerini ilaç bayilerinden satın aldıklarını ve genellikle ucuz olan ürünü tercih ettiklerini belirtmişlerdir. İnceleme yapılan tarlalarda hastalığın düzenli olarak sıra boyunca ilerlemediği, üretim alanının değişik noktalarında ortaya çıktığı gözlenmiştir. Etkilenmiş domateslerin yaprak uçlarında şerit halinde yanıklık belirtileri, yeşil aksamda kloroz ve nekroz şeklinde lekeler gözlenmiş, bazı bitkilerde ise nekrotik alanların bir araya gelerek geniş nekrozlara sebep olduğu belirlenmiştir. Domates bitkilerinde sözü edilen bu hastalık belirtilerini gözlenen ve bakırlı kimyasalların yetersiz olduğu belirtilen dört tarladan toplanan hasta bitki örneklerinden 12 adet *Pst* izolatı elde edilmiştir.

Patojenite Testi

Domates fidelerinde gerçekleştirilen patojenite işlemlerinde bulaştırmadan 10 gün sonra tüm izolatlar, domates yeşil aksamında kloroz ile birlikte nekroz belirtisi oluşturmuş ve patojen oldukları saptanmıştır. Gerçekleştirilen re-izolasyonlar sonucunda 24 adet *Pst* re-izolatı elde edilmiştir. Limon ve fasulye meyvelerinde yapılan patojenite testlerinde ise hiçbir izolatın hastalık belirtisi oluşturmadığı gözlenmiş ve izolatların *Pst* olduğu teyit edilmiştir.

Bakteri İzolatlarının Biyokimyasal Testlerle Tanınması

Hastalık belirtisi gözlenen dört domates tarlasından elde edilen virülensliği yüksek, birer adet re-izolat tanı çalışmalarında kullanılmıştır. Re-izolatların tamamı *Pseudomonas* Agar F besi yerinde fluoresan tipte koloniler üretmiştir. Re-izolatların oksidaz reaksiyonu, patatete pektolitik aktivite ve arginin dehidrolaz testlerinin negatif, levan oluşumu ile tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu testlerinin pozitif sonuç verdiği belirlenmiştir. İzolatların LOPAT özelliklerinin *Pst* ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

Bakırlı Preparatların *In vitro* Koşullarda *Pst*'ye Etkisinin Belirlenmesi

Beş farklı (30, 60, 90, 120 ve 150 µg/ml) bakır sülfat dozunun, dört farklı üretim alanından izole edilen *Pst* popülasyonuna etkisi belirlenmiştir. Yapılan çalışmada 30, 60 ve 90 µg/ml dozlarında bakır sülfat eklenen besi yerlerinde tüm izolatların geliştiği gözlenmiştir. Buna karşın 120 ve 150 µg/ml dozlarında bakır sülfat içeren besi yerlerinde ise hiçbir izolatın gelişmediği saptanmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Farklı bakır sülfat dozlarının *in vitro* koşullarda *Pst* gelişimine etkisi

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

-: bakteriyel gelişim yok +: bakteriyel gelişim var

Çizelge 2'de görüldüğü gibi %1 Harpin proteini ve ticari olarak kullanılan bakırlı bitki koruma ürünlerinin (Bakır sülfat, Bakır oksiklorür, Bakır hidroksit ve Bakır + Mancozeb) önerilen dozlarını içeren besi yerinde *Pst*'nin gelişme potansiyeli incelendiğinde patojenik mikroorganizma gelişimi sadece harpin proteini içeren petrilere gözlenmiştir.

Çizelge 2. Farklı kimyasalların *in vitro* koşullarda *Pst* gelişimine etkisi

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

-: bakteriyel gelişim yok +: bakteriyel gelişim var

Bakır sülfat içeren besi yerinde *Pst* popülasyonu birkaç koloni de olsa zayıf olarak gelişirken, Harpin proteini içeren besi yerinde patojen popülasyonunun gelişimi, kontrol petrilere kadar yoğun olarak saptanmıştır.

