

**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI**



**BUĞDAYDA TOHUM KAYNAKLI BAKTERİYEL HASTALIK  
ETMENLERİNİN TESPİTİ, BAZI BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE  
REAKSİYONLARININ VE TRANSPOZON  
HAREKETLERİNİN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

**HATİCE DEMİR**

Danışman

**Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY**

SAMSUN  
2021

## TEZ KABUL VE ONAYI

**Hatice Demir** tarafından, **Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY** danışmanlığında hazırlanan “**Buğday Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tespiti, Tanısı Ve Bazı Buğday Çeşitlerindeki Transpozon Hareketlerinin Belirlenmesi** ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 16.7.2021 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	İmza	Sonuç
<b>Başkan</b>	Prof. Dr. Fikret DEMİRCİ Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>Üye</b> (Danışman)	Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
<b>Üye</b>	Doç. Dr. Mehmet Ali ŞEVİK Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı	<input type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY

... / ... / ...

Prof. Dr. Ali BOLAT  
Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Dönem Projesi tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığımı taahhüt ve beyan ederim.

14 /06 / 2021

Hatice DEMİR

## TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

**Tez Başlığı:** Buğdayda Tohum Kaynaklı Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tespiti, Bazı Buğday Çeşitlerinde Reaksiyonlarının ve Transpozon Hareketlerinin Belirlenmesi

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 14.06.2021 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 18

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

İmza

14 /06 / 2021

Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY

## ÖZET

### BUĞDAYDA TOHUM KAYNAKLI BAKTERİYEL HASTALIK ETMENLERİNİN TESPİTİ, BAZI BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE REAKSİYONLARININ VE TRANSPOZON HAREKETLERİNİN BELİRLENMESİ

Hatice DEMİR

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Bitki Koruma Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans, Haziran/2021

Danışman: Doç. Dr. Hasan Murat AKSOY

Bu çalışma, buğday tohumlarından buğday bakteriyel hastalık etmenlerinin izolasyonunu, biyokimyasal ve moleküler tanımlarını yapmak, elde edilen bakteriyel izolatların transpozon profillerini ve sahip oldukları transpozonların inokule edildikleri buğday çeşitlerine aktarılıp aktarılmadığını belirlemek ve böylece transpozonların hastalık gelişimi ile ilişkisinin olup olmadığını ortaya koymak için yapılmıştır. Buğday tohumlarının yoğun olarak yetiştirildiği bölgelerden toplanan hastalıklı tohum örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucunda *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*'ya ait 9 izolat elde edilmiştir. Bu izolatların virülenslikleri, 28 buğday çeşidinde saksı denemesi yapılarak belirlenmiştir. Buğday çeşitlerinin yapraklarına *X. translucens* pv. *undulosa* Siph8 izolatı inokule edilerek, çeşitlerin genomlarındaki transpozon profillerindeki hareketliliği ve/veya değişikliği Sukula, Nikita, Houba ve Hopi isimli transpozonlara ait primer çiftleri kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca aynı transpozonlarla *X. translucens* pv. *undulosa*'ya ait 9 izolatın genomlarındaki transpozon profillerindeki benzerlik/farklılıklara da bakılmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Buğday, bakteriyel patojen, patojenisite, transpozon hareketliliği

## ABSTRACT

### DETERMINATION, VARIETAL REACTIONS AND TRANSPOSON MOVEMENTS OF SEEDBORNE BACTERIAL DISEASES OF WHEAT

Hatice DEMİR

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Plant Protection

Master, July/2021

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hasan Murat AKSOY

This study was conducted to isolation, biochemical and molecular identification of wheat bacterial disease agents, to determine the transposon profiles of the obtained bacterial isolates and whether the their transposons are transferred to the inoculated wheat cultivars and to determine whether the transposons are related to disease development. Isolations from diseased seed samples collected from regions where wheat production was grown intensely, 9 isolates were identified as *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* were isolated. The virulence of these isolates were determined by pot experiments on 28 wheat cultivars. *X. translucens* pv. *undulosa* Siph8 was inoculated into the leaves of wheat cultivars, and the mobility and / or change in transposon profiles in the genomes of the cultivars were determined using transposon primer pairs named Sukula, Nikita Houba and Hopi. In addition, changes and / or mobility in transposon profiles of 9 isolates of *X. translucens* pv. *undulosa* have been demonstrated by using the same transposon primer pairs.

**Keywords:** Wheat, bacterial pathogen, pathogenicity, transposon movements

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinden yazım aşamasına kadar, değerli görüş ve düşüncelerinden yararlandığım, ilgi, tecrübe ve bilgisini esirgemeyen, tez danışmanım ve değerli hocam sayın Doç. Dr. Hasan Murat Aksoy 'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Lisansüstü eğitimim boyunca yardım ve katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen ve manevi destekleri ile yanımda olan Hatice Beyza Eren'e, Esmâ Bölük'e ve Sine Kaya'ya teşekkür ederim. Ayrıca Tarımsal Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda çalışan değerli hocalarıma ve arkadaşlarıma desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan Yusuf Can Şenbay'a, Merve Ekici'ye, Hayrettin Güneş'e ve Eda Tavus'a desteklerini her zaman hissettirdikleri için çok teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde maddi ve manevi desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen annem Belma Demir'e, babam Emin Demir'e, ablam Derya Demir'e ve abim Deniz Demir'e hep yanımda oldukları için sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Hatice Demir

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR</b> .....	<b>v</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> 'nın Özellikleri .....	3
1.2. Transpozonlar .....	5
1.3. Polifenol Oksidazlar .....	6
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>8</b>
2.1. <i>Xanthomonas translucens</i> 'in Taksonomisi İle İlgili Çalışmalar .....	8
2.2. <i>Xanthomonas translucens</i> İle İlgili Çalışmalar .....	11
2.3. Konukçu Dayanıklılığı İle İlgili Çalışmalar .....	14
2.4. Transpozonlarla İlgili Çalışmalar .....	15
2.5. Fenol Oksidaz İle İlgili Çalışmalar .....	18
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>22</b>
3.1. Survey Çalışmaları .....	22
3.2. İzolasyon ve Patojenisite Çalışmaları .....	22
3.3. Tanı Testleri .....	23
3.3.1. Biyokimyasal Tanı .....	23
3.3.2. Gram Boyama Testi .....	24
3.3.3. KOH Testi .....	25
3.3.4. Katalaz Testi .....	25
3.3.5. Oksidasyon - Fermentasyon Testi .....	26
3.3.6. Arginin Dehidrolaz Aktivitesi .....	27
3.3.7. Eskulinin Hidrolizi .....	27
3.3.8. Jelatini Eritme Testi .....	28
3.3.9. Nişastanın Hidrolizi Testi .....	28
3.3.10. Karbon Kaynaklarının Kullanılması Testi .....	29
3.4. Patateste Pektolitik Aktivite Testi .....	30
3.5. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi .....	30
3.6. Patojenisite Testi .....	30
3.7. Moleküler Çalışmalar .....	31
3.7.1. Bakteriye İzolatların Moleküler Tanısı .....	31
3.8. Kültürlerin Saklanması .....	33

3.9. Transpozon Hareketliliği İle İlgili Çalışmaları .....	33
3.9.1. Bakteriyel İzolatlardaki Transpozon Hareketliliğinin Belirlenmesi .....	33
3.9.2. Buğday Çeşitlerindeki Transpozon Hareketliliğinin Belirlenmesi .....	34
3.9.3. CTAB Ekstraksiyon Buffer İle Yapılan DNA Ekstraksiyon İşlemi .....	35
3.10. Enzim Aktivasyonu İle İlgili Çalışmalar .....	36
3.10.1. Kesici Enzimlerle İlgili Çalışmalar .....	36
3.10.2. Polifenol Oksidaz Enzimi İlgili Çalışmalar .....	37
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>38</b>
4.1. Bulgular .....	38
4.1.1. Survey Çalışmaları .....	38
4.2. İzolasyon ve Patojenisite Çalışmaları .....	39
4.3. Tanı Testleri .....	40
4.3.1. Biyokimyasal Tanı .....	40
4.3.2. Gram Boyama Testi .....	41
4.3.3. KOH Testi .....	41
4.3.4. Katalaz Testi .....	41
4.3.5. Oksidasyon – Fermentasyon Testi .....	42
4.3.6. Arjinin Dehidrolaz Aktivitesi .....	42
4.3.7. Eskulinin Hidrolizi Testi .....	42
4.3.8. Jelatini Eritme Testi .....	43
4.3.9. Nişastanın Hidrolizi Testi .....	43
4.3.10. Karbon Kaynaklarının Kullanılması Testi .....	44
4.4. Patateste Pektolitik Aktivite Testi .....	46
4.5. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi .....	46
4.6. Patojenisite Testi .....	47
4.7. Moleküler Çalışmalar .....	47
4.7.1. Bakteriyel İzolatların Moleküler Tanısı .....	47
4.8. Transpozon Hareketliliği İle İlgili Çalışmalar .....	48
4.8.1. Bakteriyel İzolatlardaki Transpozon Hareketliliğinin Belirlenmesi .....	48
4.8.2. Buğday Çeşitlerindeki Transpozon Hareketliliğinin Belirlenmesi .....	49
4.9. Enzimi Aktivasyonu İle İlgili Çalışmalar .....	57
4.10. Tartışma .....	58
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>62</b>
<b>6. KAYNAKÇA .....</b>	<b>64</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### SİMGELER

%	Yüzde
°C	Derece Celcius(Sıcaklık)
µl	Mikrolitre
da	Dekar
g	Gram
kb	Kilobaz
l	Litre
ml	Mililitre
bç	Baz çifti
ml	Mililitre
pH	Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
mg/L	Miligram/Litre

### KISALTMALAR

DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
Gram (-)	Gram Negatif
Gram (+)	Gram Pozitif
HCl	Hidroklorik Asit
IRAP	Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism
KCl	Potasyum Klorür
KOH	Potasyum Hidroksit
LTR	Long Terminal Repeats (Uzun Uç Tekrarlar)
MÖ	Milattan önce
NaCl	Sodyum Klorür
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
O <sub>2</sub>	Oksijen
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PPO	Polifenol Oksidaz
pv.	Patovar
RNAi	RNA-interferaz
UV	Ultraviyole
TBE	Tris- Borat-EDTA
TIR	Terminal Inverted Repeats
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Buğday bakteriyel hastalık etmenlerin belirlenmesi amacıyla gezilen alanlar .....	22
Şekil 4.1.	Patojenisite testi; a) <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> Yap5 izolatının buğday yaprağında klorotik - nekrotik leke oluşturması; b) Kontrol (steril saf su uygulaması); c) tütünde aşırı duyarlılık testi .....	40
Şekil 4.2.	<i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> Adad4 izolatının NGA besi ortamında gelişimi .....	40
Şekil 4.3.	<i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> Siph8 izolatının KOH testine pozitif reaksiyon.....	41
Şekil 4.4.	Katalaz testi: a) Negatif reaksiyon, b) <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> K1ab5 izolatının pozitif reaksiyonu.....	41
Şekil 4.5.	3.3.5. Oksidasyon - Fermentasyon testi: <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> Çbz4 izolatının aerobik gelişimi .....	42
Şekil 4.6.	Arginin dehidrolaz testi; <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> Sbzs2 izolatının negatif reaksiyonu .....	42
Şekil 4.7.	Eskulinin hidrolizi testi; <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> Sbzs2 izolatının pozitif reaksiyonu.....	43
Şekil 4.8.	Jelatin eritme testi; <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> K1ab5 izolatının pozitif reaksiyonu.....	43
Şekil 4.9.	Niştanın hidrolizi Testi: <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> K1ab5 izolatının pozitif reaksiyonu.....	43
Şekil 4.10.	Karbon kaynakları testi; <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> K1ab5 izolatının pozitif reaksiyonu.....	44
Şekil 4.11.	Pektolitik aktivite testi: a) Kontrol (steril saf su); b) <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> Adad4 izolatının negatif reaksiyonu .....	46
Şekil 4.12.	Tütün bitkisi yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonu .....	46
Şekil 4.13.	Patojenisite testi; <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> Çbz4 izolatının pozitif reaksiyonu.....	47
Şekil 4.14.	16S rRNA korunmuş gen bölgesine ait PCR ürünlerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüsü .....	47
Şekil 4.15.	İzole edilen bakteriyel etmenlerine ait Nikita, Sukula ve Houba transpozon profillerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri.....	48
Şekil 4.16.	<i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> Siph8'in inokule edildiği buğday çeşitlerine ait Nikita transpozon profillerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri.....	50
Şekil 4.17.	<i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> Siph8'in inokule edildiği buğday çeşitlerine ait Osr-30 transpozon profillerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri.....	51
Şekil 4.18.	<i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> Siph8'in inokule edildiği buğday çeşitlerine ait sukula transpozon profillerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri .....	52

- Şekil 4.19 *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Siph8'in inokule edildiği buğday çeşitlerine ait houba transpozon profillerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri..... 53
- Şekil 4.20. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Siph8'in inokule edildiği buğday çeşitlerine ait hopi transpozon profillerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri ..... 54
- Şekil 4.21. Polifenol oksidaz gen bölgesine ait PCR rnlerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüsü.57

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1.	Dünya buğday üretimi ve başlıca üretici ülkeler (milyon ton) .....	2
Tablo 3.1.	King B Agar (KBA) ve Nutrient Glucose Agar (NGA) ortamlarının içeriği .....	23
Tablo 3.2.	Gram boyama testi ortam içeriği .....	24
Tablo 3.3.	Lugol solüsyonu ve safranin solüsyonu içeriği .....	24
Tablo 3.4.	Oksidasyon - Fermentasyon ortam içeriği .....	26
Tablo 3.5.	Arjinin dehidrolaz aktivitesi ortam içeriği .....	27
Tablo 3.6.	Eskulinin hidrolizi testi ortam içeriği .....	27
Tablo 3.7.	Nişastanın Hidrolizi testi içeriği .....	29
Tablo 3.8.	Karbon kaynakları kullanım testi ortam içeriği .....	29
Tablo 3.9.	PCR reaksiyonu karışım içeriği .....	31
Tablo 3.10.	Touchdown koloni PCR işlemi protokolü .....	32
Tablo 3.11.	TBE buffer içeriği .....	32
Tablo 3.12.	PCR reaksiyon karışım içeriği .....	34
Tablo 3.13.	Bakteriyel izolatlar için IRAP PCR'de kullanılan primerler .....	34
Tablo 3.14.	CTAB Ekstraksiyon Buffer Ortam İçeriği .....	35
Tablo 3.15.	Kesici enzim reaksiyon karışımının içeriği .....	37
Tablo 4.1.	Toplanan buğday çeşitlerinin illere göre dağılımı (TÜİK, 2020) .....	38
Tablo 4.2.	Tohumlardan yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen izolatlar .....	39
Tablo 4.3.	İzole edilen <i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>undulosa</i> izolatlarının biyokimyasal test sonuçları .....	45
Tablo 4.4.	Bakteri uygulanan ve uygulanmayan buğday çeşitlerine ait 48 saatlik ve 1 haftalık transpozon bant sayıları .....	56

# 1. GİRİŞ

Buğday (*Triticum aestivum* L.); Poales takımı, Poaceae familyası, Pooideae alt familyası, *Triticum* L. cinsindedir. Bu cins içerisinde bulunan çok sayıda tür yer alır, fakat kültür çeşitlerinin neredeyse hepsi *Triticum aestivum* L. türü içerisinde bulunmaktadır (Belderok, et al., 2000). Buğday tarımı, binlerce yıldır beslenmenin temelini oluşturmuş önemli bir besin maddesidir. Buğday çeşitlerinin ilk ortaya çıktığı yer, Mezopotamya olarak kabul edilmektedir. Tahılların doğadan toplanmasına dair tarih MÖ 17.000 yılına kadar uzanmaktadır (Tanno and Willcox, 2006). Daha sonra Avrupa, Kuzey Amerika ve dünyanın diğer bölgelerine ulaştığını ortaya koymuştur (Sezer, vd., 1997). Arkeolojik kazılarda, buğdayın Anadolu'da 23 yabani ve 400'den fazla kültüre alınmış türü bulunmuştur (Özberk, vd., 2016).

Buğday; hem insan beslenmesinde hem de hayvan beslenmesinde besinlerin hammaddesi oluşu, gıda ihtiyacının karşılanması, iklimsel adaptasyona sahip oluşu, üretiminin kolay ve veriminin oluşu, taşıma, depolama ve işleme kolaylığı gibi sebeplerden ötürü dünya nüfusunun yaklaşık %35'inin temel besin kaynağını oluşturmaktadır. İçerdiği bol karbonhidrat, yüksek miktarda protein, vitaminler mineral madde ve benzeri ile insan beslenmesi yönünden büyük önem taşıyan, dünyada ilk kültüre alınan ve en önemli besin kaynaklarından (Tosun, 1980). Buğday tanesinin besin içeriğinde yaklaşık olarak %65-75 nişasta, %8-15 protein, %1-5 yağ, %1.5-3 şeker, %1-2 kül ve %11-13 su bulunmaktadır. Buğday tanesinde karbonhidrat, yağ ve proteine ek olarak, insan ve hayvan beslenmesinde rol oynayan vitaminler de bulunmaktadır (Kün, 1996; McKeivith, 2004).

Dünya buğday üretimi ve başlıca üretici ülkeler Tablo 1.1'de gösterilmiştir. Dünyada 2015/2016 döneminde toplamda 738.14 milyon ton üretim yapılırken 2018/2019 döneminde üretim 731.46 milyona düşmüştür. Buğday üretiminde ilk sırayı 2018/2019 döneminde %18.71 oranında AB ülkeleri alırken, Türkiye ise 10. sırada %2.60 oranı ile yer almaktadır. Türkiye'de 2015/2016 döneminde üretim 19.5 milyon ton, 2016/2017 döneminde 17.25 milyona düşüş göstermiştir. 2017/2018 döneminde 21 milyona tona artmıştır fakat 2018/2019 döneminde 19 milyona tona düşmüştür (Tablo 1.1).

Tablo 1.1. Dünya buğday üretimi ve başlıca üretici ülkeler (milyon ton) (Anonymous, 2020)

Ülkeler	2015/2016		2016/2017		2017/2018		2018/2019	
	Üretim	%	Üretim	%	Üretim	%	Üretim	%
AB	160.48	21.74	145.37	19.22	151.13	19.83	136.86	18.71
Çin	132.64	17.97	133.27	17.62	134.33	17.62	131.43	17.97
Hindistan	86.53	11.72	87.00	11.50	98.51	12.92	99.87	13.65
Rusya	61.04	8.27	72.53	9.59	85.17	11.17	71.69	9.80
ABD	56.12	7.60	62.83	8.31	47.38	6.22	51.31	7.01
Kanada	27.65	3.75	32.14	4.25	30.38	3.99	32.20	4.40
Pakistan	25.09	3.40	25.63	3.39	26.60	3.49	25.10	3.43
Ukrayna	27.27	3.69	26.79	3.54	26.98	3.54	25.06	3.43
Arjantin	11.30	1.53	18.40	2.43	18.50	2.43	19.50	2.67
Türkiye	19.50	2.64	17.25	2.28	21.00	2.75	19.00	2.60
Avustralya	22.28	3.02	3182	4.21	20.94	2.75	17.30	2.36
Diğer Ülkeler	108.25	14.67	103.25	13.65	101.36	13.30	102.15	13.97
<b>DÜNYA TOPLAMI</b>	<b>738.14</b>	<b>100.00</b>	<b>756.28</b>	<b>100.00</b>	<b>762.28</b>	<b>100.00</b>	<b>731.46</b>	<b>100.00</b>

Türkiye, üretim miktarı bakımından dünyada önde gelen tahıl yetiştiricisi ülkelerden birisidir. Türkiye’de tarım yapılabilir 24.5 milyon hektarlık tarım alanı içerisinde 37.187.508 ton üretimi yapılarak %53.6 ile en büyük payı tahıllar almaktadır. Toplam tahıl alanları içerisinde ise %67’lik pay ile buğday ilk sırada yer almaktadır. Ülkemiz 2020 yılı verilerine göre buğday ekiliş alanı yaklaşık 6.8 milyon hektar, 20.500.000 ton buğday üretimi gerçekleşmiştir (TÜİK, 2020).

Buğday, optimum sıcaklık ve nemde iyi gelişim gösteren bir serin iklim tahılıdır. Özellikle çimlenme döneminde sıcaklığın 8-10°C, bağıl nemin %60’ın üzerinde olduğu ve yarı kapalı hava koşullarının uygun gelişim göstermektedir. Kardeşlenme ve sapa kalkma döneminde fazla sıcaklık istemez. 10-15°C sıcaklık, %65 nem, az ışıklı ve yarı kapalı havalar uygundur. Sapa kalkma ile sıcaklık ve nem isteği artar. Başaklanma döneminin hemen öncesinde bağıl nemin yüksek olması buğday verimini olumlu yönde etkiler (Süzer, 1994).

Buğday, temel bir besin kaynağıdır bu sebeple dünyada üretimine önem verilmekte ve olası stres faktörleri için tedbirler alınmaya çalışılmaktadır. Canlılar üzerindeki stres faktörleri biyotik ve abiyotik faktörlerdir. Bunlardan abiyotik stres faktörleri; su, kuraklık, sıcaklık, soğukluk, tuzluluk, radyasyon, çeşitli kimyasallar, manyetik ve elektriksel alanlar, rüzgar, besin yetersizliği gibi çevre faktörleridir. Biyotik stres faktörleri ise fungus, virüs ve bakterilerin enfeksiyonu, mantarlar, böcekler vb. zararlı hayvan saldırıları sonucu ortaya çıkan faktörlerdir. (Lawlor and Cornic, 2002; Wang, et al., 2003; Mahajan and Tuteja, 2005). Abiyotik stresin; bitkilerde ortalama %50'den fazla ürün kaybına neden olduğu tespit edilmiştir (Bray, et al., 2000). Abiyotik stres sebebiyle oluşan zarar bitkinin türüne, tolerans ve adaptasyon yeteneğine bağlı olarak farklılık göstermektedir (Kadıoğlu, 2004; Madhova, et al., 2005).

Diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi buğday da çeşitli hastalık etmenlerinin saldırısına maruz kalmaktadır. Buğday üretiminde verim ve kalitede kayıplara sebep olan çok sayıda fungal, bakteriyel ve viral hastalık bulunmaktadır.

Buğdayların nitelik ve niceliğini olumsuz etkileyen etmenler arasında buğday bakteriyel hastalıkları gelmektedir. Buğday bakteriyel hastalık etmenleri arasında; *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* (Smith, et al., 1919); (Vauterin, et al., 1995); *Xanthomonas translucens* pv. *translucens* (Jones, et al., 1917); (Vauterin, et al., 1995); *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* (McCulloch, 1920); (Young, et al., 1978); *Rathayibacter tritici* (Carlson and Vidaver, 1982); (Zgurskaya, et al., 1993) yer almaktadır.

### **1.1. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*'nın Özellikleri**

*Xanthomonas translucens*, tahıllardan izole edilen tohum kökenli bir hastalık etmenidir. Patojen; spor oluşturmeyen, Gram (-), çubuk şeklinde, aerobik kutuptan tek kamçılı, mukoid, parlak bir dokuya sahip, kenarları düzgün, yuvarlağımsı, ve besleyici agar ortamında sarı koloniler oluşturan bir bakteridir (Sands, et al., 1986). Boyutları 0.4–0.8 x 1.0–2.5 mm'dir (Anonymous, 2013).

Poaceae familyasına ait bitki türlerinde zarar oluşturarak verim ve kaliteyi olumsuz yönde etkiler. Ana konukçuları arpa, çavdar, buğday, yulaf, ve tritikaedir. yayılma yüzdesi çok düşüktür ancak uygun koşullar altında ciddi zararlara sebep olabilir (Fourest, et al., 1989). Tohumla taşınmaya ek olarak yağmur, çiğ ve bitki

temasıyla da bulaşır (Boosalis, 1952). Yapışkan eksüdatlar tarafından tutulan bakteriler yaprak bitleri ile taşınabilir (Boosalis, 1952; Milus and Mirlohi, 1995). Bakteri, tohuma giriş yaptıktan sonra tohumda en az 5 yıl kalıcılığını sürdürebilir (Forster and Schaad, 1990). Bir büyüme döneminde 30 m<sup>2</sup>'lik bir alana yayılarak bitkileri enfekte edebilir. Hücreler arasında yayılır ve gelişir daha sonra stomadan geçerek bakteriyel akıntı şeklinde çıkış yapar. Bakteri sızıntısı akar ve ince bir tabaka halinde kurur. Tarla içerisinde yağmur, çığ ve bitkilerin birbirleriyle teması ve bakteriyel sızıntılara temas eden yaprak bitleri ile yayılmaktadır. Bununla birlikte bitkiye giriş yaptıktan 10 gün gibi bir süre içerisinde bitkiyi enfekte edebilmektedir (Hall, et al., 1981). Ayrıca topraktaki çok yıllık bitkiler veya bitki kalıntıları üzerinde kışlayabilmektedir (Boosalis, 1952; Mehta, 1986). Bakteriler geniş bir sıcaklık aralığına (15–30°C) dayanmaktadır (Duveiller, et al., 1991). Hastalık etmeni yüksek bağıl nem tarafından desteklenir ve sıcaklığın 22°C'de olduğu havalarda optimum gelişmektedir. Bitkilerin uygun koşullar altında çok hızlı bir şekilde enfekte olduğu belirtilmiştir (Fourest, et al., 1990).

Hastalığın tipik belirtileri yapraklarda uzun ince lekeler şeklindedir. Bu lekeler başta birbirinden bağımsızken, hastalığın şiddeti arttıkça birleşerek genişlerler. İlk belirtilerde buğday yaprakları ışığa doğru tutulduğunda arkası görülebilen saydam çizgi halindedir. Başlangıçta lekeler sulu görünümlü ve uygun nem ve sıcaklık koşullarında bakteriyel akıntılı durumundadır. Enfekte olmuş yapraklar dar, sulu görünümlü, sınırları pas renginde ve ortası nekrotik çizgiler şeklinde lekeler gösterirler. Sonradan bu lekeler kahverengileşir ve kurur. Stomalardan çıkış yapan bakteriyel akıntılar da kurur. Bu yapı, pul pul dökülebilir. Fideler nadiren belirti gösterir. Tohumların yüzeyi ise mor - siyah renk değişikliği ile parlak siyah adı verilen bir belirti gösterir. Aşırı yoğun enfeksiyonlarda saplarda koyu kahverengi lekeler şeklinde semptom göstermektedir. Hastalıktan dolayı verim kaybı %10'dan aşağı olabildiği gibi şiddetli enfeksiyonlarda %40'a kadar çıkabilir. Enfeksiyonların şiddetlendiği zamanlarda %10-30 arasında verim kaybına neden olur. Hastalıktan en fazla etkilenen tritikale iken, en az etkilenen ise arpadır (Duveiller, 1989).

