

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hacı Fatih ATEŞ

**TURUNÇGİL BAHÇELERİNDE *Spiroplasma citri* Saglio et al.
ENFEKSİYONUNA ARA EKİM - *Neoliturus* (Circulifer)
haematoceps (Mulsant & Rey) (HEMIPTERA: CICADELLIDAE)
İLİŞKİSİNİN ETKİSİ**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2021

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TURUNÇGİL BAHÇELERİNDE *Spiroplasma citri*. Saglio et al.
ENFEKSİYONUNA ARA EKİM-*Neoliturus (Circulifer) haematoceps*
(Mulsant & Rey) (HEMIPTERA: CICADELLIDAE) İLİŞKİSİNİN ETKİSİ**

Hacı Fatih ATEŞ

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Serdar SATAR
Yıl: 2021, Sayfa 75
Jüri : Prof. Dr. Serdar SATAR
: Prof. Dr. Hüseyin BAŞPINAR
: Doç. Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR

Bu tez çalışmasında göbekli portakallarda problem olan *Spiroplasma citri* Saglio et al.'nin *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* (Mulsant et Rey) (Hemiptera: Cicadellidae)'e bağlı olarak yayılımı araştırılmıştır. Çalışmaların bir bölümünü oluşturan ara ekim ile *N. haematoceps* popülasyon takibi için 2018-2020 yılları arasında, Adana ili Kozan ilçesinde 3 farklı bölgede 1-3 yaş aralığında Washington navel çeşidi portakal bahçeleri seçilmiştir. Bu bahçelere de sıra aralarına *N. haematoceps*'in konukçusu olduğu bilinen kışlık sebzelerden turp ve ıspanak ekilmiş ve bunlar üzerinde *N. haematoceps*'in popülasyon dalgalanması takip edilmiştir. Bölgede kış aylarında farklı yabancı ot mücadele yöntemlerinin yapıldığı veya ara ekimin yapıldığı bahçelerde *S. citri* enfeksiyon oranları karşılaştırılmıştır. Bunun yanında *S. citri*'nin konukçusu olabilecek bazı yabancı otlar testlenmiş ve farklı aylarda toplanmış *N. haematoceps* bireylerinde *S. citri* bulaşıklığına PCR yöntemi kullanılarak P89-f/r ve Php-orf1-f/r primer çiftleri ile bakılmıştır. Zararlı popülasyonu 2018 yılının Aralık ayında bir aktivite gösterirken 2019 yılının Ocak-Şubat-Mart aylarında bir aktivite göstermemiş, Nisan ayından başlayarak ürünün sürüldüğü Mayıs ayına kadar aktivitesine devam etmiştir. Benzer dalgalanma 2020 yılında da gözlenmiştir. Farklı kültürel işlemlerin yapıldığı bulaşık bahçelere bakıldığında ise en yüksek enfeksiyon oranına sonbahar ve kış döneminde yabancı ot mücadelesi yapılmayan bahçelerde rastlanırken en düşük *S. citri* enfeksiyon oranına ise yabancı ot mücadelesinin iyi yapıldığı bahçelerde gözlemlenmiştir. *Spiroplasma citri* ile bulaşık olduğundan şüphelenilen yabancı otların PCR yöntemi ile testlenmeleri sonucu; *Convolvulus arvensis*, *Taraxacum officinale*, *Sorghum halepense*, *Cynodon dactylon*, *Conyza canadensis*, *Amaranthus viridis*, *Chenopodium album*, *Paspalum dilatatum*, *Euphorbia heterophylla*, *Solanum nigrum*, *Mercurialis annua*, *Fumaria officinalis* türleri pozitif sonuç vermiştir. *Spiroplasma citri* ile bulaşıklık durumu araştırılmak için yakalanan *N. haematoceps* bireylerinin ve semptom gösteren meyvelerin de PCR yöntemi ile testlenmeleri sonucu ve pozitif sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Neoliturus (Circulifer) haematoceps*, PCR, Sarı yapışkan tuzak, *Spiroplasma citri*.

ABSTRACT

MSC. THESIS

EFFECT OF RELATIONSHIP OF INTERPLANTED WEEDS-*Neoliturus* (*Circulifer*) *haematoceps* (Mulsant & Rey) (HEMIPTERA: CICADELLIDAE) TO *Spiroplasma citri*. Saglio et al. INFECTION IN CITRUS ORCHARDS

Hacı Fatih ATEŞ

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor : Prof. Dr. Serdar SATAR
Year: 2020, Page: 75
Jury : Prof. Dr. Serdar SATAR
: Prof. Dr. Hüseyin BAŞPINAR
: Assoc Prof. Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR

In this study, the spread of *Spiroplasma citri* Saglio et al., Which is a problem in navel oranges, was investigated due to *Neoliturus* (*Circulifer*) *haematoceps* (Mulsant et Rey) (Hemiptera: Cicadellidae). For the *N. haematoceps* population follow-up, which is part of the studies, between 2018 and 2020, Washington navel orange orchards were selected in 3 different regions in the Kozan district of Adana province, between 1-3 years of age. In these orchards, radish and spinach, which are known to be the hosts of *N. haematoceps*, were planted between the rows the population fluctuation of *N. haematoceps* was followed on them. The infection rates of *S. citri* were compared in the orchards in the region where different weed control methods were used during the winter months or where intermediate planting was made. In addition, some weeds that may be the hosts of *S. citri* were tested and *S. citri* infestation in *N. haematoceps* individuals collected in different months was examined using the PCR method with primer pairs P89-f/r and Php-orf1-f/r. While the pest population showed an activity in December 2018, it did not show any activity in January-February-March 2019, and continued its activity from April until May, when the product was applied. Similar fluctuation was observed in 2020. When we look at this orchards where different cultural processes are carried out, the highest infection rate was observed in the orchards where the weed control measurement were not taken in autumn and winter season, while the lowest *S. citri* infection rate was observed in the orchards where the weed control was done well. As a result of the PCR testing of weeds suspected of being contaminated with *S. citri*; *Convolvulus arvensis*, *Taraxacum officinale*, *Sorghum halepense*, *Cynodon dactylon*, *Conyza canadensis*, *Amaranthus viridis* *Chenopodium album*, *Paspalum dilatatum*, *Euphorbia heterophylla*, *Solanum nigrum*, *Mercurialis annua*, *Fumaria officinalis* were positive. As a result of PCR testing of *N. haematoceps* individuals caught to investigate the contamination status with *S. citri* and fruits showing symptoms, and positive results were obtained.

Key Words: *Neoliturus* (*Circulifer*) *haematoceps*, PCR, *Spiroplasma citri*, yellow sticky trap.

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Ülkemizde turunçgil üretiminde 1970'li yıllardan sonra ciddi bir artış olmuştur. Özellikle de toprak ve iklim koşullarının elverişli olmasından dolayı Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yaşanan bu gelişme 1990'lı yıllar içerisinde daha da dikkat çekici hale gelmiştir. Ancak ülkemizdeki turunçgil üretim miktarı diğer birçok ülkeden oldukça düşüktür. Bu duruma neden olan sorunların başında özellikle virüs ve virüs benzeri hastalıklar olarak ifade edilen oldukça kapsamlı bir hastalık grubu gelmektedir. Bu hastalıklar arasında bir bakteri *Spiroplasma citri* Saglio et al. (Entomoplasmatales: Spiroplasmataceae) tarafından neden olunan stubborn hastalığı özel bir yere sahiptir. Son yıllarda yeni hastalık etmenlerinin saptanmasının yanı sıra dünyada yüzyıldan fazla bir geçmişe sahip olan Turunçgil Stubborn hastalığının ekolojisi ve epidemiyolojisinde henüz bilinmeyen birçok konu bulunmaktadır.

