

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ADANA İLİ SOĞAN ÜRETİM ALANLARINDA BULUNAN
FİTOPLAZMALARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE SAPTANMASI**

İbrahim ERGÜVEN

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2019**

Prof. Dr. Mehmet E. GÜLDÜR danışmanlığında, İbrahim ERGÜVEN'in hazırladığı **“Adana İli Soğan Üretim Alanlarında Bulunan Fitoplazmaların Moleküler Yöntemlerle Saptanması”** konulu bu çalışma 22/04/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda oy birliği ile YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Prof. Dr. Mehmet E. GÜLDÜR

Üye : Doç. Dr. Muharrem A. KAMBEROĞLU

Üye : Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ

Bu Tezin Bitki Koruma Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Doç. Dr. İsmail HİLALİ
Enstitü Müdürü

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
1.GİRİŞ	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	8
3.MATERYAL ve YÖNTEM.....	12
3.1.Materyal.....	12
3.1.1. Çalışmanın yürütüldüğü yer ve örnekleme yapılan alan.....	12
3.2. Yöntem	13
3.2.1. Örnekleme	13
3.2.2. Total nükleik asit ekstraksiyonu çalışmaları.....	14
3.2.3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)	14
3.2.4. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi	15
3.2.5. RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) analizi.....	16
4.ARAŞTIRMA BULGULARI veTARTIŞMA	17
4.1. Arazi Çalışmaları ve Soğan Bitkilerindeki Simptomlar.....	17
4.2. Moleküler Çalışmalar	19
4.2.1. Total nükleik asit izolasyonu	19
4.2.2. Fitoplazma teşhisi ve RFLP analizi	19
5.SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	24
KAYNAKLAR	25
ÖZGEÇMİŞ	31

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ADANA İLİ SOĞAN ÜRETİM ALANLARINDA BULUNAN FİTOPLAZMALARIN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

İbrahim ERGÜVEN

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet E. GÜLDÜR
Yıl: 2019, Sayfa: 40

Adana ilinde soğan (*Allium cepa* L.) yetiştirilen alanlarda soğan bitkilerinin yapraklarında sararma, yassılaşıma, yer yer içe çökük oluşumlar, deformasyon ve genel olarak bitkide bodurlaşma biçiminde belirtilen semptomlar gözlemlenmiştir. Bu tür semptomlara sebep olan etmen/etmenlerin varlığını saptamak amacıyla çalışmalar yürütülmüştür. Bu çalışmada, soğan yetiştirilen alanlarda fitoplazma etmeni ile bulaşık olduğundan şüphelenilen ve aynı zamanda sağlıklı olarak görülen bitkilerin yaprak ve köklerinden örnekler alınmıştır. Toplanan örnekden CTAB buffer ile total Nükleik Asit (tNA) izolasyonu yapılmıştır. Bu tNA'ler fitoplazmaya özgü R16F1/RO ve R16F2n/R2 primerleriyle direkt ve nested PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemiyle testlenmiştir. Nested PCR sonucunda yalnızca semptomatik belirti gösteren soğan bitkilerinden beklenen düzeyde bant (1250 bp) bant gözlemlenmiştir. *Eco*RI restriksiyon enzimiyle yapılan RFLP sonucunda nested PCR ürünleri etmenin fitoplazma olduğunu kanıtlayan 750 ve 500 bp bant vermiştir. Bu çalışma ile Türkiye'de ve Adana ilinde soğan bitkisinde fitoplazma enfeksiyonu ilk kez saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Soğan, sararma, deformasyon, PCR/RFLP, fitoplazma

ABSTRACT

MScThesis

DETECTION OF PHYTOPLASMAS IN ONION (*Alliumcepa* L.) PRODUCTION AREAS OF ADANA PROVINCE

İbrahim ERGÜVEN

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet E. GÜLDÜR
Year: 2019, Page: 40

Leaves of onions (*Alliumcepa* L.) showed symptoms such as yellowing, flattening, intertwine, deformation and generally observed in the form of stunted plants observed in Adana province. This study was performed to determine the prime causal agent for these symptoms. For this, total Nucleic Acid were isolated using CTAB buffer from the leaf and root samples exhibiting above symptoms. Total Nucleic acids were tested by direct and nested PCR (Polymerase Chain Reaction) method with primers of R16F1/RO and R16F2n/R2 specific for phytoplasma. Nested PCR results showed that molecular weight of bands was determined to be 1250 bp, which was in accordance with the typical presence of phytoplasma agent. Further analysis with RFLP via EcoRI restriction enzyme confirmed that the pathogenic agent was phytoplasma exhibiting theyields of 750 and 500 bp bands. This is the first report of phtoplasma infection reported on onions in Turkey.

KEY WORDS: Onion, yellows, deformation, PCR/RFLP, phytoplasma

TEŞEKKÜR

Tezin konusunun seçiminde, uygulamasında ve çalışmamda yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın Prof. Dr. Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR, tez çalışmamda bana yardımcı olan Arş. Gör. Eray ŞİMŞEK ve Doktora öğrencisi Havva GÜMÜŞ'e teşekkür ederim. Ayrıca bu tez yazılırken maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen biricik eşim ve değerli aileme teşekkür ederim.



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 4. 1. Enfekteli soğan bitkilerinde deformasyonlar	17
Şekil 4. 2. Enfekteli soğan bitkilerinde sararma (solda), Sağlıklı soğan (sağda).....	18
Şekil 4. 3. Enfekteli soğan bitkisinin yapraklarında içe çökük yapı oluşumu	18
Şekil 4. 4. Ceyhan ilçesi'nden alınan enfekteli bitkilerin %1'lik agaroz jel görüntüsü.....	20
Şekil 4. 5. Kadirli ilçesinden alınan enfekteli soğan örneklerinin %1'lik agaroz jel görüntüsü.....	21
Şekil 4. 6. Yumurtalık ilçesinden alınan enfekteli soğan bitkilerinin %1'lik agaroz jel görüntüsü	21
Şekil 4. 7. <i>Eco</i> RI enzimi kullanılarak yapılan RFLP analiz sonuçları	22



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3. 1. Çalışmanın yürütüldüğü yerlerdeki soğan üretim alanları (TUIK, 2018) ve tanılama için alınan örnek sayıları	12
Çizelge 4. 1. Survey yapılan alanlardan elde edilen sonuçlar	20



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

bp	Baz çifti (basepair)
°C	Santigrat derece
CTAB	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
d	Dakika
da	Dekar
ddH ₂ O	Çift distile su
DNA	Deoksiribo nükleik Asid
EDTA	Ethylene daimine tetraacetic acid
ESFY	Euro pean Stone fruit yellows
EtBr	Ethidium Bromide
ETOH	Ethanol
g	Gram
mg	Miligram
ml	Mililitre
MLO	Mikoplazma Benzeri Organizma
mM	Mili molar
NaCl	Sodium Chloride
ng	Nanogram
nm	Nanometre
PCR	Polymerase Chain Reaction
pmol	Piko mol
PVP	Poly vinyl pyrrolydone
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
rpm	Revolutions perminute (dakikadaki devir sayısı)
TAE	Tris asetat EDTA
UV	Ultraviyole
V	Volt
µl	Mikrolitre
u	unite

1.GİRİŞ

Türkiye’de geniş alanlarda yetiştirilen sebzelerden biri olan soğan (*Alliumcepa* L.) Alliaceae familyasına aittir. Bu familya önceleri Liliaceae ve Amaryllidaceae familyalarının bir üyesi iken yeni kayıtlarda farklı bir familya olarak bildirilmektedir (Brewster, 1994; Schwartz ve ark.,1996; Vural ve ark., 2000).

Anavatanının, ülkemizin de içinde bulunduğu Küçük Asya olduğu tahmin edilen soğan (Brewster, 1994), insan beslenmesinde son derece önemlidir. Soğan başları kuru soğan, taze yeşil yaprakları da taze soğan olmak üzere iki şekilde tüketilebilir.

Ortalama 100gsoğanda 1.2 g protein, 0.1 g yağ, 8.9 gşekerli maddeler, 8 g su, 12 g kuru madde, 30 mg kalsiyum ve 42 kalori bulunur.

Oldukça fazla besin değerine sahip olan soğan, bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de fazlasıyla tüketimi gerçekleşmektedir. Sonbahar mevsimi itibariyle kışa hazırlık olsun diye, çuvallar dolusu soğan stokları oluştururuz. Mutfaklarımızda hazırladığımız çeşitli yemeklerde soğanın geniş bir kullanım alanı vardır. Soğan çeşitleri ile doğrudan yemek yapıldığı gibi, çoğunlukta yemeklerin vazgeçilmez, eşsiz bir lezzet kaynağıdır. Soğan yemeğe ayrı bir lezzet oluşturur ve içerisinde bulunan vitaminler açısından sağlığa birçok faydası vardır. Mutfaklarımızda hazırlanan çorbada, salatalarda, piyaz da, soğan piyazı hazırlamada, yahni yapımında, kebab yapımında, mücver yapımında, dolma yapımında, köfte yapımında, soğan ekmeği hazırlanışında, börek yapımında ve daha birçok çeşitte soğan kullanımı yapılır. Birçok yemeğin hazırlanmasına katkı sağlayan soğanın, bir hayli çeşidi bulunmaktadır. Sofralara lezzetle eşlik eden soğan çeşitler şunlardır:

Taze soğan: Yeşil soğan diye tabir ettiğimiz soğan, her çeşit salatalarda veya tek başına kullanılır.

Arpacık soğan: Soğan yahnisi yapımında, kimi etli veya etsiz yemeklerde, zeytinyağlı yemekler içerisinde soğanın kullanılmış olduğu her yemek çeşitlerinde kullanılır.