Bakırlı Preparatların *In vivo* Koşullarda *Pst*'ye Etkisinin Belirlenmesi

Adana ili, Karataş ilçesinde üreticiler tarafından bakırlı bitki koruma ürünlerinin etkisiz olduğu

Adana'da Domatesten İzole Edilen *Pseudomonas syringae* pv. tomato İzolatlarının Bazı Bakırlı Pestisitlere Duyarlılıklarının Araştırılması

beyan edilen domates alanından elde edilen *Pst* izolatı kullanılarak cam serada saksı çalışmaları yürütülmüştür. Yapılan çalışmada ticari olarak kullanılan bakırlı bitki koruma ürünleri (Bakır sülfat, Bakır oksiklorür, Bakır hidroksit ve Bakır+Mancozeb) Harpin proteini içeren preparatlar tavsiye edilen dozlarda sera koşullarında hastalık çıkışı %53.3 ile %86.9 arasında değişen oranlarda baskıladığı belirlenmiştir (Çizelge 3). Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda uygulamaların pozitif kontrolden farklı olduğu saptanmış ve etkili uygulamalar olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 3. Bakteriyel Benek Hastalığının çıkışı üzerine farklı kimyasalların tavsiye dozlarında antibakteriyel etkisi

Uygulamalar ve Dozları	Skala Değeri Ortalaması	Etki (%)
Harpin Proteini (15 gr/da)	1.9 ^{d*}	53.3
Bakır Sülfat (150 ml/100 l su)	0.5 ^a	86.9
Bakır Oksiklorür (300 g/100 l su)	0.7 ^a	83.6
Bakır Hidroksit (250 g/da)	1.2 ^c	71.3
Bakır + Mancozeb (300 g/100 l su)	0.8 ^b	81.1
Pozitif Kontrol	4.1 ^e	-

*LSD (0.05) testine göre sütun içerisinde farklı harfi içeren ortalamalar birbirinden farklı bulunmuştur.

Pozitif kontrol olarak kullanılan domates bitkilerinde ortalama skala değerinin 4.1 olduğu tespit edilmiş ve istatistiksel değerlendirmede bu uygulama tek bir grup olarak yer almıştır. Bakır sülfat uygulaması en başarılı uygulama olarak saptanmış ve hastalık %86.9 düzeyinde engellemiştir. İkinci en etkili preparat olan Bakır Oksiklorür %83.6 oranında başarı göstermiştir. Bu iki uygulama istatistiksel olarak aynı grup içinde yer almıştır. Bakır+Mancozeb uygulaması hastalık gelişimini %81.1 oranında engelleyen başarılı bir diğer uygulama olup istatistiksel olarak ayrı bir grup oluşturmuştur. Bakır hidroksit uygulamasında ise hastalık gelişiminin %71.3 düzeyinde engellendiği gözlenmiş, bu kimyasal da farklı bir istatistiksel grup içerisinde yer almıştır. Harpin Proteini uygulaması en düşük etki gösteren uygulama

olup sadece %53.3 oranında hastalık gelişimini baskılamıştır.

Amerika Birleşik Devletlerinin Kaliforniya eyaletinde domates yetiştiriciliğinde problem olan Bakteriyel Benek Hastalığı etmeni *Pst*'nin bakıra dirençli izolatları saptanmıştır (Cooksey 1990). Farklı bir araştırmada ise Pernezny ve ark., (1995) yaptıkları çalışmada, hastalık belirtisi gösteren domates bitkilerinden elde edilen 28 adet *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ve 89 adet *Pst* izolatının bakıra direnç geliştirdiğini ortaya koymuşlardır. Bu direnç problemi nedeniyle Florida'da bir domates üretim sezonunda ortalama 15 kez bakırlı bitki koruma ürünleri ile püskürtme yapılırken bu sayının direnç problemi olmayan Doğu Avrupa Ülkelerinde (Slovakya ve Çek Cumhuriyeti) sadece iki veya üç olduğu bildirilmiştir.

Sonuç

Tarımsal üretimde en önemli sorunlardan biri olan bitki koruma problemleri tarımsal ürünlerin kalitesinde ve miktarında azalmaya neden olan olmaktadır. Açık alanda ve serada yapılan domates yetiştiriciliğinde en önemli bitki koruma sorunlarından biri olan bakteriyel hastalıklar ile mücadelede, hastalık etmeni mikroorganizma yetiştiriciliğinin yapıldığı yerlere gelmeden önce gerekli tedbirler alınmalıdır. Bunlar arasında devlet eliyle gerçekleştirilen karantina işlemlerinin uygulanması, sağlıklı tohum/fide kullanımı kültürel işlemler yapılırken bitkiyi daha az yaralamak, genel hijyen kurallarının doğru bir şekilde uygulamasını sağlamak önemli kriterlerden bazılarıdır. Hastalık oluşturan patojenik mikroorganizmalar yetiştiricilik alanına bulaşmış ve bitkide sistemik olarak yayılmayan bir etmen ise bakırlı bitki koruma ürünleri başarıyla uygulanabilmektedir. Domateste *Pst*'nin sebep Bakteriyel Benek Hastalığının mücadelesinde yetiştiriciler, bakır içerikli bitki koruma ürünlerini etkili bir şekilde kullanmaktadırlar. Bakırlı bitki koruma ürünlerinin yüksek dozlarda ve hatalı uygulanması sonucu bakteriyel etmenlerin bu preparatlara direnç oluşturabildiği ve buna bağlı olarak bakırlı kimyasallara duyarlılıkta azalışlar saptandığı ülkemizde (Benlioğlu ve Benlioğlu,