Bu tür daha sonra *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* ve *Xanthomonas translucens* pv. *translucens* olarak buğday ve arpada yaprak çizgi hastalığına neden olan iki farklı patojenik varyete olarak isimlendirilmiştir. Bununla birlikte *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* arpa ve buğdayda patojenik varyete olarak

hastalık yaparken, *Xanthomonas translucens* pv. *translucens*'in sadece arpada hastalık yaptığı belirlenmiştir. Bakteriyeel çizgi ya da siyah kavuz hastalığı, buğdayda önemli bir hastalıktır. Bu hastalık ortalama olarak %5-10 arasında verim kaybına neden olurken, Amerika'da %40 oranında ürün kaybına neden olduğu belirlenmiştir (Chen and Ding, 1981; Adhikarj, et al., 2012). Bitki artıkları, yabancı otlar ve toprak başlıca primer inokulum kaynağıdır. Bakteri aynı zamanda tohum kökenlidir. Tohumla taşınma çok düşük oranlarda olsa bile önemli bir primer inokulum kaynağıdır. Etmem kısa uzaklıklara nem, yağmur veya bitkiden bitkiye temas ile yayılır. Uzak mesafelere ise tohum yoluyla olmaktadır. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*, tahıl çeşitlerine göre önemli bir patojenik varyetedir. Tahıl çeşitlerinden buğday, arpa, yulaf, çeltik ve tritikaleyi enfekte ettiği belirlenmiştir. Son zamanlardaki araştırmalar, hastalığa karşı dayanıklı çeşit geliştirme yönündedir. Üç buğday çeşidi "Pavon, Mochis ve Angostura", *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*'ya karşı potansiyel dayanıklı çeşitler olarak belirlenmiştir (Adhikarj, et al., 2012). Son zamanlarda patojenik varyeteler arasındaki genetik farklılıklar (*Xanthomonas campestris* pv. *cerealis*, *Xanthomonas campestris* pv. *hordei*, *Xanthomonas campestris* pv. *secalis*, *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* ve *Xanthomonas campestris* pv. *undulosa*) poliklonal ve monoklonal antibadiler, moleküler markırlar, yağ asiti profilleri, ribozomal DNA sekans analizi, membran protein profillerine bakılarak ayırım yapılmıştır (Adhikarj, et al., 2012).

## 1.2. Transpozonlar

Transpozonlar, tek bir hücrenin içerisinde bulunan ve sıklıkla buldukları yerden koparak başka bölgelere sıçrayan gen parçalarıdır. Transpozonal sıçramalar iki farklı şekilde görülebilir; transpozonal bölgeler kendisini kopyalar ve daha sonra bu kopyalar DNA üzerinde farklı bölgelere sıçrar, bir diğer sıçrama ise gen parçalarının olduğu gibi buldukları yerden ayrılarak yeni bir bölgeye tutunmaları şeklinde olmaktadır (Lisch, 2013).

Transpozonal sıçramalar fenotipi kökten değiştirebilecek etkilere sahip olmaları ve genom büyüklüğünün değişmesini sağlayabilmeleri açısından çok önemli bir genetik mekanizmadır. Bir transpozon, kendini kopyalayıp hem kendisini hem de kopyasını DNA üzerinde farklı bölgelere yapıştırarak genomun büyümesine sebep olur. Eğer bu değişim, canlıya kazanım sağlarsa, gelecek nesillere de gen aktarılır. Ayrıca transpozonal sıçramalar ve bunların korunumu farklı türlerde kıyaslanarak,

canlıların birbirleriyle olan akrabalıkları analiz edilebilmektedir. Birbiriyle akraba olan türlerde, transpozonların yerlerini saptayarak varlığı incelenip, akrabalık dereceleri ve taksonomik olarak ait oldukları yerler gibi önemli sonuçlara varılabilmektedir (Fedoroff, 2012).

Bitkilerdeki dayanıklılık mekanizmasındaki rolleri ile ilgili yapılan çalışmalarda; transpozonların, promotör bölgesinin yeniden düzenlenmesini (Le, et al., 2014) ve patojenlerin enfeksiyonunu kolaylaştıran efektör proteinlerin ifadesinden sorumlu gen bölgelerindeki lösence zengin baz dizisi tekrarlarının (NLR'ler) çeşitliliğinin artmasını sağladığı belirtilmiştir (Seidl and Thomma, 2017). NLR'lerin ise reseptör proteinler gibi birçok efektör proteinlerle etkileşime girerek bitkide dayanıklılık mekanizmasını harekete geçirdiği rapor edilmiştir (Van Der Biezen and Jones, 1998; Dangl and Jones, 2001; Dodds et al., 2006; van der Hoorn and Kamoun, 2008). Ayrıca transpozonların plazmit aracılığıyla bakteri hücrelerine aktarılması sonucu; bakteri hücrelerinin farklı antibiyotiklere dayanıklılık sağladığı belirtilmiştir (Charkhabi, et al, 2017). Diğer bir çalışmada ise; transpozonların, 1) epidemiyolojik çalışmalarda bakteriyel bitki patojenlerini belirlemek, 2) virülensliği azaltarak, çapraz koruma sağlamak, 3) yabancı otların biyolojik mücadelesinde kullanılan biyolojik mücadele ajanlarının konukçu aralığını belirlemek, 4) virülensliği etkileyen genlerin sayısını tahmin etmek ve 5) virülensliği belirleyen genlerin yapısını tanılamak amacıyla kullanılabilceği ifade edilmiştir (Kim, 1982).

### **1.3. Polifenol Oksidazlar**

Polifenol oksidazlar (PPO'lar), monofenollerin difenollere hidroksilasyonunu (tiyrosinaz aktivitesi), difenollerin kinonlara oksidasyonunu (katekolaz aktivitesi) katalize eden bir bir enzim grubudur (Fuerst, et al., 2006). Bu kinonlar, melanin adı verilen aminler, tioller ve fenolikler gibi bileşiklerle reaksiyona girerek melanin adı verilen karmaşık koyu renkli bileşikler oluştururlar (Whitaker and Lee, 1995). Buğday tanesinde PPO aktivitesinin genetik varyasyonu farklı genotiplerde gözlenir ve PPO aktivitesi çevreden de etkilenir (Park, et al., 1997; Ge, et al., 2003). PPO'lar bitkilerin neredeyse her yerinde bulunur ve bitkilerde yaşlanma, yaralanma, zararlılarla - patojenlerle etkileşimler, hasat sonrası ve depolama sırasındaki işlemler sırasında aktive olurlar (Mayer, 2006). Bunun sonucunda enzimatik esmerleşme olarak bilinen bir reaksiyon meydana gelerek, gıda ürünlerinin rengini, tadını, besin özelliklerini ve raf ömrünü olumsuz yönde etkileyen bir reaksiyon ortaya çıkar

(Hurrell and Finot, 1984). Bitkilerdeki PPO'nun görevi henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, bağışıklık reaksiyonlarında, bitki bileşenlerinin biyosentezinde ve fotosentez yapan dokularda serbest radikal süpürücü olarak davrandığı (Heimdal, et al., 1994), hasar görmüş yaprak yüzeylerinde çürümeye ve ayrıca böceklere ve bitki patojenlerine karşı savunmada görevli olduğu ileri sürülmektedir (Aydemir, 2004).

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. *Xanthomonas translucens*'in Taksonomisi İle İlgili Çalışmalar

Bakteri çizgi hastalığı, yeryüzünde buğday yetiştiriciliğinin yapıldığı birçok coğrafi bölgeden (Kuzey Amerika, Asya, Afrika, Avrupa'nın çoğu bölgesi ve Avustralya) tespit edilmiştir (Duveiller, et al., 1997). Batı Avrupa'dan bakteri çizgi hastalığına dair bir bildiriye rastlanılmamıştır. Bunun nedeninin çevre koşullarının hastalığın gelişimine uygun olmaması ve geniş karantina uygulamalarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Paul and Smith, 1989; Duveiller, et al., 1997). Amerika Birleşik Devletleri'nde, bakteri çizgi hastalığı ilk olarak Midwest'teki arpa ve buğday yetiştirme alanlarında bildirilmiştir (Jones, et al., 1917; Smith, et al., 1919). Bakteri çizgi hastalığı, Amerika Birleşik Devletleri'nin çoğu bölgesinde özellikle güneydoğu bölgelerinde meydana gelen salgınlar ve salgınlar ile bulunmuştur (Milus and Mirlohi, 1994; Tubajika, et al., 1999). Son yıllarda Amerika Birleşik Devletleri'nin Upper Midwest bölgesinde bakteri çizgi hastalığı görülme sıklığı artmıştır (Adhikari, et al., 2012a; Kandel, et al., 2012; Curland, et al., 2018). Buğday bakteriyel etmeni *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*; Türkiye'de ise Demir ve Üstün (1992) tarafından rapor edilmiştir. Dünya genelinde buğday yetiştirilen neredeyse tüm alanlarda bakteriyel yaprak çizgi hastalıklarının bulunduğunu bildirmişlerdir (Bamberg, 1936; Duveiller, 1990).

*Xanthomonas translucens*, Poaceae familyasına ait bitki türlerinde hastalığa neden olmaktadır. Uygun koşullar altında çok önemli zararlara neden olabilir. Tohumun, bakteriyel yaprak çizgi hastalıkları, için ilk aşılama kaynağı olduğu düşünülmektedir (Boosalis, 1952; Tsilosani, et al., 1977; Timmer, et al., 1987; Forster and Schaad, 1988; Milus and Mirlohi, 1995; Rashid, et al., 2013). Tohumun yanında yağmurla ve bitkiler arasındaki temasla hastalık yayılır. Tohumdaki kalıcılığı 5 yıldan daha fazladır. Hücreler arasında gelişerek sonunda stomalardan bakteriyel akıntı şeklinde çıkış yapar. Enfeksiyon döngüsü 10 gün gibi kısa bir süre içinde gerçekleşir. Bitki artıklarında, yabancı otlarda kışlayabilir. Nemli koşullar altında ve sıcaklığın 15–30°C aralığında hastalığın gelişmesi için uygundur. Fakat optimum sıcaklık 22°C ve yüksek nispi nemde optimum gelişir (Forster, et al., 1990).

*Xanthomonas translucens*'in konukçuya özel patovaryaları (pv.) bulunmaktadır. Patojenik varyeteleri arpa, çavdar ve çeltikte; *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*

varyeteleri buğday ve tritikalede patojendir. *Xanthomonas translucens* pv. *cerealis* ise çok geniş bir konukçu listesine sahiptir. Simptomları; arpa ve tritikalede, yapraklar üzerinde dar, sulu, sarımsı çizgiler şeklinde belirti oluşturur. Buğdayda ortası kahverengi kenarlı, sınırlanmış nekrotik lekeler şeklinde belirti gösterir. Kavuz ve tohum kabuğunun yüzeyinde morumsu siyahlaşma meydana gelir ve belirtiler 10-12 gün içerisinde görülür. Buna da kavuzda siyahlaşma ve kahverengileşme adı verilmektedir (Shane, et al., 1987).

Çalışmalar, bakteri çizgi hastalığına bağlı verim düşüşünün genellikle bayrak yapraklarındaki hastalık şiddeti ile ters orantı gösterdiğini ve bayrak yaprak alanının yarısının enfekte olduğunda %20'ye kadar verim kaybına sebep olduğunu göstermiştir (Shane, et al., 1987; Duveiller and Maraite, 1993).

Buğday dane ağırlığındaki ve miktarındaki azalmalarla verim kayıpları kaynaklandığı belirtilmiştir (Forster and Schaad, 1988; Tubajika, et al., 1998). Bakteri çizgi hastalığı enfekte ettiği tahılların protein içeriğini değişiklik yaparak kalitenin düşmesine neden olabilmektedir (Shane, et al., 1987).

Bakteri çizgi hastalığı etmeninin sınıflandırılması ve isimlendirilmesi, morfolojik ve biyokimyasal benzerlikleri ve aynı konukçuları enfekte etme sebebiyle birçok farklılığa neden olmaktadır. Bir süre boyunca bu bakteriler, *Xanthomonas campestris* türlerinin altında farklı patovaryolar olarak sınıflandırılmıştır (Dye and Lelliott, 1974). Bazı bitkilerde bakteriyel yaprak çizgisine neden olan ırkların *translucens* grubuna ve yem bitkilerinde bakteriyel solgunluğa sebep olan ırkların da *graminis* grubuna dahil edilmesi şeklinde, *Xanthomonas translucens* türünün yeni baştan sınıflandırılması önerilmiştir (Vauterin, et al., 1992; 1995). Bu sınıflandırmanın, son moleküler ve tüm genom dizisi verileriyle desteklendiği bildirilmiştir. Genomik sekans verilerinin, tahıllardaki *Xanthomonas translucens* patovaryolarının *Xanthomonas graminis* grubu patovaryolarından genetik olarak ayrılacağı da gösterilmiştir (Peng, et al., 2016; Langlois, et al., 2017; Hersemann, et al., 2017). *Xanthomonas translucens* bakteri grubu temel olarak patojenite denemelerine ve konukçu aralığına göre sınıflandırıldığı için taksonomide büyük farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir (Jones, et al., 1917).

Bakteri çizgi hastalığının yapay aşılama yoluyla arpada enfeksiyon oluşturan patojen, ilk olarak *Bacterium translucens* olarak isimlendirilmiştir (Smith, et al., 1919). Daha sonra tahıllarda bakteri çizgi hastalığına sebep olan bu patojen,

*Xanthomonas* cinsine ait *Xanthomonas translucens* türlerini oluşturmuştur (Dowson, 1939).

Yapay aşılama yöntemiyle konukçuları enfekte etme kapasitesine bağlı olarak, *Xanthomonas translucens*, beş özel formae species (f. sp.) olarak sınıflandırılmıştır: Bunlar *Xanthomonas translucens* f. sp. *hordei* (arpa), *Xanthomonas translucens* f. sp. *undulosa* (buğday, arpa ve çavdar), *Xanthomonas translucens* f.sp. *secalis* (çavdar), *Xanthomonas translucens* f. sp. *hordei-avenae* (arpa ve yulaf) ve *Xanthomonas translucens* f.sp. *cerealis*'dir (buğday, arpa, çavdar ve yulaf) (Hagborg, 1942).

*Xanthomonas translucens* f. sp. *cerealis*'in *Xanthomonas translucens* f. sp. *undulosa* ile, *Xanthomonas translucens* f. sp. *hordei-avenae*'nın ise *Xanthomonas translucens* f. sp. *hordei* ile birleştirilmesi gerektiğini savunmuşlardır (Fang, et al., 1950).

Modern DNA, protein ve diğer biyokimyasal yöntemler kullanılarak, tahıllardan ve yabancı otlardan izole edilen *Xanthomonas*'ların taksonomisi ve adlandırılması yapılmıştır (Van den Mooter, 1987; Azad and Schaad, 1988; Stead, 1989; Kersters, et al., 1989; Vauterin, et al., 1992; Rademaker, et al., 2006). Bulgulara dayanarak, tahıllardan ve yabancı otlardan izole edile *Xanthomonas*'ların filogenetik olarak bağlantılı olduğu ve yüksek çözünürlüklü parmak izi yöntemleri ile değerlendirilerek kolayca ayrılabilceği düşünülmüştür. Böylelikle *Xanthomonas*'ları sınıflandırmak için *X. translucens* ve *X. graminis* olmak üzere iki temel gruba ayırma fikri oluşmuştur (Vauterin, et al., 1992). Bu nedenle, *Xanthomonas*'ların tekrar sınıflandırılması, tahılları (*X. translucens* grubu: pv. *undulosa*, pv. *translucens*, pv. *cerealis*, pv. *hordei*, pv. *secalis*) ve yabancı otları (*X. graminis* grubu: pv. *graminis*, pv. *arrhenatheri*, pv. *phlei*, pv. *poae*) enfekte eden *X. campestris* patovarylarının tümünü kapsayacak şekilde *Xanthomonas translucens* tür ismi oluşturulmuştur (Vauterin, et al., 1995). *X. translucens*'in sadece tahıl ve yem bitkilerini değil, Liliaceae familyasında bulunan süs kuşkonmaz ve Anacardiaceae familyasında bulunan antep fıstığı ağaçlarını da enfekte ettiği tespit edilmiştir (Rademaker, et al., 2006; Marefat, et al., 2006a; 2006b). İlginç bir şekilde, kuşkonmaz bitkisinde bakteriyel patojenler *X. translucens* pv. *undulosa* olarak adlandırılmıştır ve çapraz aşılama yoluyla buğdayı enfekte edebildiği tespit edilmiştir (Rademaker, et al., 2006). Fıstık ağaçlarındaki bakteri ise, bağlantılı olmalarına karşın *X. translucens* pv. *pistaciae* adlı yeni bir pathovar olarak belirlenmiştir

(Giblot-Ducray, et al., 2009). *X. translucens* pv. *pistaciae*, diğer *X. translucens* patovaryları ile birlikte Uluslararası Bitki Patolojisi Kongresi (ICPP) bitki patojeni bakteri listesine dahil olduğu belirtilmiştir (Bull, et al., 2010; 2012).

Patojenite testleri kullanılarak, *X. translucens* grubundaki patovaryların genetik benzerliği ve çeşitliliğini araştırmak için daha ileri çalışmalar yapılmıştır. *X. translucens* pv. *translucens*'in, *X. translucens* pv. *hordei* ile eşanlı olduğu bildirilmiştir. *X. translucens* grubu üç gerçek patojenik varyeteden oluşmuştur; *X. translucens* pv. *translucens*, *X. translucens* pv. *undulosa* ve *X. translucens* pv. *cerealis*. *X. translucens* pv. *translucens* arpada, *X. translucens* pv. *undulosa* hem arpa hem de buğdayda ve *X. translucens* pv. *cerealis* ise arpa, buğday, yulaf ve brom otunda patojen olduğu belirtilmiştir (Bragard, et al., 1995; 1997). Bununla birlikte, ABD'de toplanan çoğu *X. translucens* pv. *undulosa* ve *X. translucens* pv. *translucens* ırkının, virülenslikleri genellikle orijinal konukçularıyla bağlantılı olmasına karşın, infiltrasyon yoluyla hem buğday hem de arpa üzerinde hastalık belirtilerine neden olduğunu bildirmiştir (Curland, et al., 2018).

Son yıllarda, *X. translucens* taksonomisi, çoklu gen bölgesi dizi analizi yöntemine göre belirlenmiştir (Wichmann, et al., 2013; Gardiner, et al., 2014; Peng, et al., 2016; Langosis, et al., 2017; Curland, et al., 2018).

DNA sekans verileriyle yapılan analizler, DNA-DNA hibridizasyonu ve DNA markör analizi ve patojenisite testleri ile belirlenen hem tür hem de patojenik varyete seviyelerinde *X. translucens*'in önceki sınıflandırmalarla genel olarak aynı olduğu bildirilmiştir (Bragard, et al., 1997 ). Bunun yanında, *X. translucens* pv. *cerealis*'in genetik olarak *X. translucens* ve *X. graminis* patovarylarından ayrılabilmesi ileri sürülmüştür (Langlois, et al., 2017).

## **2.2. *Xanthomonas translucens* İle İlgili Çalışmalar**

*Xanthomonas translucens*; Gram (-), çubuk şeklinde, spor oluşturmayan, 0.5–0.8×1.0-2.5 µm boyutunda, kutuptan tek kamçılı bir bakteridir. Besi yerinde sarı renkli koloniler oluşturur. Hastalık etmeni *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*'nın, buğday yapraklarının ağırlıklı olarak mezofil dokusunda yayıldığı gözlemlenmiştir (Sapkota, et al., 2019).

Bununla birlikte, aynı sprey aşılama yöntemini kullanarak, *Xanthomonas translucens* pv. *translucens* için arpa yapraklarında çok az hastalık gözlemlenmiştir.

Arpada hastalık oluşturmak için yapılan çalışmada yaprak ucunu kesme yöntemi başarıyla kullanılmıştır (Pesce, et al., 2017). Diğer *Xanthomonas* türlerinin farklı dokularda hastalık meydana getirdiği bildirilmiştir (Bogdanove, et al., 2011). Örneğin, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, pirinç yaprağı yanıklığına neden olan vasküler bir bakteriyel patojen iken, bakteriyel yaprak çizgisinin nedeni olan *Xanthomonas. oryzae* pv. *oryzicola*, vasküler olmayan bir bakteriyel patojendir (Bogdanove et al., 2011). *Xanthomonas translucens* ırklarının konukçu seçiciliği de farklılık gösterir, bazıları birden fazla konukçu türünü enfekte edebilirken, bazıları da sadece bir konukçu türünü enfekte etmektedir (Mellano and Cooksey, 1988). Dar bir konukçu aralığına sahip mutantların, *Xanthomonas translucens*'e Hsv virülenslik genlerine sahip Tn5 transpozonu aktararak geniş bir konukçu aralığına sahip olması sağlanmıştır (Mellano and Cooksey, 1988; Waney, et al., 1991). Bir patojenik varyete içindeki ırklar arasında da virülenslik derecelerinde farklılıklar gözlemlenmiştir (Cunfer and Scolari, 1982; Milus and Chalkly, 1994; Adhikari, et al., 2011; Sapkota, et al., 2018).

Bazı tritikale hatlarının, bazı *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* ırklarına karşı dominant direnç genlerine sahip olduğu belirtilmiştir (Johnson, et al., 1987; Wen, et al., 2018).

Gram (-) bakteriyel patojenlerin neredeyse hepsi, hastalık yapma kabiliyetleri için tip III salgı sistemlerine (T3SS) ve T3SS tarafından salgılanan efektör proteinlere (T3E'ler) güvenirlir. Filogenetik analizler, *Xanthomonas* türlerinin çoğunluğunun 2 gruba ayrılabilceğini ve genellikle T3SS'yi kodlayan yüksek oranda korunmuş bir hrp gen kümesi içerdiğini göstermiştir (Büttner and Bonas, 2010; Bogdanove, et al., 2011; Pesce, et al., 2017).

*Xanthomonas translucens* filogenetik olarak; *Xanthomonas albilineans*, *Xanthomonas theicola* ve *Xanthomonas sacchari*'nin olduğu kümede yer alır (Young et al., 2008; Gardiner et al., 2014 ). Birinci gruptaki *Xanthomonas albilineans* ve *Xanthomonas sacchari*'nin hrp gen kümesi yoktur, ancak diğer tüm *Xanthomonas translucens* ırklarında hrp kümesi bulunmaktadır (Pesce, et al., 2017). *Xanthomonas translucens* genomlarındaki hrp lokusunun genetik yapısı ve organizasyonu ırklar arasında büyük oranda korunmuştur ve 1. grup *Xanthomonas* türleri ve  $\beta$ -proteobakterilerdekine benzerdir (Wichmann, et al., 2013; Pesce et al., 2017).

Bakterilerin tohumlar üzerindeki hayatta kalma oranı ve fidelere bulaşma olasılığının büyük ölçüde saklama koşullarına, saklama süresine ve genotiplerin duyarlılık düzeyine bağlı olduğu gösterilmiştir (Boosalis, 1952; Forster and Schaad, 1990; Milus and Mirlohi, 1995). Çalışmalar, yabancı otların, bakterinin bir mevsimden diğerine canlılığını sürdürmesinde köprü rolü oynadığını göstermiştir (Wallin, 1946; Fang, et al., 1950; Boosalis, 1952; Thompson, et al., 1989). Ayrıca hastalık etmeni bakterilerin toprakta ve hastalıklı bitki artıklarında kısa bir süreli olarak hayatta kalabildiği ortaya konulmuştur (Milus and Mirlohi, 1995; Duveiller, et al., 1997; Stromberg, et al., 2000).

*Xanthomonas translucens* patojenleri bitki dokularına doğal açıklıklar yoluyla girse bile, bazıları buz çekirdeklenme yeteneğine sahip olduğu için don hasarına neden olmuştur. Böylelikle yaralanma bölgeleri oluşturarak doğrudan giriş için yol açtığı bildirilmiştir (Kim, et al., 1987; Azad and Schaad, 1988; Gurion-Sherman and Lindow, 1993). Buğday bakteriyel yaprak çizgi hastalığı yağışlı mevsimlerde ve yumuşak havalarda yetiştiriciliği yapılan tarlalarda bulunduğu için gelişimi için ılık ve nemli koşulların önemli olduğu düşünülmektedir. Bakteri çizgi hastalığı salgınlarının sporadik olduğu ve yıldan yıla değiştiği bildirilmiştir (Bamberg, 1936; Duveiller, et al., 1991; Tubajika, et al., 1998). Buğday ve arpa bakteriyel yaprak çizgi hastalıkları ara sıra meydana gelmesine ve genellikle sıcak ve nemli subtropik bölgelerde meydana gelmesine rağmen, ABD’de son on yılda bazı buğday çeşitlerinin yetiştirildiği alanlarda görülme sıklığının arttığını bildirmişlerdir (Adhikari, et al., 2011).

Buğday ve arpa bakteriyel yaprak çizgi hastalıkları, dünya çapında buğday üretimi için tehdit olarak kabul edildiği bildirilmiştir. Bakteri çizgi hastalığının önemi, yetiştirilen buğday çeşitlerinin dayanıklılığı, hassaslığı ve geniş çevresel koşullara bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirtilmiştir (Waldron, 1929; Forster and Schaad, 1988).

Salgınları başlatmak için sıcaklığın diğer faktörlerden daha önemli olduğunu göstermiştir. Bakteri çizgi hastalığı salgınlarında yer alan diğer faktörler arasında; rüzgar, dolu ve dondan kaynaklanan zararlanma, çiğ dönemi ve konukçu çeşidi yer aldığı bildirilmiştir. Temiz tohum kullanımı veya tohum ilaçlaması hastalığın etkisini azaltabildiği, ancak tarlalar arasında bakteri çizgi hastalığının yayılmasını durdurmadığı bildirilmiştir (Duveiller, et al., 1997).

Çeşitli kültürel uygulamalar, bakteri çizgi hastalığı etkisini hafifletmeye yardımcı olabilmektedir (Duveiller, et al., 1997; Adhikari, et al., 2011). Tohum, önemli bir birincil enfeksiyon kaynağı olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle temiz tohum kullanımı, bakteri çizgi hastalığı etkisini hafifletmenin bir yolu olsa da, ancak bakteri çizgi hastalığı aşısının tarlalar arasında yayılmasını durdurmamaktadır (Duveiller, et al., 1997).

Tohumlardaki bakteriyi saptamak için, seçici besiyeri, serolojik testler ve PCR testi dahil olmak üzere farklı yöntemler geliştirilmiştir (Forster and Schaad, 1985; Bragard and Verhoyen, 1993; Maes, et al., 1996; Langlois, et al., 2017).

Ürün rotasyonu, bakteriler toprakta ve bitki artıklarında kısa bir süre hayatta kaldığı için önemli bir mücadele stratejisi olarak kabul edilmemektedir (Milus and Mirlohi, 1995; Duveiller, et al., 1997). Bakteriyi kimyasal veya fiziksel yöntemlerle yok etmek için tohum dezenfeksiyon yöntemleri geliştirilmiştir (Atanasoff and Johnson, 1920; Forster, et al., 1990). Bununla birlikte, farklı çalışmalardan elde edilen çelişkili sonuçlar nedeniyle tohum uygulamasının etkinliği hala sorgulanmaktadır (Braun, 1920; Duveiller, et al., 1997). Çalışmalar, bakteriyel yaprak çizgi hastalığının yabancı otlarda kışlayarak bir yıldan diğer yıla yayılması için uygun konukçu olduğunu göstermiştir (Wallin, 1946; Fang, et al., 1950; Boosalis, 1952; Thompson, et al., 1989). Hastalık etmeninin toprakta ve bitki artıklarında kısa bir süre hayatta kalabileceğini bildirilmiştir (Milus and Mirlohi, 1995; Duveiller, et al., 1997; Stromberg, et al., 2000).