Kırmızı Soğan: Kabuğu mor renkli olan soğan, sofralarda en fazla çiğ olarak yenilir. Salatalarda ve piyazlar için bolca kullanılır.

Yazlık Soğan: Beyaz kabuklu olan bu soğan çeşidi, bol sulu ve tatlıdır. Daha çok sofralık olarak kullanılan beyaz soğan, salatalarda ve bazı yemek türlerinde kullanımı sağlanır. Her türlü yemeklerde kullanılmaz. Örneğin: Dolma içlerinin hazırlanmasında zorunlu olmadığı sürece, sulu olduğundan dolayı kullanımı yapılmaz. Mevsimsel bir soğan türü olmaktadır, kışlık soğan değildir.

Kışlık Soğan: Yazlık tür olan bu soğan çok sulu olmayan, tüketimi sağlanan ve iç kabukları sert olan soğandır. Bütün yemek türlerinin yapılmasında kullanımı sağlanır. Pazar ve marketlerde en çok gördüğümüz soğan çeşididir. Ülkemizde de en fazla bu soğan yetiştirilmektedir ve tüketilir. Kış mevsiminde bu soğan tercih edilir (Anonim, 2019a).

Soğanın morfolojik özelliklerine baktığımız zaman kökler, gövdeden tek tek çıkarlar ve nadir olarak dallanırlar. Çok yoğun bir kök kütlesi meydana getirip köklerin yaklaşık %75'i toprağın 20-25 cm'sinde bulunur ve kökler nadiren 50 cm'ye ve daha derinlere ulaşır. Gövde, köklerin çıktıkları nokta ile etli yaprakların

çıkıldığı nokta arasında, soğanın büyüklüğüne bakılmaksızın bazılarında uzun bazılarında kısadır. Soğanın yaprakları bir boru şeklinde gelişir, en genç yaprak en içteki yapraktır. Yaprakların boyu çeşide ve çevre koşullarına bağlı olarak 20-60 cm arasında değişmektedir. Çiçekleri, soğanın enine kesitinde kolayca görülebilen sayıda meydana gelen çiçek demeti sapı diye adlandırılan, soğandan itibaren genişleyerek karın yapan, yine çiçeklerin bulunduğu üst kısımda incelen, yapraklara göre daha etli ve dayanıklı olan 40-100 cm'ye kadar boylanabilen bir yapının uç kısmında yıldızvari dizilmiş yüzlerce çiçekten oluşur. Meyvede 6 adet tohum taslağı olduğu halde bunlardan sadece 2-3 tanesi gelişerek tohum meydana getirir. Tohumların üzeri sert-siyah parlak bir kabukla örtülü olup tohumlar üç köşeli bir yapıya sahiptir (Vural ve ark., 2000).

Soğan; iklim isteği yönünden seçicidir. Gün uzunluğu ve sıcaklık, soğan yetiştirmeyi sınırlayan iki önemli unsurdur. Bitkinin erken gelişme devresinde serin havaya ihtiyaç vardır. Fakat baş bağlama ve başın büyümesi için sıcaklığın fazla olması gerekir. Erken gelişme devresinde ortalama sıcaklık 13 °C olmalıdır. Baş bağlamaya başladığı zaman sıcaklığı 21°C ve başın olgunlaşması için de 24-27 °C olması gerekir. Erken çeşitlerde gün uzunluğu 10-12 saat olunca baş bağlama başlar. Çeşitlerin 13-15 saat gün uzunluğuna ihtiyaçları vardır. Erkenci çeşitler soğuk bölgelerde iyi ürün vermez.

Adana ili ve ilçelerinde yazlık soğan ekiminde en çok tercih edilen soğan tohumlarının bazı özellikleri şunlardır;

- Kısa gün, çok erkenci soğan çeşididir.
- En erkenci kısa gün çeşididir.
- Yumurta şeklindedir. Kabuk rengi saman sarısı, et rengi beyazdır.

- Dekara atılacak tohum miktarı toprak yapısı ve bölgelere göre 600-700 g arasındır.
- Ekim dönemi bölgelere göre Eylül-Ekim-Kasım aylarıdır.
- Hasat dönemi bölgelere göre Nisan-Mayıs aylarıdır.
- Yüksek verimli çeşittir.
- Yetiştirme şartlarına ve iklim koşullarına göre 5-8 ton verim alınabilir.
- Kuru madde oranı çok düşüktür.
- Depolama süresi çok kısadır.

FAO verilerine göre 2016 yılında dünyada 144 ülkede kuru soğan üretilmektedir. Bir önceki yıla göre kuru soğan ekim alanları %2,5 oranında artarak yaklaşık 5 milyon hektar olmuştur. Kuru soğan üretimi ise bir önceki yıla göre %2,2 artarak 93 milyon ton olmuştur. Dünya kuru soğan ekim alanlarının %24,2'si Hindistan'da, %21,9'u Çin'de, %9,4'ü de Nijerya'da bulunmaktadır. Dünya kuru soğan üretiminde Çin ve Hindistan başlıca ülkelerdir. Çin'de 23,9 milyon ton, Hindistan'da ise 19,4 milyon tonluk kuru soğan üretimi gerçekleşmiştir (FAO, 2016).

Dünyada ortalama kuru soğan verimi 2016 yılında bir önceki yıla göre %0,3'lük azalış göstererek, 18,80 ton/ha olmuştur. Kuru Soğan dış ticaret verileri incelendiğinde 2017' de ihracat yaklaşık 2 milyar \$ ve ithalat 2,3 milyar \$ olarak gerçekleşmiştir. 2017 yılında dünyada kuru soğan ihracatında 1,62 milyon tonluk ihracat ile Hindistan ilk sırada yer almaktadır. Mısır, 452 bin tonla ikinci sırayı alırken, Meksika 422 bin tonluk ihracat ile üçüncü sıradadır. Türkiye 248 bin tonla 6. sırada yer almaktadır. ABD 735 bin ton ithalat ile dünya kuru soğan ithalatında ilk sırada yer almaktadır. Malezya 582 bin ton ile ikinci sırayı alırken, Birleşik Krallık 344 bin tonluk ithalatı ile üçüncü sıradadır (Anonim, 2019b).

Türkiye’de 2017 yılında toplam soğan üretimi 576 bin 918 dekar olup üretim miktarı 2 milyon 131 bin 513 ton olmuştur. Ülkemiz 2017 yılı taze soğan üretimi 138.993 ton olarak gerçekleşmiştir (TUİK, 2018).

Soğan Akdeniz Bölgesi’nin önemli sebze türleri arasında yer almaktadır. Farklı iklim koşullarına sahip olan Türkiye’de, Doğu Anadolu Bölgesi dışında kalan hemen hemen her bölgede kuru soğan yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ülkemizdeki soğan yetiştiriciliği İç Anadolu, Akdeniz’in Doğusu, Orta Karadeniz ve Marmara Bölgesi’nde yoğunlaşmıştır.

Kuru soğan üretiminde yüzde 22,5’lik payla ilk sırayı Ankara; yüzde 16,5 pay ile Amasya; yüzde 9,2 ile Eskişehir; yüzde 8,6 ile Hatay; yüzde 7,9 ile Adana; yüzde 5,8 ile Çorum; yüzde 4,8 ile Tokat; yüzde 4,2 ile Bursa ilimiz izlemektedir. Hatay ve Adana illerimizde daha çok yazlık soğan üretimi yapılırken, Amasya ve Ankara illerimizde kışık soğan üretilmektedir (Anonim, 2019c).

Soğanda ekonomik kayıplara neden olan birtakım hastalık ve zararlılar vardır. Bunlar içerisinde görülen önemlileri; Soğan Beyaz Çürüklük Hastalığı (*Sclerotium cepivorum* Berk.), Sebzelerde Septoria Leke Hastalığı (*Septoria apiicola* Speg., *Septoria copersici* Speg.), Sebzelerde Kurşuni Küf Hastalığı (*Botrytis cinerea*), Soğan Mildiyösü Hastalığı (*Peronospora destructor* Berc.), Soğan Sürmesi Hastalığı (*Urocystis cepula* First.), Soğan Pası (*Puccinia allii*), Soğan Rastığı (*Urocystis cepulae* = *Urocystis colchici* var. *cepulae*), Siyah Sap Çürüklüğü (*Alternaria tenuis*), Külleme Hastalığı (*Leveillula taurica*)’dır.

Zararlılar olarak; Soğan Psillidi (*Bactericera tremblayi*), Soğan Sineği (*Delia antiqua*), Yaprak Galeri Sinekleri (*Liriomyza trifolii*, *Liriomyza bryoniae*, *Liriomyza huidobrensis*, *Phytomyza horticola*), Pırasa Güvesi (*Acrolepiopsis assectella*),

Sebzelerde Telkurdu (*Agriotes* spp.) Soğan Sak Nematodu [*Ditylenchus dipsaci* (Kühn)], Çiçek tripsi (*Frankliniella occidentalis*), Telkurdu (*Agriotes* spp.)'dur.

Ekonomik kayıplara neden olan bu hastalık ve zararlıların yanı sıra son yıllarda dünyanın çeşitli ülkelerinde (Amerika, Kanada, Japonya, İtalya, Çek Cumhuriyeti, Litvanya, Pakistan, Kore, Morityus, Suudi Arabistan ve Mısır) soğan ekim alanlarında bazı fitoplazmaların varlığı tespit edilmiştir.