Adana'da Domatesten İzole Edilen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* İzolatlarının Bazı Bakırlı Pestisitlere Duyarlılıklarının Araştırılması

1998) ve dünyada (Cooksey, 1990; McLeod ve ark., 2017; Pernezny ve ark., 1995) farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Son yıllarda domates Bakteriyel Benek Hastalığının Adana iline bağlı Karataş ilçesinde açık alanda yetiştirilen domateslerde büyük sorun oluşturduğuna dair şikâyetler tarafımıza ulaşmıştır. Üreticiler farklı bakırlı bitki koruma ürünleri kullansalar bile bu hastalığı etkili şekilde engelleyemediklerini bildirmektedirler. Üreticilerin bu hastalık ile mücadelede bakır içerikli kimyasalları gerektiği zamanda püskürtüp püskürtmedikleri veya bu yetiştiricilik alanında patojen bakterinin bakırlı kimyasallara karşı direnç oluşturma durumu bu çalışmada ortaya konulmuştur. Adana iline bağlı Karataş ilçesindeki domates tarlalarından elde edilen patojen bakteriyle gerçekleştirilen çalışmada Harpin proteini, Bakır sülfat, Bakır oksiklorür, Bakır hidroksit ve Bakır+Mancozeb'in Bakteriyel Benek Hastalığının mücadelesinde başarıyla kullanılabilceği saptanmıştır. Yapılan çalışma çerçevesinde bu yörede bakırlı preparatlara karşı *Pst*'nin direnç geliştirmesi ile ilgili herhangi bir bulgu tespit edilmemiştir. Domates yetiştiricilerinin Bakteriyel Benek Hastalığı ile mücadelede, muhtemel optimum kimyasal püskürtme zamanını doğru ayarlayamadığı düşünülmektedir. Yapılan farklı bir çalışmada ise bizim bulgularımızın aksine 33 adet *Pst* izolatının tamamının 4.8 gr/l bakıra dirençli olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada izolatların bakır içerikli kimyasalların daha yüksek dozlarına da farklı düzeylerde dayanıklılık geliştirdiği rapor edilmiştir (Benlioğlu ve Benlioğlu, 1998). Çalışmamızın üretici şikâyetleri olan domates tarlalarından elde edilen izolatlarla yapılmış olması nedeni ile farklı bulgular elde edilmiş olabileceği göz önünde tutulmalıdır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda, çok daha fazla sayıda tarladan izole edilecek bakteriler kullanılarak bu konu daha detaylı araştırılabilir.

Kaynaklar

- Anonymous, (2022) Food Balances <https://www.fao.org/faostat/en>. Erişim tarihi: 12.01.2023
- Aysan, Y., Çınar, Ö. (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., Çetinkaya-Yıldız, R. (2004) Outbreak of Bacterial Speck Disease in a Nursery in The Eastern Mediterranean Region of Turkey. 3 rd Balkan Symposium on Vegetables & Potatoes, 6-10 September, 2004, Bursa Turkey. Acta Horticulturae 729: 441-443.
- Aysan, Y., Saygılı, H., Şahin F. Çetinkaya-Yıldız, R. (2005) Present status of Bacterial Stem Rot on tomato in Turkey. Acta Hort. (ISHS) 695: 97-100.
- Basim H., Basim E., Yılmaz S., Dickstein E.R., Jones J.B. (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.
- Bender, C.L., Cooksey, D.A. (1987) Molecular Cloning Of Copper Resistance Genes from *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Journal of. Bacteriology. 169:470-474.
- Benlioğlu, K., Benlioğlu, S. (1998) *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı bakır dayanıklılığı üzerinde araştırmalar. 8. Türkiye Fitopatoloji Kongresi.21-25 Eylül, Ankara.
- Bondarczuk, K., Piotrowska-Seget, Z. (2013) Molecular basis of active copper resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. Cell Biology Toxicology (2013) 29:397-405.
- Bozkurt, İ.A., Soylu S. (2019) Elma kök uru hastalığı etmeni *Rhizobium radiobacter*'e karşı epifit ve endofit bakteri izolatlarının antagonistik potansiyellerinin belirlenmesi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 16: 348-361.
- Bozkurt, İ.A., Soylu, S., Kara, M., Soylu, E.M. (2020) Chemical Composition and