### **2.3. Konukçu Dayanıklılığı İle İlgili Çalışmalar**

Hastalık etmenine karşı kimyasal ilaçlama yapılmadığından hastalığa karşı dayanıklı çeşit kullanımı, buğday bakteri çizgi hastalık etmeni ile mücadelenin tek yolu gibi görünmektedir. Bununla birlikte bazı buğday veya arpa çeşitlerinin hastalık etmenine karşı düşük oranda direnç gösterdiği belirlenmiştir (Hagborg, 1974; Akhtar and Aslam, 1986; Duveiller, et al., 1993; Alizadeh, et al., 1994; El Attari, et al., 1996; Milus, et al., 1996; Tillman, et al., 1996; Adhikari, et al., 2011; Kandel, et al., 2012; Sapkota et al., 2018). Ancak buğday bakteri çizgi hastalığına karşı bazı tritikale hatlarının yüksek düzeyde direncine sahip olduğu bildirilmiştir (Cunfer and Scolari, 1982; Johnson, et al., 1987; Sapkota, et al., 2018).

*Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*'nın tahıl çeşitlerinden buğday, arpa, yulaf, çeltik ve tritikaleyi enfekte ettiğini ve üç buğday çeşidi olan "Pavon, Mochis ve Angostura" hastalık etmenine karşı potansiyel dayanıklı çeşitler olarak belirlemişlerdir (Adhikarj, et al., 2012).

#### **2.4. Transpozonlarla İlgili Çalışmalar**

Transpozonlar genom içinde yer değiştirebilme yeteneğine sahip hareketli DNA dizileridir (Huang, et al., 2009). Transpozonlar ilk kez 1940'lı yılların sonlarında Barbara McClintock tarafından mısır bitkisinde tanımlanmıştır (McClintock, 1950). Transpozonlar, genom içerisinde hareket eden ve genomdaki dizilişi değiştiren elementler olarak tanımlandığı için kromozom yapısı için çok önemlidir. Plasmodium cinsinin birkaç türü dışında tüm ökaryotlarda ve hemen hemen bütün prokaryotlarda bulunan transpozonlar, ökaryotik organizmalardan bitki genomlarının ortalama %50-90, hayvan genomlarının da %3-45 kadarını oluşturmaktadır. Ökaryot kromozomlarının heterokromatin bölgelerinin büyük bir kısmı transpozon bölgelerinden oluşmaktadır. Bu hareketli elementler translokasyon, insersiyon, duplikasyon veya delesyonla farklı kromozomların birbirini etkilemesiyle yeni alellerin bulunmasına sebep olmuştur. İlaveten başka transpozonlar, aktif olarak kromatin yapısının meydana gelmesinde, sentromer fonksiyonunda ve sinaptonemal komplekslerin birleşmesinde, böylelikle hücre bölünmesinde önemli bir yer alır (Grzebelus, 2006; Jurka, 2008; Huang, et al., 2009; Thornburg, et al., 2005).

Transpozonlar, genlere çok yakın bölgelere veya genlerin promotör bölgelerine de insersiyon (genetikte bir DNA dizisine bir veya daha çok baz çiftinin eklenmesidir) yapabilmektedirler. Transpozonlar genlerin promotörlerine girerek gen anlatımı açısından etkisiz hale getirerek düzenlemektedirler (Biemont, 2009). Transpozonlar; gen anlatımını, hem metil gruplarının komşu bölgelerini etkileyerek, hem de RNAi (RNA interferans) mekanizması ile transkripsiyonu önleyerek düzenlerler. Bu epigenetik gen düzenlenmesi sayesinde transpozonlar, embriyonik gelişim döneminde doku farklılaşmasından, ergindeki farklı dokuların farklılıklarının korunmasına kadar birçok mekanizmada görev almaktadırlar. Dolayısıyla transpozonların, aynı zamanda, genomların yeniden düzenlenmesinde büyük katkı sağlamış oldukları düşünülmektedir (Jurka, 2008).

Transpozonlar; ökaryotlarda gen klonlama, insersiyon mutasyonları, transgenik organizmaların bulunması, haritalama ve prokaryot organizmalarda klasik

antibiyotik-direnç markırı gibi amaçlarla moleküler genetik uygulamaları gibi pek çok alanda kullanılmaktadırlar (Bergman and Quesneville, 2007).

Transpozon elementleri prokaryotların çoğunluğunda %1-3 oranında, mayada (*Saccharomyces cerevisiae*) %3, memelilerde %25-45, insanda %45 ve buğdaygiller (Graminaceae) ve zambakgillerde (Liliaceae) %90-98 oranda bulunmaktadır. (Kalendar and Schulman, 2005; Mansour, 2007; Lerat, 2009).

Transpozonlar, genlere çok yakın bölgelere veya genlerin promotör bölgelerine yerleştiklerinde; nokta mutasyonu, çerçeve - kayma mutasyonu, delesyon, duplekasyon, inversiyon gibi birçok mutasyonlara sebep olmaktadır. Bu mutasyonların sonucunda alternatif gen ürünleri oluşabileceği gibi, gen ürünü olan protein oluşmadığında önemli fenotipik değişikliklere neden olabilmektedirler. Ayrıca transpozonlar, genom boyutunun büyümesine neden olmaktadır. Gen fonksiyonunu, yapısını ve aktivitesini değişikliğe uğratıp, genom ve kromozom yapılarının değişmesini sağlayabilmektedirler. (Anonim, 2007).

Transpozonlar, genomun hareketli elementleri olarak adlandırılmasına rağmen kromozom yapısı meydana gelirken, sentromer ve telomer bölgelerine yerleşmiş ve sonra inaktive duruma geçmiştir. Bununla birlikte transpozonların aktivasyon durumları çeşitli endojen ya da ekzojen faktörlerle farklılık gösterebilmektedir. Özellikle stres koşulları altında aktivitelerinin değiştiğini test etmişlerdir (Krishna and Naik, 2011). Transpozonların, bir hücrenin genomunda başka bir yere hareket etmesi transpozisyon olarak adlandırılmıştır. Transpozonlar kromozomlarda yeni yerleştikleri yerlerdeki genlerin anlatımlarını değiştirir. Sonuçta var olan genetik verileri etkileyerek gen anlatımında önemli değişikliklere neden olurlar. Bununla birlikte kopya sayılarını arttırabilmeleri ise replikasyon olarak adlandırılır (Mao, et al., 2015). Replikasyonla çoğalan DNA transpozonları ve retrotranspozonlar genom büyümesine yol açar (Pagnotta, 2009).

Transpozonlar hareketlilikleri göre aktif transpozonlar ve inaktif transpozonlar olmak üzere iki ayrılırlar. Transpozonlar hareketli diziler olarak adlandırılırsa da çoğunluğu inaktif transpozonlardan oluşur. İnaktif transpozonlar aktif hale geldiğinde DNA üzerinde farklılıklara sebep olarak yeni türler oluşur. Bu sebeple inaktif transpozonlar, moleküler fosil olarak da adlandırılmaktadır. Çevresel koşulların değişmesiyle transpozonların aktif veya inaktif olması durumu değişebilmektedir (Wessler, 2009).

İlk sınıflandırma sistemi Finnegan (1989), tarafından transpozonların hareket mekanizmaları ele alınarak yapılmıştır. Transpozonların hem hareket mekanizmaları hem de dizi ve yapısal benzerlikleri göz önüne alınarak önem sırasına göre bir sınıflandırma oluşturmuştur. Bu sınıflandırmaya göre transpozonlar iki sınıfa ayrılırlar. Sınıf I transpozonlar (Retrotranspozonlar); bir RNA ara ürünü kullanarak replikasyon hareketiyle genomda hareket eden DNA dizileridir. RNA polimeraz II tarafından transkripsiyonları yapılır ve kendi kodladıkları reverse (ters) transkriptaz enzimleri aracılığı ile cDNA'ya çevrilerek genomda başka bir bölgeye insersiyon yaparlar. Sınıf II transpozonlar (DNA transpozonları); bir RNA ara ürünü kullanmadan hareket eden transpozonlardır. Hareket mekanizmalarına göre iki alt gruba ayrılırlar. Birinci grup, konservatif tipte hareket ederler. Kodladıkları transpozaz enzimi sayesinde buldukları bölgeden kesilir ve genomda başka bir bölgeye insert olurlar. Buna karşın ikinci grup DNA transpozonları retrotranspozonlar gibi replikatif formda hareket ederler. Retrotranspozonlardan farklı olarak RNA ara ürünü kullanmadığını ortaya koymuştur (Wicker, et al., 2007).

Stresin bitkide oluşturduğu genetik değişimlerden biri de normal büyüme ve gelişme boyunca inaktif durumda bulunan ve çeşitli stres faktörleri aracılığıyla aktif duruma geçen bitki retrotranspozonlarıdır. Retrotranspozonlar, diğer bir ifadeyle genetik hareketli elemanlar, bitkiler âleminde geniş yayılım göstermekte ve bol miktarda bulunmaktadır (Sığmaz, 2014).

Transpozonların sebep olduğu insersiyonal polimorfizmler; DNA parmak izi, genetik haritalama ve moleküler filogeni gibi pek çok alanda belirleyici bir genetik marker olarak kullanılabilir. Retrotranspozonların genomdaki hareketlerini belirlemede kullanılan pek çok marker yöntemi geliştirmişlerdir (Schulman, et al., 2004).

Retrotranspozonların çoğu ökaryotik organizmanın başlıca genomik bileşenleridir. Ortaya çıkan veriler, ökaryotik genomların önemli bir kısmının transposable elementlerden oluştuğunu göstermektedir (Jurka, et al., 2007).

Retrotranspozonlar, mobil - genetik elementlerdir ve bir RNA aracı yoluyla transpoze olur. Dahili kodlama bölgelerini çevreleyen doğrudan tekrarlar olan uzun terminal tekrarlarının (LTR'ler) varlığına veya yokluğuna bağlı olarak LTR veya LTR olmayan retrotranspozonlar olarak sınıflandırılırlar (Staton, et al., 2009). LTR retrotranspozonların bitki genomlarındaki; yaygınlığı, bolluğu, dağılımı ve

dinamizmi bu genetik elementleri önemli moleküler markör kaynakları haline getirmiştir (Poczai, et al., 2013).

Transpozonlar, özellikle de uzun bitiş tekrarları “long terminal repeat” (LTR) retrotranspozonlar, bitki genomlarının yüksek bir yüzdesini oluştururlar. “Kes-yapıştır” mekanizmasından dolayı retrotranspozonlar; RNA ara aşaması ile bir genomda, farklı yerlere girebilmekte ve mutasyonlara neden olabilmektedirler. Transpozonların genomdaki sayılarının fazlalığı genellikle genom büyüklüğü ile ilişkilidir (Schulman and Kalendar, 2006).

LTR’li retrotranspozonlar bitki genomlarının çok önemli bir yüzdesini kapsarlar. *Arabidopsis thaliana* genomunun %15 kadarı, arpa (*Hordeum vulgare* L.) ve buğday (*Triticum* sp.) gibi bazı türlerin genomlarının da %70-80 kadarı bu dizilerden oluşmuştur. LTR’li retrotranspozonlar evrim sürecinde genom boyutlarının hızlı bir şekilde artmasını sağlamışlardır. Ancak buna rağmen çok küçük bir kısmı aktiftir. Bazı durumlarda LTR’ler arası rekombinasyon, LTR dizilerinin yalnız kalmasına neden olmaktadır. Genomda tek başına kalan LTR dizilerine solo-LTR denir (Marco and Marin, 2005).

DNA transpozonlarının basit bir yapısı varken, retrotranspozonlar daha karmaşık bir yapıya sahiptir. DNA transpozonları bir transpozaz (Tase) enzimini kodlar. Bu enzim DNA transpozonunu keser ve yeni bir yere entegre eder. DNA transpozonları ayrıca her iki sınırdaki LTR gibi kodlanmayan tekrar bölgeleri içerir. Fakat bu tekrarlar, tersine çevrilmiş yönelim olarak mevcuttur (Poulter and Goodwin, 2005). Böylece, bu tekrarlara Uç Ters Tekrarları (Terminal Inverted Repeats) (TIR'lar) denir. transpozonların çoğunun transpozisyonu için TIR'lar şarttır. Genel olarak, DNA transpozonlarının karakteristik bir özelliğidir. Ancak, bazı retrotranspozon grupları da bu tekrar dizilerine sahiptir. Genel iki fonksiyonel bölge, TIR dizilerinde bulunur. Birinci bölge, DNA bölünmesinde yer alırken, ikincisi spesifik tanıma ve bağlanma için gereklidir (Szabo, et al., 2010).

## **2.5. Fenol Oksidaz İle İlgili Çalışmalar**

Restriksiyon endonükleazlar, çift iplikli kısa DNA dizilerini özgül bölgelerden tanıyan ve bu dizilimler içindeki özel bölgelerden keserek, DNA’dan bir genin veya gen taşıyan DNA dizisinin çıkarılmasında etkin rol alan enzimlerdir (Bulut ve Doymaz, 2001; Eroğlu 2008). Büyük bir kısmı bakterilerden izole edilen bu

enzimlere ait genlerin, kromozom veya plazmid DNA'sı üzerindeki modifikasyon genleri ile bir arada bulunması sebebiyle oluşan sistem restriksiyon modifikasyon sistemi olarak tanımlanmaktadır. Bu sistem; yabancı DNA'yı özel bölgelerden kesen restriksiyon enzimleri ve kendi genomunun kesilmemesi için ona metil grupları ekleyen metilaz enzimlerinden oluşmaktadır (Murray, 2000; Özcel, 2009). Bu metilasyon sitozin ve adenin üzerinde 4-metilsitozin, 5-metilsitozin, 5-hidroksimetilsitozin veya 6-metiladenin şeklinde olmaktadır (Bulut ve Doymaz, 2001). Bilinen bakterilerin yaklaşık yarısının restriksiyon modifikasyon sistemi vardır (Demirbağ, 2008).

Konukçu-kontrol restriksiyon modifikasyonunu açıklayabilmek için geliştirdikleri moleküler bir metotla, bazı bakteriyel suşların DNA'yı kesebilen endonükleazlara ve bu arada kendi DNA'larını koruyabilmek için, suş-spesifik modifikasyon sistemine sahip olduklarını ortaya koymuşlardır (Arber and Dussoix, 1965). İlk olarak, EcoB restriksiyon endonükleazların nükleaz aktivitesi gösterilmiştir (Arber and Linn, 1968). 1970'de HindII'yi saflaştırıp, kesim ve tanıma bölgelerini karakterize etmişlerdir (Smith, et al.,1970). Bu tarihten sonra pek çok restriksiyon enzimi saf olarak elde edilmiştir (Bulut ve Doymaz, 2001; Murray, 2000; Özcel, 2009).

Klonlanmış bir DNA parçası üzerindeki restriksiyon enzimi kesim bölgelerinin sayısını, sıralanışını ve aralarındaki uzaklıklar hakkında bilgi sağlayabilmek için restriksiyon haritası kullanılmaktadır (Yağcı, 2001). Kopyalanmış DNA molekülü içeren karışıma restriksiyon enzimleri eklenerek DNA dizisinin küçük parçalara ayrılması sağlanır ve daha sonra elde edilen restriksiyon parçaları jel elektroforezi ile büyüklüklerine göre ayrıştırılır. Jelde görüntülenen bantların sayısı ve uzunluklarına göre teorik modeller oluşturulur. Bu modeller oluşturulurken klonlanmış DNA molekülü restriksiyon enzimleri ile tek tek ve iki enzim ile birlikte kesilerek oluşturulur. Modeller çift enzim kesim sonuçlarına göre test edilir ve tahmini parçaların büyüklükleri ile jelde görüntülenen parçaların büyüklükleri karşılaştırılarak yorum yapılır. Bu sayede harita boyunca farklı uzunluklara sahip DNA fragmentlerinin arasındaki uzaklıklar ölçülebilir (Allison, 2014; Yağcı, 2001).

Restriksiyon haritası yardımıyla DNA'nın kodlanmayan bölgelerinde görülen polimorfizmler belirlenebilmektedir. Bazen bir polimorfizm restriksiyon endonükleaz enzimlerinin kesim bölgelerinde oluşmakta ve enzimin tanıdığı

palindromik diziyi bozmaktadır. Böylece restriksiyon endonükleazın tanıma dizisinde oluşabilecek mutasyonel bir değişim, verilen baz çifti bölgesinin kesilmesini önleyecektir. Örneğin: GAATTC tanıma dizisi EcoRI tarafından kesilir ama GTATTC kesilmez. Polimorfik bölge, palindromik diziyi bozduğu için tanıma sekansına bağlanamayan enzim kesim yapamaz ve DNA parçasının uzunluğu kesilen fragmentlere göre büyük olur. Bu büyük DNA parçası meydana gelen mutasyonu tespit etmede kullanılır (Allison, 2014; Çimen, 2010).

Polifenol oksidaz (PPO), bitki ve hayvan dokularında yaygın olarak görülen oksidoredüktaz enzim grubuna dahil olan bir enzim grubudur. Bitkisel dokularda ilk olarak latent (inaktif) formlar halinde sentezlenmekte ve giderek çeşitli etkenlerle, örneğin dokuda doğal olarak bulunan proteazlar veya etilen gibi birtakım solunum metabolitlerince aktif hale getirilmektedirler (Yemenicioğlu, vd., 1997).

Bitkilerdeki polifenol oksidazın görevi hala tamamıyla bilinmemektedir. Fakat bağışıklık tepkimelerinde, bitki bileşenlerinin biyosentezinde ve fotosentez yapan dokularda bağlı olmayan radikal süpürücü olarak davrandığı (Heimdal, et al., 1994), zarar görmüş yaprak yüzeylerinde çürümeye ve ayrıca böceklerle ve bitki patojenlerine karşı savunmada görevli olduğu ileri sürülmektedir (Aydemir, vd., 2004). Enzim ve substratlar bitki hücrelerinin birbirinden ayrı bölümlerinde bulunmaları sebebiyle zarar görmemiş sağlıklı meyve ve sebze dokularında, Polifenol oksidaz enzimlerinin substratları olan fenolik bileşiklerle ilişkisi yok denecek kadar azdır. Polifenol oksidaz enzimlerinin bir kısmı sitoplazmada serbest halde yer alırken, bir kısmı ise hücrenin tilakoid ve kloroplast gibi bölgelerinde, membrana bağlı olarak yer almaktadır. Buna rağmen, fenolik bileşiklerin çoğunluğu vakuollerde yoğunlaşmış halde bulunmaktadır. Fakat doku olgunlaşmasının sonraki aşamalarında hücredeki pektinazların faaliyetiyle, doku kontrollü ve sınırlı bir şekilde değişimlere uğrar. Hasat, taşıma ve işleme zamanlarında uygulanan çeşitli işlemlerle hücre ve dolayısıyla doku bütünlüğü bozulmaktadır. Böylece, polifenol oksidaz enzimleri kendi substratları olan fenolik bileşiklerle ve havadaki oksijen ile bir araya gelmektedirler (Muchuweti, et al., 2006). En sonunda enzimatik esmerleşme adı verilen reaksiyon meydana gelmektedir. Bu tepkime hem polifenol oksidaz aktivitesi hem de fenolik madde konsantrasyonu ile ilgilidir (Taş, 2009).

Polifenol oksidazlar buğday, çay, patates, salatalık, enginar, marul, armut, papaya, üzüm, şeftali, mango ve elma ile kakao gibi tohumlarda bulunmaktadır

(Martinez, et al., 1995). Muz, şeftali, kayısı, elma, üzüm, çilek ve bazı tropik meyveler ve suları ayrıca patates, marul ve diğer yapraklı sebzelerde esmerleşme görülmektedir. Çay, kahve, kakao, siyah üzüm ve siyah incirlerde ise PPO aktivitesi istenen bir durumdur (Casado-Vela, et al., 2005). Polifenol oksidaz; tirosinaz, fenolaz, kateşoloksidaz, kateşolaz, o-difenoloksidaz, mono fenoloksidaz, klorojenik asit oksidaz ve kreşolaz olarak da bilinir ve ilk olarak 37 Schoenbein tarafından 1856'da keşfedilmiştir.

Polifenol oksidazın aktif bölgesi iki adet bakır atomundan meydana gelir (Queiroz, et al., 2008). Bitki polifenol oksidazının molekül ağırlığıyla alakalı raporlar çok çeşitli ve değişkendir. Bu çeşitlilik enzimin izolasyonu aşamasında gerçekleşen kısmi parçalanmadır. Ek olarak polifenol oksidazı kodlayan birden çok gen olduğu için bu molekül ağırlığında görülen çeşitliliğin genetik çeşitlilikten kaynaklandığı da söylenebilmektedir (Sommer, et al., 1994; Van Gelder, et al., 1997; Mayer, 2006). Polifenol oksidazı Uluslararası Biyokimya Birliği'nin sınıflandırmasına iki kez girmiştir: EC 1.14.18.1 (monofenol, monofenol monooksijenaz, L-dopa: oksijen oksidoredüktaz) monohidroksifenolü o-pozisyonuna hidroksile eder yani kreşolaz aktivitesi göstererek monofenolik bileşiklerin o-difenollere hidroksilasyonunu katalizler. EC 1.10.3.1 (1,2- benzendiol, difenol oksidaz: oksijen oksidoredüktaz) odihidroksifenolleri okside edip hidroksil grubundan hidrojenleri uzaklaştırır ve benzokinonları oluşturur yani kateşolaz aktivitesi göstererek o-difenollerin okinonlara oksidasyonunu katalizler (Yemenicioğlu ve Cemeroğlu, 1998).

Bitki polifenol oksidazlarının mono, di, ya da polifenollerden oluşan geniş bir substrat yelpazesi vardır. Yapısal olarak bir ya da daha fazla hidroksil grubu ve diğer grupları bir arada taşıyan aromatik halka içerirler. PPO substratlarının bazıları doğal olarak meyve ve sebzelerde bulunmaktadır; örneğin, klorojenik asit, kateşin ve epikateşin açısından zengin olan elma, enzimatik esmerleşme için oldukça uygundur (Queiroz, et al., 2008).

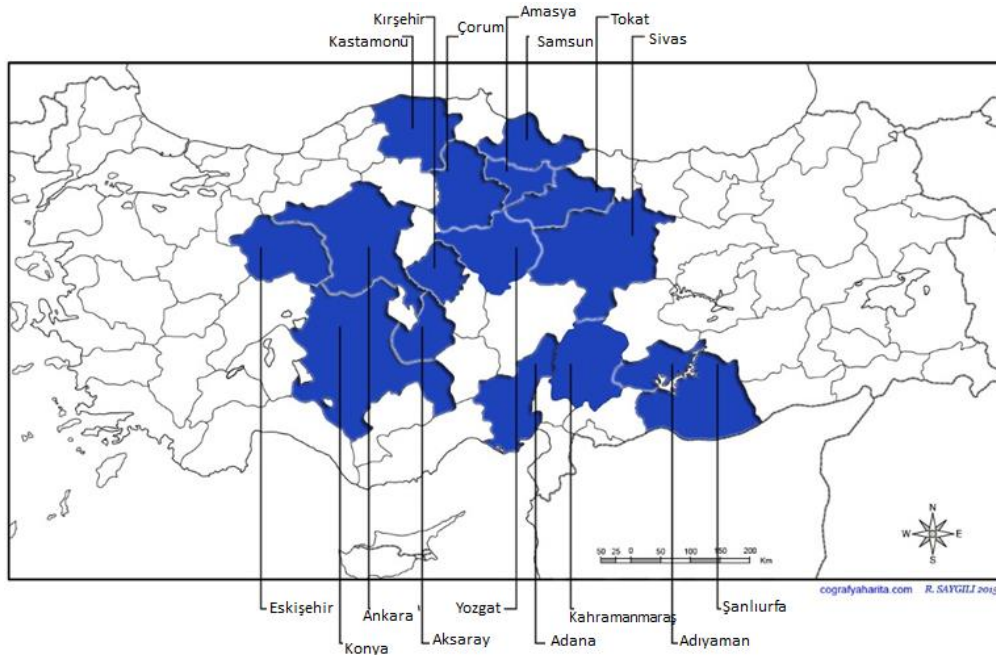
Hale Haven şeftalilerinde polifenol oksidaz enziminin niteliklerini araştırmışlardır. Her enzim ekstraktının termal inaktivasyon kurvesinin, başlangıçta dik bir doğru, sonra daha yatık bir doğru olmak üzere iki bölümden oluştuğu belirlenmiştir. Bu nedenle şeftali PPO enziminin ısıya dirençli farklı iki izoenzimden oluştuğu sonucuna varılmıştır (Yemenicioğlu ve Cemeroğlu, 1998)

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu araştırma; buğday bakteriyel etmenlerinin belirlenmesi, hastalık etmenlerin biyokimyasal - moleküler tanılanması ve buğday çeşitlerinin bakteriyel hastalık etmenlerinin biyokimyasal - moleküler tanılanması ve buğday çeşitlerinin bakteriyel hastalık etmenlerine karşı bazı transpozon genlerinin hareketliliğinin belirlenmesi çalışmalarını kapsamaktadır.

#### 3.1. Survey Çalışmaları

Buğday bakteriyel hastalık etmenlerinin izolasyonu için Türkiye’de buğday yetiştiriciliği yapılan Adana, Adıyaman, Aksaray, Amasya, Ankara, Çorum, Eskişehir, Kahramanmaraş, Kastamonu, Kırşehir, Konya, Samsun, Sivas, Şanlıurfa, Tokat ve Yozgat illerine ait rastgele arazilerden, örnekleme yapılan illerdeki üretim miktarları göz önüne alınarak hasadı yapılmış çeşitli buğday tohum örnekleri toplanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Buğday bakteriyel hastalık etmenlerin belirlenmesi amacıyla gezilen alanlar

#### 3.2. İzolasyon ve Patojenisite Çalışmaları

Toplanan çeşitli tohumların izolasyonu için; 50 ml’lik falkon tüplere 3 g olacak biçimde tartılan tohumların, %1’lik NaOCl çözeltisinde 2 dakika süreyle bekletilerek yüzeysel dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra tohumlar 3 kez steril saf sudan geçirilmiş ve steril kurutma kağıdında kurularak dezenfeksiyonu tamamlanmıştır. Daha sonra

her bir falkon tüpüne 40 ml steril saf su ve 1 damla Tween 20 ilave edilmiştir. Devamında çalkalayıcıda 24-26°C’de 2-3 saat boyunca inkübe edilmiştir. Her falkon tüpünden 50 ve 100 µl’lik miktarlarda sıvı alınarak Nutrient Glukoz Agar (NGA) ve King B Agar (KBA) besi ortamlarına ayrı ayrı drigalski baget yardımıyla aşılama yapılmıştır.

Petrilere ekim yapılan izolatlar, 24-26°C ve 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince petrilere bakteriyel gelişim olup olmadığı sürekli olarak kontrol edilmiştir. Yeterli sayı ve büyüklükte gelişme gösteren koloniler yeni besi ortamına alınarak saflaştırılma işlemi yapılmıştır. Saflaştırma işleminde parlak görümlü, mukoid, düzgün kenarlı olan koloniler seçilmiştir. Saflaştırılan izolatlar, %50’lik steril gliserin içerisine konularak etiketlenmiş ve -20°C’de tanı çalışmaları için saklamaya alınmıştır (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. King B Agar (KBA) ve Nutrient Glucose Agar (NGA) ortamlarının içeriği

Kullanılan besi ortamlarının içeriği	g/L
<u>King B Agar (KBA):</u>	
Proteose pepton	20.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.5 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1.5 g,
Gliserin	15 ml
Agar	15.0 g
Saf su	1 lt
<u>Nutrient Glucose Agar (NGA):</u>	
Beef extract	3.0 g
Pepton	5.0 g
Glukoz	2.5 g
Agar	15 g
Saf su	1 lt

### 3.3. Tanı Testleri

#### 3.3.1. Biyokimyasal Tanı

Elde edilecek izolatlar öncelikle besi yerlerindeki koloni morfolojilerine göre değerlendirilecektir. NGA ve KBA besi ortamlarındaki; mukoid, parlak ve yuvarlak koloniler dikkate alınarak ve saflaştırma yapılmıştır. Saflaştırılan izolatların patojen

özelliklerinin olup olmadığını anlamak amacıyla tütünde aşırı duyarlılık testi ve buğday patojenisite testi yapılmıştır. Patojen özellikte olan aday izolatların fizyolojik ve biyokimyasal tanımlama testleri Bradbury (1970) ve Schaad (1988) tarafından uygulanan metodlara göre yapılmıştır.