Önemli bitki patojenleri arasında yer alan fitoplazmalar önceleri virüs veya virüs benzeri hastalık etmeni olarak değerlendirilmiştir (Spaldon, 1958). Daha sonra mikoplazmalara benzemesi nedeni ile mikoplazma benzeri organizma (MBO:MLO:Mycoplasma-likeorganism) olarak adlandırılmıştır (Doi ve ark., 1967). Mollicute Taksonomisi Alt Komitesi (the Subcommittee on the Taxonomy of Mollicutes) tarafından 1992 yılında bitki patojeni mollicute'leri ifade etmek üzere bu patojenlerin "phytoplasma (fitoplazma)" olarak adlandırılması kabul edilmiştir (Anonim, 1992).

Fitoplazma hücre duvarları olmayan, bitkilerin floem demetlerinde çoğalan ve floem de beslenen böceklerle taşınabilen prokaryotik organizmalardır. Hücre duvarı olmadığından çeşitli şekillerde ve çaplardadırlar (1 mikrometreden küçük). Genellikle fitoplazmalar 500 nm çaplarında, tek bir hücre membranı ile çevrili küçük bakterilerdir. Kültür ortamına alınamazlar, canlı dokuya muhtaçtır. Bu nedenle fitoplazmalar sürekli olarak bitki ve böcekler arasında geçişler sayesinde canlılığını ve yayılışını sürdürmektedir (Hogenhout ve ark., 2008).

Fitoplazmaların teşhisi ve mücadelesi oldukça zordur. Dünya’da son yıllarda bu tip hastalıkların belirlenmesinde moleküler teknikler kullanılmaya başlanmıştır (Marcone ve ark., 1997).

Ülkemizin yapılan çalışmalar incelendiğinde; böğürtlen (Sertkaya ve ark., 2004), domates (Sertkaya 2004; Sertkaya ve ark., 2007), erik, badem, kaysı ve şeftali (Çağlayan ve ark., 2004; Sertkaya, 2005; Ulubaş-Serçe ve ark., 2006; Yavuz ve ark., 2011; Altan ve Çağlayan, 2011; Mukannasgil ve ark., 2011; Ulubaş-Serçe ve ark., 2011), armut (Sertkaya ve ark., 2005), elma (Sertkaya ve ark., 2008; Sertkaya ve ark., 2011), biber, Cezayir menekşesi (*Catharanthus roseus*), patlıcan, susam ve susam alanlarından toplanan vektör böcek türlerinden *Orosius orientalis* (Sertkaya ve ark., 2007), gül (Çağlar ve ark., 2011), zeytin (Fidan ve ark., 2012), köpek dişi ayrığı: Bermuda çimi (*Cynodondactylon*) (Çağlar ve ark., 2013), kurtbağrı (*Ligustrum ovalifolium* Hassk.) (Çağlar ve Elbeaino, 2013), patates ve tarla sarmaşığı (*Convolvulus arvensis*) (Sertkaya ve ark., 2013) gibi birçok kültür ve süs bitkileri ile yabancı ot ve vektör böcek türünde farklı gruplara ait olan fitoplazmalar belirlenmiştir.

Bu çalışmada ise; Adana ilinde ekonomik önem arz eden hem kuru hem de yeşil soğan yetiştiriciliği yapılan alanlarda fitoplazma varlığını belirlemek için yapılmıştır. Mevcut bilgimize göre şimdiye kadar ülkemizde soğan bitkisinde fitoplazma etmeni ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışma Adana’da soğan ekim alanlarında fitoplazma etmeninin varlığını saptamak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Fitoplazmaların bilinen tarihi çok eski yıllara kadar uzanmaktadır. 1603 yılında Japonya’ da bulunan, ilk fitoplazma hastalığını temsil eden ve kayıtlara geçen Dut bodurluk hastalığı’nın (Mulberry dwarf disease) böcek tarafından taşınan, kültüre alınamayan bir virüs tarafından oluşturulduğu düşünülmüştür (Okuda ve ark., 1972; (Kunkel, 1926). Enekteli bitkilerin floem dokularında çok küçük hücrelerin elektron mikroskopunda gözlemlenmesine kadar virüs olduğu düşünülmüştür. Bu gözlemlere göre enfekteli bitkilerin dokularındaki hücre duvarından yoksun yapılar mikoplazmalara benzetilmiştir. Yalnızca simptomatolojik benzerliklerinden dolayı değil aynı zamanda mikoplazmalara benzerliğinden dolayı 1967 yılında Mikoplazma Benzeri Organizmalar (MBO) olarak adlandırılmıştır(Doive ark., 1967).

Obligat parazit olan fitoplazmalar, *in-vitro* koşullarında mevcut teknikler ile kültüre alınamazken, 2012 yılında Contaldo ve ark. Fitoplazmaları axenic ortamında kültüre almışlardır. (Contaldove ark., 2012).

Fitoplazma tarafından enfektelenen bitkilerde phyllody, gövdede yassılaşıma, cadı süpürgesi ve bodurlaşma şeklinde belirtiler görülmektedir (Bertaccini ve ark., 1996;Lee ve ark., 1997).

Fitoplazmalar floem dokusunu kullanarak bitki içinde çoğalmakta ve vector böcekler yoluyla bitkiden bitkiye taşınmaktadırlar. Fitoplazmalar başlıca *Cicadellidae* (Yaprak pireleri), *Fulgoridae* (planthopper), ve *Psyllidae* familyalarına dahil böceklerle yayılmaktadırlar. Bu böcekler bitkilerin floem dokusuyla beslenerek fitoplazma hastalıklarını sağlıklı bitkilere taşımaktadırlar (Ploaie., 1981).

1990’larda Fitoplazma DNA’sının ilk klonlanmasını takiben (Kirpkpatrick, 1987), nükleik asit bazlı probalar bitki ve vektörlerde fitoplazmaları teşhis etmek için geniş çapta kullanılmışlardır (Lee ve Davis, 1988; Bertaccini ve ar.k, 1990a; Bonnet ve ark., 1990; Harrison ve ark., 1992). Ayrıca diagnostik amaçlar için sekansa özgü

primerler geliştirilmiştir (Firrao ve ark., 1993). Kopyalanmış DNA kısımlarına dayalı olarak yapılan PCR testleri fitoplazma teşhisi için hassas bir yöntemdir. PCR testlerinde korunmuş gen bölgelerine (16S rRNA, ribozomal protein, *tuf*, 16S-23S gen bölgesi gibi) dayalı olarak geniş çaplı primerler dizayn edilmesinin yanı sıra bitki ve böceklerle ilişkilendirilen çok sayıda fitoplazmaların teşhisine de izin verir (Bertaccini ve ark., 1992a; Gundersen ve Lee, 1996; Schneider ve ark., 1997). PCR testlerinde kullanılan fitoplazmaya özgü universal primerler fitoplazma hastalıklarının ilk teşhisi için kullanışlıdır. Birkaç universal ve çoğu fitoplazma grup spesifik primerler 16S ribozomal gen üzerinde fitoplazmaların rutin teşhisi için dizayn edilmiştir (Deng ve Hiruki, 1991; Ahvens ve Seemüller, 1992; Namba ve ark., 1993; Davis ve Lee, 1993; Lee ve ark., 1993a, 1993b; Lorenz ve ark., 1995; Schneider ve ark., 1997).

16S rRNA geni, ribozomal protein geni, *tuf* ve *secY* geni gibi çeşitli korunmuş dizilere dayalı olarak primerlerin dizayn edilmesi enfekteli bitkilerde fitoplazmaların saptanması, teşhisi ve sınıflandırılmasında geniş çapta kullanılmaktadır (Gundersen ve ark., 1996; Schneider ve ark., 1997; Marcone ve ark., 2000; Wei ve ark., 2004; Martini ve ark., 2007).

Günümüzde fitoplazmaların sınıflandırılması, ayırt edilmesi için birkaç endonükleaz restriksiyon enzimi kullanılarak RFLP analizleri uygulanmaktadır (Lee ve ark., 1998a;b). Her fitoplazmanın RFLP deseni korunduğundan bilinmeyen fitoplazmalar tüm referans fitoplazmaların RFLP desenleriyle karşılaştırılarak teşhisi yapılabilir (Lee, 1998a;b).

Adana'da Turkish *ligustrum* witches' broom (TuLiWB) adlı fitoplazma hastalığı *Ligustrum ovalifolium* bitkisinde saptanmıştır (Çağlar ve Elbeaino., 2013).

Adana, Aydın, Antalya ve Mersin illerinde yapılan bir çalışmada, *Cynodon dactylon* bitkisinde 16Sr-XIV grubuna giren Bermuda grass White leaf phytoplasma etmeni teşhis edilmiştir (Çağlar ve ark., 2013).

Dünya çapında sebzeler, baklagiller ve yağ bitkilerinde fitoplazma hastalıkları ortaya çıkmıştır; fakat bunların büyük çoğunluğu çoğunlukla Apiaceae, Asteraceae, Cucurbitaceae, Fabaceae ve Solanaceae familyasına ait bitki türlerini etkileyen Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya ülkelerinden rapor edilmiştir. Bu ürünlerin coğrafik dağılımları ve fitoplazma ile ilişkili taksonomik grup/alt grupların boyutu birbirinden oldukça farklıdır. Avrupa, kuzey Amerika ve Asya'da en yaygın 16 SrI-B grubu fitoplazmalardır. 16 SrXII-A grubu fitoplazmalar Avrupa ile sınırlanırken; Asya ve Avustralya'da 16 SrII grubu yaygındır. Ayrıca, Güney Amerika'da hastalıklı sebze, baklagil ve yağ bitkilerinde genel olarak 16 SrIII grubu fitoplazmalar saptanmıştır. Bu hastalıkların birkaçı diğer fitoplazma hastalıkları gibi, belirli konukçu bitki türlerinde (bazen dokuza kadar) benzer semptomlara neden olan ya aynı coğrafik bölgelerde ya da farklı kıtalarda ortaya çıkan genetik olarak farklı fitoplazmalarla ilişkilendirilmiştir (Martini ve ark., 2018).