Adana'da Domatesten İzole Edilen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* İzolatlarının Bazı Bakırlı Pestisitlere Duyarlılıklarının Araştırılması

- Antibacterial Activity of Essential Oils Isolated from Medicinal Plants against Gall Forming Plant Pathogenic Bacterial Disease Agents. KSU Tarım ve Doğa Dergisi, 23: 1474-1482.
- Cemen, A., Saygili, H., Horuz, S., Aysan, Y. (2018) Potential of bacteriophages to control bacterial speck of tomato (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*). Fresenius Environmental Bulletin 27 (12A): 9366-9373.
- Cooksey, D.A. (1990) Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria. Annual Review of Phytopathol. 1990. 28:201-209
- 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.
- Duman, K., Soylu, S. (2019). Characterization of plant growth-promoting traits and antagonistic potentials of endophytic bacteria from bean plants against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. Bitki Koruma Bülteni, 59: 59-69.
- Gaignard, J.L., Luisetti, J. (1993) *Pseudomonas syringae*, bactérie épiphyte, glaçogène et pathogène. Agronomie 13: 333-370. DOI: 10.1051/agro:19930501
- Goode, D.J., Sasser, M. (1980) Prevention the key to controlling bacterial spot and bacterial speck of tomato. Plant Dis. 64:831-834
- Horuz, S., Ocal, A., 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., Stephens, C.T. (1987) A predictive system for timing applications of chemical by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Phytopathology 77:823-827.
- Karabüyük, F. (2018) Bitki Ekstraktlarının Domates Bakteriyel Hastalık Etmenlerine Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Karabuyuk, F., Aysan, Y. (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, İzmir-Bornova, 279.
- Lamichhane, J.R., Osdaghi, E., Behlau, F., Köhl, J., Jones, J.B., Aubertot, J.N. (2018) Thirteen decades of antimicrobial copper compounds applied in agriculture. Agronomy for Sustainable Development (2018) 38: 28 <https://doi.org/10.1007/s13593-018-0503-9>.
- Lelliot, R.A., 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. 216.
- Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Dow, M., Verdier, V., Beer, S.V., Machado, M.A, Toth, I., Salmond, G., Foster, G.D. (2012) Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology 2012 Aug;13(6):614-29. doi: 10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x.
- McLeod, A., Masimba, T., Jensen, T., Serfontein, K., 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.
- Mengulluoglu, M., Soylu S. (2012). Antibacterial activities of essential oils from several medicinal plants against the seed-borne bacterial disease agent *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. Research on Crops, 13: 641-646.

Adana'da Domatesten İzole Edilen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* İzolatlarının Bazı Bakırlı Pestisitlere Duyarlılıklarının Araştırılması

- 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.
- Öztürk, M., Soylu, S. (2022) A new disease of strawberry, bacterial blight caused by *Erwinia amylovora* in Turkey. Journal of Plant Pathology, 104: 269-280.
- Pernezny, K., Kúdela, V., Kokošková, B., 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.
- 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., Aysan Y. (2006) Fitobakteriyoloji. Meta Basım Matbaacılık, İzmir, 530s.
- Schaad, N.W., Jones, J.B., Chun. W. (2001). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Third Edition. Pg. 373.
- Soylu, S., Baysal, Ö., Soylu, E.M. (2003) Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-s-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato seedlings. Plant Science 165, 1069-1075.
- Soylu, S., Kara, M., Türkmen, M., Şahin, B. (2022) Synergistic effect of *Foeniculum vulgare* essential oil on the antibacterial activities of Ag- and Cu-substituted ZnO nanorods (ZnO-NRs) against food, human and plant pathogenic bacterial disease agents. Inorganic Chemistry Communications, 146, 110103.
- Şahin, B., Soylu, S., Kara, M., Türkmen, M., Aydın, R., Çetin, H. (2021) Superior antibacterial activity against seed-borne plant bacterial disease agents and enhanced physical properties of novel green synthesized nanostructured ZnO using *Thymbra spicata* plant extract. Ceramics International, 47, 341-350.