Bu çalışmada *S. citri* enfeksiyon oranının ara ekim vektör böcek ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmada 3 adet 1-3 yaş arasında olan Washington bahçelerine turp ve ıspanak ekilerek *N. haematoceps* popülasyon takibi yapılmıştır. 2018-2019 ve 2020 yıllarında turp ve ıspanak bitkilerinin yetiştirilme periyodunda (Aralık, Ocak, Şubat, Mart, Nisan ve Mayıs) sarı yapışkan tuzaklarda *N. haematoceps* sayımları yapılmıştır. Sayım sonucunda hem 2018-2019 üretim döneminde ve hem de 2019-2020 üretim döneminde aralık ayında *N. haematoceps* tuzaklarda gözlenirken ocak ayından itibaren hava sıcaklığının düşmesiyle birlikte nisan ayına kadar vektör uçuşuna rastlanmamıştır. Nisan ayından itibaren tuzaklarda tekrar gözlenmeye başlayan *N. haematoceps* erginleri hasat sonuna kadar (mayıs) popülasyonları artarak devam etmiştir. Sayımı yapılan *N. haematoceps*'lerin bir kısmının PCR'ları yapılmıştır. Deneme yapılan alandan ayrı olarak turp, ıspanak yetiştirilen alanlar ve yabancı ot bulunan turunçgil bahçe kenarlarından atrap ile *N. haematoceps*'ler toplanıp PCR yöntemi ile testlenmiştir. Testlenen böceklerde hemen her dönemde yakalanan bireylerde *S. citri* ile bulaşıklık tespit edilmiştir. Çalışmada 5-6 yaş civarlarında olan Washington bahçeleri tespit edilip bu bahçelerin; (I) 2 tanesinde

daha önceki yıllarda ara ürün ekilmiş, (II) 2 tanesinde yabancı ot mücadelesi iyi yapılmamış, (III) 2 tanesinde bahçe bakımı gayet iyi ara ekim de yapılmamış ama bitişik parseli tarla olup orada Brassicaceae familyasına ait bitkiler yetiştirilmiş ve (IV) 2 tanesinde ise yabancı ot kontrolü iyi yapılmış, ara ekim yapılmamış ve etrafında da Brassicaceae familyasına ait bitkiler yetiştirilmeyen bahçeler seçilmiştir. Bu bahçelerin *S. citri* yoğunluğunu ve dağılımını gösteren tablolar oluşturulmuştur. I. ve II. tip bahçelerde enfeksiyon oranının yüksek olduğu belirlenmiştir. III. tip bahçelerde ise enfeksiyon yoğunluğu özellikle Brassicaceae familyasına ait bitkilerin yetiştirildiği taraftan kaynaklı olabileceği tespit edilmiştir. IV. tip bahçelerde ise bulaşıklık oranının çok az oranda olduğu gözlenmiştir. Çalışmada 8 farklı Washington Navel çeşidi portakal bahçesinden meyve ve yaprak örnekleri alınıp PCR yöntemi ile testlemeleri yapılmıştır. Bu PCR sonuçlarında özellikle meyvelerde yüksek oranda *S. citri* varlığı belirlenmiştir. Bunların yanında *N. haematoceps*'lerin konukçuluk yapabileceğinden şüphelenilen yabancı otlardan örnekler alınarak PCR'ları yapılmıştır. 32 adet bitki türünden 12 tanesinde *S. citri* varlığına rastlanmıştır. Bu bitkiler; *Convolvulus arvensis*, *Taraxacum officinale*, *Sorghum halepense*, *Cynodon dactylon*, *Conyza canadensis*, *Amaranthus viridis*, *Chenopodium album*, *Paspalum dilatatum*, *Euphorbia heterophylla*, *Solanum nigrum*, *Mercurialis annua*, *Fumaria officinalis* olarak belirlenmiştir. Çalışmada *N. haematoceps*'in konukçusu olan Brassicaceae familyasından ürünler bahçe içerisinde yetiştirilmemesi ve bahçenin yabancı otlarla mücadelenin iyi yapılması gerekmektedir. Yabancı otlardan bir kısmı vektör böceğe konukçuluk yapmasından dolayı hastalığın yayılmasında önemli bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Washington bahçeleri kenar parsellerinde-yetiştirilen Brassicaceae familyasından bitkilerde *N. haematoceps*'e konukçuluk yaptığından bahçelerin bu ürünlerin yetiştirildiği kısımlara yakın yerlerinde *S. citri* enfeksiyon oranının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Washington bahçelerinin yakın etrafında Brassicaceae familyası bitkilerin yetiştiriciliğinin yapılması hastalığa yakalanma riskini arttırmaktadır.

TEŞEKKÜR

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde Lisans döneminde iken de danışman hocam olan ve o zamandan beridir her konuda bilgi ve tecrübelerini aktaran yüksek lisans tez çalışmamda yönlendirici fikirleri ile yol göstererek çalışmanın bitmesinde büyük emeği olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Serdar SATAR'a sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca Tez jüri üyemde bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. Hüseyin BAŞPINAR ve Doç. Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımın yürütülmesinde özellikle laboratuvar çalışmalarında her türlü desteği veren her zaman yanımda olup emeğini esirgemeyen Doç. Dr. Gül SATAR, Arş. Gör. Çağlar KALKAN ve Meryem LAFÇI'ya çok teşekkür ederim.

Yabancı otların bazılarının teşhisinde yardımcı olan Prof. Dr. Sibel Uygur ve Arş. Gör. Selin TÜNK'e teşekkür ederim.

PCR ürünlerinin görüntülenmesinde görüntüleme cihazını kullanmamızı sağlayan Prof. Dr. Kamil KARUT ve Arş. Gör. Mete KARACA'ya teşekkür ederim.

Bahçelerinde deneme kurmama müsaade eden Ali ARSLAN, Cengiz SELEKOĞLU ve Akın KAYHAN'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımın yürütülmesinde her zaman yanımda olan beni destekleyen değerli eşim Ayşe ÖZCAN ATEŞ ve değerli zamanlarından aldığım kıymetli çocuklarım Elif Naz ATEŞ ve Selim Han ATEŞ'e teşekkür ederim.

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimine de projemize (Proje No: FYL-2019-11695) yaptıkları maddi destekten dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. Arazi Çalışmaları.....	17
3.1.1. Ara Ekim Yapılan Genç Turunçgil Bahçelerindeki <i>Neoliturus</i> (<i>Circulifer</i>) <i>haematoceps</i> Popülasyon Dalgalanması ve <i>Spiroplasma citri</i> Enfekte Durumunun Belirlenmesi	17
3.1.2. Farklı Oranlarda <i>Spiroplasma citri</i> Enfeksiyonuna Yabancı Ot Varlığı, Bahçe İçi ve Dışı Kışlık Kültür Bitkisi Ekiminin Etkisi	21
3.1.3. <i>Spiroplasma citri</i> 'nin Kışlık Yabancı Ot Konukçularının Belirlenmesi	26
3.2. Laboratuvar Çalışmaları.....	28
3.2.1. CTAB Yöntemi İle DNA Ekstraksiyonu	28
3.2.2. Böcekten Total Nükleik Asit (DNA) Ekstraksiyonu Çalışmaları	29
3.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Kullanılan Primerler.....	32
3.2.4. Kimyasalların Konsantrasyonlarının Ayarlanması.....	33
3.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) İle Hedef Bölgelerin Çoğaltılması	34
3.2.6. Agaroz Jel Elektroforez Çalışmaları	37

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	39
4.1. Ara Ekim Yapılan Genç Turunçgil Bahçelerindeki <i>Neoliturus</i> (<i>Circulifer</i>) <i>haematoceps</i> Popülasyon Dalgalanması ve <i>Spiroplasma</i> <i>citri</i> Enfekte Durumu	39
4.2. Farklı Oranlarda <i>Spiroplasma citri</i> Enfeksiyonuna Yabancı Ot Varlığı, Bahçe İçi ve Dışı Kışlık Kültür Bitkisi Ekiminin Etkisi	48
4.2.1. Turunçgil Bahçelerindeki Kışlık Ara Ekimin <i>Spiroplasma citri</i> Bulaşıklık Oranına Etkisi	50
4.2.2. Turunçgil Bahçelerinde Kışlık Yabancı Ot Mücadelesinin Yeterli Yapılmamasının <i>Spiroplasma citri</i> Bulaşık Duruma Etkisi	52
4.3.3. Turunçgil Bahçeleri Etrafında Yetiştirilen Brassicaceae Familyası Bitkilerinin <i>Spiroplasma citri</i> Bulaşıklık Oranına Etkisi	54
4.2.4 Turunçgil Bahçelerindeki İyi Yabancı Ot Mücadelesinin Yapılması ve Ara Ekimin Yapılmamasının <i>Spiroplasma citri</i> Bulaşıklık Oranına Etkisi	55
4.3. <i>Spiroplasma citri</i> 'nin Kışlık Yabancı Ot Konukçularının Belirlenmesi	57
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1.	PCR çalışmalarında kullanılan primerler.....	33
Çizelge 3.2.	P89 primer çifti için kullanılan Thermocycle programı.....	35
Çizelge 3.3.	Php-orf1 primer çifti için kullanılan Thermocycle programı.....	35
Çizelge 4.1.	2019, 2020, 2021 yıllarında farklı aylarda toplanan <i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> erginlerinde PCR sonucunda tespit edilen bulaşıklık oranı	47
Çizelge 4.2.	Farklı zamanlarda toplanan yabancı otların PCR sonucunda tespit edilen <i>Spiroplasma citri</i> ile bulaşıklık durumu	64