Dünya çapında soğanı enfekteleyen 16SrI fitoplazması ile ilgili birçok rapor vardır: Teksas'ta 16SrI-A/rpI-A (Lee ve ark., 2003) Kanada'da 16SrI-A (Khadharir ve ark., 2002), Japonya ve İtalya'da 16SrI-B (Vibio ve ark., 1995; Lee ve ark., 2004b), Litvanya'da 16SrI-A/rpI-A ve 16SrI-L/rpI-B/secYI-B (Jomantiene ve ark., 2010), Pakistan (Ahmad ve ark., 2015) ve Kore'de 16SrI (Jung ve ark., 2012), Morityus'ta 16SrI-B (Gungoosingh-Bunwareeve ark., 2010). Diğer ribozomal gruplardan da fitoplazma infeksiyonları Mısır ve Suudi Arabistan'da 16SrII-D alt grubuyla infekteli bulunan soğan bitkilerinde rapor edilmiştir (Omar 2017; El-Sisi ve ark., 2017). Teksas'ta toplanan semptomatik soğan örneklerinde 16SrVI-A (Lee et al. 2003) alt grubunda bir fitoplazma saptanırken; buna karşın Morityus'ta soğanda 16SrXII-A alt grubu saptanmıştır (Gungoosingh-Bunwaree ve ark., 2010). Kuzey Amerika'da bu hastalığın ana vektörü *Macrosteles quadrilineatus*'tur, fakat *Collodanus montanus*, *C. geminatus* ve *Acinopterus angulatus* da fitoplazmayı taşımaktadır (Severin ve Frazier 1945). Japonya'da soğan sarılıkları *M. striifrons*, *Hishimonus sellatus*, *Hishimonoides sellatiformis* tarafından taşınmaktadır (Maejimave ark., 2014).

Tektaş'takabak, havuç, soğan, maydanoz, dereotu ve bazı yabancı otların AY fitoplazmaları tarafından enfektelendiği ortaya çıkarılmıştır. Enfekteli bitkilerde Nested-PCR ve RFLP analizlerine dayalı olarak aster sarılıkları grubunda 16SrI-A ve 16srI-B saptanmıştır. Havuç, maydanoz ve dereotu her iki alt grup ile enfekteli olarak bulunmuştur. Soğan, yabancı marul, papatya ve kanarya otunda 16SrI-A saptanırken, kabakta 16SrI-B alt grubunda saptanmıştır (Lee ve ark., 2003).

Khadhair ve ark., (2002) Kanada' da sarımsak ve yeşil soğanda sarılıklara neden olan fitoplazmaları PCR yöntemiyle saptamışlardır. Bitkilerin yaprak dokularından elde edilen total DNA'ları universal primer çifti R16F2n/R2 ve R16 (I)F1/R1) çoğaltılmışlardır. Bu ürünleri (RFLP) analizinde tanımlamak için *AluI*, *KpnI*, *MseI* ve *RsaI* restriksiyon endonükleaz enzimleriyle kesmişlerdir. Çalışmalar sonucunda fitoplazma ile enfekteli sarımsak ve soğanda Aster sarılıkları fitoplazmasını saptamışlar ve bu fitoplazmanın 16SrI-A alt grubuna ait olduğunu rapor etmişlerdir.

Goel ve ark. (2017), Hindistan'da sarımsak ve soğan üretim alanlarında sarılık ve geriye doğru ölüm biçiminde belirtiler gözlemlemişlerdir. Şüpheli fitoplazma simptomsu gösteren bu bitkilerden örnekleri alıp, DNA izolasyonu ve PCR-RFLP testlerine tabi tutmuşlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda sarımsak ve soğanda sararma ve geriye doğru ölüm biçiminde simptomlara sebep olan etmenin fitoplazmadan kaynaklandığını rapor etmişlerdir.

3.MATERYAL ve YÖNTEM

3.1.Materyal

3.1.1. Çalışmanın yürütüldüğü yer ve örnekleme yapılan alan

Fitoplazma etmenini tanılamak için kullanılan bitkiler Adana ili soğan üretiminin yapıldığı Ceyhan (4), Kadirli(2) ve Yumurtalık(1) ilçelerine bağlı toplamda 7 köyden alınmıştır. Survey yapılan alanlarda ekilen alanın büyüklüğüne göre 0-49 dekar arasından 2 örnek, 50-100 dekar arasından 5 örnek, 101-250 dekar arasından 10 örnek olacak şekilde güdümlü örnekleme yapılmıştır (Bora ve Karaca, 1970). Soğan bitkisinde fitoplazma etmenini tanılamak için örnekleme yapılan alanlarda alınan örnek sayıları Çizelge 3. 1.'de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Çalışmanın yürütüldüğü yerlerdeki soğan üretim alanları (TUIK, 2018) ve tanılama için alınan örnek sayıları

Survey yapılan il	İlçeler	Köyler	Ekilen alan (da)	Örnek sayısı
ADANA	Ceyhan	Dokuztekne	26	96
		Mustafabeyli	80	
		Burhanlı	20	
		Kıvrıklı	50	
	Kadirli	Merkez	160	21
	Yumurtalık	Zeytinbeli	26	16
		Avluk	35	

Etmeni tanılamak için gerekli laboratuvar çalışmaları Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Viroloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

3.1.2. Moleküler tanılamada kullanılan materyaller

Etmenin tanılmasında günümüzde yaygın olarak kullanılan PCR-RFLP yöntemi kullanılmıştır. Hastalık belirtisi gösteren bitkilerin yapraklarından elde edilen total DNA'lar ve DNA eldesinde kullanılan kimyasallar, PCR ve RFLP çalışmaları için materyal olarak kullanılmıştır.

RFLP çalışmalarında *EcoRI* enzimi (ThermoScientific, ABD) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örnekleme

2017 yılı Mart-Mayıs ayları arasında Adana ili Ceyhan, Kadirli ve Yumurtalık ilçelerine bağlı köylerde soğan üretiminin yapıldığı alanlardan örnekler toplanmıştır. Soğan bitkilerinde genel olarak görülen sararma, yassılaşıma, yapraklarda içe çökük yapı oluşumu, deformasyon ve genel olarak bitkide bodurlaşma biçiminde simptom gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır. Her tarladan farklı sayıda; Ceyhan ilçesine bağlı 5 köyden, Yumurtalık ilçesine bağlı 2 köyden ve Kadirli ilçesine bağlı 1 köyden toplamda 133 örnek toplanmıştır. Fitoplazma belirtisi gösteren soğan bitkilerinin yanı sıra belirti göstermeyen bitkilerden de örnekler alınmıştır.

Etmen ile bulaşık olduğu şüphelenilen örnekler ayrı ayrı polietilen poşetlere konularak, alındığı yer ve tarihe ilişkin verileri içerecek şekilde etiketlenerek laboratuara getirilmiştir. Laboratuvarda kayıt altına alınan örnekler fotoğraflanmış ve testleninceye kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Total nükleik asit ekstraksiyonu çalışmaları

Total nükleik asit ekstraksiyonu çalışmaları CTAB'a dayalı olarak Ahrens ve Seemuller (1992) protokolünde bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır. Kısaca, yaklaşık 1 g bitki dokusu 4 ml CTAB tamponu(100mM Tris-HClpH 8.0, 20mM EDTA, 2% CTAB, 1.4M NaCl, and 0.2% 2-mercaptoethanol) içerisinde DNA ekstraksiyon poşeti ve hammer kullanılarak öğütülmüştür. Ezilen örneğin yaklaşık 1 ml bitki özsuğu 1.5 ml'lik steril Eppendorf tüpe aktarılmış ve 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. 600 µl süpernatant dikkatli bir şekilde yeni Eppendorf tüpe transfer edilerek 65°C'de 35 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra eşit hacimde Kloroform:İzoamil(24:1) alkol ilave edilerek yaklaşık 1 dakika vortekslenmiştir. Vortekslenen tüpler 12.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve üst fazdan dikkatli bir şekilde 500 µl alınarak üzerine 500 µl Kloroform:İzoamil(24:1) alkol ilave edilerek 1 dakika vortekslenip 12.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.300 µl süpernatant yeni Eppendorf tüpe alınarak üzerine aynı miktarda soğuk İzopropanol eklenerek 1 saat -20°C'de inkübe edilmiştir.12.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek sıvı kısım dikkatlibir şekilde uzaklaştırılmıştır.

Devamında bu pellete 1000 µl%70 soğuk etanol ilave edilerek 15.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.Daha sonra bu supernatant uzaklaştırılarak, pellet kurutma kağıdı üzerinde yalaşık 1 saat kurutulmaya bırakılmıştır. DNA pelleti kurur kurumaz 50 µl nükleaz içermeyen suda çözdürülmüştür. Elde edilen total nükleik asitler PCR çalışmaları yapıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.2.3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR çalışmaları etmenin 16Sr rDNA geni üzerinden yapılmıştır.PCR çalışmaları 0.2 ml'lik PCR tüplerinde 50µl hacimde yürütülmüştür. Çalışmada kullanılan DNA miktarları spektrofotometre ile ölçülüp genellikle fitoplazma tanısında istenen yoğunlukta (20 ng/µl) olacak şekilde ayarlanmıştır.