### 3.3.2. Gram Boyama Testi

Elde edilen izolatların hücre duvarı yapısına göre Gram (+) veya Gram (-) olduğunu ayırt edebilmek için yapılmış gram boyama testi yapılmıştır. Gram boyama testi ortamların içeriği:

Tablo 3.2. Gram boyama testi ortam içeriği

I. Solüsyon içeriği	g/L
<u>A Çözeltisi:</u>	
Kristal violet	2
Etil Alkol(% 95)	20 ml
<u>B Çözeltisi:</u>	
Amonyum okzalat	0.8
Saf su	80 ml

A ve B çözeltileri, tek tek hazırlandıktan sonra karıştırılıp filtre kâğıdından geçirilmiştir.

Tablo 3.3. Lugol solüsyonu ve safranin solüsyonu içeriği

II. Safranin Solüsyonunun İçeriği	g/L
İyot	1 g
Potasyum İyodür	2 g
Saf su	300 ml
III. Safranin Solüsyonunun İçeriği	g/L
Safranin 0	2.5
Etil Alkol (% 95)	100 ml
Kullanma Çözeltisi: Stok çözeltisi	100 ml
Saf su	90 ml

### **Boyama İşlemleri**

Lamın ortasına gelecek şekilde bir damla steril su damlatıldıktan sonra, besi ortamında 24–26°C’de 24-48 saat boyunca geliştirilen kolonilerden bir öze sayesinde alınarak su damlasına karıştırılmıştır. Daha sonra bakterilerin lama iyice fikse edebilmesi amacıyla lam alevden geçirilip, 25°C’de bırakılarak kuruması için beklenmiştir.

Birinci çözelti lam üzerine döküldükten sonra 1 dk bekletilmiş ve musluk suyunda indirekt olarak yıkanıp, lamın üzeri kurutma kağıdı yardımıyla hafif bir şekilde kurulanmıştır. Bu işlemin devamında lamın üzerine Lugol çözeltisi dökülüp 1 dk beklenmiş ve yeniden musluk suyunda indirekt olarak yıkanmış kurutma kağıdı ile hafif bir şekilde kurulanmıştır. İçinde %96’lık etil alkolün bulunduğu bir behere lamlar batırıldıktan sonra 30 sn bekletilmiş ve devamında birkaç saniye suda yıkanarak kurutma kağıdı ile kurulanmıştır. Son aşama olarak lamın üstüne safranin çözeltisi dökülerek 10 sn zıt boyama yapıldıktan sonra yeniden musluk suyunda yıkanıp kurutma kağıdı ile kurulanmıştır. Lamlar immersiyeon yağı yardımıyla 100x objektifinde incelenmiştir. İncelenen lamlardaki bakteriyel hücreler, mavi-mor renk gösteriyorsa Gram (+), pembe-kırmızı renk gösteriyorsa Gram (-) olarak değerlendirilmiştir (Gram, 1884).

#### **3.3.3. KOH Testi**

Hazırlanan %3’lük potasyum hidroksit çözeltisinden lam üzerine 1 damla damlatılıp, NGA ve KBA besi ortamlarında 24–26°C ve 24-48 saat süre ile geliştirilen kolonilerden bir öze sayesinde alınarak çözelti içerisinde belirli bir süre dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. Öze yukarı doğru kaldırıldıktan sonra eğer öze de ağımsı bir uzama meydana geldiğinde pozitif reaksiyon, yani izolatın Gram (-), eğer öze de ağımsı bir uzamanın meydana gelmediğinde negatif reaksiyon, yani izolatın Gram (+) olduğunu göstermiştir (Sands, 1990).

#### **3.3.4. Katalaz Testi**

Katalaz testi, tüm izolatların canlılıklarını kontrol etmek amacıyla yapılmıştır. Lamlar üzerine %3’lük hidrojen peroksitten (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) pipet yardımıyla 1 ml konulduktan sonra, 24–26°C ve 24-48 saat süreyle geliştirilmiş izolatlardan bir öze dolusu alınarak çözelti içerisinde dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. Bunun

sonucunda ortamda hava kabarcıkları oluşuyorsa pozitif reaksiyon olduğunu göstermiştir. (Lelliott and Stead, 1987).

### 3.3.5. Oksidasyon - Fermentasyon Testi

Oksidasyon - Fermentasyon testi karbonhidratların oksijenli ve oksijensiz ortamda kullanımlarını test etmek için yapılmıştır. Ortam içeriği:

Tablo 3.4. Oksidasyon - Fermentasyon ortam içeriği

I. Grup	g/l
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0
KCL	0.2
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2
Bromotimol mavisi	0.08
Saf su	900 ml
Agar	3
II. Grup	g/l
Glukoz	10.0
Saf su	100 ml

pH: 7.0-7.1

Ortam içeriğine konulan kimyasallar agar hariç tartılıp otoklav şişesi içerisinde çözelti haline getirilerek, pH'sı %40'lık NaOH ile 7.0-7.1'e ayarlanmış ve ortamın rengi zeytin yeşili haline gelmiştir. Sonrasında ortama agar ilave edilip, otoklavda 121°C'de maddeler homojenizasyona tabi tutulmuştur. Homojenizasyon uygulamasından sonra ortam, 6-7 ml'lik miktarlarda tüplere paylaştırılmış ve 121°C'de 20-25 dk boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. Her bir izolat için iki tüp kullanılmıştır. Her iki tüpe aynı izolattan bir öze dolusu batırıldıktan sonra bu tüplerden birinin üzeri %3'lük agar ilave edilerek havayla teması engellenmiş ve hazırlanan tüpler, 24-26°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Tüplerin 1 hafta boyunca sürekli kontrolü yapılmıştır. Tüplerde glukozdan asit üretimi sonucunda ortam rengi zeytin yeşili renginden sarıya dönüştüğünde pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Ayers, et al., 1919).

### 3.3.6. Arginin Dehidrolaz Aktivitesi

Arginin dehidrolaz aktivitesi test, bazı izolatların anaerobik koşullarda gelişimini sağlayan iki enzime sahip olup olmadıklarını tespit eden bir testtir. Ortam içeriği:

Tablo 3.5. Arginin dehidrolaz aktivitesi ortam içeriği

Ortam içeriği	g/l
Peptone	1.0
NaCL	5.0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.3
Agar	3.0
Phenol red	0.01
L - Arginine	10.0
pH=7.2	

Ortam içeriği agar konulmadan önce pH'sı 7.2'ye ayarlanmış ve agar konulduktan sonra 121°C'de homojenize edilip, 5-7 ml'lik miktarlarda tüplere pay edilmiştir. Ortam 121°C'de 15-20 dk boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. Daha sonra izolatlar öze yardımıyla tüplere daldırılarak aşılandıktan sonra üstleri yaklaşık olarak 3 cm yüksekliğinde % 3'lük steril agar ile kapatılmıştır. Hazırlanan tüpler, 24 -26°C'de 7-14 gün boyunca inkubasyona bırakılmıştır. Daha sonra ortamın açık pembe renginin kırmızı - pembe renk alması pozitif reaksiyon olarak, ortam renginde hiçbir değişim olmadığında negatif reaksiyon olarak kabul edilmiştir.

### 3.3.7. Eskulinin Hidrolizi

Tablo 3.6. Eskulinin hidrolizi testi ortam içeriği

Ortam içeriği	g/l
Yeast extract	5.0
NaCl	5.0
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2

Tablo 3.6. (Devam)

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5

Tablo 3.6. (devam)

Ferric amonyum sitrat	50.0 mg
Esculin(Sigma)	1.0
pH 6.8	

Eskulinin hidrolizi ortamı yapıldıktan sonra, 121°C'de 20-25 dk boyunca homojen edilmiştir. Homojenizasyon uygulamasından sonra ortam, 6-7 ml'lik miktarlarda tüplere pay edilmiş ve 121°C'de 15-20 dk boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. İzolatlar tüplere bir öze dolusu batırıldıktan sonra 27-28 °C'de 3-4 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Ortam rengi kahverengi - siyaha dönüştüğünde pozitif reaksiyon olarak kabul edilmiştir.

### 3.3.8. Jelatini Eritme Testi

Jelatini eritme testi için ortam; litrede, pepton 5 g, beef ekstrakt 3 g, jelatin 120 g tartılarak, 121°C'de otoklavda homojenize edilmiş, 5-6 ml'lik miktarlarda tüplere dökülmüş ve 121°C'de 20-25 dk boyunca sterilize edilmiştir. 24-26°C' ve 24-48 saat süre ile geliştirilen kolonilerden, steril kabin içerisinde bir öze dolusu alınıp tüplere batırılarak aşılacaktır. 20°C'de 7-14 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Tüplerdeki reaksiyonu kontrol etmek için tüpler 45° açıyla eğilmiştir. Ortam akıcı hale geldiğinde pozitif reaksiyon, ortam katı halde kaldığında ise negatif reaksiyon olarak kabul edilmiştir (Klement, et al., 1990).

### 3.3.9. Nişastanın Hidrolizi Testi

Birinci ortam, 121°C'de 15 dakika boyunca sterilize edilmiş ve petrilere dökülmüştür. İzolatlar, petrilere çizilmiş ve yoğun bir gelişme oluncaya kadar 24-26°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra petrilerin üzeri Lugol Solüsyonu ile kapatılmıştır. Tepkime sonucunda ortamın rengi, koyu mavi-siyah renge dönüşmüştür. Kolonilerin etrafındaki açık bölgelerin oluşması reaksiyonun pozitif, açık bölgelerin oluşmaması ise reaksiyonun negatif olduğunu göstermiştir.

Tablo 3.7. Nişastanın Hidrolizi testi içeriği

I. Ortam İçeriği:	g/L
Yeast extract	5.0 g
Peptone	5.0 g
Beef extract	5.0 g
Agar	15.0 g
Eriyebilir nişasta	2.0 g
<b>II. Lugol Solusyonu:</b>	
Iodine	1.0 g
Potasyum iyodür	2.0 g
Saf su	100 ml

### 3.3.10. Karbon Kaynaklarının Kullanılması Testi

Tablo 3.8. Karbon kaynakları kullanım testi ortam içeriği

Ortam içeriği	g/l
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.2
NaCl	5.0
Yeast ekstrakt	0.8
Agar	12.0
Brom cresol purple	0.7 ml
Karbon kaynağı	2.0
pH=6.8	

Bu testin uygulanmasında; l-arabinoz, d-trehaloz, mannitol, ksiloz ve inositol isimli karbon kaynakları kullanılmıştır. Ortam içeriği agar dışında hazırlanıp % 40'lık NaOH ile pH'sı 6,8'e ayarlandıktan sonra mor renge dönüşmüştür. Sonrasında ortama agar ilave edilip, 121°C'de homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işleminden sonra tüplere 7-8 ml'lik miktarlarda pay edilmiştir. Tüpler 121°C'de 20-25 dakika boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. Geliştirilen izolatlar tüplere batırılıp

24-26°C’de bir hafta boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre içerisinde ortamda asit oluşumuna bağlı renk değişiminin olup olmadığına bakılmıştır. Ortamın rengi mordan sarı renge dönüştüğünde pozitif reaksiyon, herhangi bir renk değişikliği meydana gelmediğinde negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Saygılı, 1995).

### **3.4. Patateste Pektolitik Aktivite Testi**

Musluk suyunda yıkanan patates yumruları, 8-9 mm’lik kalınlıkta dilimlere bölünmüştür. %1’lik NaOCl çözeltisinde 2-4 dk bekletilerek yüzeysel dezenfeksiyonu yapılmıştır. 3 kez steril distile sudan geçirilmiştir. Daha sonra sterilize edilmiş mantar delici yardımıyla yumrular üzerine delikler açılmıştır. Hazırlanan dilimler, steril kurutma kağıdı bulunan steril petrilere konulmuştur. NGA ve KBA besi ortamlarında geliştirilmiş bakteri izolatlarından süspansiyon hazırlanmıştır. Bu süspansiyondan mikropipet yardımıyla 20 µl çekilip patates dilimleri üzerine açılan deliklere konulmuştur. Negatif kontrol olarak steril distile su kullanılmıştır. Deneme 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Petriler, 24-26°C’de iki gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnokule edilen bölgelerde meydana gelen yumuşama pozitif reaksiyon olarak, herhangi bir yumuşama oluşmaması ise negatif reaksiyon olarak kabul edilmiştir (Lelliot and Stead, 1987).

### **3.5. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi**

Tüm izolatların NGA ve KBA’da 24-26°C ve 24-48 saat boyunca gelişimi sağlandıktan sonra  $10^6$ - $10^8$  hücre/ml’lik süspansiyonları hazırlanmıştır. Tütün (*Nicotiana tabacum*) bitkisi yaprağının alt yüzeyine, iki damar arasına steril enjektör ile hazırlanan süspansiyon enjekte edilmiştir. 48-72 saat süreyle inkübe edilmiş bitkilerde tütünde duyarlılık reaksiyonunun olup olmadığı test edilmiştir (Klement and Goodman, 1967).

### **3.6. Patojenisite Testi**

Tüm izolatlar, NGA’da 24-26°C ve 24-48 saat boyunca inkübe edilerek geliştirilmiş ve  $10^8$  hücre/ml’lik süspansiyonları hazırlanmıştır. Daha sonra Çbzs4 izolatu ile hazırlanan süspansiyondan buğday yapraklarının alt tarafından enjektör ile inokulasyonu yapılmıştır. Kontrol olarak distile su kullanılmıştır. Bitkiler 24-26°C ve 24-72 saat inkübe edilmiş ve yapraklarda kahverengi nekrotik ve/veya klorotik alanların meydana gelip gelmediği kontrol edilmiştir (Zwet, 1986).

Tütünde aşırı duyarlılığa sebep olan izolatların biyokimyasal ve moleküler tanı testleri yapılmıştır. Diğer izolatlar ise değerlendirme dışı bırakılmışlardır.

### 3.7. Moleküler Çalışmalar

#### 3.7.1. Bakteriyel İzolatların Moleküler Tanısı

Patojen özellik gösteren izolatların tanısında; 16S rRNA korunmuş gen bölgesi hedeflenerek PCR ve sekans analizi yapılmıştır. PCR çalışmasında Sambrook, et al., (1989)'in yöntemi kullanılmıştır. PCR reaksiyon karışımı, 0.2 ml'lik ependorf tüp içerisinde toplam hacmi 20 µl olacak şekilde hazırlanmıştır:

Tablo 3.9. PCR reaksiyonu karışım içeriği

Reaksiyon Adı	Karışım Miktarı (µl)
Biomix red (Bioline)	10.0
1492r	1.0
27f	1.0
ddH <sub>2</sub> O	8.0
DNA	x
Toplam	20

Toplam hacmi 20 µl olan PCR reaksiyon karışımı bulunan tüplerin içlerine, tanısı yapılmak istenen NGA ve KBA'da 24-26°C ve 24-48 saat sürede gelişen kolonilerden pipet ucu yardımıyla eklenmiştir. Kontrol tüplerine ise DNA eklenmemiştir. 16S rRNA gen bölgesi için;

27f:5'- AGAGTTTGATCMTGGCTCAG -3'

1492r: 5'- TACCTTGTTACGACTT -3' primer çiftleri (Lane, 1991).

Touchdown koloni PCR işlemi için kullanılan protokol şu şekildedir (Sambrook, et al., 1989):

Tablo 3.10. Touchdown koloni PCR işlemleri protokolü

Sıcaklık	Döngü
95 °C	4'
95 °C	30''
65 °C	30''
	Decrease 1 döngü
72 °C	1.5'
	Cycle 2 - 9kez
95 °C	30'
56 °C	30''
72 °C	30''
	Cycle 6 - 24 kez
16 °C	Forever

Çalışmalar sonucu elde edilen PCR ürünleri, %1'lik agaroz jelde koşturulmuştur. Agaroz jel hazırlamak için Tris borate-EDTA (TBE) Buffer kullanılmıştır:

Tablo 3.11. TBE buffer içeriği

5x TBE Buffer	1/l
Tris base	54.0 g
Boric acid	27.5 g
EDTA	20 ml 0.5 M
Steril saf su	500 ml

Ortam içeriği hazırlanarak steril distile su içerisinde çözüldükten sonra karışımın pH derecesi 8'e ayarlanmıştır. Toplam hacmin 1 l olması için distile saf suda ilave edilmiştir. Elde edilen 5x TBE bufferdan 1xTBE Buffer hazırlamak için ise; 100 ml 5xTBE buffer, 900 ml steril saf su ile karıştırılmıştır. % 1'lik agaroz jel için; 1 g agaroz, 100 ml'lik 1xTBE buffer içerisine konulmuş ve mikro dalga fırında ara ara karıştırılarak kaynatılmıştır. Böylece agaroz buffer içerisinde çözünüp homojenize olmuştur. Hazırlanan jelle bantların görülmesi için 5 µl etidyum bromür

ilave edildikten sonra, önceden tarakların yerleştirildiği jel tankına dökülerek soğumaya bırakılmıştır. Agaroz jel donduktan sonra taraklar özenli bir şekilde çıkarılarak, içerisinde 1xTBE buffer olan elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Elektroforez tankında güç kaynağının negatif ( - ) kutbuna denk gelen kuyucuklara, 10 µl miktarda PCR ürünleri yüklenerek 100 miliamperde 1 saat boyunca koşturulmuştur. Moleküler marker olarak; Hyper Ladder 1 kb (Bioline) kullanılmıştır. PCR ürünleri, UV transliminatörde (302nm) incelenerek fotoğraflandırılmıştır (Sambrook and Russell, 2001). 16S rRNA gen bölgesi touchdown PCR'ı sonucu bant gösteren izolatlara ait PCR ürünlerinin sekans analizi, özel firma bir firmadan hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır.

İzolatlara ait 16S rRNA korunmuş gen bölgesi sekans analizi sonuçları, 'National Center for Biotechnology Information - NCBI' web adresindeki BLAST analizi ile değerlendirilmiştir.

### **3.8. Kùltürlerin Saklanması**

Biyokimyasal, morfolojik ve moleküler tanısı yapılan tüm izolatlar, Nutrient Glukoz ve King B sıvı besi yerinde 24–26°C'de 24 saat süreyle çalkalayıcılı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Sonrasında steril %50'lik gliserin içeren vida kapaklı tüplerde 10 tekerrürlü olmak üzere hazırlanmış ve -20°C'de saklanmıştır.

### **3.9. Transpozon Hareketliliği İle İlgili Çalışmaları**

#### **3.9.1. Bakteriyel İzolatlardaki Transpozon Hareketliliğinin Belirlenmesi**

Buğday bakteriyel hastalık etmenlerine ait izolatlardaki transpozonların hareketlerini belirlemek için IRAP PCR yapılmıştır. IRAP PCR'da; Nikita, Sukkula, Houba, Hopi ve Osr-30 olmak üzere 5 farklı transpozon primeri ve/veya primer çifti kullanılmıştır (Tablo 3.12). PCR reaksiyon karışımı, 0.2 ml'lik ependorf tüp içerisinde toplam hacmi 20 µl olacak şekilde hazırlanmıştır:

Tablo 3.12. PCR reaksiyon karışım içeriği

Reaksiyon Adı	Karışım Miktarı (µl)
Biomix red (Bioline)	10.0
Transpozon primeri F	1.0
Transpozon primeri R	1.0
ddH <sub>2</sub> O	8.0
DNA	x
Toplam	20

IRAP PCR işlemi için kullanılan protokol; 2.5 dakika boyunca 94°C'de ilk denatürasyon, 94°C'de 30 döngü 30 saniye, 30 döngü Osr30 - Hopi için 55°C, Houba için 51°C ve Sukula - Nikita için 50°C 30 saniye, 72°C'de 3 dakika, 1 döngü 72°C'de 10 dakika ve 16°C'de sonsuz olacak şekilde ayarlanmıştır.

Tablo 3.13. Bakteriye izolatlar için IRAP PCR'de kullanılan primerler

Primer	Direction (5'-3')	Kaynakça
Osr30	F: 5'-GCAGCCGATTCTCGCTCTGTTCCG-3'	Yuzbasioglu, 2018.
	R: 5'-GGCACGCTCACACATCCGAAGGCGA-3'	
Hopi	F: 5'-CGCGAACCTTCCACACACAGACTAG-3'	
	R: 5'-GGCCACGTGGGTGATCGTGTCTGCC-3'	
Houba	F: 5'-CTTCGAGTGGGCTAAGGCC -3'	
	R: 5'-GTTTCGACCAAGCAGCCGGTCC-3'	
Nikita	ACCCCTCTAGGCGACATCC	Leigh, 2003.
Sukula	GGAACGTCGGCATCGGGCTG	Maraklı 2018.

PCR ürünleri, 10 µl miktarda yüklenerek 100 miliamperde 1 saat boyunca agaroz jelde koşturulmuştur. Moleküler marker olarak; Hyper Ladder 1 kb (Bioline) kullanılmıştır. PCR ürünleri, UV transliminatörde (302nm) incelenerek fotoğraflandırılmıştır.

### 3.9.2. Buğday Çeşitlerindeki Transpozon Hareketliliğinin Belirlenmesi

Bu çalışmada; çeşitler arasındaki transpozon hareketliliğine ve bakteri inokule edilen buğday çeşiti ile inokule edilmeyen aynı buğday çeşiti arasındaki transpozon hareketliliğinde/profillerinde zamana (48 saat ve 1 hafta) bağlı olarak farklılık olup olmadığına bakılmıştır.

Bu amaçla; Pehlivan, Yumuşak Buğday, Bezostaja, Kızıltan-91, Anadolu Beyaz, Cumhuriyet, Ekmeklik Buğday, Karahan, Ceyhan-99, Hatay-85, Bayraktar,

Adana-99, Konya-2002, İkizce-96, Diyarbakır-81 ve Kırac-66 çeşitleri kullanılmıştır. Buğday çeşitleri, toprak karışımı (1 : 1, toprak : kum) içeren 500 ml'lik saksılara ekilmiştir. Çalışmada en virüent olarak belirlenen Siph8 isimli izolat, NGA'da 24-26°C ve 24-48 saat inkübe edilerek geliştirilmiş ve 10<sup>8</sup> hücre/ml'lik süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar, buğday yapraklarının alt tarafına enjektör ile enjeksiyon yapılmıştır. Kontrol olarak distile su kullanılmıştır. En virüent izolatın buğday fidelerine inokulasyonundan 48 saat ve 1 hafta sonra olmak üzere toplam 2 kez fidelerden yaprak örnekleri alınarak sıvı azot içerisinde şoklama yapılmış ve örnekler, DNA ekstraksiyonuna kadar -80°C'lik derin dondurucuda saklanmıştır. Sıvı azotta şoklanarak elde edilen buğday çeşitlerine ait yaprak örneklerinden DNA ekstraksiyonu; CTAB Ekstraksiyon Buffer yöntemi kullanılarak yapılmıştır:

### 3.9.3. CTAB Ekstraksiyon Buffer İle Yapılan DNA Ekstraksiyon İşlemi

Tablo 3.14. CTAB Ekstraksiyon Buffer Ortam İçeriği

Kullanılan maddeler:	
CTAB	% 2 (w/v)
NaCl	1.42 M
EDTA (Ph:8)	20 mM
TrisHCl (Ph:8)	100 mM
PVP 40	% 0.2'lik (w/v)
Askorbik Asit	5 mM
2-merkaptöetanol	% 0.02'lik

- 100-200 mg'lık yaprak örnekleri ependorf tüpü içine v harfi oluşturacak şekilde yerleştirilmiş ve pens yardımıyla sıvı azot içine daldırılmıştır. Sıvı azot içerisinde birkaç saniye tutulduktan sonra çıkarılmıştır. Steril manuel homojenizatör yardımıyla yaprakların toz haline getirilmesi sağlanmıştır. Sonrasında ependorf içine 1000 µl'lik CTAB ekstraksiyon buffer eklenmiştir ve vortekslenmiştir.

- Karışımın içerisine 10 µl RNaz ve 20 µl Proteinaz K eklenip tekrar vortekslenildikten sonra 60 dakika boyunca 65°C'lik kuru blokta 60 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır.

- Karışım, 10.000 x g'de 10 dakika boyunca santrifüjlendikten sonra süpernatant temiz bir ependorf tüpüne aktarılmış ve oda sıcaklığında 15 dakika süre ile inkübe edilmiştir.

- Karışım, 10.000 x g'de 5 dakika santrifüjlendikten sonra eşit hacimde kloroform: isoamyl alkol (24: 1) ile ekstrakte edilmiş, vortekslenmiş ve fazları ayırmak için 10.000 x g'de 10 dakika boyunca santrifüjlenmiştir.

- Karışımın üst fazı temiz bir tüpe aktarılmıştır.

- Üst faz ile eşit hacimde izopropanol eklenmiş, karıştırılmış ve -20°C'de bir gece inkübe edilmiştir.

- 10.000 x 10 g'de 10 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Süpernatant tüpten uzaklaştırılmıştır. Pelet, 1 ml %96'lık etil alkol içinde 10.000 x g'de 5 dakika boyunca santrifüjlenmiştir.

- Pelet bozulmayacak şekilde % 96'lık etil alkol hafifçe boşaltılmıştır. Peleti 35 37°C'de kısa bir süre (5-10 dk) kurutulmuştur.

- Elde edilen DNA 50 µl'lik steril su ile süspanse edilmiştir.

Buğday çeşitlerine ait DNA örneklerindeki transpozonların hareketlerini belirlemek için IRAP PCR yapılmıştır. IRAP PCR'da; Nikita, Sukkula, Osr30, Hopi ve Houba olmak üzere 5 farklı transpozon primer ve/veya primer çifti kullanılmıştır (Tablo 3.13). PCR reaksiyon karışımı, 0.2 ml'lik ependorf tüp içerisinde toplam hacmi 20 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. IRAP PCR işlemleri "3.9.1 Bakteriyel İzolatlardaki Transpozon Hareketliliğinin Belirlenmesi" kısmındaki protokollere göre yapılmıştır.

### **3.10. Enzim Aktivasyonu İle İlgili Çalışmalar**

Bu çalışma; buğday çeşitlerinin DNA'larını *EcorI* ve *HindIII* kesici enzimleri ile keserek ve bakteri inokule edilen buğday çeşitlerinin bakteriyel hastalık etmenine karşı gösterdiği dayanıklılık/hassaslık reaksiyonları bakımından ilişkisini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Ayrıca, bu çalışma ile bakteriyel hastalık etmeninin inokulasyonu ile buğday çeşitlerindeki polifenol oksidaz enziminin aktivasyonu bakımından farklılık olup olmadığına bakılmıştır

#### **3.10.1. Kesici Enzimlerle İlgili Çalışmalar**

Bakteri inokule edilen ve inokule edilmeyen 48 saat ve 1 haftalık buğday çeşitlerine ait DNA'ların polifenol oksidaz gen bölgesi, PPO5F (5'-TCCGCAACTGCCAAACGC -3') / PPO5R (5'-GGTCCCCTGGAGTCAAGGT

C-3') primer çifti kullanılarak PCR işlemi ile çoğaltılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri, *EcoRI* ve *HindIII* kesici enzimleri ile kesilmiş ve % 1'lik agaroz jelde koşturularak, bakteri inokule edilen ve edilmeyen aynı çeşit ile çeşitler arasında bir farklılık olup olmadığına bakılmıştır. Ayrıca bakteri uygulaması ile bakteri uygulaması olmayan çeşitlerdeki farklılıkların olup olmadığı polifenol oksidaz enzim aktivasyonu bakımından da incelenmiştir. PCR reaksiyon karışımı ve PCR işlemleri, "3.7.1. Bakteriyel İzolatların Moleküler Tanısı" kısmındaki protokollere göre yapılmıştır. Daha sonra PCR işlemi ile çoğaltılan polifenol oksidaz gen bölgesine ait PCR ürünleri, kesici enzim reaksiyon karışımının içeriği hazırlanarak *EcoRI* ve *HindIII* enzimleri kesilmiştir (Tablo 3.15).