Şekil 3.1.	Adana ili Kozan ilçesinde sarı yapışkan tuzaklarla <i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> popülasyon takibinin yapıldığı deneme bahçelerinin uydudan lokasyon görüntüleri (Goog Map).	18
Şekil 3.2.	Deneme parselleri A) Diskaro ile arazinin ekime hazırlanması; B,C,D) sarı yapışkan tuzakların araziye yerleştirilmesi ve değiştirilmesi; E-F) son sayım dönemindeki turp ve ıspanak parselleri	19
Şekil 3.3.	A) Tuzaklarda yakalanan <i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> bireylerinin laboratuvara getirilmesi, B, C, D) <i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> bireylerinin stereo binoküler mikroskop ile seçilmesi	20
Şekil 3.4.	Yabancı ot Mücadelesi iyi yapılan bahçe.	22
Şekil 3.5.	Yabancı ot mücadelesi düzgün yapılmayan bahçeler.	22
Şekil 3.6.	Bitişigindeki tarlalarda önceki yıllarda Brassicaceae familyasına ait bitkiler ekilmiş bir bahçeden görünüm	23
Şekil 3.7.	Ara tarım bitkisi olarak turp ekilen genç turunçgil bahçesinden bir görünüm	24
Şekil 3.8.	A, B) Enfekteli ağacın gelişiminin zayıf kalması ve yapraklarda renk açılması, C-D) ağaç üzerinde farklı dönemlerin olması, E) Meyvede göbek kayması	25
Şekil 3.9.	Enfekteli olabileceğinden şüphelenilen yabancı otların toplanması.....	27
Şekil 3.10.	Yabancı ot örneklerinin küçük parçacıklara bölünerek PCR'ları yapılmak üzere polietilen torbalara aktarılması.....	28
Şekil 3.11.	A) DNA'ları çıkarılacak olan örneklerin tartılması, B) Örneklerin Tissue Lyser cihazında ezilmesi.....	31

Şekil 3.12. A) DNA ekstraksiyonu sırasında farklı aşamalarda kullanılan santrifüj cihazı, B) CTAB yöntemi ile DNA ekstrakte ederken Chloroform-isoamyl'den sonra üst fazı ayırma işlemi	31
Şekil 3.13. CTAB yönteminde son basamaktan sonra kurumaya bırakılan tüpler.....	32
Şekil 3.14. DNA'ların PCR işlemine hazırlanması.....	34
Şekil 3.15. PCR işleminin gerçekleştirildiği Thermal Cycle Cihazı.	35
Şekil 3.16. PCR' ları yapılmış DNA'lar.....	36
Şekil 3.17. Elektroforez aletine PCR ürünlerinin yüklenmesi.....	38
Şekil 3.18. Jelde koşturulan PCR ürünlerinin görüntülediği cihaz.....	38
Şekil 4.1. Adana ili Kozan ilçesi Yassıçalı köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında turp parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan <i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> birey sayılarındaki dalgalanma	39
Şekil 4.2. Adana ili Kozan ilçesi Yassıçalı köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında ıspanak parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan <i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> birey sayılarındaki dalgalanma	40
Şekil 4.3. Adana ili Kozan ilçesi Eskikabasakal köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında turp parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan <i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> birey sayılarındaki dalgalanma	41
Şekil 4.4. Adana ili Kozan ilçesi Eskikabasakal köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında ıspanak parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan <i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> birey sayılarındaki dalgalanma	42

Şekil 4.5.	Adana ili Kozan ilçesi Bulduklu köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında turp parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan <i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> birey sayılarındaki dalgalanma	43
Şekil 4.6.	Adana ili Kozan ilçesi Bulduklu köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında ıspanak parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan <i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> birey sayılarındaki dalgalanma	44
Şekil 4.7.	Adana ili Kozan ilçesi 2018-2019 yıllarındaki iklim verileri	45
Şekil 4.8.	Adana ili Kozan ilçesi 2019-2020 yıllarındaki iklim verileri	46
Şekil 4.9.	<i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> bireylerinden <i>Spiroplasma citri</i> ile Enfekteli olanların PCR ürünlerinin jel elektroforez işlemi sonucu oluşan görüntüsü.	47
Şekil 4.10.	<i>Neoliturus (Circulifer) haematoceps</i> bireylerinden <i>Spiroplasma citri</i> ile Enfekteli olanların PCR ürünlerinin jel elektroforez işlemi sonucu oluşan görüntüsü.	48
Şekil 4.11.	Kışlık yabancı ot olmayan veya az olan bahçeler (Işıklı, Yassıçalı-1), Ara ekim yapılan bahçeler (Mahmutlu, Yassıçalı-3), bitişğinde Brassicaceae ekilen bahçeler (Çukurören, Yassıçalı-2), kontrol bahçeleri (Kuyluk, Bucak) (Google Map).	49
Şekil 4.12.	Meyvelerden elde edilen DNA'ların PCR ürünlerinin jel elektroforez işlemi sonucu oluşan görüntüsü.	50
Şekil 4.13.	Ara ekim yapılmış iki bahçedeki <i>S. citri</i> ile enfekteli olabileceğinden şüphelenilen ağaçların dağılımı	51
Şekil 4.14.	Yabancı ot mücadelesi iyi yapılmamış iki bahçede <i>S. citri</i> ile enfekteli olduğundan şüphelenilen ağaç dağılımı.	53
Şekil 4.15.	Bitişik parselde Brassicaceae familyasından bitkilerin yetiştirildiği iki bahçede <i>Spiroplasma citri</i> ile enfekteli olabileceği düşünülen ağaçların dağılımı	54

Şekil 4.16. <i>Spiroplasma citri</i> enfeksiyon oranlarının çok düşük olduğu bahçeler	56
Şekil 4.17. <i>Spiroplasma citri</i> varlığından şüphelenilen ve sağlıklı görünen yabancı otlar; A) <i>Amaranthus viridis</i> , B) <i>Conyza canadensis</i> , C) <i>Rubus</i> sp D) <i>Sorghum halepense</i> E) <i>Solanum nigrum</i> , F) <i>Paspalum dilatatum</i> , G) <i>Euphorbia heterophylla</i> , H) <i>Chenopodium album</i>	58
Şekil 4.18. <i>Spiroplasma citri</i> varlığından şüphelenilen ve sağlıklı görünen yabancı otlar; 16) <i>Convolvulus arvensis</i> , 17) <i>Capsella bursa pastoris</i> , 18) <i>Lamium amplexicaule</i> 19) <i>Papaver rhoeas</i> , 20) <i>Malva neglecta</i> , 21) <i>Veronica hederifolia</i>	59
Şekil 4.19. <i>Spiroplasma citri</i> varlığından şüphelenilen ve sağlıklı görünen yabancı otlar; 22) <i>Centaurea calcitrapa</i> , 23) <i>Urtica urens</i> , 24) <i>Mercurialis annua</i> , 25) <i>Sonchus asper</i> , 26) <i>Sinapis arvensis</i> , 27) <i>Papaver rhoeas</i>	60
Şekil 4.20. <i>Spiroplasma citri</i> varlığından şüphelenilen ve sağlıklı görünen yabancı otlar; 28) <i>Fumaria officinalis</i> 29) <i>Sinapis arvensis</i> 30) <i>Spinacia oleracea</i> 31) <i>Raphanus sativus</i> 32) <i>Lactuca sativa</i>	61
Şekil 4.21. <i>Spiroplasma citri</i> varlığından şüphelenilen ve sağlıklı görünen yabancı otlar; 33) <i>Verbascum</i> sp. 34) <i>Anthemis</i> sp. 35) <i>Senecio vernalis</i> 36) <i>Eryngium</i> sp. 37) <i>Carduus pycnocephalus</i>	62
Şekil 4.22. Yabancı otlardan elde edilen DNA'ların PCR ürünlerinin jel elektroforez işlemi sonucu elde edilen görüntüsü	65
Şekil 4.23. Yabancı otlardan elde edilen DNA'ların PCR ürünlerinin jel elektroforez işlemi sonucu elde edilen görüntüsü	65