PCR çalışmaları iki aşamalı (direkt/nested) olarak yürütülmüştür. Direkt PCR 1800 bp'lik fragment elde etmek için universal primerler (P1/P7) yürütülmüştür. Her örnekten 1 µl kalıp DNA içeren PCR karışımında; her örnek için 40,75 µl nükleazsız su, F1/R0 primerlerinin her ikisi ve dNTP (deoksiribotriyofosfat)'den 1 µl, 0,25 µl Taq DNA polimeraz enzimi ve 5 µl buffer kullanılmıştır. Direkt PCR koşulları şöyledir; başlangıç denaturasyonu olarak 95°C'de 3 dakika, 35 döngüde, 94°C'de 1 dakika, 50°C'de 2 dk ve 72°C'de 3 dakika, daha sonra son uzama sıcaklığı 72°C'de 10 dakika (Davis ve ark.,1993; Lee ve ark.,1993).

Direkt PCR ürünleri 1/50 oranında sulandırılarak Nested PCR çalışmalarında kalıp DNA olarak kullanılmıştır. Nested PCR'da F2n/R2 primerleri kullanılmıştır (Gundersen ve ark., 1996; Lee ve ark., 1993). Reaksiyon karışımı direkt PCR ile aynıdır, ancak PCR koşulları şöyledir; başlangıç denaturasyonu olarak 95°C'de 3 dakika, 35 döngüde, 94°C'de 1 dakika, 55°C'de 2 dk ve 72°C'de 3 dakika, daha sonra son uzama sıcaklığı 72°C'de 10 dakika (Gundersen ve ark., 1996).

3.2.4. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi

Nested PCR çalışması sonucunda çoğaltılan DNA'lar 1X'lik TAE (Tris-asetat EDTA)'de hazırlanmış %1 agaroz jelde kontrol edilmiştir. 0.8 g agaroz solüsyonu 80 ml TAE'de ısıtılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan jel %1 TAE ile doldurulan jel tankına yerleştirilmiştir. İlk kuyucuğa 6µl 1 kb Ladder (Thermo) yüklenmiştir. Daha sonra 6 µ PCR ile çoğaltılmış soğan örnekleri yüklenmiştir. Jel tankının kapakları kapatılarak, güç sağlayan (5V/cm) elektrotlar bağlanmıştır. Agaroz jel elektroforezi 75 dakika 85 volt akımla yürütülmüştür. Koşum işlemi tamamlandıktan sonra jel, oda sıcaklığında 10 dakika 1000 ml H₂O+50 µl EtBr (10mg/ml) karışımı içerisinde boyanmıştır. Jeldeki fazla EtBr uzaklaştırıncaya kadar 10 dakika distile su içinde tutulmuştur. Sonuçlar UV transilluminatör ile kontrol edilip fotoğraflanmıştır.

3.2.5. RFLP (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) analizi

Agaroz jel çalışması sonucunda R16F2n/R16R2 primerleriyle çoğaltılan PCR ürünleri RFLP çalışmalarında materyal olarak kullanılmıştır. Hastalıklı soğan örneklerinden çoğaltılan 1250 bp uzunluğundaki PCR ürünlerinin fitoplazma veya kloroplast DNA'sına ait olup olmadığını kontrol etmek amacıyla *EcoRI* enzimiyle kesilmiştir (Nejat ve ark.,2009).

EcoRI enzimiyle RFLP analizi enzimin temin edildiği firmanın önerdiği protokole göre yürütülmüştür (Thermo Scientific, ABD). Reaksiyon karışımında 10 µl DNA örneği içeren her örnek için 17 µl nükleazsız su, 2 µl buffer ve 1 µl *EcoRI* enzimi kullanılmıştır. Daha sonra bu ürünler 37°C'de 1 saat inkübe edilip, %2,5'lük agaroz jelde 85voltta yürütülmüştür. Jeldeki DNA'lar Etidyumbromid ile boyandıktan sonra UV ışık altında görüntülenmiştir.

4.ARAŞTIRMA BULGULARI veTARTIŞMA

4.1. Arazi Çalışmaları ve Soğan Bitkilerindeki Simptomlar

Adana iline bağlı ticari soğan üretiminin yapıldığı 3 ilçede (Ceyhan, Kadirli ve Yumurtalık) soğan bitkilerinde fitoplazmanın varlığını belirlemek için surveyler yürütülmüştür. Bu alanlardan etmen ile bulaşık olduğundan şüphelenilen ve fitoplazmaya benzer semptom gösteren bitkilerden örnekler toplanmıştır. Gözlenen en yaygın semptomlar sararma, yassılaşıma, yapraklarda içe çökük yapı oluşumu, deformasyon ve genel olarak bitkide bodurlaşma'dır.



Şekil 4. 1. Enfekteli soğan bitkilerinde deformasyonlar



Şekil 4. 2. Enfekteli soğan bitkilerinde sararma (solda), Sağlıklı soğan (sağda)



Şekil 4. 3. Enfekteli soğan bitkisinin yapraklarında içe çökük yapı oluşumu

Goel ve ark. (2017) Hindistan’da sarımsak ve soğan bitkileri üzerinde yürüttükleri bir çalışmada bu bitkilerde sararmaya sebep olan etmenin fitoplazma olduğunu ve genel olarak bitkilerde sararma ve geriye doğru ölüm biçiminde belirtiler gözlemlendiğini rapor etmişlerdir. Adana ili soğan üretim alanlarında yürütülen bu çalışmada da fitoplazma ile enfekteli olduğu şüphelenilen bitkilerde sararma belirtisinin yanı sıra soğan bitkilerinin yapraklarında içe çökük ve birbirine dolanmış yapı oluşumu (Şekil 4. 3.) da gözlemlenmiştir.

4.2. Moleküler Çalışmalar

4.2.1. Total nükleik asit izolasyonu

Moleküler testlerde kullanılmak üzere fitoplazma etmeni ile bulaşık olduğu şüphelenilen ve simptom göstermeyen soğan bitkilerinden total DNA izolasyonu yapılmıştır. Total DNA izolasyonu Ahrens ve Seemuller'in protokolünde bazı modifikasyonlar uygulanarak yapılmıştır.

4.2.2. Fitoplazma teşhisi ve RFLP analizi

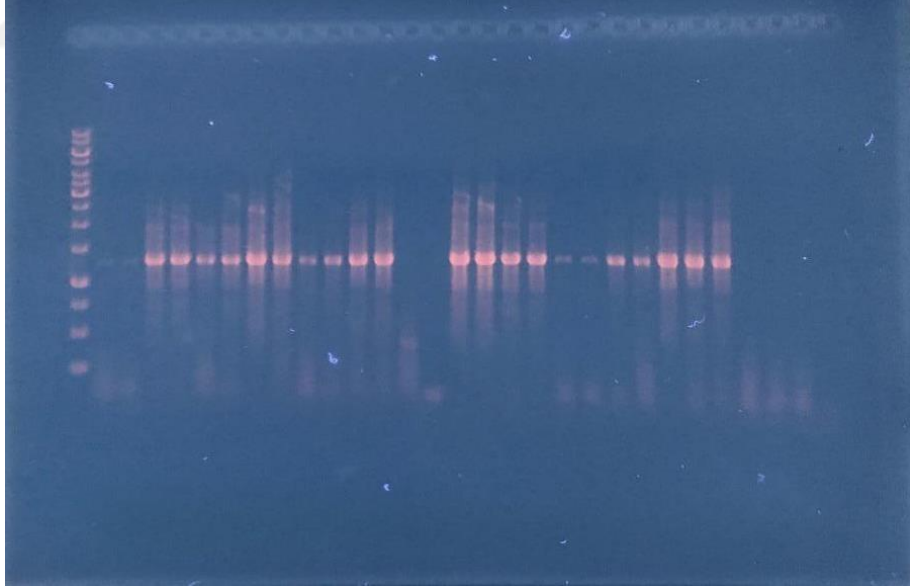
Fitoplazma etmeninin belirtisini gösteren ve göstermeyen soğan bitkileri toplandıktan sonra moleküler testler vasıtasıyla analizleri yapılmıştır. Fitoplazmanın teşhisi için yapılan PCR analizleri fitoplazmanın varlığı ve gözlenen simptomlar arasındaki ilişkiyi doğrulamıştır.

PCR işlemi Direkt-PCR ve Nested-PCR olmak üzere iki aşamada yapılmıştır. Direkt-PCR'da 1400 bp ürün veren universal R16F1/R16RO primerleri, Nested-PCR'da ise 1250bp ürün veren R16F2n/R16R2 primer çiftleri kullanılmıştır. Fitoplazma açısından daha önce pozitif olarak saptanmış olan Cezayir menekşesi (*Catharanthus roseus*) bitkilerinin DNA'sı pozitif kontrol olarak; negatif kontrol olarak DNA içermeyen nükleazsız su kullanılmıştır. Direkt-PCR ürünleri 1/50 oranında sulandırılarak Nested-PCR yapıldığında; simptom göstermeyen sağlıklı olduğu gözlenen örnekler ve negatif kontrol beklenen düzeyde bant vermezken; simptom gösteren soğan bitkilerinden alınan 133 örneğin 88 tanesi fitoplazma açısından pozitif olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1.).