Tablo 3.15. Kesici enzim reaksiyon karışımının içeriği

Reaksiyon Adı	Karışım Miktarı (µl)
PCR ürünü	15.0
Kesici Enzim Bufferı	2.5
Kesici Enzim	1.0
H <sub>2</sub> O	6.5
Toplam	25.0

Kesici enzimlerle kesilen PCR ürünleri, 37°C'de 2 saat süreyle inkübe edildikten sonra % 1'lik agaroz jelde koşturularak, çeşitler arasındaki farklılık olup olmadığına bakılmıştır.

### 3.10.2. Polifenol Oksidaz Enzimi İlgili Çalışmalar

Bakteri inokule edilen ve inokule edilmeyen buğday çeşitlerine ait genomlarındaki polifenol oksidaz gen bölgesi, PPO05F (5'-TCCGCAACTGCCAAACGC -3') / PPO05R (5'-GGTCCCCTGGAGTCAAGGT C-3') primer çifti (Wang et al., 2009) kullanılarak Touchdown PCR işlemi ile çoğaltılmıştır (Sambrook, et al., 1989). Elde edilen PCR ürünleri; % 1'lik agaroz jelde koşturularak, bakteri inokule edilen ve inokule edilmeyen buğday çeşitlerinde polifenol oksidaz enzim aktivasyonu bakımından farklı olup olmadıkları incelenmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Bulgular

#### 4.1.1. Survey Çalışmaları

Buğday bakteriyel hastalık etmenlerinin izolasyonu için Türkiye’de buğday yetiştiriciliği yapılan Adana, Adıyaman, Aksaray, Amasya, Ankara, Çorum, Eskişehir, Kahramanmaraş, Kastamonu, Kırşehir, Konya, Samsun, Sivas, Şanlıurfa, Tokat ve Yozgat illerine ait arazilerden, örnekleme yapılan illerdeki üretim miktarları göz önüne alınarak hasadı yapılmış çeşitli buğday tohum örnekleri toplanmıştır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Toplanan buğday çeşitlerinin illere göre dağılımı (TÜİK, 2020)

İl Adı	Ekilen Alan (da)	Üretim (Ton)	İncelenen Köy Adı	Buğday Çeşidi	Örnek Sayısı
Adana	1.013	125	Adapınar	Bezostaja	1
			Başören	Adana-99	2
			Çiçekli	Ceyhan-99	2
Adıyaman	38.264	12.654	Aktepe	Diyarbakır-81	2
			Çaykaya	Adana-99	4
			Güzelyurt	Ceyhan-99	5
Aksaray	72.951	25.923	Başaran	İkizce	2
			Pınarbaşı	Bezostaja	4
			Gökler	Pehlivan	4
Amasya	45.450	11.437	Derealan	İkizce-96	2
			Çayırözü	Kızıltan-91	1
			Kamışlı	Karahan	2
Ankara	323.204	86.659	Gümüşyaka	Bezostaja	5
			Çanakçı	Kıraç-66	5
			Basri	Kızıltan-91	4
Çorum	279.181	68.751	Çalköy	Cumhuriyet	4
			Akören	Bezostaja	3
			Geven	Anadolu Beyaz	5
Eskişehir	11.562	4.418	Emircik	Kızıltan-91	2
			Güneli	Anadolu Beyaz	3
			Okçu	Bezostaja	3
Kahramanmaraş	546.521	185.377	Kangal	Cumhuriyet	6
			Altaş	Ceyhan-99	7
			Ortaklı	Karahan	5
Kastamonu	461.189	87.476	Kabacı	Hatay-85	4
			Yeşilpınar	Adana-99	5
			Aktaş	Bayraktar	4
Kırşehir	37.750	10.250	Karahıdır	Anadolu Beyaz	3
			Seyfe	Bezostaja	3
			Karınçalı	Pehlivan	2
Konya	1.968.582	619.203	Dutlu	Yumuşak Buğday	7
			Çamlı	İkizce-96	8
			Savaş	Konya-2002	9

Tablo 4.1. (Devamı)

İl Adı	Ekilen Alan (da)	Üretim (Ton)	İncelenen Köy Adı	Buğday Çeşidi	Örnek Sayısı
Samsun	135	44	Gökçün	Bezostaja	2
			Karlı	Bayraktar	1
			Gürkaya	Yumuşak Buğday	2
Sivas	98.266	25.425	Kılıç	Ekmeklik Buğday	5
			Derecik	Bayraktar	4
			Eskibağ	Pehlivan	5
Şanlıurfa	1.896.073	748.585	Keberli	Pehlivan	9
			İzci	Bayraktar	9
			Göleç	Bezostaja	8
Tokat	42.418	8.867	Dereköy	Bayraktar	2
			Kapıcı	Bezostaja	3
			Çamköy	Anadolu Beyaz	2
Yozgat	1.076.523	264.295	Alicik	Pehlivan	5
			Davutlu	Anadolu Beyaz	8
			Çardak	İkizce-96	6

#### 4.2. İzolasyon ve Patojenisite Çalışmaları

Buğday çeşitlerine ait tohum örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucu; 150 izolattan 9 tanesinin tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu ve buğday yapraklarında klorotik – nekrotik leke yaptığı belirlenmiştir (Şekil 4.1). Bu izolatların koloni morfolojisi, biyokimyasal, patojenisite ve moleküler testleri yapılarak patojen olduğu tespit edilmiştir. Tohumdan yapılan izolasyon sonucu elde edilen izolatların ismi ve hangi buğday çeşitlerinden izole edildiği bilgileri Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Tohumlardan yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen izolatlar

İl Adı	Çeşit Adı	İzolat adı
Şanlıurfa	Bezostaja	Şabzs3
Samsun	Bezostaja	Sbzs2
Çorum	Bezostaja	Çbzs4
Aksaray	Pehlivan	Akph8
Sivas	Pehlivan	Siph8
Yozgat	Pehlivan	Yph8
Yozgat	Anadolu Beyaz	Yab5
Kırşehir	Anadolu Beyaz	Kıab5
Adana	Adana-99	Adad4

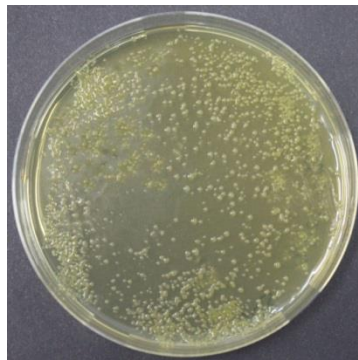


Şekil 4.1. Patojenisite testi; a) *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Yap5 izolatının buğday yaprağında klorotik - nekrotik leke oluşturması; b) Kontrol (steril saf su uygulaması); c) tütünde aşırı duyarlılık testi

### 4.3. Tanı Testleri

#### 4.3.1. Biyokimyasal Tanı

Tütünde aşırı duyarlılığa ve buğday yaprağında klorotik - nekrotik leke oluşumuna neden olan 9 adet izolatın NGA besi ortamında 24-26°C ve 24-48 saatlik kolonileri; mukoid, sarı renkli, düzgün yüzeyle ve düzgün kenarlı gelişme göstermişlerdir (Şekil 4.2.).



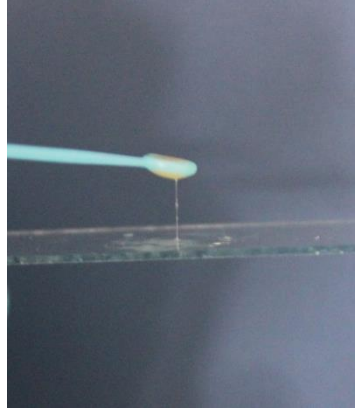
Şekil 4.2. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Adad4 izolatının NGA besi ortamında gelişimi

#### 4.3.2. Gram Boyama Testi

Bu test sonucunda 9 izolatın da Gram (-) olduğu anlaşılmıştır.

#### 4.3.3. KOH Testi

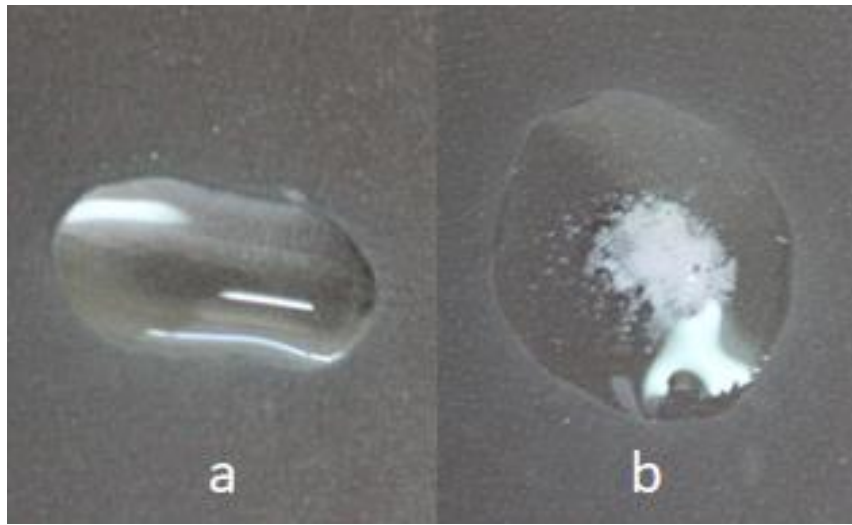
Bu teste 9 izolat da ipliğimsi bir sünme meydana getirerek pozitif reaksiyon göstermiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Siph8 izolatının KOH testine pozitif reaksiyonu

#### 4.3.4. Katalaz Testi

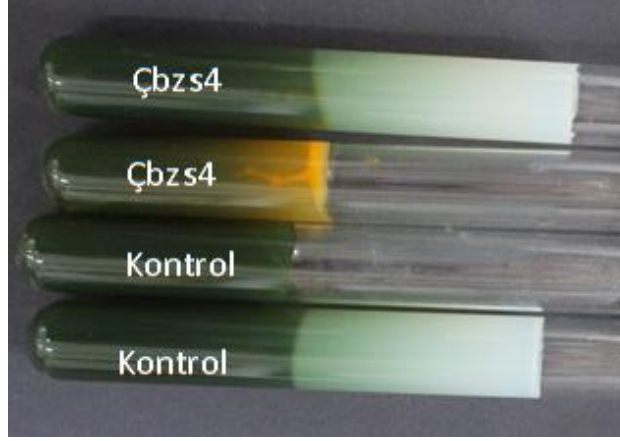
NGA'da 24-26°C ve 24-48 saat süreyle geliştirilmiş izolatların kolonilerinden bir öze dolusu alınarak, lam üzerindeki hidrojen peroksitle (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) karıştırılmış ve ortamdaki oksijenin serbest hale geçmesiyle hava kabarcığı meydana gelmiştir. Tüm izolatlar, bu teste pozitif reaksiyon göstermiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Katalaz testi: a) Negatif reaksiyon, b) *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* K1ab5 izolatının pozitif reaksiyonu.

#### 4.3.5. Oksidasyon – Fermentasyon Testi

Oksidatif - Fermentatif testi, izolatların solunum şeklini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu test sonucunda izolatların 9'u da aerobik gelişim göstermiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Oksidasyon - Fermentasyon Testi: *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Çbzs4 izolatının aerobik gelişimi

#### 4.3.6. Arjinin Dehidrolaz Aktivitesi

Bu teste tüm izolatlar negatif reaksiyon göstermiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Arginin dehidrolaz testi; *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Sbzs2 izolatının negatif reaksiyonu

#### 4.3.7. Eskulinin Hidrolizi Testi

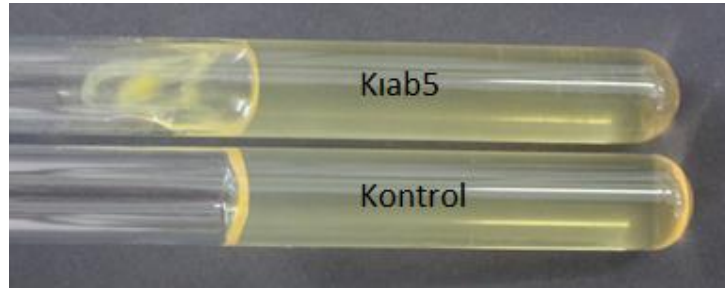
NGA'da 24-26°C ve 24-48 saat süreyle geliştirilen 9 izolata ait kolomilerinde bir öze dolusu alınarak eskulin içeren tüplere batırılmıştır. Daha sonra 2-5 gün boyunca 24-26°C'de inkübe edilmiştir. Ortam renginin kahverengi-siyaha dönüşüyorsa pozitif reaksiyon olarak kabul edilmiştir. Bu teste tüm izolatlar pozitif reaksiyon göstermiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Eskulinin hidrolizi testi; *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Sbzs2 izolatının pozitif reaksiyonu

#### 4.3.8. Jelatini Eritme Testi

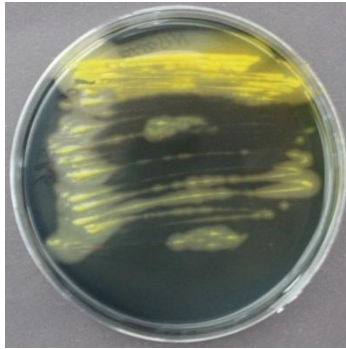
Bu teste tüm izolatlar pozitif reaksiyon göstermiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Jelatin eritme testi; *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Kıab5 izolatının pozitif reaksiyonu

#### 4.3.9. Nişastanın Hidrolizi Testi

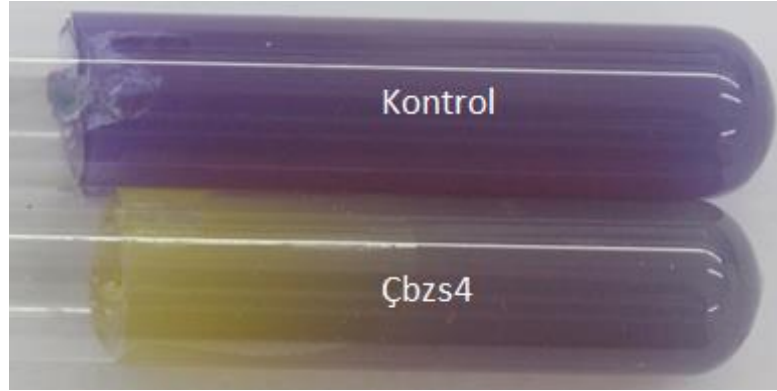
Nişasta içeren petrilerin üzeri Lugol çözeltisi ile kaplandıktan sonra kolonilerin etrafında açık bölgelerin oluştuğu gözlemlenmiştir. Bu teste tüm izolatlar pozitif reaksiyon göstermiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Nişastanın Hidrolizi Testi: *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Kıab5 izolatının pozitif reaksiyonu.

#### 4.3.10. Karbon Kaynaklarının Kullanılması Testi

Bu testte; l-arabinoz, d-trehaloz, mannitol, ksiloz ve inositol isimli karbon kaynakları kullanılmıştır. NGA'da 24-26°C'de 24-48 saat süreyle geliştirilen izolatlar a ait kolonilerden 1 öze dolusu alınarak, karbon kaynaklarının bulunduğu tüplere batırılmıştır. Tüpler 24-26 °C'de bir hafta süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Pozitif reaksiyon sonucunda ortamın mor rengi, sarı - krem rengine dönüşmüştür. Tüm izolatlar; l-arabinoz, d-trehaloz, mannitol ve ksiloza pozitif, inositole negatif reaksiyon göstermiştir (Şekil 4.10), (Tablo 4.3).



Şekil 4.10. Karbon kaynakları testi; *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* K1ab5 izolatının pozitif reaksiyonu.

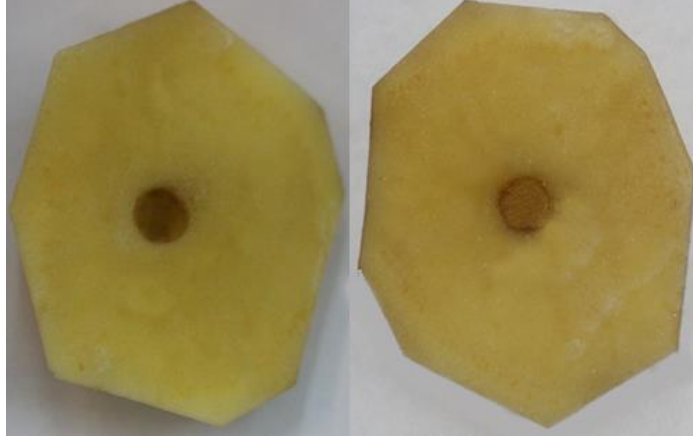
Tablo 4.3. İzole edilen *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* izolatlarının biyokimyasal test sonuçları

Sıra no	Tür Adı	İzolat Adı	GB*	KOH	Katalaz	O/F	JE	NH	EH	Arjinin	Karbon Kaynakları					PA	HR	PT
											Ar	Ma	In	Tr	Ks			
1	<i>X. translucens</i> pv. <i>undulosa</i>	Adad4	-	+	+	A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
2		Akph8	-	+	+	A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
3		Çbzs4	-	+	+	A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
4		Kıab5	-	+	+	A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
5		Sbzs2	-	+	+	A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
6		Şabzs3	-	+	+	A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
7		Siph8	-	+	+	A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
8		Yab5	-	+	+	A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
9		Yph8	-	+	+	A	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+

\*GB: Gram boyama; O/F: Oksidatif/Fermantatif; A: Aerobik; JE: Jelatini Eritme; NH: Nişastanın Hidrolizi; EH: Eskulinin hidrolizi; L-Ar, Arabinoz; Ma: Mannitol; In, Inositol; Tr: Trehaloz; Ks: Ksiloz; PA: Pektinolitik aktivite; HR: Tütünde aşırı duyarlılık; PT, Patojenisite testi; - : Negatif reaksiyon; +: Pozitif reaksiyon

#### 4.4. Patateste Pektolitik Aktivite Testi

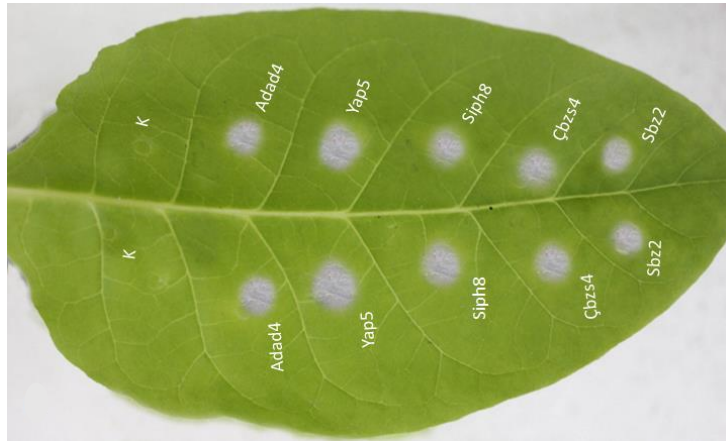
Bu test, bakteriyel izolatların pektini parçalayan enzime sahip olup olmadıklarını belirlemek için yapılmıştır. Pektinaz enzimi, polisakkarit olan pektini substrat olarak kullanması sonucu dokularda yumuşamaya neden olmaktadır. Bu test sonucunda İzolatların tamamı negatif sonuç vermiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Pektolitik aktivite testi: a) Kontrol (steril saf su); b) *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Adad4 izolatının negatif reaksiyonu

#### 4.5. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi

Tüm izolatlar, NGA'da 24-26°C'de ve 24-48 saat süreyle geliştirilmiş ve izolatların  $10^8$  hücre/ml'lik süspansiyonları, tütün yapraklarının alt tarafından enjektör yardımıyla inokule edilmiştir. Tüm izolatlar, tütünde aşırı duyarlılığa sebep olmuştur (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Tütün bitkisi yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonu

#### 4.6. Patojenisite Testi

Tüm izolatlar, NGA'da 24-26°C'de ve 24-48 saat süreyle geliştirilmiş ve izolatların  $10^8$  hücre/ml'lik süspansiyonları, buğday yapraklarının alt tarafından enjektör yardımıyla inokule edilmiştir. İnokulasyondan sonra 72 saat içerisinde yapraklarda klorotik-nekrotik alanlar meydana getirmiştir (Şekil 4.13).

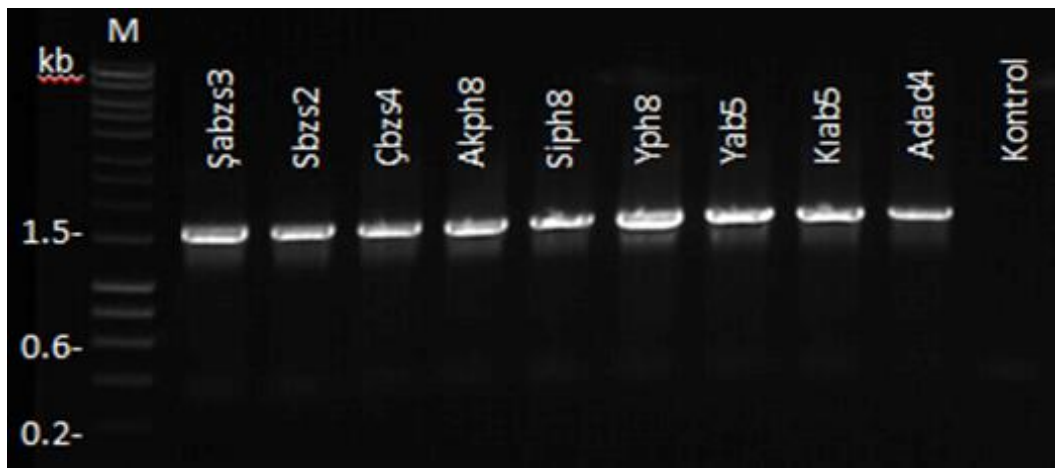


Şekil 4.13. Patojenisite testi; *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Çbzs4 izolatının pozitif reaksiyonu

#### 4.7. Moleküler Çalışmalar

##### 4.7.1. Bakteriyel İzolatların Moleküler Tanısı

Tütünde aşırı duyarlılığa ve buğdayda klorotik – nekrotik lekeye neden olan izolatların 16S rRNA korunmuş gen bölgesi için touchdown koloni PCR'ı yapılmış ve elde edilen PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde koşturulmuştur. Agaroz jelde, 16S rRNA gen bölgesi için beklenen yaklaşık 1500 bp seviyesinde bantlar elde edilmiştir (Şekil 4.14).



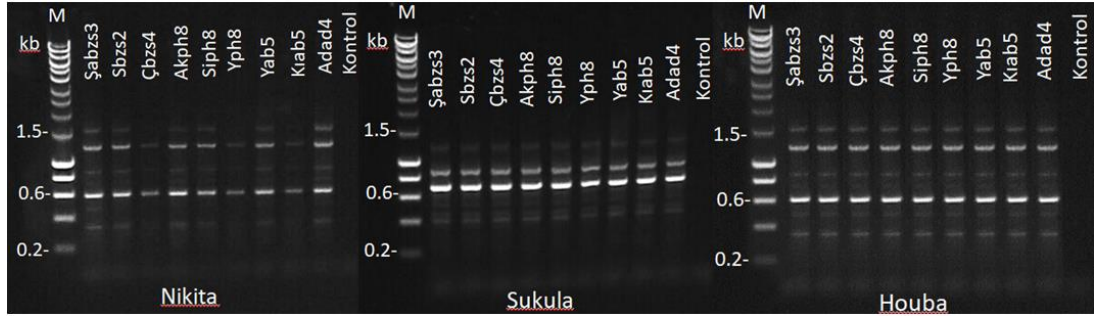
Şekil 4.14. 16S rRNA korunmuş gen bölgesine ait PCR ürünlerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüsü

PCR ürünleri, 16S rRNA sekans analizi için BM Lab (Ankara) firmasına gönderilmiştir. Elde edilen nükleotid dizilerine ait kromotogram çıktıları için Chromos Pro Versiyon 1.7.6 programında konsensüs sekanslar elde edilmiştir. Elde edilen konsensüs sekansların nükleotid BlastN analizi (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) yapılmıştır. Buna göre; Şabzs3, Sbz2, Çbzs4, Akph8, Siph8, Yph8, Yab5, Kıab5 ve Adad4 izolatları *X. translucens* pv. *undulosa* olarak tanımlanmıştır.

#### 4.8. Transpozon Hareketliliği İle İlgili Çalışmalar

##### 4.8.1. Bakteriyel İzolatlardaki Transpozon Hareketliliğinin Belirlenmesi

Bu çalışma, *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*'ya ait izolatların transpozon profillerini belirlemek için yapılmıştır. Çalışmada IRAP PCR tekniği kullanılmıştır. PCR'da; Nikita, Sukula, houba, hopi ve Osr-30 olmak üzere 5 farklı transpozon primer çifti kullanılmıştır. IRAP PCR sonucunda; izolatlar arasında nikita, sukula ve houba transpozonlarına ait bant profillerinde herhangi bir farklılık görülmemiştir (Şekil 4.15). Hopi ve Osr-30 transpozon primerleri ile PCR amplifikasyonu sonucu ise %1'lik agaroz jelde herhangi bir bant oluşumu gözlemlenmemiştir.



Şekil 4.15. İzole edilen bakteriyel etmenlerine ait Nikita, Sukula ve Houba transpozon profillerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri.