KISALTMALAR

PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ml	: mililitre
μ l	: mikrolitre
m	: metre
m ²	: metrekare
cm	: santimetre
sp	: tür
spp	: türler
°C	: santigrad derece
RPM	: Revolutions Per Minute (Dakikadaki devir sayısı)
dNTP	: deoksi nükleotid tri fosfat
ddH ₂ O	: duble distile su
Pmol	: picomol
mM	: milimolar



1. GİRİŞ

Spiroplasma citri Saglio et al., (Entomoplasmatales, Spiroplasmatacea)'nin neden olduğu stubborn (yediverenleşme) hastalığı sıcak iklim koşullarına sahip ülkemiz dahil başta Akdeniz ülkeleri olmak üzere birçok turunçgil üreticisi ülkede turunçgil verim ve kalitesini tehdit eden en önemli hastalıklardan biridir (Kersting ve Şengonca, 1992; Çınar ve ark.1993). Turunçgil stubborn hastalığı ilk kez 1915 yılında Kaliforniya'da görülmüş olup, daha sonra da Akdeniz ülkeleri dahil olmak üzere Avrupa, Asya ve Amerika kıtalarındaki pek çok ülkede varlığı ortaya konulmaya başlanmıştır. Hastalığın 1958'li yıllarda özellikle Kaliforniya ve Arizona'da önemli ölçüde yayıldığı görülmüş hastalık ile ilgili çalışmaların artmasına neden olmuştur (Kersting ve Şengonca, 1992; Çınar ve ark. 1993; Yokomi et., 2020). Stubborn hastalık etmeni olan *S. citri* özellikle göbekli, Washington grubu portakallarda simptom olarak yapraklarda küçülme ve renk açılması, dallarda çalılışma, erken dönemde gerçekleşen enfeksiyonlarda bitkilerde bodurlaşma, zamansız çiçek açma, meyvede şekil bozukluğu, göbek kayması ve abortif tohum oluşumu gibi birçok gözle görülebilir belirtiler göstermekte olup ürün kalite bozukluğu ve verim kaybı oluşturmaktadır. Stubborn hastalığı Türkiye'nin Akdeniz Bölgesinde yerli ve yabancı tüm turunçgil çeşitlerinde görüldüğü ancak Washington Navel'de en fazla zarar yaptığı bildirilmiştir (Cengiz, 1965). Stubborn hastalığı simptomları oldukça değişken olup çeşide, beslenme durumuna, yaşa, mevsime, rüzgara, neme, sıcaklığa, *S. citri* ırklarına ve diğer virüs ve virüs benzeri hastalıkların varlığına bağlı olarak değişebildiği çeşitli araştırmalar ile ortaya konmuştur (Childs, 1968).

Ülkemizde özellikle turunçgil bahçelerindeki bulaşıklık oranı (Çınar ve ark. 1993) vektör türün (Başpınar ve ark., 1993) ve aktivitesinin (Kersting ve Şengonca, 1992) belirlenmesi ile konukçu bitkileri (Uygur ve ark. 1991) üzerine çalışmalar yapılmıştır. *S. citri*'nin taşınmasında vektör böcekler rol oynadığı belirlenmiştir. Özellikle en yoğun olarakta *N. haematoceps* ile taşındığı tespit edilmiştir

(Oldfield,1987). Türkiye’de ise *S. citri*’nin sadece *N. haematoceps* (Mulsant et Rey) (Hemiptera: Cicadellidae) ile taşınabildiği saptanmıştır (Kersting ve ark., 1993). Bununla birlikte hastalığın çeşit, dönem, doku tipi gibi faktörlere bağlı olarak %0-20 arasında değişen oranlarda aşı gözü ile de taşındığı bildirilmiştir (Calavan ve ark. 1969; Korkmaz, 1992). *Spiroplasma citri* yayılımı Doğu Akdeniz Bölgesi’nde önemli sorunlardan biri olduğu (Çınar ve ark.,1990) bildirilirken, *N. haematoceps*’in önemli konukçusu olduğu bilinen 1. ve 2. ürün susamda (*Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae)) yürütülen çalışma ile *N. haematoceps*’in bu bitkilerdeki popülasyon dalgalanması çalışılmıştır (Kersting ve ark. 1997). *Spiroplasma citri*’nin vektörü olan *N. haematoceps*’in genç turunçgil bahçeleri, fidanlıklar ile 1. ve 2. ürün susamda popülasyon dinamiği saptanması; turunçgil ve susam alanlarında *S. citri* ile enfekteli *N. haematoceps* miktarının belirlenmesi; *S. citri*, susam phyllody fitoplasması (SPF) ve her iki patojen ile ikili enfekteli susam bitkilerinin değerlendirilmesi; laboratuvar ve sera koşullarında yürütülen deneyler ile *S. citri* ve susam phyllody fitoplazmasının ayrı ayrı ve karışık enfeksiyonlarının *N. haematoceps* aracılığı ile test bitkilerine taşınma oranları simptomatolojik, serolojik (ELISA) ve kültüre alma yöntemleri ile saptanmaya çalışılmıştır. İkinci ürün susamda enfeksiyon oranları daha yüksek bulunmuştur. İkinci ürün susamda 1996 yılında %0.9 oranında *S. citri*, %3.3 oranında SPF ve %0.6 oranında ikili enfeksiyon saptanmıştır. Turunçgil bahçelerinde ise %1.2-1.3 oranında *S. citri* ve %0.01 oranında SPF enfeksiyonu saptanmıştır (Çınar ve Şaş, 1997).

Spiroplasma citri’nin konukçu dizisi oldukça geniştir ve turunçgilin ötesinde Rutaceae familyasından olmayan doğal ve deneysel olarak şiddetli hastalık geliştiren 50’den fazla bitki türünü kapsamaktadır (Calavan ve Bove 1989). Türkiye’de yapılan çalışmalarda *S.citri*’nin konukçusu olan yabancı otlardan ELISA yöntemi ile pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Bunlar; *Convolvulus arvensis* (L.), *Sorghum halepense* (L.) Pers, *Salsola kali* (L.), *Sonchus oleraceus* (L.), yabancı otlarından pozitif sonuçlar elde edilmiştir (Uygur, 1991). Diğer bir çalışmada ELISA yöntemiyle *S. citri* ile enfekteli oldukları tespit edilen bitkiler;

Catharanthus roseus (L.), *Crepis echinops* (L.)All., *Digitaria sanguinalis* (L.), *Echium* sp., *Salsola kali* (L.), *Sesamum indicum* (L.), *Sorghum halepense* (L.), *Xanthium* sp., *Zea mays* (L.), olarak belirlenmiştir. (Kersting ve ark., 1993).

Spiroplasma citri Doğu Akdeniz Bölgesi turunçgil bahçelerinde özellikle Kozan bölgesinde yaygınlık gösteren ve *N. haematoceps* ile taşınabilen tehlikeli hastalıklardan biridir. Uzun yıllardır başta göbekli, Washington grubu portakallar olmak üzere pek çok turunçgil türünde önemli kayıplara yol açmaktadır. Hastalık üzerine ülkemizde pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen (Çınar ve ark.1993; Uygur, 1991; Başpınar ve ark. 1993; Kersting ve Şengonca, 1992; Çınar ve Şaş, 1997) özellikle kışlık ara ekim ve bahçe içi veya çevresindeki yabancı ot varlığının hastalık epidemiyolojisi üzerine pek bir çalışma yoktur. Bu çalışmada da kışlık ara ekim ile bahçe içerisinde ve kenarında Brassicaceae familyasından bitkiler yetiştirilmesi aynı zamanda yabancı ot varlığının hastalık vektör ilişkisi araştırılmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Roistacher (1955), *S. citri* ile enfekteli meyveler için doğal renklenme görülmediğini, stil-sonunun yeşil renkte kaldığını belirtmiştir. Meyvelerin genellikle küçük ve şeklinin bozuk olduğunu gözlemlemiştir. Bazı durumlarda palamut meyve oluşumları gözlenmiştir. Bu nedenle Kaliforniya’da ilk yıllarda “palamut hastalığı” olarak da adlandırılmıştır. Çekirdekli çeşitlerin normalden daha küçük ve koyu renkli veya tamamen abortif olduğu görülmüştür. Bu çekirdekler “abortif tohum” olarak adlandırılmıştır. Greyfurt, portakal, tangelo ve mandarinler hastalıktan etkilenirken üç yapraklı ve hibritleri, limon ve laymların daha dayanıklı olduğunu bildirmiştir.