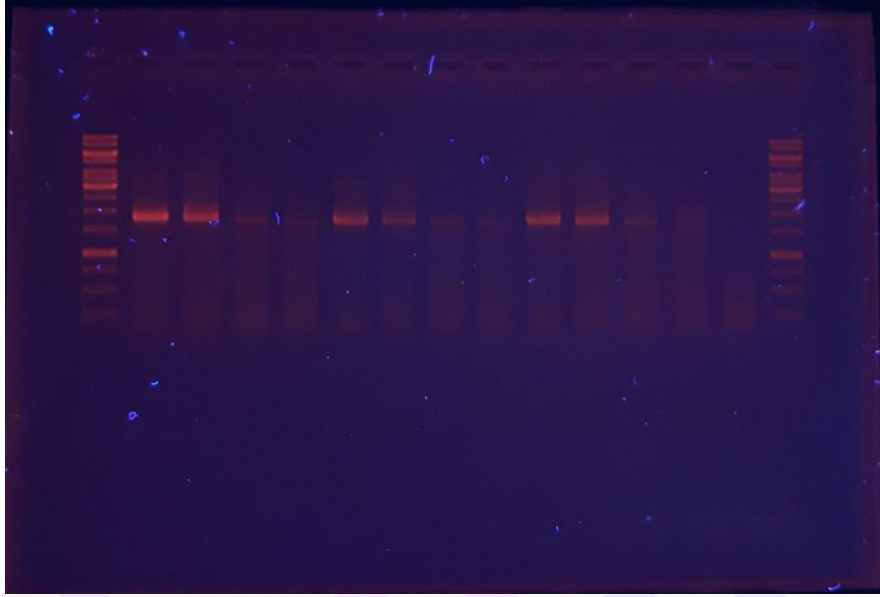
Çizelge 4.1. Survey yapılan alanlardan elde edilen sonuçlar

Survey yapılan alan	Çeşit	Toplanan örnek sayısı	Pozitif sonuçlar	Negatif sonuçlar	Seçilen örnekler	RFLP
Ceyhan	yeşil	96	68	28	23	7
Kadirli	yeşil	21	12	9	12	3
Yumurtalık	yeşil	16	8	8	8	3
	Toplam	133	88	45	43	13

Adana ili Ceyhan ilçesinden alınan 96 örneğin 68'i; Kadirli ilçesinden alınan 21 örneğin 12'si; Yumurtalık ilçesinden alınan 16 örneğin 8'i fitoplazma açısından beklenen düzeyde bant (1250 bp) vermiştir. Pozitif bant veren toplam 88 örneğin 43 tanesi seçilmiş ve %1'lik agaroz jelde görüntülenmiştir(Şekil 4.4., Şekil 4.5., Şekil 4.6.).



Şekil 4. 4. Ceyhan ilçesi'nden alınan enfekteli bitkilerin %1'lik agaroz jel görüntüsü

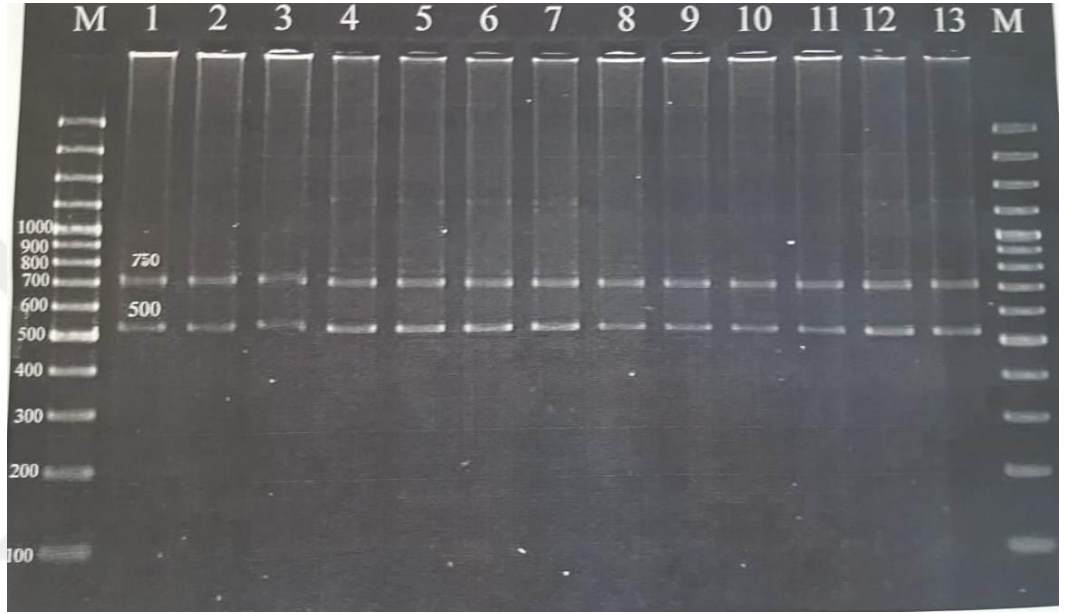


Şekil 4. 5. Kadirli ilçesinden alınan enfekteli soğan örneklerinin %1'lik agaroz jel görüntüsü



Şekil 4. 6. Yumurtalık ilçesinden alınan enfekteli soğan bitkilerinin %1'lik agaroz jel görüntüsü

RFLP analizlerinde kullanılmak üzere seçilen 43 örnek arasında Nested PCR yapılmıştır. Daha sonra görüntülenen bu bantlar içerisinde üç ilçeyi temsilen Ceyhan ilçesi örneklerinden 7, Kadirli ilçesi örneklerinden 3, Yumurtalık ilçesi örneklerinden 3 tane olmak üzere toplamda 13 örnek *EcoRI* enzimiyle kesildiğinde %2,5'luk agaroz jelde fitoplazmanın varlığını belirten 750 bp ve 500 bp'lik bantlara ayrılmıştır (Şekil 4.7.).



Şekil 4. 7. *EcoRI* enzimi kullanılarak yapılan RFLP analiz sonuçları

Fitoplazma hastalıkları bitkiler üzerinde çeşitli şekillerde semptomlara sebep olurlar ve ekonomik olarak önemli sebze, süs bitkileri, tıbbi bitkiler, yem bitkileri ve asma, patates ve kolza gibi spesifik ürünlerde zarar yaparlar (Marconeve ark.,1997; Bertaccini ve ark.,1998; Khadharir ve ark.,1997, c; Almave ark.,1996). Bu patojen büyük oranda böceklerle taşındığından dolayı bir problem haline gelmiştir. Vektörler enfeksiyonun kaynağı ve fitoplazmanın uzak mesafelere taşınmasına hizmet etmeleri sebebiyle vektör ve etmen arasındaki bu interaksiyonların ciddi etkileri vardır. Ayrıca ekonomik ürünlerde ürün ve kalite kaybı üzerinde bu etmenin etkisi önemli derecede endişe vericidir.

Bu çalışma ile Adana ili Ceyhan, Kadirli ve Yumurtalık ilçelerinde soğan yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlarda soğan bitkisi üzerinde fitoplazma benzeri

simptomlar mümkün olduğunca belirlenmiştir. Fitoplazmaya özgü universal primer çiftleriyle (R16F2n/R16R2) bu simptomlara sebep olan etmenin fitoplazma olduğu doğrulanmıştır.

Khadharir ve ark. (2002), Kanada'da sarımsak ve yeşil soğanda sarılıklara neden olan etmenin PCR vasıtasıyla fitoplazmadan kaynaklandığını ve RFLP analizleriyle fitoplazma etmeninin 16SrI-A alt grubuna ait olduğunu bildirmişlerdir.

Goel ve ark. (2017), Hindistan'da sarımsak ve soğan ekim alanlarında sararma ve geriye doğru ölüm biçiminde simptomlar gözlemişlerdir. Simptom gösteren soğan ve sarımsak bitkilerinde PCR yöntemiyle fitoplazmayı teşhis etmişlerdir.

Adana ilinde yapılan bu çalışma ile gözlenen simptomlar soğanda daha önce rapor edilen fitoplazma simptomlarıyla benzerdir. Yalnızca bu simptomlara ek olarak soğan bitkilerinin yapraklarında yassılaşıma ve yapraklarda içe çökük yapıların oluşması sonucu yaprakların birbirine dolanması simptomları da gözlenmiştir.

5.SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Dünya çapında soğan bitkisini infekteleyen çok sayıda fitoplazma hastalığı Amerika Kanada, Japonya İtalya, Çek Cumhuriyeti, Litvanya, Pakistan, Kore, Morityus, Suudi Arabistan ve Mısır'dan rapor edilmiştir; fakat Türkiye'de soğan bitkisinde fitoplazma enfeksiyonu henüz rapor edilmemiştir.

Bu çalışma ülkemizde soğan yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı illerden biri olan Adana'da soğan bitkilerinde fitoplazma hastalıklarının moleküler yöntemlerle saptanması amacıyla yapılmıştır. Adana ili Ceyhan, Kadirli ve Yumurtalık ilçelerinde soğan yetiştirilen alanlardan toplanan ve yapraklarda sararma, yassılaşıma, yapraklarda içe çökük yapı oluşumu ve genel olarak bitkide bodurlaşma biçiminde simptom gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır. Toplanan bu örnekler üzerinde fitoplazma enfeksiyonunu belirlemek amacıyla moleküler çalışmalar (PCR-RFLP) yürütülmüştür. PCR ve RFLP sonuçlarına göre fitoplazma simptomu gösteren bitkiler fitoplazma etmeni açısından pozitif olarak saptanmıştır.

Yapılan bu çalışma ile soğan bitkisinde fitoplazma enfeksiyonu gerek Türkiye'de gerekse Adana ilinde ilk kez rapor edilmiştir ve soğan bitkisi üzerindeki fitoplazma simptomları belirlenmiştir. Böylece soğan üretimi için tehlike oluşturabilecek fitoplazmalarla mücadele olanaklarının geliştirilmesi için ilk adım olan tanılama işlemi gerçekleştirilmiş olup; bundan sonraki yapılacak karakterizasyon ve konukçu patojen ilişkilerinin belirlenmesi çalışmaları için önemli bir kaynak oluşturacağı düşünülmektedir. Öte yandan fitoplazmanın inokulum kaynağı olarak rol oynayan böcek vektörleri ve yabancı ot konukçuları tarafından fitoplazma taşınması konusundaki bilgiler ışığında potansiyel böcek vektörleri ve onların göç davranışı araştırılarak inokulum kaynaklarının yenilikçi çevre dostu kontrol stratejileriyle geliştirmek fitoplazmanın olası riskini azaltmak için gerekli olacaktır.