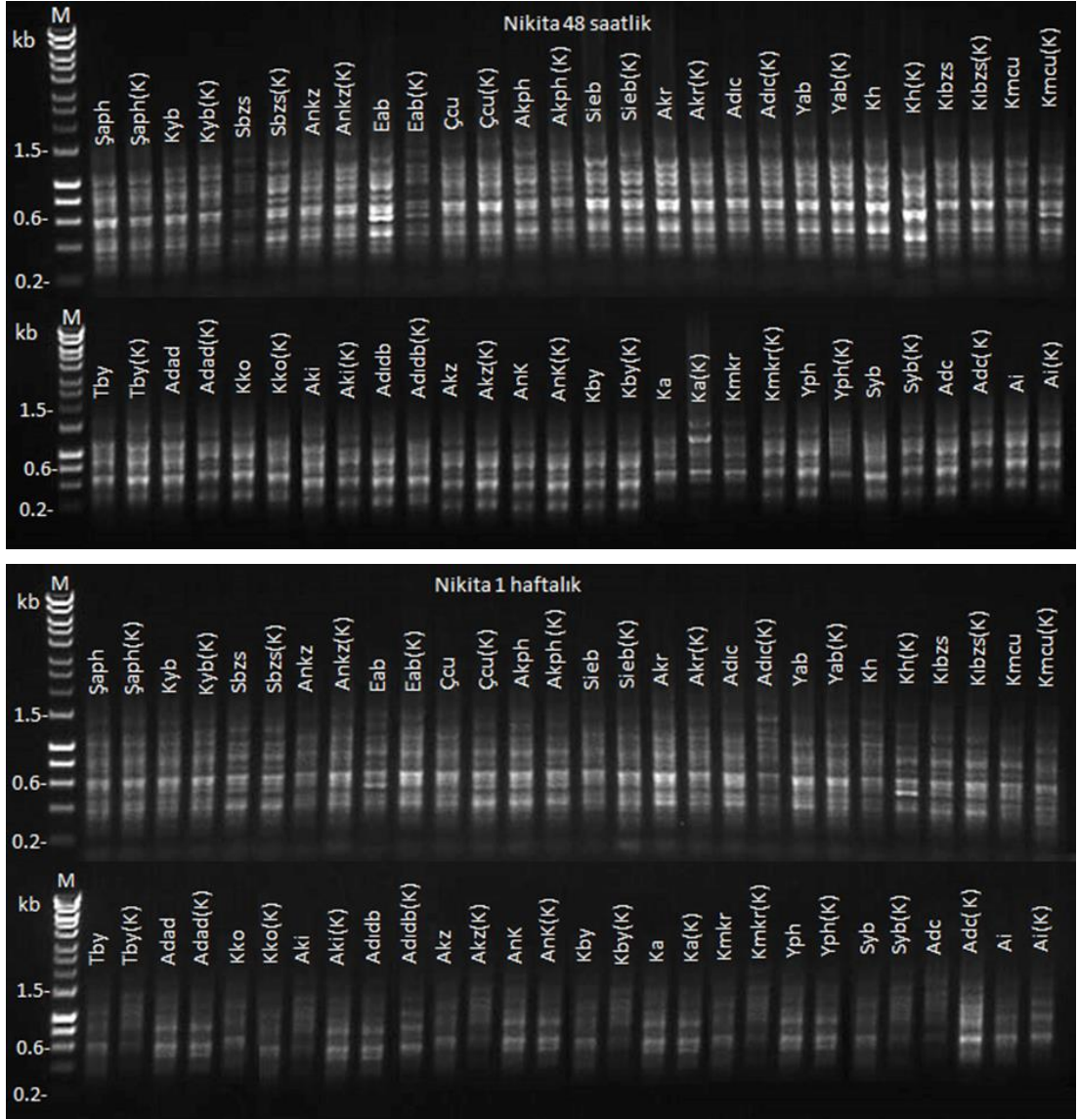
Daha sonra, meydana gelen bant profilleri, “Buğday çeşitlerindeki transpozon hareketliliğinin belirlenmesi” çalışmasından elde edilen PCR ürünlerindeki bant profilleri ile kıyaslanmış; ancak, her ne kadar bakteri izolatlarına ait bant profillerinin bulunduğu seviyede buğday çeşitlerinde de bant oluşumu görülse de, bakteri uygulaması yapılmayan kontrol gruplarında da aynı seviyede bant oluşumları gözlemlenmiştir. Bu nedenle bakterideki transpozon profilleri ile bakteri uygulaması yapılan çeşitlerdeki transpozon profilleri arasında bir ilişki olmadığı sonucuna

varılmıştır. Bir başka deyişle, bakteri izolatlarına ait transpozon profillerinin, bakteri inokulasyonu ile buğday çeşitlerine aktarılmadığı ortaya konmuştur.

#### 4.8.2. Buğday Çeşitlerindeki Transpozon Hareketliliğinin Belirlenmesi

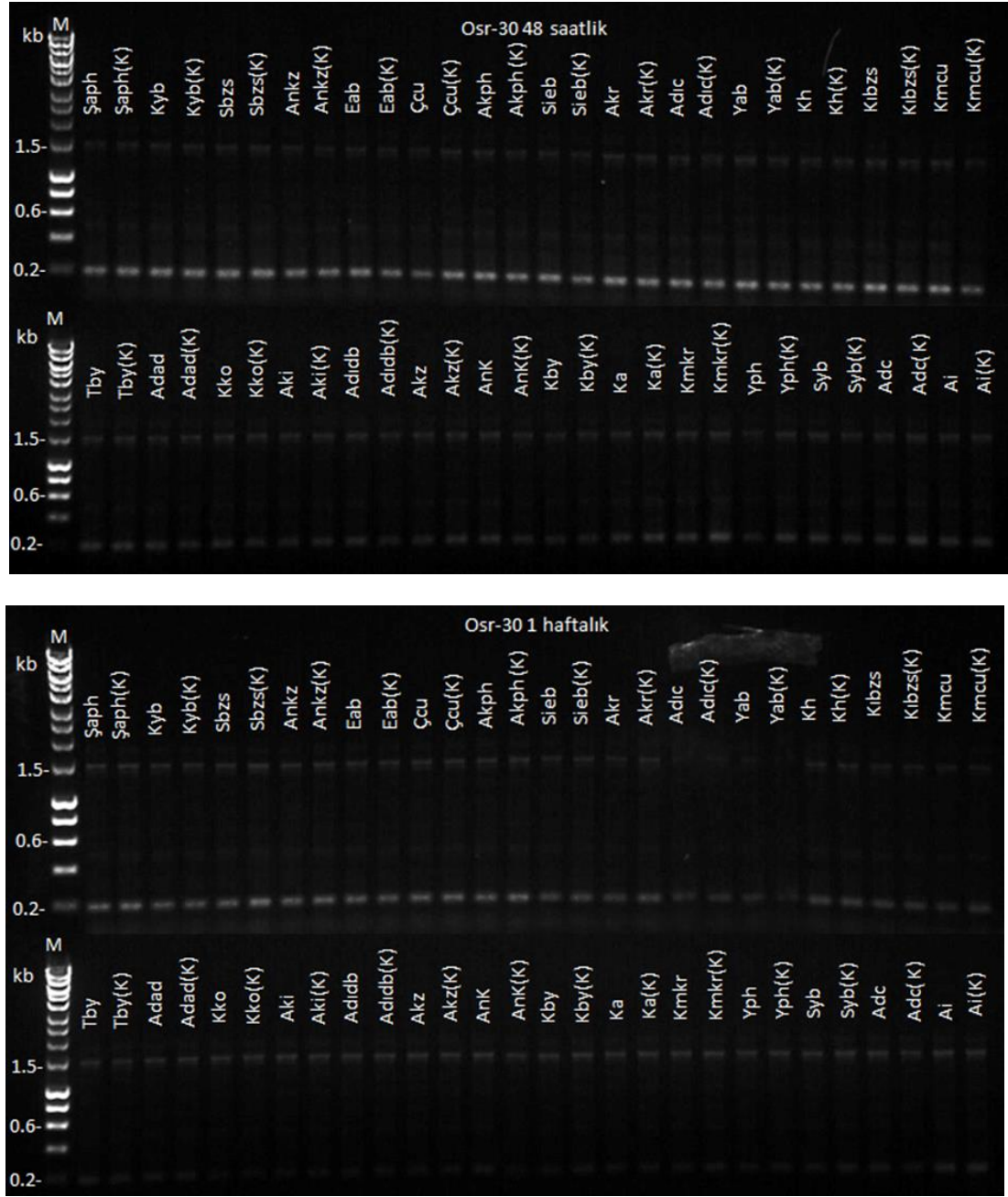
Bu çalışmada, en virülen olan *X. translucens* pv. *undulosa* Siph8 izolatının buğday çeşitlerine inokulasyonu sonucunda farklı zaman aralıklarında (48 saat ve 1 hafta) çeşitlerin genomlarında herhangi bir değişimin olup olmadığı belirlenmiştir. Bu amaçla, aynı çeşitin kontrol grubuna ait bant profilleri ile bakteri inokule edilen gruba ait bant profillerindeki farklılıklar incelenmiştir. Bu amaçla, Siph8 izolatının buğday çeşitlerine inokulasyonundan 48 saat ve 1 hafta sonra olmak üzere toplam 2 ayrı zaman aralığında çeşitlere ait DNA örneklerinin Nikita, Sukula, Hopi, Houba ve Osr-30 isimli transpozon profillerinde değişimlerin olup olmadığı incelenmiştir (Tablo 4.4).

IRAP PCR'ı sonucunda; *X. translucens* pv. *undulosa* Siph8 inokule edilen ve inokule edilmeyen kontrol grubundaki buğday çeşitlerine ait 48 saatlik ve 1 haftalık PCR ürünlerindeki **Nikita** isimli transpozon profillerinde/hareketliliğinde herhangi bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.16) (Tablo 4.4).



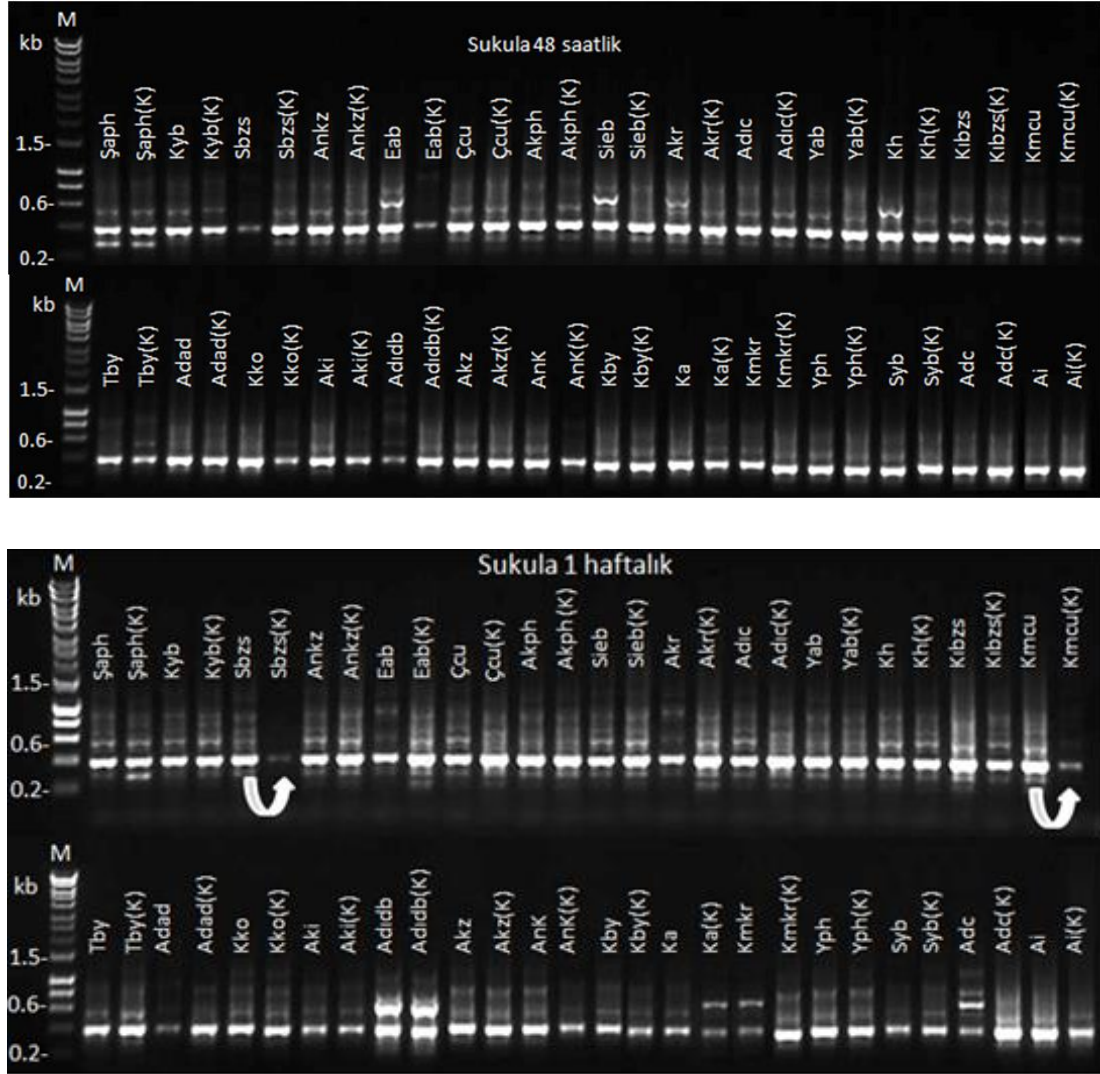
Şekil 4.16. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Siph8'in inokule edildiği buğday çeşitlerine ait Nikita transpozon profillerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri.

PCR ürünlerindeki **Osr-30** isimli transpozon profillerinde/hareketliliğinde herhangi bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.17) (Tablo 4.4).



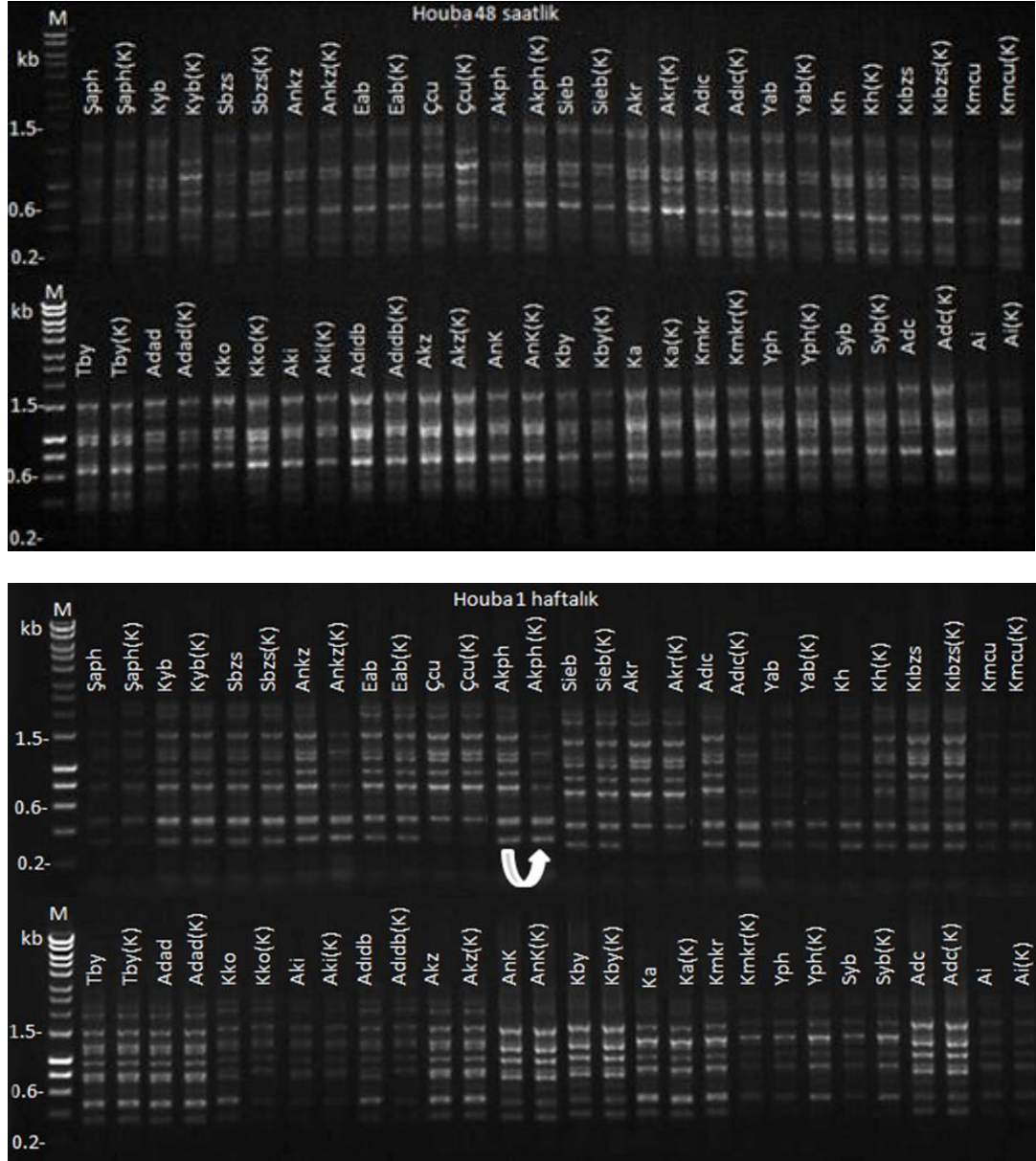
Şekil 4.17. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Siph8'in inokule edildiği buğday çeşitlerine ait Osr-30 transpozon profillerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri

PCR ürünlerindeki **Sukula** isimli transpozon profillerinde/hareketliliğinde; bakteri inokule edilen çeşitlerin 48 saatlik uygulamasında herhangi bir farklılık olmamasına rağmen, 1 haftalık uygulamasında **Bezostoja** ve **Cumhuriyet** çeşitlerinin transpozon profilinde/hareketliliğinde bakteri uygulamasının kontrol grubu uygulamasına göre fazladan 1 yeni banta sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.18) (Tablo 4.4).



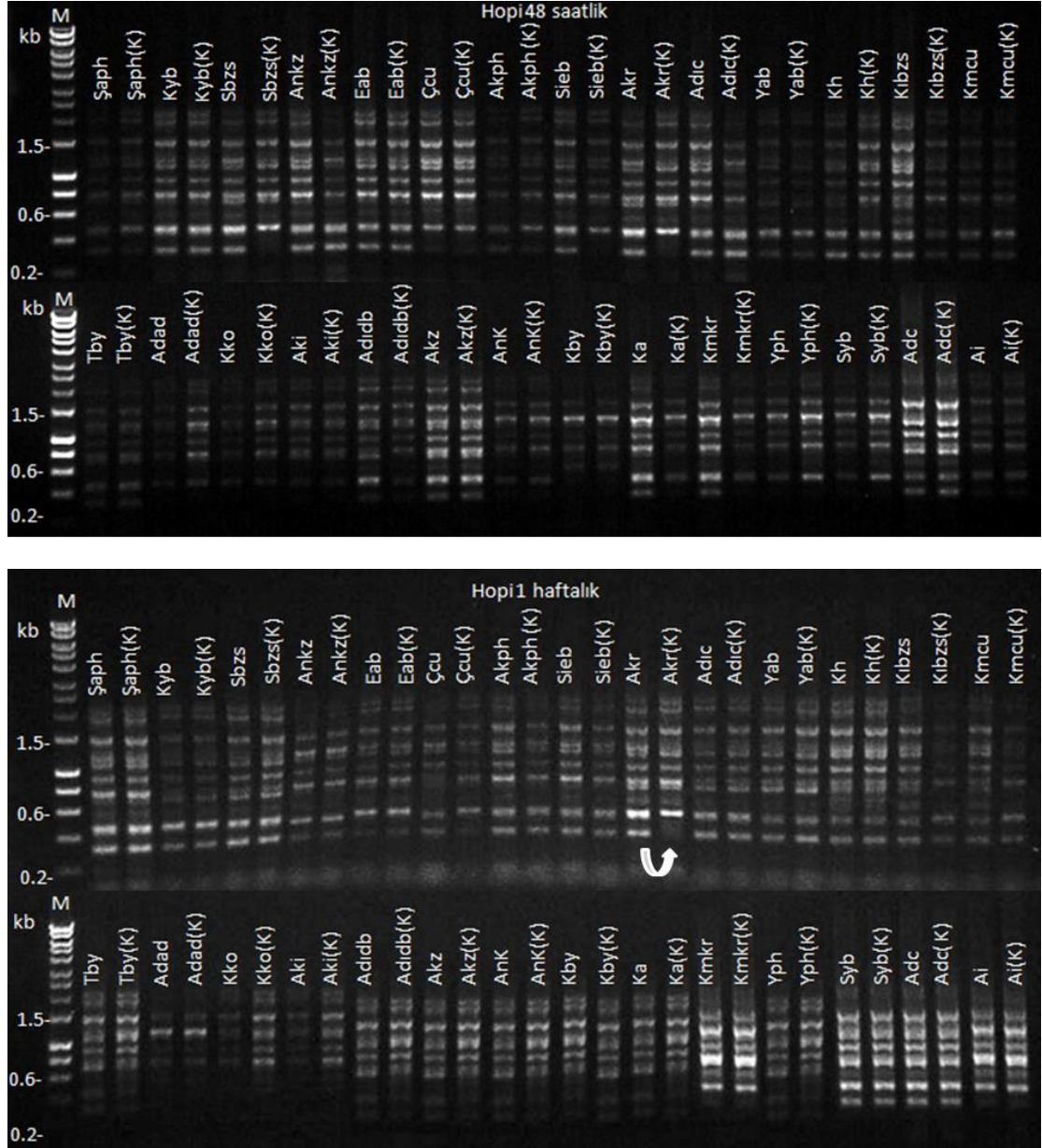
Şekil 4.18. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Siph8'in inokule edildiği buğday çeşitlerine ait sukula transpozon profillerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri

PCR ürünlerindeki **Houba** isimli transpozon profillerinde/hareketliliğinde; bakteri inokule edilen çeşitlerin 48 saatlik uygulamasında herhangi bir farklılık olmamasına rağmen, 1 haftalık uygulamasında **Pehlivan** çeşitinin transpozon profilinde/hareketliliğinde bakteri uygulamasının kontrol grubu uygulamasına göre fazladan 1 yeni banta sahip olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.19) (Tablo 4.4).



Şekil 4.19 *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Siph8'in inokule edildiği buğday çeşitlerine ait houba transpozon profillerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri

PCR ürünlerindeki **Hopi** isimli transpozon profillerinde/hareketliliğinde; bakteri inokule edilen çeşitlerin 48 saatlik uygulamasında herhangi bir farklılık olmamasına rağmen, 1 haftalık uygulamasında **Karahan** çeşitinin transpozon profilinde/hareketliliğinde bakteri uygulamasının kontrol grubu uygulamasına göre fazladan 1 yeni banta sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.20) (Tablo 4.4).



Şekil 4.20 *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Siph8'in inokule edildiği buğday çeşitlerine ait hopi transpozon profillerininin %1'lik agaroz jeldeki görüntüleri

*Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* Siph8 izolatının buğday çeşitlerine inokulasyonundan 48 saat ve 1 hafta sonra olmak üzere toplam 2 ayrı zaman aralığına ait uygulamalar sonucunda; **Sukula** isimli transpozonun 1 haftalık uygulamasında Bezostoja ve Cumhuriyet çeşitlerinde, **Houba** isimli transpozonun 1 haftalık uygulamasında Pehlivan çeşitinde ve **Hopi** isimli transpozonun 1 haftalık uygulamasında Karahan çeşitinde bakteri uygulamasının kontrol grubu uygulamasına göre fazladan 1 yeni banta sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.4).

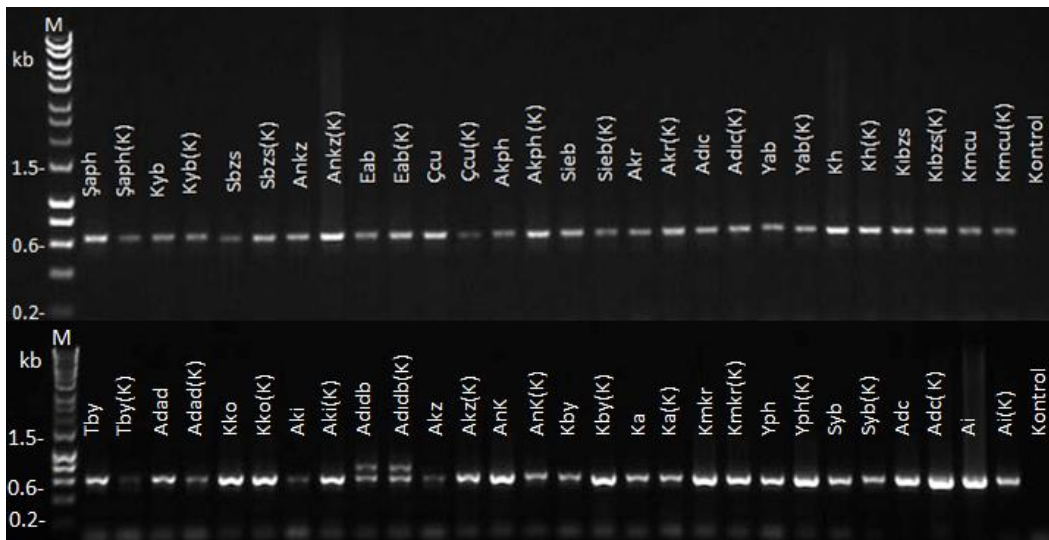
Uygulamalara göre inokule edilen aynı çeşit içerisindeki bitkinin transpozon profilinde, kontrol grubundaki transpozon profiline göre fazladan 1 bantın ortaya çıkmasının nedeninin; hastalık etmeni inokulasyonu ile o çeşit genomundaki inaktif olan transpozonun aktif hale geçmesi sonucu fazladan 1 bantın ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bakteri inokulasyonuna bağlı olarak transpozon profillerinde herhangi bir değişikliğin/hareketliliğin olmadığı çeşitlerde ise, transpozonların bakteri inokulasyonundan etkilenmediği ve bu nedenle transpozon profillerinde herhangi bir hareketliliğin/değişimin olmadığı düşüncesine varılmıştır.