Cengiz (1965), Stubborn hastalığının Akdeniz bölgesinde yerli ve yabancı tüm portakal varyetelerinde, ayrıca altıntop, mandarin çeşitleri, turunc, şadok ve kamkatlarda, en fazla Washington Navel’de zarar yaptığı, en tipik hastalık simptomlarının ise kasım, aralık ve ocak aylarında görüldüğünü belirtmiştir. Yapılan gözlemler sonunda hastalığın ilk simptomlarının ağacın tepe kısmında başladığı, ilerleyen aşamalarda alt kısımlara yayıldığı ve tüm ağacı sardığı, bu ağaçlarda çeşitli büyüklüklerde meyve ve mevsim dışı çiçek bulunduğu, verimde önemli ölçüde azalma meydana geldiği ve hastalığın yerli portakallarda %12, Thomsonlar’da %75 ve Washington Navel portakallarında %83 oranında bulunduğu; yerli portakallarda %13, Thomson navellerde %25. Washington navellerde ise %17 oranında verim azalmasına neden olduğunu tespit etmiştir.

Olson (1965), Stubborn hastalığının en önemli simptomlarının aşırı abortif tohum oluşumu, meyvelerin palamut şeklini alması, geciken veya düzenli olmayan yeşillenmeler ve mavi albedo oluşumu olduğunu bildirmiştir. Mavi albedo simptomuna tarla koşullarında büyüyen stubbornlu altıntop, portakal ve tangelo ağaçlarında sık sık rastlanıldığını belirtmiştir.

Kaloostian ve ark (1975; 1976), Kaliforniya’da *S. citri*’ye konukçuluk yaptığı bildirilen enfekteli yabancı otların bodurlaşp, sarardığı, sıcak veya kurak koşullarda otlar kurumaya başladığında bu bitkiler üzerinde beslenen vektörlerin otlardan turunçgillere geçtiği, *S. citri*’nin taşınmasının daha çok enfekteli otsu bitkilerden turunçgillere olduğunu, turunçgilden turunçgile taşınma olasılığının daha zayıf olduğunu, genç turunçgil ağaçlarının yaşlı ağaçlara göre etmene daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Calavan ve Oldfield (1979), Spiroplasmaların, mikoplasma benzeri organizmaların ve bazı bakterilerin de dahil olduğu, floemde sınırlı prokaryotların sararma, bodurlaşma ve yanıklığa neden olan yüzlerce hastalığa sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Fletcher ve ark., (1981); Fletcher ve Eastman, (1983), *S. citri*’nin, turunçgillerde stubborn hastalığına neden olmasının yanında Brassicaceae familyasından birçok bitki türünde önemli hastalıklara neden olduğunu ifade etmişlerdir. Aynı familyadan doğal floranın bireyleri olan türler dışında turp gibi kültürü yapılan türleri de etkilediğini belirtmişlerdir.

Meyer ve Calvin (1985), Cüce ağustos böceklerinin yakalanması işleminde kullanılan sarı yapışkan tuzaklar ile hareketli böcek popülasyonları örneklenebilir iken, emme veya vakumlama ile böcek davranışları veya aktivite yüksekliklerinin saptandığını bildirmişlerdir. Uygun örnekleme durum ve süresi belirlendiğinde bu yöntemlerin büyük oranda birbirleri ile uyumlu sonuçlar vereceğini belirtmişlerdir.

Bove (1986a), Suriye’de sağlıklı bitkiler ile dikilen portakal ve greyfurt bahçelerinde stubborn hastalığının yayılması nedeni ile potansiyel vektörler Cicadellidae, Cixiidae, Delphacidae ve Issidae familyalarına ait toplam 41 adet böcek türünü ELISA yöntemi ile incelemiş ve yalnızca *N. haematoceps* türünün *S. citri* ile enfekteli olduğunu saptamıştır. *Neoliturus (Circulifer) haematoceps*’in turunçgil bahçelerinde veya kıyı bölgelerindeki kültür bitkilerinde düşük miktarda bulunmakla birlikte, *Catharantus roseus* dikili deneme alanlarında sarı yapışkan tuzaklarla yapılan incelemelerde haziran-eylül ayları arasında baskın tür olduğunu

bildirmiştir. *Neoliturus (Circulifer) haematoceps*'in kurak, kumlu ve kültür alanları dışındaki bölgelerde yüksek miktarlarda bulunduğunu saptamıştır. *Spiroplasma citri* ile enfekteli *N. haematoceps* vektörünün turunçgil yetiştirilen kıyı bölgelerinden oldukça uzak yerlerde de bulunması etmenin turunçgil dışında da birçok konukçusu olduğu ve doğal taşınmasındaki önemli rolünü ortaya koyduğunu bildirmiştir.

Bove (1986b), Stubborn etmeni ve vektörünün bulunduğu ortamlarda önlem alınmadığında sağlıklı aşı gözleri ile üretilen fidanların da sonradan *S. citri* ile enfektelenebileceğini bildirmiştir. Suriye'de birçok portakal çeşidini içeren sağlıklı fidanlarla tesis edilmiş bloklarda stubborn simptomları gelişmiştir. Süs bitkisi olarak dikilen bazı *C. roseus* bitkilerinin de enfektelendikleri ve yaz döneminde öldükleri gözlenmiştir. Bu saptamadan sonra *C. roseus*'lar *S. citri* enfeksiyonlarında indikatör bitki olarak kullanılmaya başlanmıştır. Stubborn ile enfekteli turunçgil bahçelerinin yakınlarına dikilen test bitkilerinin de enfekteli olduklarını saptamıştır.

Bove (1986c), Doğal vejetasyonun olmadığı durumlarda genç turunçgil bahçelerinin alternatif bir konukçu durumunda olduğu, yarı kurak iklim koşullarında bu alanlarda doğal bitki örtüsünün ortadan kaldırılmasının vektör böceklerin genç turunçgil ağaçlarına göç ederek beslenmesine ve bu durumda lokal bir stubborn epidemisine neden olabileceğini belirlemiştir. Suriye'de sağlıklı fidan olarak dikilen portakal ve greyfurt ağaçlarının sadece iki yıl içerisinde stubborn simptomları gösterdiğini tespit etmiştir.

Teraguchi (1986), Uzun süreli yaşayan veya çok yıllık bitkiler ile ilişkili olan cüce ağustos böceklerinin kısa ömürlü veya tek yıllık bitkilere adapte olmuş türlerle kıyasla daha az göç ettiklerini bildirmiştir.

Çağlayan ve Çınar (1990), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde turunçgil yetiştiriciliğinde 1980'li yıllardan itibaren en önemli sorunlardan biri haline gelen stubborn hastalığı etmeni *S. citri*, Navel portakalları, Valencia ve yerli portakal, Star ruby greyfurt, Fremont ve Ancore mandarin ile Mineola

tangelo'dan ELISA ile de pozitif sonuçlar elde etmişlerdir. Turunçgillerden yapılan izolasyon çalışmalarında yılın her döneminde etmenin kültüre alınabildiği, en iyi sonucun sonbaharda alınan yaz sürgün örnekleri ile sağlandığını bildirmişlerdir.

Uygur ve ark. (1991), *S. citri* ile doğal ve yapay olarak enfekteli yabancı ot türleri, bu türlerin Çukurova Bölgesi'nde bulunduğu yerler ve rastlama yüzdesi üzerine yaptığı çalışmada; 4 yabancı ot türünde *S. citri*'nin varlığı ELISA yöntemi ile belirlerken bu yabancı otlardan en önemlilerinin bölgede sırasıyla *Sorghum halepense* ve *Convolvulus arvensis* olduğunu belirtmişlerdir. Bunların yanında *Salsola kali* ve *Sonchus oleraceus* yabancı otlarında da etmen tespit edilmiştir. Tüm turunçgil alanlarının %7,16'sının *S. halepense* ile kaplı olduğunu, bu türün bireylerinin %7,52'sinin ise *S. citri* ile bulaşık olduğunu, bölgedeki tüm turunçgillerin alan olarak %0,54'ünün *S. citri* ile Enfekteli *S. halepense* ile kaplı olduğunu ortaya çıkarmışlardır.