Ayrıca yeni “*Ca.Phytoplasma*” türlerinin tanınması, fitoplazmaların genetik çeşitliliği hakkındaki bilgilerimizi artıracaktır.

KAYNAKLAR

- AHMAD, S. J. N., AHMAD, J. N., IRFAN, M., AHMAD M., ASLAM, M., 2015. Report on phytoplasma new hostplants in Pakistan. *Phytopathogenic Mollicutes* 5 (1–Supplement), S71–S72.
- AHRENS, U. and SEEMULLER, E., 1992. Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasma like organisms by a polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene. *Phytopathology*, 82: 828-832.
- ALMA, A., DAVIS, R. E., VIBIO, M., DANIELLI, A., BOSCO, D., ARZONE, A., BERTACCINI, A., 1996. Mixed infection of grapevines in northern Italy by phytoplasmas including 16S rRNA RFLP subgroup 16SrI-B strains previously unreported in this host. *Plant Disease*, 80:418–421.
- ANONİM, 1992. Subcommittee on the taxonomy of Mollicutes. Minutes of the Interim Meetings, 1 and 2 August, 1992, Ames, Iowa Int. J. of Syst. Bact. April 1993, p. 394-397; Vol. 43, No. 2. (Erişim tarihi: 02.12.2015)
- ANONİM, 2019a. <https://www.sogan.gen.tr/sogan-cesitleri.html> (Erişim tarihi: 01.02.2018)
- ANONİM, 2019b. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2018-Temmuz%20Tar%C4%B1m%20C3%9Cr%C3%BCnleri%20Raporu/2018-Temmuz%20Kuru%20So%C4%9Fan.pdf>. (Erişim tarihi: 01.02.2018)
- ANONİM, 2019c. <https://www.turktob.org.tr> (Erişim tarihi: 02.11.2018)
- BERTACCINI, A. 2007. Phytoplasmas: diversity, taxonomy, and epidemiology. *Frontiers in Bioscience*, 12: 673-689.
- BERTACCINI, A., DAVIS R.E., HAMMOND, R.W., BELLARDI, M.G., VIBIO, M. and LEE, I.-M. 1992. Sensitive detection of mycoplasma like organisms in field collected and in vitro propagated plants of Brassica, Hydrangea and Chrysanthemum by polymerase chain reaction. *Annals of applied Biology*, 121: 593-599.
- BERTACCINI, A., DAVIS, R.E., LEE, I. M., CONTI, M., DALLY, E.L., DOUGLAS, S.M., 1990. Detection of Chrysanthemum yellows mycoplasma like organism (MLO) by dot-hybridization and Southern blot analysis. *Plant Disease*, 74: 40-43.
- BERTACCINI, A., VORÁCKOVÁ, Z., VIBIO, M., FRÁNOVÁ, J., NAVRÁTIL, M., SPAK, J., NEBESÁROVÁ, J., 1998. Comparison of phytoplasma infecting winter oilseed rape in the Czech Republic with Italian Brassica phytoplasma and relationship to the aster yellows group. *Plant Pathology*, 47:317–324.
- BONNET, F., SAILLARD, C., KOLLAR, A., SEEMULLER, E. and BOVÉ, J.M., 1990. Detection and differentiation of the mycoplasma like organism associated with apple proliferation disease using cloned DNA probes. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 3: 438-443.
- BORA, T. ve KARACA, İ., 1970. Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi. Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No: 167, E.Ü. Mat., Bornova-İzmir, 8s.

- BREWSTER, J.L., 1994. Onions and Other Vegetable Alliums, Crop Production Science Horticulture 3, Cab International, Cambridge, UK, ISBN: 0851987532, 236pp.
- CONTALDO, N., BERTACCINI, A., PALTRINIERI, S., WINDSOR, H. M., WINDSOR, G.D., 2012. Axenic culture of plant pathogenic phytoplasmas. *Phytopathologia Mediterranea*, 51 (3): 607–617.
- ÇAĞLAYAN, K. and GAZEL, M., 1999. Primary studies for viroid and phytoplasma problems of Stone fruits in East Mediterranean Area of Turkey. Proceedings XIVth International Plant Protection Congress (IPPC), Jerusalem. p.16.
- ÇAĞLAR, B. K. and ELBEAINO, T., 2013. A novel phytoplasma associated with witches' broom disease of *Ligustrum ovalifolium* in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*. 137:1, pp 113-117.
- ÇAĞLAR, B. K., KÜSEK, M., SATAR, S.ve ELBEAINO,T., 2011. Türkiye'de gülde fitoplazmayla ilgili çiçek tablası dejenerasyonu hastalığının saptanması ve moleküler karakterizasyonu. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş.
- ÇAĞLAYAN, K. and GAZEL, M., 1999. Primary studies for viroid and phytoplasma problems of stone fruits in East Mediterranean Area of Turkey. XIV th International Plant Protection Congress (IPPC) Jerusalem, Israel, July 25-30. p. 16.
- ÇAĞLAYAN, K., ULUBAŞ-SERÇE, Ç., GAZEL, M., POLAT, A. and VOIGHT, E., 2004. Reaction of Some of the Turkish Plum and Apricot Cultivars to Plum Pox Virus. *J. Turk. Phytopath.* 33 (1- 3), 19-24.
- DAVIS, R.E. and LEE, I.-M. 1993. Cluster-specific polymerase chain reaction amplification of 16S rDNA sequences for detection and identification of mycoplasma like organisms. *Phytopathology*, 83: 1008-1011.
- DENG, S. and HIRUKI, C. 1991. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable Mollicutes. *Journal of Microbiology Methods*, 14: 53-61.
- DOI, Y., TERANAKA, M., YORA, K. and ASUYAMA, H., 1967. "Mycoplasma or PLT-group-like organisms found in the phloem elements of plant infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows or paulownia witches' broom". *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 33 (4): 259–266.
- EL-SISI, Y., OMAR, A. F., SIDAROS, S. A., EL-SHARKAWY, M. M., 2017. Characterization of 16SrII-D subgroup associated phytoplasmas in new host plants in Egypt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 50, 504–513.
- FAO, 2016. FAO Statistics Division, <http://faostat.fao.org/default.aspx>
- FIRRAO, G., GOBBI, E. and LOCCI, R., 1993. Use of polymerase chain reaction to produce oligo nucleotide probes for mycoplasma like organism. *Phytopathology*, 83: 602-607.
- FİDAN, H., TATLI, A. ve KIVRAK, M., 2012. Türkiye'de zeytin üretim alanlarında yeni bir hastalık etmeni; Elm Yellows Fitoplazma. Hogenhout S, Oshima K, Ammar El-D, Kakizawa S, Kingdom HN and Namba S, 2008. Phytoplasmas: Bacteria that manipulate plant and insects. *Mol. Plant Pathol.* 9: 403- 423.
- GOEL, S., PRIYA, M., YADAV, A., RAO, G. P., 2017. Identification and characterization of 16SrIX and 16SrXI groups of phytoplasmas associated with

- leaf yellows and declining disease of garlic and onion in India. *Indian Phytopathology*, 70: 368–372.
- GUNDERSEN, D.E. and LEE, I. M., 1996. Ultra sensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs. *Phytopathologia Mediterranea*, 35: 144-151.
- GUNGOOSINGH-BUNWAREE, A., CONTALDO, N., VALLY, V., BENIMADHU, S. P., DUDUK, B., BERTACCINI, A., 2010. Detection of phytoplasmas in water cress and onion plants from Mauritius. *Plant Health Progress* 10, 1094.
- HARRISON, N.A., BOURNE, C.M., COX, R.L., TSAI, J.H. and RICHARDSON, P.A., 1992. DNA probes for detection of mycoplasma like organisms associated with lethal yellowing disease of palms in Florida. *Phytopathology*, 82: 216-224.
- HOGENHOUT, S., OSHIMA, K., AMMAR, EL-D., KAKIZAWA, S., KINGDOM, H. N. and NAMBA, S., 2008. Phytoplasmas: Bacteria that manipulate plant and insects. *Mol. Plant Pathol.* 9: 403- 423.
- JOMANTIENE, R., DAVIS, R. E., LEE, I. M., ZHAO, Y., BOTTNER-PARKER, K., VALIUNAS, D., PETKAUSKAITE, R. 2010. Onion is host for two phytoplasma lineages, subgroups 16SrI-A and 16SrI-(B/L)L, in Lithuania: a *HinfI* site revealed a snp marking divergent branches of evolution. *Journal of Plant Pathology*, 92: 461–470.
- JUNG, H. Y., WIN, N. K. K., KIM, Y. H., 2012. Current status of phytoplasma and their related diseases in Korea. *Journal of Plant Pathology* 28, 239–247.
- KHADHAIR, A. H., HIRUKI, C., HWANG, S. H. 1997: Molecular identification of four potato witches'-broom isolates on four potato cultivars. *Microbiol. Res.* 152, 281–286.
- KHADHARIR, A. H., EVANS, I. R., CHOBAN, B., 2002. Identification of aster yellows phytoplasma in garlic and green onion by PCR-based methods. *Microbiological Research* 157, 161–167.
- KIRKPATRICK, B.C., STENGER, B.C., MORRIS, T.J. and PURCELL, A.H., 1987. Cloning and detection of DNA from a nonculturable plant pathogenic mycoplasma-like organism. *Science*, 238: 197-200.
- KUNKEL, L. 1926. Studies on aster yellows. *American Journal of Botany*: 646-705.
- LEE, I. M., HAMMOND, R.W., DAVIS, R.E. and GUNDERSEN, D. E., 1993a. Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasma like organisms. *Phytopathology*, 83: 834-842.
- LEE, I. M., DAVIS, R. E. and GUNDERSEN-RINDAL, D. E., 2000. Phytoplasma: phyto-pathogenic mollicutes. *Annu Rev Microbiol* 54, 221– 255.
- LEE, I. M., GUNDERSEN-RINDAL, D., DAVIS, R. E., BOTTNER, K. D., MARCONE, C., SEEMÜLLER, E., 2004. '*Candidatus* Phytoplasma asteris', a novel taxon associated with aster yellows and related diseases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 1037–1048.
- LEE, I. M., MARTINI, M., BOTTNER, K. D., DANE, R. A., BLACK, M. C., TROXCLAIR, N., 2003. Ecological implications from a molecular analysis of phytoplasmas involved in an aster yellows epidemic in various crops in Texas. *Phytopathology*, 93: 1368–1377.