Tablo 4.4. Bakteri uygulanan ve uygulanmayan buğday çeşitlerine ait 48 saatlik ve 1 haftalık transpozon bant sayıları

Buğday Çeşidi	Kısaltması	Transpozon Bant Sayısı (48 saatlik) (Uygulama-Kontrol)					Transpozon Bant Sayısı (1 haftalık) (Uygulama-Kontrol)				
		Nikita	Sukula	Hauba	Hopi	Osr-30	Nikita	Sukula	Hauba	Hopi	Osr-30
Pehlivan	Şaph	8-8	4-4	5-5	9-9	3-3	8-8	6-6	8-8	9-9	4-4
Yumuşak Buğ.	Kyb	8-8	4-4	5-5	8-8	3-3	8-8	5-5	9-9	9-9	4-4
Bezostaja	Sbzs	11-11	6-6	5-5	10-10	3-3	8-8	<b>7-6</b>	9-9	9-9	4-4
Kızıltan-91	Ankz	10-10	3-3	5-5	11-11	3-3	6-6	7-7	9-9	7-7	4-4
Anadolu Beyaz	Eab	11-11	3-3	5-5	10-10	3-3	8-8	6-6	10-10	10-10	4-4
Cumhuriyet	Çcu	10-10	3-3	6-6	8-8	3-3	7-7	7-7	10-10	8-8	4-4
Pehlivan	Akph	11-11	3-3	4-4	9-9	3-3	7-7	7-7	<b>10-9</b>	9-9	4-4
Ekmeklik Buğ.	Sieb	7-7	4-4	5-5	9-9	3-3	6-6	6-6	10-10	9-9	4-4
Karahan	Akr	9-9	4-4	5-5	11-11	3-3	7-7	6-6	10-10	<b>11-10</b>	4-4
Ceyhan-99	Adıc	10-10	3-3	5-5	9-9	3-3	6-6	7-7	9-9	9-9	4-4
Anadolu Beyaz	Yab	10-10	3-3	5-5	9-9	3-3	6-6	6-6	11-11	9-9	4-4
Hatay-85	Kh	9-9	2-2	5-5	9-9	3-3	7-7	6-6	8-8	9-9	4-4
Bezostaja	Kıbz	9-9	2-2	5-5	9-9	3-3	6-6	5-5	10-10	9-9	4-4
Cumhuriyet	Kmccu	9-9	2-2	4-4	8-8	3-3	7-7	<b>6-5</b>	7-7	10-10	4-4
Bayraktar	Tby	4-4	2-2	7-7	7-7	3-3	4-4	3-3	11-11	9-9	4-4
Adana-99	Adad	5-5	2-2	7-7	6-6	3-3	55	3-3	11-11	5-5	4-4
Konya-2002	Kko	5-5	3-2	5-5	6-6	3-3	5-5	4-4	8-8	7-7	4-4
İkizce	Aki	5-5	3-3	4-4	6-6	3-3	5-5	3-3	8-8	6-6	4-4
Diyarbakır-81	Adıdb	6-6	4-4	6-6	11-11	3-3	6-6	4-4	9-9	9-9	4-4
Kızıltan-91	Akz	6-6	3-3	6-6	11-11	3-3	5-5	3-3	11-11	9-9	4-4
Kıraç-66	AnK	7-7	3-3	7-7	5-5	3-3	5-5	3-3	8-8	9-9	4-4
Bayraktar	Kby	6-6	3-3	4-4	5-5	3-3	5-5	3-3	8-8	8-8	4-4
Adana-99	Ka	7-7	3-3	6-6	8-8	3-3	5-5	3-3	8-8	8-8	4-4
Karahan	Kmkr	6-6	3-3	6-6	8-8	3-3	5-5	3-3	8-8	8-8	4-4
Pehlivan	Yph	6-6	3-3	5-5	8-8	3-3	4-4	3-3	6-6	8-8	4-4
Yumuşak Buğ.	Syb	5-5	3-3	5-5	7-7	3-3	5-5	3-3	6-6	7-7	4-4
Ceyhan-99	Adc	6-6	3-3	5-5	10-10	3-3	5-5	5-5	7-7	7-7	4-4
İkizce-96	Ai	6-6	3-3	5-5	8-8	3-3	4-4	2-2	8-8	7-7	4-4

#### 4.9. Enzimi Aktivasyonu İle İlgili Çalışmalar

Bu çalışma; buğday çeşitlerinin *X. translucens* pv. *undulosa*'ya karşı gösterdiği dayanıklılık/hassaslık reaksiyonları bakımından ilişkisini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, buğday çeşitlerinin polifenol oksidaz gen bölgesi, touchdown PCR'ı ile çoğaltılmış ve elde edilen PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde koşturulmuştur. Agaroz jelde, polifenol oksidaz gen bölgesi için beklenen yaklaşık 750 bp seviyesinde bantlar elde edilmiştir. Daha sonra buğday çeşitlerine ait elde edilen PCR ürünleri, *EcoRI* ve *HindIII* isimli kesici enzimler ile kesilmiş ve PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde koşturulmuştur. Polifenol oksidaz gen bölgesi için elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüleri ile bu PCR ürünlerinin *EcoRI* ve *HindIII* enzimleri ile kesilmesi sonucu elde edilen jel görüntüleri arasında herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir. Bu nedenle bakteri inokulasyonu ile buğday çeşitlerinin hastalık etmenine karşı gösterdiği dayanıklılık/hassaslık reaksiyonları arasındaki ilişki en azından polifenol oksidaz gen bölgesi için ortaya konamamıştır. Ancak, polifenol oksidaz enzim aktivasyonu bakımından 1 çeşitte de olsa farklılık tespit edilmiştir. Buna göre; 28 buğday çeşitinden sadece Diyarbakır 81 isimli çeşitin PCR ürününde 2 bant oluşumu meydana gelmiş, diğer buğday çeşitlerinin PCR ürününde ise 1 bant meydana gelmiştir. Bu durumda; Wang et al. (2009)'a göre belirtilen kriterler dikkate alındığında, 2 banta sahip Diyarbakır 81 çeşitinin düşük polifenol oksidaz aktivitesine, diğer 27 buğday çeşitinin ise yüksek polifenol oksidaz aktivitesine sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Polifenol oksidaz gen bölgesine ait PCR ürünlerinin %1'lik agaroz jeldeki görüntüsü

#### 4.10. Tartışma

Bu çalışma, buğday tohumlarında taşınan bakteriyel hastalık etmenlerinin biyokimyasal ve moleküler tanımlarını yapmak, elde edilen bakteriyel izolatların transpozon profillerini ve sahip oldukları transpozonların inokule edildikleri buğday çeşitlerine aktarılıp aktarılmadığını belirlemek, transpozonların hastalık gelişimi ile ilişkisinin olup olmadığını ortaya koymak ve hastalığa karşı hassaslık/dayanıklılığın enzim aktivasyonları ile ilgili ilişkisini incelemek için yapılmıştır.

Dünya genelinde buğday yetiştirilen neredeyse tüm alanlarda bakteriyel yaprak çizgi hastalıklarının bulunduğunu bildirmişlerdir (Bamberg, 1936; Duveiller, 1990). Bakteriyel çizgi hastalığı, buğdayda önemli bir hastalıktır. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* uygun koşullar altında çok önemli zararlara neden olabilir. Hastalıktan dolayı verim kaybı %10'dan aşağı olabildiği gibi şiddetli enfeksiyonlarda %40'a kadar çıkabilir. Enfeksiyonların şiddetlendiği zamanlarda %10-30 arasında verim kaybına neden olmaktadır (Duveiller, 1989). Hastalık etmeni, buğdayda ortası kahverengi kenarlı, sınırlandırılmış nekrotik lekeler şeklinde belirti gösterir (Shane, et al., 1987; Duveiller *et al.*, 1997; McMullen and Adhikari, 2011).

*Xanthomonas translucens*'in konukçuya özel patojenik varyeteleri bulunmaktadır. Bakteriyel yaprak çizgi hastalık etmeni *X. translucens* pv. *undulosa* buğday ve arpada patojendir. Hastalık etmeni, buğdayda ortası kahverengi kenarlı, sınırlandırılmış nekrotik lekeler şeklinde belirti gösterir. Hastalık etmeninin enfeksiyonundan sonra, 10-12 gün içerisinde belirtiler görülür (Shane, et al., 1987; Duveiller *et al.*, 1997; McMullen and Adhikari, 2011). Bu çalışmada da tohumlardan elde edilen *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* izolatlarının patojenisite testleri sonucunda inokulasyondan sonra 10–15 gün içerisinde buğday yapraklarında literatürlerde belirtilen belirtilere benzer belirtiler oluşmuştur.

Hastalık etmenine karşı etkili bir kimyasal mücadele yöntemi olmadığından, hastalıkla mücadelenin en etkili yolunun hastalığa karşı dayanıklı çeşit kullanmak olduğu belirtilmiştir. Bu amaçla; buğday, arpa ve diğer tahıl grubu bitkilerin dayanıklılık mekanizmaları belirlenmiştir (Hagborg, 1974; Akhtar and Aslam, 1986; Duveiller et al., 1993; Alizadeh et al, 1994; El Attari et al., 1996; Milus et al., 1996; Tillman et al., 1996; Adhikari et al., 2011; Kandel et al., 2012; Sapkota et al., 2018). Bu çalışmalarda, bakteriyel yaprak çizgi hastalığına karşı düşük dayanıklılık seviyesinde genotipler tespit edilmiş olmasına rağmen, yüksek seviyede dayanıklı

herhangi bir genotip tespit edilememiştir. Bununla birlikte, bazı tritikale genotiplerinin hastalığa karşı yüksek seviyede dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Cunfer and Scolari, 1982; Johnson et al., 1987; Sapkota, et al., 2018). Hastalığa karşı, küçük daneli tahıllarda kısmi ve yüksek seviyelerde dayanıklılığın kalıtsallığı üzerine çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Duveiller et al., 1993; El Attari et al., 1996; Tillman and Harrison, 1996; Adhikari et al, 2012; Kandel et al, 2015; Wen et al , 2018). Bakteriyel yaprak çizgi hastalığına karşı dayanıklılık seviyelerindeki kalıtsallığın genotiplere göre farklılık gösterdiği belirtilmiştir (El Attari, et al., 1996; Tillman and Harrison, 1996). Yapılan çalışmalarda, bakteriyel yaprak çizgi hastalığına karşı meydana gelen dayanıklılığın nicel veya nitel olabileceği gösterilmiştir. Duveiller et al. (1993), hastalığa karşı dayanıklı 3 buğday çeşidinde toplam beş gen (Bls1, Bls2, Bls3, Bls4 ve Bls5) tespit etmiştir. Bu genlerden Bls1 geninin 3 buğday çeşitinin hepsinde bulunduğu ve dayanıklılık bakımından en yüksek seviyeyi sağlayan gen olduğu bildirilmiştir. Nicel kalıtıma ait çalışmalarda ise, 81 adet *X. translucens* pv. *undulosa* ırkının 19 adet buğday çeşidindeki dayanıklılık dereceleri belirlenmiştir (Milus and Chalkey, 1994). Tillman and Harrison (1996), hastalığa karşı buğday çeşitlerinden Terral 101'in dayanıklı, Coker 9877'nin orta derece dayanıklı, Pioneer 2548 ve Coker 9766'nın hassas olduğunu, dayanıklılığın çoklu genler tarafından kontrol edildiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise 28 buğday çeşitinin bakteriyel yaprak çizgi hastalığına karşı dayanıklılık dereceleri belirlenmeye çalışılmış; ancak kısıtlı yetiştirme koşullarında yapraklar, normal buğday yaprağına göre oldukça ince geliştiğinden ve meydana gelen lekelenmeler hızlı bir şekilde yaprak yüzeyini kapladığından sağlıklı bir dayanıklılık derecelendirmesi yapılamamıştır. Bu nedenle izolasyonlar sonucu elde edilen *X. translucens* pv. *undulosa* izolatlarının tütünde aşırı duyarlılık ve buğday yapraklarında ise klorotik – nekrotik lekelenme meydana getirip getirmediikleri incelenmiş, 9 izolatın patojen özellikte olduğu anlaşılmıştır.

Bakteriyel yaprak çizgi hastalık etmeninin buğday tohumlarından izole etmek ve hastalık etmenini tanılamak için; seçici besiyeri kullanılmak, biyokimyasal - serolojik ve PCR testleri yapmak gibi farklı yöntemler geliştirilmiştir (Forster and Schaad, 1985; Bragard and Verhoyen, 1993; Maes, et al., 1996; Langlois, et al., 2017). Bu çalışmada da elde edilen izolatları tanılamak için biyokimyasal ve moleküler tanı teknikleri kullanılmıştır. Elde edilen izolatların biyokimyasal

özellikleri ve moleküler tanılamada elde edilen sonuçlar, literatürlerde belirtilen tanı kriterleri ile birebir örtüşmektedir.

Buğday çeşitlerindeki transpozonların hareketlerini ve/veya profillerini belirlemek için en virulent izolat olan *X. translucens* pv. *undulosa* Siph8 izolatının buğday çeşitlerine inokulasyonundan 48 saat ve 1 hafta sonra olmak üzere toplam 2 ayrı zaman aralığına ait uygulamalar sonucunda; **Sukula** isimli transpozonun 1 haftalık uygulamasında Bezostoja ve Cumhuriyet çeşitlerinde, **Houba** isimli transpozonun 1 haftalık uygulamasında Pehlivan çeşitinde ve **Hopi** isimli transpozonun 1 haftalık uygulamasında Karahan çeşitinde bakteri uygulamasının kontrol grubu uygulamasına göre fazladan 1 yeni banta sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak bu çeşitlere ait profil farklılığının hastalığa karşı dayanıklı bir ilişkisinin olup olmadığı, çeşitlerde benzer seviyede hastalık belirtisi oluşması nedeniyle ortaya konamamıştır. Ancak bakteriyel yaprak çizgi hastalık etmeni inokule edilen aynı çeşit içerisindeki bitkinin transpozon profilinde, kontrol grubundaki transpozon profiline göre fazladan 1 bantın ortaya çıkmasının nedeninin; hastalık etmeni inokulasyonu ile o çeşitin genomundaki inaktif olan transpozonun aktif hale geçmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle inokulasyondan 1 hafta sonraki transpozon profilinde farklılık olması artışın, bitki içerisindeki patojen gelişimine paralel olarak ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. Çeşitlerin genomundaki patojene bağlı transpozon profillerindeki bu değişimlerin ve/veya hareketliliğin, çeşitler arasındaki genetik çeşitliliğe katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Buğday çeşitlerinde bakteriyel yaprak çizgi lekeli etmeni *X. translucens* pv. *undulosa* uygulaması ile transpozonların profillerindeki değişikliği/hareketliliği ile ilgili yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu çalışma, *X. translucens* pv. *undulosa* uygulaması ile buğday genomlarındaki Sukula, Nikita, Houba ve Hopi transpozonlarının profillerindeki değişikliği/hareketliliğin ortaya konması bakımından ilk kayıt niteliğindedir.

Polifenol oksidazın (PPO), un gibi buğday ürünlerinde kararmaya neden olan en önemli faktörlerden biri olduğu çalışmalarla ortaya konmuştur (Baik, et al.,1995; Hatcher, et al., 1999; Miskelly, 1996; Morris, et al., 2000). PPO fenollerden kinonları katalize eder, kinonlar ise aminlerle ve thiol grupları reaksiyona girerek ve doğrudan polimerizasyon yoluyla buğday ürünlerinin kahverengileşmesine veya kararmasına neden olur. Bu nedenle, buğday ıslah çalışmalarında PPO seviyesi

düşük çeşitler elde edilmeye çalışılır. Buğday danesindeki PPO aktivitesi buğday çeşitlerinde farklılık göstermektedir (Park, et al., 1997; Ge, et al., 2003). Wang, et al. (2009), buğday çeşitlerinin genomundaki polifenol oksidaz gen bölgesinin PPO5F/PPO5/R primer çifti ile çoğaltılması sonucu meydana gelen çift banta sahip çeşitlerin polifenol oksidaz enzim aktivitesinin düşük, tek banta sahip çeşitlerin polifenol oksidaz enzim aktivitesinin ise yüksek olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada da 2 banta sahip Diyarbakır 81 isimli çeşitin PCR ürününde 2 bant oluşumu meydana gelmiş, diğer buğday çeşitlerinin PCR ürünlerinde ise 1 bant meydana gelmiştir. Buna göre; Diyarbakır 81 isimli çeşitin polifenol oksidaz enzim aktivitesi düşük, diğer çeşitlerin ise polifenol oksidaz enzim aktivitelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ancak polifenol oksidaz enzim aktivitesi bakımından bakteriyel yaprak çizgi hastalık etmenine karşı dayanıklılık/hassaslıkla ilgili bir ilişki saptanamamıştır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Buğday tüm dünyada ticari önemi olan en önemli besin kaynaklarından birisidir. Dünya buğday üreticilerinin Türkiye'ye nazaran buğday üretiminde dekara aldıkları verim daha fazladır. Verim kaybına neden olan önemli faktörlerden birisi de buğday bakteriyel hastalıklarıdır. Bu nedenle, buğday bakteriyel hastalıkları ile etkili mücadele yapılarak, meydana gelecek kaybın minimuma indirilmesi gerekmektedir. Ancak, ülkemizde buğday bakteriyel hastalıklar ile ilgili çalışmaların sayısı oldukça azdır.

Bu çalışma ile buğday tohumlarında taşınan bakteriyel hastalık etmenlerinden bakteriyel yaprak çizgi hastalık etmeni *X. translucens* pv. *undulosa*'ya ait 9 adet izolat elde edilmiştir. Hastalık etmenine ait izolatların, biyokimyasal ve moleküler yöntemleriyle tanıları yapılmıştır. Bunun yanında 28 buğday çeşitinin hastalık etmenine karşı dayanıklılık reaksiyonları belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca sukula, nikita, houba ve hopi isimli transpozonların ve polifenol oksidaz enzim aktivasyonunun hastalığa karşı dayanıklılıkla ilişkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Fakat söz konusu transpozon ve polifenol oksidaz enzim aktivasyonu ile hastalığa karşı dayanıklılıkla ilgili olarak herhangi bir ilişki ortaya konamamıştır.

*Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*, buğday ve arpada bakteriyel yaprak çizgi hastalığına neden olan, önemli kalite ve verim kayıplarına yol açan hastalık etmenidir. Son on yılda, bakteriyel yaprak çizgi hastalığı, dünyadaki tüm buğday ve arpa yetiştirilen alanlarda giderek daha önemli bir sorun haline gelmiştir. Özellikle yağışlı ve ani sıcaklık değişimlerinin olduğu bölgelerde buğday yetiştirilen alanlarda bakteriyel hastalıkların verim kayıplarına yol açması ve epidemi oluşturma olasılığı nedeniyle etkili mücadele yöntemlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Hastalıkla etkili mücadele için; temiz üretim materyali ve dayanıklı çeşit kullanımının yanında, hastalığa karşı kullanılacak etkili kimyasal ilaçların da belirlemeye ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla diğer Xanthomonadların neden olduğu diğer yaprak hastalıkları için önerilen bir dizi bakırlı preparatların bu hastalık için de önerilebileceği düşünülmektedir.

Hastalığa karşı dayanıklı çeşit geliştirilmesi için ıslah çalışmalarına önem verilmedi. Bu amaçla, tritikalede bulunan hastalığa karşı yüksek düzeyde dayanıklılık genlerinin ıslah çalışmalarıyla buğday bitkisine aktarılması düşünülebilir. Hastalıkla mücadelede bir diğer önlem, patojenin virülensliğini ve

konukçu dayanıklılığını belirlemek için standartlaştırılmış bir protokolün belirlenmesi gereklidir. Böylece hastalıkla mücadelede hızlı karar alınmasına yardımcı olacaktır. Ayrıca hastalığa karşı etkili mücadele stratesini belirlemek için hastalık döngüsünü iyi bilinmesi gereklidir. Bu nedenle a) Hastalık etmeninin hayatta kalma koşullarının, b) inokulum kaynaklarının neler olduğunun ve c) tarla koşullarında hastalık gelişimi için uygun çevresel faktörlerin neler olduğunun bilinmesi gerekmektedir. Ayrıca bakteriyel hastalıkların belirtileri, ürün kayıpları ve mücadelesi gibi konularda çiftçilerin bilinçlendirilmesi için Tarım İl ve İlçe Müdürlükleri ile işbirliği yapıp eğitim seminerlerinin yapılması faydalı olacaktır.

## 6. KAYNAKÇA

- Adhikari, T. B., Hansen, J. M., Gurung, S. and Bonman, J. M. (2011). Identification of new sources of resistance in winter wheat to multiple strains of *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*. *Plant Disease*. 95: 582-588.
- Adhikari, T. B., Gurung, S., Hansen, J. M. and Bonman, J. M. (2012). Pathogenic and Genetic Diversity of *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* in North Dakota. *Phytopathology*. 102 (4): 309-402.
- Akhtar, M. A. and Aslam, M. (1986). *Xanthomonas campestris* pv. *undulosa* on wheat. *Rachis*. 5: 34-37.
- Alizadeh, A., Benetti, V., Sarrafi, A., Barrault, G. and Albertini, L. (1994). Genetic analysis for partial resistance to an Iranian strain of bacterial leaf streak (*X. campestris* pv. *hordei*) in barley. *Plant Breeding*. 113: 323-326.
- Allison, L. A. (2014). "Temel moleküler biyoloji" Prof. Dr. Ali Osman Beldüz (haz.). Ankara. Palme Yayıncılık.
- Anonim, (2007). Arpa [online], Selçuklu Ziraat Odası. <http://www.selcukluziraatodasi.org/bitkisel/arpa.html> (Erişim Tarihi: 31 Ekim 2007).
- Anonymous, (2013). [http://www.eppo.int/QUARANTINE/bacteria/Xanthomonas translucens /XANTTR ds.pdf](http://www.eppo.int/QUARANTINE/bacteria/Xanthomonas_translucens/XANTTR_ds.pdf).
- Anonymous, (2020). *Grain: World Markets and Trade*. <https://www.fas.usda.gov/> (Erişim Tarihi: 23.04.2020).
- Arber, W. and Dussoix, D. (1965). Host specificity of DNA produced by *Escherichia coli*: IV. Host specificity of infectious DNA from bacteriophage lambda. *Journal of Molecular Biology*. vol: 11 (2). (s. 238-246).
- Atanasoff, D. and Johnson, A. G. (1920). Treatment of cereals seeds by dry heat. *Journal of Agricultural Research* 18: 379-390.
- Aydemir, T. (2004). Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. *Food Chemistry*. 87: 9-67.
- Ayers, S. H., and Rupp, P. (1919). A study of the alkali-forming bacteria found in milk. *US Department of Agriculture*.
- Azad, H. and Schaad, N. W. (1988). The relationship of *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* to frost and the effect of frost on black chaff development in wheat. *Phytopathology*. 778: 95-100.
- Baik, B. K., Czuchajowska, Z., Pomeranz, Y., Pomeranz, Y. (1995). Discoloration of dough for oriental noodles. *Cereal Chem*. 72: 198-205.
- Bamberg, R. H. (1936). Black chaff disease of wheat. *Journal of Agricultural Research*. 52: 397-417.
- Belderok, B., Mesdag, H., Donner, A. D. (2000). Bread-Making Quality of Wheat. (s. 3). ISBN: 0-7923-6383-3. Springer.
- Biemont, C. (2009). Are transposable elements simply silenced or are they under house arrest? *Trends in Genetics*. 25 (8): 333-334.

- Bogdanove, A. J., Koebnik, R., Lu, H., Furutani, A., Angiuoli, S. V., Patil, P. B. et al. (2011). Two new complete genome sequences offer insight into host and tissue specificity of plant pathogenic *Xanthomonas* spp. *Journal of Bacteriology*. 193: 5450-5464.
- Boosalis, M. G. (1952). The epidemiology of *Xanthomonas translucens* on cereals and grasses. *Phytopathology*. 42: 387-395.
- Bölgesel göstergeler, (2020). Ankara: Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK).
- Bradbury, J. F. (1970). Isolation and preliminary study of bacteria from plants. *Rev. Pl Path.*
- Bragard, C. and Verhoyen, M. (1993). Monoclonal antibodies specific for *Xanthomonas campestris* bacteria pathogenic on wheat and on other small grains, in comparison with polyclonal antisera. *Phytopathology*. 139: 217-228.
- Bragard, C., Verdier, V. and Maraite, H. (1995). Genetic diversity among *Xanthomonas campestris* strains pathogenic for small grains. *Applied and Environmental Microbiology*. 61: 1020-1026.
- Bragard, C., Singer, E., Alizadeh, A., Vauterin, L., Maraite, H. and Swings, J. (1997). *Xanthomonas translucens* from small grains: diversity and phytopathological relevance. *Phytopathology*. 87: 1111-1117.
- Braun, H. (1920). Presoak method seed treatment: A means of preventing seed injury due to chemical disinfectants and increasing germicidal efficiency. *Journal of Agricultural Research*. 19: 363-392.
- Bray, E. A., Buchanan, B., Gruissem, W., Jones, R. (2000). Responses to abiotic stresses, biochemistry and molecular biology of plants. *Engineering for Stress Tolerance. Planta*. 218: 1-14.
- Bull, C. T., De Boer, S. H., Denny, T. P., Firrao, G., Fischer-Le Saux, M., Saddler, G. S. et al. (2010). Comprehensive list of names of plant pathogenic bacteria. *Journal of Plant Pathology*. 92: 551-592.
- Bull, C. T., De Boer, S. H., Denny, T. P., Firrao, G., Fischer-Le Saux, M., Saddler, G. S. et al. (2012). List of new names of plant pathogenic bacteria. *Journal of Plant Pathology*. 94: 21-27.
- Bulut, Y. ve Doymaz, M. Z. (2001). "Uygulamalı moleküler Biyoloji". Durmaz, R. (haz.). *Restriksiyon endonükleaz enzimleri ve mikrobiyolojideki önemi. Nobel Tıp Kitapevi*. (s. 109-122). Ankara.
- Büttner, D. and Bonas, U. (2010). Regulation and secretion of *Xanthomonas* virulence factors. *FEMS Microbiology Reviews*. 34: 107-133.
- Carlson, R. R. and Vidaver, A. K. (1982). Bacterial mosaic, a new corynebacterial disease of wheat. *Plant Dis*. 66: 76-79.
- Casado-Vela, J., Selles, S. and Bru, R. (2005). Purification and Kinetic Characterization of Polyphenol oxidase from Tomato Fruits. *Journal of Food Biochemistry*, 29: 381-401.
- Charkhabi, N. F., N. J. Booher, Z. Peng, L. Wang, H. Rahimian, M. Shams-Bakhsh, Z. Liu, S. Liu, F. F. White, Bogdanove, A. J. (2017). Complete Genome Sequencing and Targeted Mutagenesis Reveal Virulence Contributions of Tal2 and Tal4b of

- Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* ICMP11055 in Bacterial Leaf Streak of Wheat. *Frontiers in Microbiology*. 8: 1-17.
- Chen, D. R. and Ding, A. Y. (1981). Studies of *Xanthomonas translucens* f. sp. *undulosa* in wheat. *Acta Phytophylacica Sinica*. 8: 249-254. Chinese.
- Cunfer, B. M. and Scolari, B. L. (1982). *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* on triticale and other small grains. *Phytopathology*. 72: 683-686.
- Curland, R. D., Gao, L., Bull, C. T., Vinatzer, B., Dill-Macky, R., Von Eck, L. et al. (2018). Genetic diversity and virulence of wheat and barley strains of *Xanthomonas translucens* from the Upper Midwestern United States. *Phytopathology*. 108: 443-453.
- Çimen, C. (2010). *Sitogenetik ve moleküler tekniklerin klinikte uygulama alanları*. Yüksek Lisans Tezi. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Edirne.
- Dangl, J. L. Jones, J. D. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*. 411: 826-833.
- Demir, G. ve Üstün, N. (1992). Studies on bacterial streak disease *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* (Jones, et al.) dye of wheat and other gramineae. *J. Turk. Phytopathol.* 21: 33-40.
- Demirbağ, Z. (2008). Genetik Mühendisliği. (s. 43-55). Trabzon.
- Dodds, P. N., Lawrence, G. J., Catanzariti, A. M., Teh, T., Wang, C. I., Ayliffe, M. A., Kobe, B. and Ellis, J. G. (2006). Direct protein interaction underlies gene-for-gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 103, 8888-8893.
- Dowson, D. W. (1939). On the systematic position and generic names of the gram negative bacterial plant pathogens. *Zentr. Bakter. Parasit. Infekt.* 100: 177-193.
- Duveiller, E. (1989). Research on "*Xanthomonas translucens*" at CIMMYT. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 19: 97-103.
- Duveiller, E. (1990). Seed detection of *Xanthomonas campestris* pv. *undulosa* using a modification of Wilbrink's agar medium. *Parasitica*.40: 3-17.
- Duveiller, E., Bragard, C. and Maraite, H. (1991). "Bacterial diseases of wheat in the warmer areas - reality or myth?" Saunders, D. (eds). in: *Wheat for the Non-traditional Warm Areas. Proc. Int. Conf. Iguazu Falls. Brazil.* (s. 189-202). Mexico. DF CIMMYT.
- Duveiller, E. and Maraite, H. (1993). Study of yield loss due to *Xanthomonas campestris* pv. *undulosa* in wheat under high rainfall temperate conditions. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 100: 453-459.
- Duveiller, E., Bragard, C. and Maraite, H. (1997). "Bacterial leaf streak and black chaff caused by *Xanthomonas translucens*". E. Duveiller, L. Fucikovskil and K. Rudolph. (eds.). in: *The Bacterial Disease of Wheat: Concept and Methods of Disease Management.* (s. 25-32). D. F: CIMMYT. Mexico.
- Dye, D. W. and Lelliott, R. A. (1974). "Genus II. *Xanthomonas*". R. E. Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E. (eds.). in: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* (s. 243-249).