Kersting ve ark. (1993), Türkiye'de susamın *S. citri* açısından önemli bir inokulum kaynağı olduğu, *S. citri*'nin vektörü olan *N. haematoceps*'in de stubborn etmeninin yayılmasında önemli rol oynadığını bildirmişlerdir. Susam üzerinden toplanan değişik cüce ağustos böceklerinden sadece *N. haematoceps*'in, hastalığı susam bitkisinden alarak cezayir menekşesine (*Catharanthus roseus* L.) aktardığını tespit etmişlerdir. Doğadan toplanan böceklerin hastalığı bu bitkiye taşıma oranının ise %20 olduğunu belirlemişlerdir.

Başpınar ve ark. (1993), *Neoliturus (Circulifer) haematoceps*'in susamdaki popülasyon gelişimini D-VAC örnekleme ile izledikleri bir çalışmada mayıs ayından itibaren elde edilen ilk bireylerin dişi olduğu ve bu bireylerin ELISA ile testlenmesi sonucu *S. citri* ile enfekteli olduklarını saptamışlardır. Bunun sonucunda kışlayan dişi bireylerin *S. citri*'nin epidemiyolojisinde önemli olduğunu belirlemişlerdir.

Bove (1995), Stubborn hastalığının sıcak, kurak veya yarı kurak iklime sahip turunçgil alanlarında meyve verim ve kalitesinde önemli kayıplara neden

olabildiğini ve meyve verimini %50-100 oranında azalttığını tespit etmiştir. Kaliforniya’da portakal ve greyfurtların %5-10 oranında stubborn ile enfekteli olduğu bu oranın Akdeniz ülkelerinde daha fazla zarara neden olduğunu belirlemişlerdir.

Kersting ve Başpınar (1995), *Neoliturus (Circulifer) haematoceps*’in susam kültüründeki dönemsel ve günlük uçuş aktivitesinin inceledikleri bir çalışmada kullanılan sarı yapışkan tuzaklar ile daha çok (>%85) erkek bireylerin tespit edildiğini belirlemişlerdir. Sarı yapışkan tuzaklar ile günlük uçuş aktivitesinin izlenmesi sonucu uçuşun en yoğun olduğu zamanlar saat 7.30 ve 17.30 ile 19.30 arasında olduğu, güneşin doğuşu ile batışı anlarındaki hareketliliğinin gün ışığının en yoğun olduğu zamana rastladığı ve gece boyunca birey saptanmadığını bildirmişlerdir. Erkek *N. haematoceps*’lerdeki bu hareketliliğin yeni nesilden birçok dişinin ortamda bulunmasına bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. Birçok böcek türünde göç olayını dişilerin hareketleri yönlendirmekle birlikte, *N. haematoceps*’lerin lokal hareketlerinin yüksek uçuş aktivitesine sahip erkek bireyler tarafından yönlendirildiğini belirtmişlerdir. Yüksek oranda bitkiler arası uçuşların enfekteli bitki miktarının artmasına da neden olabileceğini fakat bu duruma böceklerin bitkiler üzerinde beslenme sürelerinin de etkili olabileceğini tespit etmişlerdir. Bu nedenle *N. haematoceps*’lerin günlük uçuş aktiviteleri ile cinsiyete bağlılık hareketlerinin böcek taşıyan patojenlerin epidemiyolojisi ile ilişkili olduğunu gözlemlemişlerdir.

Marconi ve Ragozzino (1995), Bitkilerin kenarında veya arasında yetişen yabancı turp’ları (*Raphanus raphanistrum*) enfektelendiren MBO’ların cicadellidae’ler ile birçok kültürü yapılan sebze türlerine taşınabildiğini bildirmişlerdir. Primer inokulum kaynağı olan yabancı turplardan etmenler böceklerin sebze alanlarına göç etmesi ile yayıldığını belirtmişlerdir. Son yıllarda özellikle yaz sonu ve sonbahar döneminde cüce ağustos böceği

popülasyonunun sebze alanlarında yüksek düzeylere çıkması, cicadellidlerin etmenleri taşımadaki rolünü artırdığını belirlemişlerdir.

Nestel ve Klein (1995), Cüce ağustos böceklerinin kolonizasyon ve yayılma şekillerinin genel olarak benzer olduğu, göç eden türlerde uygun bitki deseni bulunduğunda ilk nimf popülasyonu ürünün kenar bölgelerinde yoğunlaştığı, bitki gelişmesinin ileri dönemlerinde nimf popülasyon yoğunluğunun bütün bölgelerde benzer oranlara ulaştığını bildirmişlerdir. Dönem başında böcek popülasyonu bahçe içerisinde yayılmadan bahçe kenarlarında yapılacak mücadele işlemleri ile sorun olan cüce ağustos böceği popülasyonunun azaltılabileceği, bu tür stratejilerin İsrail’de düzenli olarak uygulandığı ve cüce ağustos böceklerine karşı daha etkili bir kontrol oluşturulduğunu ve çevreye daha az zarar verildiğini tespit etmişlerdir.

Kersting (1996a), Genç turunçgil bahçelerine yerleştirilen sarı yapışkan tuzaklar kullanarak *N. haematocephs*’in genç bir ağaç boyu yüksekliğine kıyasla daha çok yer yüzeyine yakın yüksekliklerde uçtuğunu saptamıştır. Bireylerin çoğunun yere yakın hareket etmesinin stubborn hastalığının turunçgillerde yayılma riskini azalttığını bildirmiştir. *Neoliturus (Circulifer). haematocephs*’in genç turunçgil bahçelerindeki uçuş özelliklerinin araştırıldığı bu çalışmada *N. haematocephs*’in bahçelerde sürekli olarak kalmadığını, mayıs ve kasım aylarında kışlık alanlara ve kışlık alanlardan turunçgile göç ettiklerini belirlemiştir. Bahçelerde her yıl yakalanan toplam *N. haematocephs* miktarının, 3-4 yaşındaki bahçelere kıyasla yeni kurulan bahçelerde 5 kat daha fazla olduğunu saptamıştır. *Neoliturus (Circulifer). haematocephs*’in bu davranış özelliğinin, genç bahçelerin neden daha çok *S. citri* enfeksiyonlarına hedef olduğunu bildirmiştir.

Kersting (1996b), Turunçgil stubborn hastalığı etmeni *S.citri*’nin Doğu Akdeniz Bölgesinde en önemli vektörü olan *N. haematocephs*’in genç turunçgil bahçesi ve fidanlıklardaki popülasyon gelişimlerinin sarı yapışkan tuzaklar kullanılarak incelendiği bir çalışmada 1993-1995 yılları arasında *N.*

haematoceps'in uçuş aktivitesinin mayıs ayında yüksek oranda ve kasım ayında daha düşük olmak üzere iki dönemde artış gösterdiğini tespit etmiştir. Bu özel uçuş özelliğinin çalışma kapsamında bütün bölgelerde aynı olduğunu bildirmiştir.

Mello ve ark. (2008) Kaliforniya meyve bahçelerindeki turuncgillerde Stubborn hastalığına bağlı kayıpların son on yılda artmasıyla birlikte yeni bir ırkın girme veya ortaya çıkma olasılığını araştırmak için, çeşitli lokasyonlardan *S. citri* ırkları arasındaki genetik çeşitlilik üzerine bir çalışma yapmışlardır. 1980'den 1993'e kadar kültürlenmiş 35 ırkın ve 2005 ile 2006 arasında kültürlenmiş 35 ırkın rastgele amplifiye edilmiş polimorfizm DNA-polimeraz zincir reaksiyonu (RAPD-PCR) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 20 primer çifti kullanılarak yapılan analiz ile ırklar arasında önemli bir çeşitlilik ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, 15 ila 28 yıl önce toplananlarla karşılaştırıldığında, yakın zamanda toplanan ırklarla hiçbir benzersiz genetik imza ilişkilendirilmemiş ve coğrafi olarak ilişkili hiçbir model ayırt edilebilir olarak belirlenmemiştir. Havuç ve daikon turpundan elde edilen *S. citri* ırkları bazı benzersiz DNA parçalarını içermiş ve bu da bazı konukçu bitki etkilerini düşündürmüştür.