- LEE, I. M. and DAVIS, R.E., 1998. Detection and investigation of genetic relatedness among aster yellows and other mycoplasma like organism by using cloned DNA and RNA probes. *Plant-Microbe Interactions*, 1: 303-310.
- LEE, I. M., DAVIS, R.E. and HSU, H. T., 1993b. Differentiation of strains in the aster yellows mycoplasma like organisms strain cluster by serological assay with monoclonal antibodies. *Plant Disease*, 77: 815-817.
- LEE, I. M., GUNDERSEN-RINDAL, D. E. and BERTACCINI A., 1998. Phytoplasma: ecology and genomic diversity. *Phytopathology*, 88: 1359-1366.
- LEE, I.-M., GUNDERSEN-RINDAL, D., DAVIS, R.E. and BARTOSZYK, I.M., 1998. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analysis of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48: 1153-1169.
- LEE, I.M., KLOPMEYER, M., BARTOSZYK, I.M., GUNDERSEN-RINDAL, D.E., CHOU, T., THOMSON, K.L. and EISENREICH, R., 1997. Phytoplasma Induced Free-Branching in Commercial Poinsettia Cultivars. *Nature Biotechnology*, 15: 178-182.
- LORENZ, K.H., SCHNEIDER, B., AHRENS, U. and SEEMULLER, E. 1995. Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. *Phytopathology*, 85: 771-776.
- MAEJIMA, K., OSHIMA, K., NAMBA, S., 2014. Exploring the phytoplasmas, plant pathogenic bacteria. *Journal of General Plant Pathology* 80, 210–221.
- MARCONE, C., LEE, I.M., DAVIS, R.E., RAGOZZINO, A. and SEEMULLER E., 2000. Classification of aster yellows-group phytoplasmas based on combined analyses of rRNA and tuf gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(5): 1703-1713.
- MARCONE, C., RAGOZZINO, A., and SEEMULLER, E., 1997. Detection and identification of phytoplasmas in yellows-diseased weeds in Italy. *Plant Pathology* 46: 530-537.
- MARTINI, M., DELIC, D., LIEFTING, L. ve MONTANO, H., 2018. *Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria-I s.31*, Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- MARTINI, M., LEE, I.-M., BOTTNER, K.D., ZHAO, Y., BOTTI, S., BERTACCINI, A., HARRISON, N.A., CARRARO, L., MARCONE, C., KHAN, J. and OSLER R., 2007. Ribosomal protein gene-based filogeny for finer differentiation and classification of phytoplasmas. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57: 2037-2051.
- NAMBA, S., KATO, S., IWANAMI, S., OYAIZU, H., SHIOZAWA, H. and TSUCHIZAKI, T., 1993. Detection and differentiation of plant-pathogenic mycoplasma like organisms using polymerase chain reaction. *Phytopathology*, 83: 786-791.
- NEJAT, N. K., SIJAM, S.N.A., ABDULLAH, G., VADAMALA, I. and DICKINSON, M., 2009. First report of a 16SrXIV, '*Candidatus* Phytoplasma cynodontis' group phytoplasma associated with coconut yellow decline in Malaysia. *Plant Pathol*, 58: 389.
- OKUDA, S., 1972. Occurrence of diseases caused by mycoplasma-like organisms in Japan. *Plant Prot*, 26: 180-183.

- OMAR, A.F., 2017. Detection and molecular characterization of phytoplasmas associated with vegetable and alfalfa crops in Qassimregion. *Journal of Plant Interaction* 12, 58–66.
- PLOAIE, P. G.,1981. Mycoplasma-like organisms and plant diseases in Europe. 61: 104-105
- SCHNEIDER, B., GIBB, K.S.and SEEMULLER, E. 1997. Sequence and RFLP analysis of the elongation factor Tu gene used in differentiation and classification of phytoplasmas. *Microbiology*, 143: 3381-3389.
- SCHWARTZ, H. F. and MOHAN, S. K., 1996. *Compendium Of Onion And Garlic Diseases*, Asp Press (The American Phytopathologica lSociety), USA, ISBN:0-89054-170-1, 54p.
- SERTKAYA, G.and SERTKAYA, E., 2005. Monitoring of natural transmission of *Spiroplasma citri* and phytoplasmas in young Minneolatangelo and satsuma mandarin orchards and nurseries in Hatay. 7th International Congress of Citrus Nurserymen (ISCN). 17- 21 September 2005, pp. 40-41.
- SERTKAYA, G., 2004. Detection and transmission of tomato disease associated with phytoplasmas. 1st Int. Symposium on Tomato Diseases .and 19 th Annual Tomato Disease Workshop (20-24 June 2004), Orlando, Florida USA
- SERTKAYA, G., 2005. Preliminary studies on the detection of phytoplasmas in cherry by microscopy techniques. 5th International Cherry Symposium (5ICS) Bursa-Turkey. *ActaHorticulture* 795: 933-937.
- SERTKAYA, G., MARTINI, M. ve OSLER, R., 2011. Akdeniz Bölgesi elma alanlarında Elma Aşırı Sürgün Fitoplazma (*Candidatus* Phytoplasma mali) hastalığının araştırılması. 4. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Kahramanmaraş. 329 (FP14) KSÜ Basımevi, Kahramanmaraş.
- SERTKAYA, G., MARTINI, M., MUSETTI, R., OSLER, R., 2007. Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting sesame and solanaceous crops in Turkey. *Bulletin of Insectology* 60 (2): 141-142.
- SERTKAYA, G., OSLER, R., MUSETTI, R., ERMACORA, P. and MARTINI, M., 2004. Detection of phytoplasmas in *Rubus* spp. By microscopy and molecular techniques in Turkey. *Acta Horticulturae* 656: 181-186 and 19th Annual Tomato Disease Workshop (20-24 June 2004), Orlando, Florida USA.
- SERTKAYA, G., SERTKAYA, E.and KILIÇ, M., 2013. Investigation on Phytoplasma Diseases in Potato Fields in Eastern Mediterranean Region of Turkey. 15th Triennial Meeting of the Virology Section of the European Association of Potato Research – EAPR. p.35. 28-31 May 2013. Antalya, Turkey.
- SEVERIN, H.H.P., FRAZIER, N.W.,1945. California aster yellows on vegetable and seed crops. *Hilgardia* 16, 573–596.
- SPALDON, E., 1958. Stolbur and similar virus diseases causing seedlessness of plants. Proc. Conf. On Stolbur, Smolenice.(E. Spaldon, C. Blattny, and V. Bojnansky, eds.) Slovak Acad. Publishing House. Bratislava:25-33.
- ULUBAŞ-SERÇE, Ç., GAZEL, M., ÇAĞLAYAN, K., BAŞ, M.,and SON, L., 2006. Phytoplasma diseases of fruit trees in germ plasm and commercial orchards in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 88 (2): 179-185.

- ULUBAŞ-SERÇE, Ç., GAZEL, M. ve ÇAĞLAYAN, K., 2011. Plum pox virus streynlerinin Türkiye'deki dağılımı (Distribution of Plum pox virus strains in Turkey). Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, Kahramanmaraş s72.
- VIBIO, M., CAMELE, I., BERTACCINI, A., RANA, G.L.,1995. Molecular identification of phytoplasma sinfectingonion in Italy. 8th Conference on Virus Diseases of Vegetables. Prague, Czech Republic,176–179.
- VURAL, H., EŞİYOK, D., ve DUMAN, İ., 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, ISBN: 975-97190-0-2, 440s.
- WEI, W., KAKIZAWA, S., JUNG, H.Y., SUZUKI, S., TANAKA, M., NISHIGAWA, H., MIYATA, S., OSHIMA, K.,UGAKI, M., HIBI, T.and NAMBA S., 2004. An anti body against the Sec Amembrane protein of one phytoplasma reacts with those of phylogenetically different phytoplasmas. Phytopathology, 94(7): 683-686.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İbrahim ERGÜVEN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : CEYHAN- 26.01.1983
Telefon : 0541 855 67 99
Faks: :
e-mail : erguven_1907@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı İlçe/İl	Bitirme Yılı
Lise	: Toros Gübre Lisesi Ceyhan/Adana	2001
Üniversite	: Harran Üniv, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı Haliliye/ŞANLIURFA	2011
Yüksek Lisans:	Harran Üniv, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Anabilim Dalı Haliliye/ŞANLIURFA	2019

UZMANLIK ALANI: Bitki Koruma

YABANCI DİLLER: İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR: ERGÜVEN, İ. ve GÜLDÜR, M.E., 2019. Detection of the causative agent associated with onion yellows in Adana province. 1st International Molecular Plant Protection Congress Adana TURKEY - April 10-13 2019.