- El Attari, H., Sarrafi, A., Alizadeh, A., Dechamp-Guillaume, G. and Barrault, G. (1996). Genetic analysis of partial resistance to bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *cerealis*) in wheat. *Plant Pathology*. 45: 736-741.
- Eroğlu, F. (2008). *Kutanöz leyişmanyozlu hastalarda etken türlerin PCR-RFLP yöntemi ile tanımlanması*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Fang, C. T., Allen, O. N., Riker, A. J. and Dickson, J. G. (1950). The pathogenic, physiological and serological reactions of the form species of *Xanthomonas translucens*. *Phytopathology*. 40: 44-64.
- Fedoroff, N. V. (2012). Transposable Elements, Epigenetics, And Genome Evolution. *Science*. 338: 758-767.
- Finnegan, D. J. (1989). Eukaryotic transposable elements and genome evolution. *Trends in genetics*. 5: 103-107.
- Forster, R. L. and Schaad, N. W. (1988). Control of black chaff of wheat with seed treatment and a foundation seed health program. *Plant Disease*. 72: 935-938.
- Forster, R. L., Schaad, N. W. (1990). Longevity of *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* in wheat seeds under storage conditions. *In Proceedings of the 7th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*. vol: 1. (s. 329-331). Budapest: Hungary. Akademiai Kiado.
- Forster, E., Rehms, L. D., Sands, D. C., Bjarko, M. and Lund, R. E. (1990). Eradication of *Xanthomonas translucens* from barley seed with dry heat treatments. *Plant Disease*. 74: 816-818.
- Fourest, E., Rehm, L.D., Sands, D.C., Bjarko, M., Lund, R.E., (1990). Eradication of *Xanthomonas translucens* from barley seed with dry heat treatments. *Plant Disease* 74, 816-818.
- Fuerst E. P., Anderson J. V. and Mrris C. F. (2006). Delineating the role of polyphenol oxidase in the darkening of alkaline wheat noodles. *J. Agril. Food Chem*. 54: 2378-2384.
- Gardiner, D. M., Upadhyaya, N. M., Stiller, J., Ellis, J. G., Dodds, P. N., Kazan, K. et al. (2014). Genomic analysis of *Xanthomonas translucens* pathogenic on wheat and barley reveals cross-kingdom gene transfer events and diverse protein delivery systems. *PLoS ONE*.
- Ge, X. X., He, Z.H., Yang, J., Zhang, Q. J. (2003). Polyphenol oxidase activities of Chinese winter wheat cultivars and correlations with quality characteristics. *Acta Agron Sin*. 29: 481-485.
- Giblot-Ducray, D., Marefat, A., Gillings, M. R., Parkinson, N. M., Bowman, J. P., Ophel-Keller, K. et al. (2009). Proposal of *Xanthomonas translucens* pv. *pistaciae* pv. nov., pathogenic to pistachio (*Pistacia vera*). *Systematic and Applied Microbiology*. 32: 549-557.
- Gurion-Sherman, D. and Lindow, S. E. (1993). Bacterial ice nucleation: Significance and molecular basis. *FASEB (Federation of American Societies for Experimental Biology) Journal*. 7: 1338-1343.

- Gram, C. (1884). Ueber die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. *Fortschritte der Medicin*. 2: 185-189.
- Grzebelus, D. (2006). Transposon insertion polymorphism as a new source of molecular markers. *Journal of fruit and ornamental plant research*. 14: 21.
- Hagborg, W. A. F. (1942). Classification revision in *Xanthomonas translucens*. *Canadian Journal of Research*. 20: 312-326.
- Hagborg, W. A. F. (1974). Notes on bacterial diseases of cereals and some other crop plants. *Canadian Plant Disease Survey*. 54: 129-151.
- Hall, V. N., Kim, H. K., Sands, D. C. (1981). Transmission and epidemiology of *Xanthomonas translucens*. *Phytopathology*. 71: 878.
- Hatcher, D.W., Symons, S. J., Kruger, J. E. (1999). Measurement of time-dependent appearance of discolored sports in alkaline noodles by image analysis. *Cereal Chem*. 76: 189-194.
- Heimdal, H., Larsen, M. L., and Poll, L. (1994). Characterization of polyphenol oxidase from photosynthetic and vascular lettuce tissues (*Lectuca sativa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42: 1428-1433
- Hersemann, L., Wibberg, D., Blom, J., Goesmann, A., Widmer, F., Vorholter, F.J. et al. (2017). Comparative genomics of host adaptive traits in *Xanthomonas translucens* pv. *graminis*. *BMC Genomics*. 18: 35.
- Huang, J., Zhang, K., Shen, Y., Huang, Z., Li, M., Tang, D. and Cheng, Z. (2009). Identification of a high frequency transposon induced by tissue culture, nDaiZ, a member of the hat family in rice. *Genomics*. 93 (3): 274-281.
- Hurrell, R. F., Finot, P. A. (1984). "Nutritional consequences of the reactions between proteins and oxidized polyphenols". Friedman, M. (eds.). in: *Nutritional and Toxicological Aspects of Food Safety*. Plenum. (s. 423-435) New York: USA.
- Johnson, J. W., Cunfer, B. M. and Morey, D. D. (1987). Inheritance of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* in triticale. *Euphytica*. 36: 603-607.
- Jones, L. R., Johnson, A. G. and Reddy, C. S. (1917). Bacterial blight of barley. *Journal of Agricultural Research*. 11: 625-643.
- Jurka, J., Kapitonov, V. V., Kohany, O., Jurka, M. V. (2007). Repetitive sequences in complex genomes: structure and evolution. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 8: 241-259.
- Jurka, J. (2008). Conserved eukaryotic transposable elements and the evolution of gene regulation. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 65 (2): 201.
- Kalendar, R., Schulman, A. H. (2006). IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting. *Nature Protocols*. 1: 2478-2484.
- Kandel, Y. R., Glover, K. D., Tande, C. A. and Osborne, L. E. (2012). Evaluation of spring wheat germplasm for resistance to bacterial leaf streak caused by *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*. *Plant Disease*. 96: 1743-1748.
- Kandel, Y. R., Glover, K. D., Osborne, L. E. and Gonzalez-Hernandez, J. L. (2015). Mapping quantitative resistance loci for bacterial leaf streak disease in hard red

- spring wheat using an identity by descent mapping approach. *Euphytica*. 201: 53-65.
- Kerstens, K., Pot, B., Hoste, B., Gillis, M. and De Ley, J. (1989). Protein electrophoresis and DNA:DNA hybridizations of xanthomonads from grasses and cereals. *EPPO Bulletin*. 19: 51-55.
- Kim, H. K. (1982). Epidemiological, Genetical, and Physiological Studies of the Bacterial Leaf Streak Pathogen *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*. Montana State University Bozeman, Doktora Tezi, Montana.
- Kim, H. K., Orser, C., Lindow, S. E. and Sands, D. C. (1987). *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* strains active in ice nucleation. *Plant Disease*. 71: 994-997.
- Klement, Z., et al. (1990) Isolation of Bacteria. In: Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D.C., Eds., *Methods in Phytobacteriology*, Akademiai Kiado, Budapest, 95-124.
- Klement, Z. and Goodman, R. N. (1967). The hypersensitive reaction to infection by bacterial plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*. 5 (1): 17-44.
- Krishna, K. and Naik, G. R. (2011). Defective Viral Coat Protein and Retrotransposons Might Play Role in NaCl Stress Tolerance in Pigeon Pea (*Cajanus cajan*) Cultivar. *World Journal of Science and Technology*. 1 (2): 17-25.
- Kün, E. (1996). Serin İklim Tahılları. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları. Ders Kitabı. 296. Ankara.
- Langlois, P. A., Snelling, J., Hamilton, J. P., Bragard, C., Koebnik, R., Verdier, V. et al. (2017). Characterization of the *Xanthomonas translucens* complex using draft genomes, comparative genomics, phylogenetic analysis and diagnostic LAMP assays. *Phytopathology*. 107: 519-527.
- Lawlor, D.W. and Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*. 25: 275-294.
- Le, T. N., Schumann, U., Smith, N. A. Tiwari, S. Au, P. C. K., Zhu, Q. H. Taylor, J. M. Kazan, K., Llewellyn, D. J., Zhang, R. (2014). DNA demethylases target promoter transposable elements to positively regulate stress responsive genes in *Arabidopsis*. *Genome Biol*. 15, 458.
- Leigh, F., Kalendar, R., Lea, V., Lee, D., Donini, P., and Schulman, A. H. (2003). Comparison of the utility of barley retrotransposon families for genetic analysis by molecular marker techniques. *Molecular Genetics and Genomics*. 269 (4): 464-474.
- Lelliott, R. A., and Stead, D. E. (1987). *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants* Blackwell Scientific Publications.
- Lerat, E. (2009). Identifying repeats and transposable elements in sequenced genomes: How to find your way through the dense forest of programs. *Heredity*. 104: 520-523.
- Linn, S. and Arber, W. (1968). Host Specificity of DNA Produced by *Escherichia coli*, X. In Vitro Restriction of Phage fd Replicative form. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the USA*. 59: 1300-1306 from <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.59.4.1300>.
- Lisch, D. (2013). How Important Are Transposons For Plant Evolution? *Nature Reviews Genetics*. 14: 49-61.
- Maes, M., Garbeva, P. and Kamoen, O. (1996). Recognition and detection in seed of the *Xanthomonas* pathogens that cause cereal leaf streak using rDNA spacer sequences and polymerase chain reaction. *Phytopathology*. 86: 63-69.
- Mahajan, S. and Tuteja N. (2005). Cold, salinity and drought stress: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 444: 139-158.
- Mansour, A. (2007). Epigenetic activation of genomic retrotransposons, *Journal of Cell and Molecular Biology*. 6 (2): 99-107.
- Mao, H. et al. (2015). A transposable element in a *NAC* gene is associated with drought tolerance in maize seedlings. *Nat. Commun.* 6: 8326 doi: 10.1038/ncomms9326.
- Maraklı, S. (2018). Transferability of Barley Retrotransposons (Sukkula and Nikita) to Investigate Genetic Structure of *Pimpinella anisum* L. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*. 30 (3): 299-304.
- Marco, A. and Marin, I. (2005), Retrovirus-like elements in plants. *Recent Research Development Plant Sciences*. 3: 15-24.
- Martinez, M. V., Whitaker, J. R. (1995). The Biochemistry and Control of Enzymatic Browning. *Trends in Food Science and Technology June*. vol: 6. 195-200.
- Mayer, A. M. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry*. 67, 2318-2331.
- McCulloch, L. (1920). Basal glume rot of wheat. *J. Agric. Res.* 18: 543-549.
- McClintock, B. (1950). The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 36 (6): 344-355.
- McKevith, B. (2004). Nutritional aspects of cereals. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*. 29: 111-142.
- McMullen, M. and Adhikari, T. (2011). Bacterial leaf streak and black chaff of wheat. Plant Disease Management. Fargo, ND, USA: North Dakota State University Extension Publication. PP1566.
- Mehta, Y. R. (1986). "La survie de *Xanthomonas campestris* pv. *undulosa* en conditions naturelles" in: *Reunion Nacional de Pesquisa em Trigo*. (s. 55). Londrina: Brazil.
- Mellano, V. J. and Cooksey, D. A. (1988). Development of host range mutants of *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*. *Applied and Environmental Microbiology*. 54: 884-889.
- Milus, E. A. and Mirlohi, A. F. (1994). Use of disease reactions to identify resistance in wheat to bacterial streak. *Plant Disease*. 78: 157-161.
- Milus, E. A. and Chalkley, D. B. (1994). Virulence of *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* on selected wheat cultivars. *Plant Disease*. 78: 612-615.

- Milus, E. A. and Mirlohi, A. F. (1995). Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* between successive wheat crops in Arkansas. *Plant Disease*. 79: 263-265.
- Milus, E. A., Duveiller, E., Kirkpatrick, T. L. and Chalkey, D. B. (1996). Relationships between disease reactions under controlled conditions and severity of wheat bacterial streak in the field. *Plant Disease*. 80: 726-730.
- Miskelly, D. M. (1996). "The use of alkali for noodle processing". Kruger, J. E. et al. (eds.). in: *Pasta and noodle technology*. American Association of Cereal Chemists. Inc. St. Paul. (s. 227-272).
- Morris, C. F., Jeffers, H. C., Engle, D.A. (2000). Effect of processing, formula and measurement variables on alkaline noodle color-toward an optimized laboratory system. *Cereal Chem*. 77: 77-85.
- Muchuweti, M., Mupure, C. H., Ndhala, A. R., Kasiyamhuru, A. (2006). Characterization of Polyphenoloxidase from Uapaca kirkiana Fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86: 328-332.
- Murray, N. E. (2000). Type I restriction systems: sophisticated molecular machines (a legacy of Bertani and Weigle). *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64: 412-434.
- Özberk, İ., Atay, S., Altay, F., Cabi, E., Özkan, H., Atlı, A. (2016). Türkiye'nin Buğday Atlası. WWF-Türkiye. ISBN: 978-605-9903-07-3. İstanbul.
- Özcel, M. A. (2009). "Moleküler parazitoloji". Özcel M. A, Tanyüksel, M, Eren, H. (haz.). *Restriksiyon Endonükleazlar. Türkiye Parazitoloji Derneği*. no: 22. (s. 376-367). Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri. İzmir.
- Pagnotta, M.A., Mondini, L. and Porceddu, E. (2009). Quantification and organization of WIS2-1A and BARE-1 retrotransposons in different genomes of Triticum and Aegilops Species., *Molecular Genetics and Genomics*. 282: 245-255.
- Park, W. J., Shelton, D.R., Peterson, C. J., Martin, T. J., Kachman, S.D., Wehling, R. L. (1997). Variation in polyphenol oxidase activity and quality characteristics among hard white wheat and hard red winter wheat samples. *Cereal Chem* 74: 7-11.
- Paul, V. H. and Smith, I. M. (1989). Bacterial pathogens of gramineae: Systematic review and assessment of quarantine status for the EPPO region. *EPPO Bulletin*. 19: 33-42.
- Peng, Z., Hu, Y., Xie, Z., Potnis, N., Akhunova, A., Jones, J. et al. (2016). Long read and single molecule DNA sequencing simplifies genome assembly and TAL effector gene analysis of *Xanthomonas translucens*. *BMC Genomics*. 17: 21.
- Pesce, C., Jacobs, J. M., Berthelot, E., Perret, M., Vancheva, T., Bragard, C. et al. (2017). Comparative genomics identifies a novel conserved protein, HpaT, in proteobacterial type III secretion systems that do not possess the putative translocon protein HrpF. *Frontiers in Microbiology*. 8: 1177.
- Pesce, C., Jacobs, J. M., Berthelot, E., Perret, M., Vancheva, T., Bragard, C. et al. (2017). Comparative genomics identifies a novel conserved protein, HpaT, in proteobacterial type III secretion systems that do not possess the putative translocon protein HrpF. *Frontiers in Microbiology*. 8: 1177.

- Poczai, P., Varga, I., Laos, M., Cseh, A., Bell, N., Valkonen, J. P. T. and Hyvönen, J. (2013). Advances in plant gene-targeted and functional markers. *A review. Plant Methods*. 9: 6.
- Poulter, R. T., Goodwin, T. J. (2005). DIRS-1 and the other tyrosine recombinase retrotransposons. *Cytogenetic and Genome Research*. 110: 575-588.
- Queiroz, C., Mendes, L., Maria, L., Fialho, Eliane, Valente-Mesquita, V. L. (2008). Polyphenol Oxidase: Characteristics and Mechanisms of Browning Control. *Food Reviews International*. 24: 4, 361-375.
- Rademaker, J. L. W., Norman, D. J., Forster, R. L., Louws, F. J., Schultz, M. H. and De Bruijn, F. J. (2006). Classification and identification of *Xanthomonas translucens* isolates, including those pathogenic to ornamental asparagus. *Phytopathology*. 96: 876-884.
- Rashid, A., Sajahan, M., Inam-Ul-Haq, M., Shahid, M., Ehetisham-ul-Haq, M., Waris, I. H. et al. (2013). Distribution of black chaff disease of wheat caused by *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* in different ecological zones of Pakistan and its management through plant extracts and bio-products. *European Journal of Experimental Biology*. 3: 261-266.
- Sands, D. S., Mizrak, G., Hall, V. N., Kim, H. K., Bockelman, H. E., Golden, M. J. (1986). Seedtransmitted bacterial diseases of cereals: epidemiology and control. *Arab Journal of Plant Protection*. 4: 127-125.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, Y. (1989). Sequencing by the Maxam–Gilbert Method: *A Laboratory Manual*.
- Sambrook, J. and Russell, D. W. (2001). Gel electrophoresis of DNA and pulsed-field agarose gel electrophoresis. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 1 (3).
- Sapkota, S., Zhang, Q., Chittam, K., Mergoum, M., Xu, S. S. and Liu, Z. (2018). Evaluation of triticale accessions for resistance to wheat bacterial leaf streak caused by *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*. *Plant Pathology*. 67: 595-602.
- Saygılı, H. (1995). Fitobakteriyoloji. Ege Üni. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Ders Kitabı. Doğruluk Matbaası. Bornova: İzmir.
- Schaad, N.W. et al., Stall, R. E. (1988). “Xanthomonas 81-84”. in: Laboratory guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteri. 2nd Ed. American Phytopathological Society. (s. 138).
- Schoenbein, C. F. (1856). On ozone and oronic actions in mushrooms. *Phil. Mag*. 11. (s. 137-141).
- Schulman, A. H., Flavell, A. J., Ellis, T. H. N. (2004). *Methods Mol. Biol.* 260: 145-173.
- Seidl, M. F., Thomma, B. P. (2017). Transposable elements direct the coevolution between plants and microbes. *Trends Genet.* 33, 842-851.
- Sezer, İ., Kurt, O. ve Köycü, C. (1997). “Samsun Koşullarında Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarının Uyum Yetenekleri Üzerinde Bir Araştırma”. *Türkiye II. Tarla Bitkileri Kongresi Kitabı*. 22-25 Eylül. (s. 517). Samsun.

- Sıgmaz, B. (2014). *Tuzluluk Stresinin Buğdayda (Triticum aestivum L.) Meydana Getirmiş Olduğu Retrotranspozon Polimorfizmi Üzerine Putresinin Etkisinin 94 Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum.
- Shane, W. W., Baumer, J. S. and Teng, P. S. (1987). Crop losses caused by *Xanthomonas* streak on spring wheat and barley. *Plant Disease*. 71: 927-930.
- Smith, E. F., Jones, L. R. and Reddy, C. S. (1919). The black chaff of wheat. *Science*. 50:48.
- Smith, H. O. and Kelly T. J. (1970). A restriction enzyme from *Hemophilus influenzae*: II. Base sequence of the recognition site. *Journal of Molecular Biology*. vol: 51 (2). (s. 393-409).
- Sommer, A., Ne'eman, E., Steffens, J. C., Mayer, A. M. (1994). Harel, E., Import, targeting and processing of a plant polyphenol oxidase. *Plant Physiology*. 105: 1301-1311.
- Staton, S. E., Ungerer, M. C., Moore, R. C. (2009). The genomic organization of Ty3/gypsylike retrotransposons in *Helianthus* (Asteraceae) homoploid hybrid species. *Am. J. Bot.* 96: 1646-1655.
- Stead, D. E. (1989). Grouping of *Xanthomonas campestris* pathovars of cereals and grasses by cellular fatty acid profiling. *EPPO Bulletin*. 19: 51-68.
- Stromberg, K. D., Kinkel, L. L. and Leonard, K. J. (2000). Interactions between *Xanthomonas translucens* pv. *translucens*, the causal agent of bacterial leaf streak of wheat, and bacterial epiphytes in the wheat phyllosphere. *Biological Control*. 17: 61-72.
- Suraj, S. and Mohamed, M. (2019). Zhaohui Liu The translucens group of *Xanthomonas translucens*: Complicated and important pathogens causing bacterial leaf streak on cereals.
- Süzer, S. (1994). Buğday Tarımında Gübrelemenin Önemi İle Bitki Besin Maddelerinin Noksanlıklarının Belirtileri. *Marmara'da Tarım*. sayı: 59: 42-44.
- Szabo, M., Kiss, J., Olasz, F. (2010). Functional organization of the inverted repeats of IS30. *Journal of Bacteriology*. 192: 3414-3423.
- Tanno, K., Willcox, G. (2006). How Fast Was Wild Wheat Domesticated? Erişim tarihi:28.07.2017. [www.sciencemag.org/cgi/content/full/311/5769/1886/DC1](http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/311/5769/1886/DC1).
- Taş, C. (2009). *Domat Zeytini Polifenol Oksidaz Enziminin Biyokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Gıda Mühendisliği A.B.D., Adana.
- Thompson, D. C., Schaad, N. W. and Forster, R. L. (1989). New perennial hosts of epiphytic populations of *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*. *Phytopathology*. 79: 1168.
- Thornburg, B.G., Gotea, V., Makalowski, W. (2005). Transposable elements as a significant source of transcription regulating signals. *Gene*. 365: 104–110.
- Tillman, B. L., Harrison, S. A., Clark, C. A., Milus, E. A. and Russin, J. S. (1996). Evaluation of bread wheat germplasm for resistance to bacterial streak. *Crop Science*. 36: 1063-1068.

- Timmer, L. W., Marois, J. J. and Achor, D. (1987). Growth and survival of *Xanthomonas* under conditions nonconductive to disease development. *Phytopathology*. 77: 1341-1345.
- Tosun, O. (1980). Tarla Ziraatı, Ders Notu. *A.U Zir. Fak.* Teksir No: 44.
- Tsilosani, G. A., Palavandishvili, I. V., Kopaleishvili, A. and Tukhareli, A. (1977). Seeds as the source of bacterial disease of wheat caused by *Xanthomonas translucens*. *Trudy Instituta Zashchity Rastenii Grus. USSR*. 21: 127-130.
- Tubajika, K. M., Tillman, B. L., Russin, J. S., Clark, C. A. and Harrison, S. A. (1998). Relationship between flag leaf symptoms caused by *Xanthomonas translucens* pv. *translucens* and subsequent seed transmission in wheat. *Plant Disease*. 82: 1341-1344.
- Tubajika, K. M., Russin, J. S. and Harrison, S. A. (1999). Analysis of bacterial leaf streak epidemics on winter wheat in Louisiana. *Plant Disease*. 83: 541-548.
- Van den Mooter, M., Steenackers, M., Maertens, C., Gossele, F., De Vos, P., Swings, J. et al. (1987). Differentiation between *Xanthomonas campestris* pv. *graminis* ISPP L 1980, pv. *phleipratensis* ISPP List 1980 emend., pv. *poae* Egli and Schmidt 1982, and pv. *arrhenatheris* Egli and Schmidt 1982, by numerical analysis of phenotypic features and protein gel electrophoresis. *Journal of Phytopathology*. 118: 135-156.
- Van Gelder, C. W. G., Flurkey, W. H., Wichers, H. J. (1997). Sequence and structural features of plant and fungal tyrosinases. *Phytochemistry* 45: 1309-1323.
- Vauterin, L., Yang, P., Hoste, B., Pot, B., Swings, J. and Kersters, K. (1992). Taxonomy of xanthomonads from cereals and grasses based on SDS-PAGE of proteins, fatty acid analysis and DNA hybridization. *Journal of General Microbiology*. 138: 1467-1477.
- Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K. and Swings, J. (1995). Reclassification of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45: 472-489.
- Van Der Biezen, E. A., Jones, J. D. (1998). Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. *Trends Biochem. Sci.* 23, 454-456.
- Van der Hoorn, R. A., Kamoun, S. (2008). From guard to decoy: A new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell*. 20: 2009-2017.
- Yağcı, A. (2001). "Uygulamalı moleküler Biyoloji" Durmaz, R. (eds.). in: *Restriction fragment length polymorphism ve polimeraz zincir reaksiyon bazı tiplere yöntemleri*. (s. 121-109). Ankara. Nobel Tıp Kitabevi.
- Yemenicioğlu, A., Özkan, M. ve Cemeroğlu, B. (1997). Inactivation Kinetics of Apple Polyphenoloxidase and Activation of its Latent Form. *Journal of Food Science*. vol: 62 (3), 508-510.
- Yemenicioğlu, A., Cemeroğlu, B. (1998). Hale Haven Seftalilerinde Polifenol Oksidaz Enzimlerinin Bazı Nitelikleri. *Tr. Journal of Agriculture and Forestry*. 22: 261-265.

- Young, J. M., Park, D. C., Shearman, H. M. and Fargier, E. (2008). A multilocus sequence analysis of the genus *Xanthomonas*. *Systematic and Applied Microbiology*. 5: 366-377.
- Yuzbasioglu, G., Yilmaz, S., Marakli, S. ve Gozukirmizi, N. (2016). Analysis of Hopi/Osr27 and Houba/Tos5/Osr13 retrotransposons in rice. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 30 (2): 213-218.
- Waldron, L. R. (1929). The relationship of black chaff disease of wheat to certain physical and pathological characters. *Science*. 70: 268.
- Wallin, J. R. (1946). Parasitism of *Xanthomonas translucens* (J.J. and R.) Dowson on grasses and cereals. *Iowa State College Journal of Science*. 20: 171-193.
- Waney, V. R., Kingsley, M. T. and Gabriel, D. W. (1991). *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* genes determining host-specific virulence and general virulence on cereals identified by Tn5-*gusA* insertion mutagenesis. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 4: 623-627.
- Wang, W. X., Vinnocur, B., Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures, towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*. 218: 1-14.
- Wang, X. B., C. X. Ma, H. Q. Si, Y. Q. Qiao, C. Chang, X.F. He, Y. X. Xia, (2009). Gene markers for grain polyphenol oxidase activity in common wheat. *Mol Breeding*. 23: 163-170.
- Wen, A., Jayawardana, M., Fiedler, J., Sapkota, S., Shi, G., Peng, Z. et al. (2018). Genetic mapping of a major gene in triticale conferring resistance to bacterial leaf streak. *Theoretical and Applied Genetics*. 131: 649-658.
- Wessler, S. R. (2009). The Implicit Genome [online], Eukaryotic Transposable Elements: Teaching Old Genomes New Tricks.
- Whitaker, J. R., Lee, C. Y. (1995). Recent advances in enzymatic browning. C. Y. Lee and J.R. Whitaker, (eds.). in: *Enzymatic Browning and Its Prevention. American Chemical Society Symposium Series 600, American Chemical Society*. (s. 2-7). Washington: DC.
- Wicker, T., Sabot, F., Hua-Van, A., Bennetzen, J. L., Capy, P., Chalhoub, B. and Paux, E. (2007). A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nature Reviews Genetics*. 8 (12): 973-982.
- Wichmann, F., Vorholter, F. J., Hersemann, L., Widmer, F., Blom, J., Niehaus, K. et al. (2013). The noncanonical type III secretion system of *Xanthomonas translucens* pv. *graminis* is essential for forage grass infection. *Molecular Plant Pathology*. 14: 576-588.
- Wiese, M. V., 1987. Compendium of wheat diseases. *Publisher The American Phytopathological Societ*. St. Paul: MN.
- Zgurskaya, H. I., Evtushenko, L. I., Akimov, V. N. and Kalakovskii, L. V. (1993). *Rathayibacter* gen. nov., including the species *Rathayibacter rathayi* comb. nov., *Rathayibacter tritici* comb. nov., *Rathayibacter iranicus* comb. nov., and six strains from annual grasses. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 43: 143-149.

Zwet, T. (1986). Identification, symptomatology, and epidemiology of fire blight on Le Conte pear in the Nile Delta of Egypt. *Plant disease*. 70 (3): 230-234.

## ÖZ GEÇMİŞ

Hatice Demir, Kırşehir Sıddık Demir Anadolu Lisesi'ni bitirdikten sonra Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden 2019 yılında mezun oldu. 2021 yılında OMÜ LEE tezli Yüksek Lisans programını bitirdi. (02.08.2021)

### **İletişim Bilgileri**

ORCID ID: *0000-0003-0084-15*