Yokomi ve ark. (2008), Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) bazı Turuncgillerde Stubborn hastalığının tespiti, P89 putative adhesin geninin dizilerine ve *S. citri*'nin P58 putative adhesin multigenine dayalı primerler kullanarak geliştirmişlerdir. Gerçek zamanlı PCR ayrıca, sağlıklı Madam Vinous tatlı portakalından elde edilen DNA özütlerine rekombinant bir *S. citri* plazmidinin seri seyreltilmesiyle 10^{-4} ve 10^{-4} ng arasında olduğu tahmin edilen saptama limitleriyle geliştirmişlerdir. *Spiroplasma citri*'nin bu yeni primerler tarafından saptanması için PCR, geleneksel teşhis yöntemi olan patojenin kültürünün Kern County, CA'daki iki narenciye alanından alınan örneklerden PCR analizleriyle karşılaştırılmasıyla doğrulamışlardır. Meyve kolumellasını, iki bahçenin her birinde sırasıyla 384 ve 377 ayrı ağaçtan toplanmışlar; bir kısım kültürleme için, diğeri DNA ekstraksiyonu ve PCR için kullanmışlardır. PCR sonuçları, kullanılan primerlere bağlı olarak %85 ile %100'ü kültürleme sonuçlarıyla eşleşmiştir. Daha

da önemlisi, PCR sonuçlarında %5 ile %15'inde kültür negatif ağaçlardan *S. citri* tespit etmişlerdir, bu da PCR'ın tarla örneklerinde *S. citri* tespiti için kültürlenme kadar iyi veya daha iyi performans olabileceğini ifade etmişlerdir. Gerçek zamanlı PCR'ın, tespit için en iyi yöntem olduğunu kanıtlamışlardır. Numunelerin P58 primer çiftlerine farklı reaksiyonu, tarihsel ve günümüz saha izolatlarında iki *S. citri* popülasyonunun oluştuğunu ortaya koymuşlardır. Burada sunulan sonuçlar, bahçe ağaçlarında *S. citri*'nin güvenilir tespiti için PCR kullanımını desteklediğini belirtmişlerdir.

Omid ve ark. (2011) Turunçgil Stubborn hastalığının etmeni *S. citri*'nin vektörleri olarak Kerman şehrinin turunçgil yetiştirme bölgelerinde toplanan yaprak zararlıları üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Sıvı ortama ve/veya sağlıklı cezayir menekşesi bitkilerine aktarım testleri ile gerçekleştirilmiştir. Tarlada toplanan yedi Cicadellidae türünden yalnızca *Orosius albiáctus* ve *N.hematoceps*, *S. citri*'yi parafilm membranından beslenerek LD10 besiyerine vermiştir ve *N. hematoceps* *S. citri*'yi sağlıklı cezayir menekşesi bitkilerine aktarabilen tek yaprak zararlısı türü olarak belirlenmiştir. Spiroplasmalar, üç Cicadellidae türünün hepsinde, yalnızca *N. haematoceps*'in başlarında tespit edilmiştir. *S. citri* enfeksiyonunun tipik simptomları, sadece *N haematoceps*'in beslendiği cezayir menekşesi bitkilerinde gözlemlenmiştir. Sonuçlar, Kerman ilinde toplanan Cicadellidae türleri arasında yalnızca *N. haematoceps*'in *S. citri*'yi bulaştırabildiğini ve diğer iki türün *S. citri*'yi elde ederken onu sağlıklı bitkilere aktaramadığını göstermiştir.

Wang ve ark. (2015) *Spiroplasma citri*'nin izolasyonunun ve kültüre alınmasının teknik olarak zahmetli ve zaman alıcı olduğunu belirtmişlerdir. *Spiroplasma citri*'nin tipik olarak titrede düşük olduğunu ve narenciyede eşit olmayan bir şekilde dağıldığını, bunun da güvenilir algılamayı zorlaştırdığını ifade etmişlerdir. Mevcut tercih edilen tespit yönteminin, *S. citri* house-keeper genlerinin dizilerinden geliştirilen primerler ile polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) olduğunu belirtmişlerdir. *Spiroplasma citri*'nin yakın zamanda yapılan genom

dizilimi, bakterinin birden fazla profaj geni kopyası barındırdığını ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle, hedeflenen çok kopyalı profaj genlerinin, PCR saptamasının duyarlılığını iyileştirdiği varsayılmıştır. İki primer seti, Php-orf1 ve Php-orf3, *S. citri* genomundaki korunmuş profaj dizilerinden geliştirilmiştir. Bu primer setleri, farklı konukçulardan ve lokasyonlardan izole edilen kültürlerde 18 *S. citri* ile SYBR Green bazlı kantitatif PCR (qPCR) analizlerinde saptama hassasiyetini değerlendirmek için kullanmışlardır Profaj primer seti Php-orf1, spiralın ve P58 varsayılan adhesin geni için housekeeper gen primerleri ile karşılaştırıldığında, sırasıyla 4.91 ve 3.65 döngü eşik (Cq) birimleri ile algılama hassasiyetini arttırdığını belirlemişlerdir. Algılama, aynı temizlik gen primerleri üzerinde sırasıyla 3.02 ve 1.76 Cq birimlerine ayarlanan Php-orf3 primeri için biraz daha az hassas olduğunu belirtmişlerdir. Profaj primer setleri, 2007'den 2013'e kadar Kaliforniya'nın San Joaquin Vadisi'ndeki üç narenciye bahçesinden alınan örneklerle qPCR tespiti için doğrulamışlardır. Veriler, *S. citri* profaj dizilerinin, *S. citri* ile enfekte olmuş ağaçların qPCR tespiti için duyarlılığı en az 10 kat arttırdığını ve negatif sonuçların sayısını azalttığını tespit etmişlerdir. Primer setlerinin hiçbirinde pozitif örnek tespit edilmediğini belirtmişlerdir.

Alfaro-Fernández ve ark. (2017) bir TaqMan probu ile gerçek zamanlı PCR ile havuç tohumlarında, köklerinde ve yapraklarında *S. citri*'nin saptanması için bir protokol geliştirilmiş ve tahlil etmişlerdir. Protokol spesifik olup ve duyarlılık açısından, *S. citri* tespiti için geleneksel PCR'dan 102 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Örnek başına beş tam tohumdan oluşan 20 taneden bir ve iki örnek, gerçek zamanlı PCR ile *S. citri* için pozitif olup bu da en az% 1-2' lik bir enfeksiyon oranına işaret etmiştir. Tohum aktarımı, ekimden 240 gün sonra böceklerden arındırılmış bir büyüme odasında (P2 seviyesi) yetiştirilen fidelerin kökleri analiz edilirken değerlendirilmiştir. İletim oranları % 30.1 ve % 37.6 olarak tahmin edilmiştir. Patojen için pozitif test edilen tüm fidelerde gözlenen belirtiler arasında bükülmüş yaprak sapı, filiz formu, mozaik, sararma veya

kırmızı yapraklar ve köklerde kabarıklıklar, deformasyon veya dallanma yer almıştır.

Zarei ve ark. (2017) susamın turunçgilleri infekte eden ırklar için rezervuar görevi görüp görmediğini değerlendirmek için turunçgillerden ve turunçgil içermeyen susam tarlalarından toplanan yaprak zararlılarında bulunan *S. citri* ırkları arasındaki genetik çeşitlilik araştırmışlardır. Toplanan *N. haematoceps* yaprak zararlılarına maruz kalan 26 cezayir menekşesi bitkisi arasında 12 bitki tipik Stubborn semptomları geliştirmiştir. Tüm semptomatik cezayir menekşesi bitkileri spiralin ve P89 genlerini hedefleyen *S. citri*'ye özgü primer çiftleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu tabii tutulmuş ve hepsinden pozitif sonuç almışlardır. Spiralin gen dizisi analizine dayanan filogenetik ağaçlar, yeni alanlardan toplanan ırkların, önceden tanımlanmış iki *S. citri* grubuna (6 ve 1 grupları) ait olanlar ile kümelendiği gözlenmiştir. Ek olarak, sonuçlar, grup 1 suşlarının susamla infekte olmuş bitkilerden narenciye ağaçlarına *N. haematoceps* ile bulaşabileceğini, grup 6 suşlarının ise turunçgil ağaçlarını enfekte etmeyeceği tespit edilmiştir.

Benazzouz ve ark. (2020) *Spiroplasma. citri*'nin neden olduğu Citrus stubborn hastalığının (CSD) *Citrus sinensis* (L) Osbeck' in uçucu yağlarının kimyasal bileşimi ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Sonuçlar, hem hastalıkla enfekteli olan hem de sağlıklı turunçgillerden elde edilen uçucu yağın aynı fizikokimyasal özelliklere sahip olmadığı belirlenmiştir. Enfekteli olan meyvelerin yeni toksik bileşikler içerdiği tespit edilmiştir. Her iki uçucu yağ da *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853'e karşı çok ilginç antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ancak *Botrytis cinerea*'ya karşı herhangi bir antifungal aktivite göstermemişlerdir. Hem enfekte olmuş hem de enfekte olmamış *C. sinensis*'ten ekstrakte edilen uçucu yağa duyarlı olan bakteri suşları için minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) sırasıyla 4 µL ve 32 µL / mL olarak hesaplanmıştır.

Çağlar ve ark. (2020) Türkiye'deki farklı *S. citri* suşlarının muhtemel varlığını araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, Adana ilinin Kozan ilçesine bağlı turunçgil bahçelerinde Stubborn hastalığına benzer çoğunlukla boğum arası kısılma, yapraklarda kaşıklanma ve leke, sezon dışı çiçeklenme ve tipik küçük palamut tipi meyve belirtileri gösteren ağaçlardan yaprak ve meyve örneği toplamışlardır. Polimeraz zincir reaksiyonu çalışmalarında Spiralin-f/r, P89-r/f ve P58-6f/4r primer çiftlerini kullanarak Türk izolatlarının saptanmasını ve karakterizasyonunu yapmışlardır. Testlenen tüm örnekler P89-r/f ve P58-6f/4r primer çiftlerine pozitif sonuç verirken, Spiralin-f/r primer çiftinde pozitif sonuç veren örnek bulamamışlardır. Adana ilinde belirlenen *S. citri* izolatlarının, Meksika, İspanyol, Cezayir ve İtalyan izolatlarıyla yakından ilişkili olduğunu saptamışlardır.

Yokomi ve ark. (2020) *Spiroplasma. citri*'nin geniş bir konukçu yelpazesine sahip bir bakteri olduğunu belirtmişler ve stubbornlu turunçgillerin ve yaban turpunun hastalık nedeni olduğunu açıklamışlardır. Kuzey Amerika'da pancar yaprak zararlısı vektör böcek *Circulifer tenellus* *S. citri*'yi dolaşım yoluyla, kalıcı bir şekilde ilettiğini belirtmişlerdir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Arazi Çalışmaları

3.1.1. Ara Ekim Yapılan Genç Turunçgil Bahçelerindeki *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* Popülasyon Dalgalanması ve *Spiroplasma citri* Enfekte Durumunun Belirlenmesi

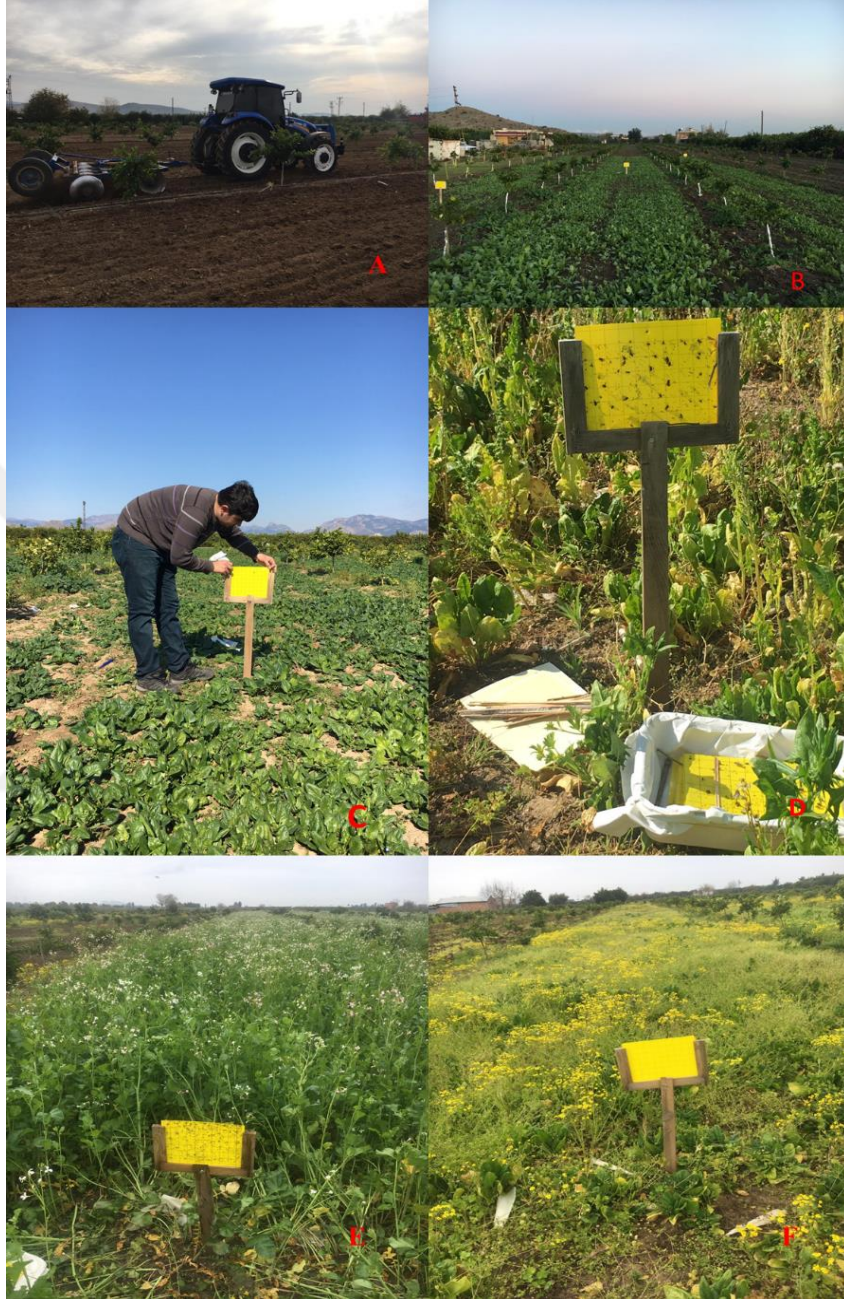
Neoliturus (Circulifer) haematoceps'in kışlık bitkilerdeki popülasyon dalgalanmasını belirlemek için yapılan bu çalışma Adana'nın Kozan ilçesinde bulunan 1-3 yaş arasında 3 adet Washington bahçesinde yürütülmüştür. Çalışmalardan birincisi Eskikabasakal köyünde 2 yaşında Washington Navel çeşidi portakal dikili 10 dekar, dikim aralığı 6x3.5 m bahçede yürütülmüştür (Şekil 3.1). İkincisi Yassıçalı köyünde 2 yaşında Washington navel çeşidi portakal dikili 30 dekar, dikim aralığı 6x3 m bahçede yürütülmüştür. Üçüncü çalışma ise Bulduklu köyünde 3 yaşındaki Washington navel çeşidi portakal dikilen 25 dekar, dikim aralığı 6x3 m bahçede yürütülmüştür. Bu bahçelere ara ekim bitkisi olarak turp (*Raphanus raphanistrum* subsp. *sativus* (L.)) ve ıspanak (*Spinacia oleracea* (L.)) ekilmiştir. Ekilen turp çeşidinde yerli Kadırlı turpu, ıspanak ise bölgede yaygın olarak ekilen Piton çeşidi tercih edilmiştir.

Belirtilen 3 lokasyondaki bahçelere 2018 yılının Ekim ayı sonunda ve 2019 yılında ise Kasım ayı başında turp ve ıspanak ekimi gerçekleştirilmiştir. Ekim için ilk olarak tabana 30 kg/da 20.20 gübresi atılıp diskaro ile bahçe sıra araları sürülmüştür (Şekil 3.2 A), daha sonra dekara 1000 gr turp, 750 gr ıspanak tohumu düşecek şekilde bahçe sıra aralarına el ile ekim gerçekleştirilmiştir. Ekimler Washington Navel bahçelerine sıra aralarına 3 sıra turp, 3 sıra ıspanak olarak ekilmiştir. Toplamda her bahçede 6 sıra arasına ekim yapılmıştır. Sıra uzunluklarının 100 m, sıra arası ise 4 m olacak şekilde sıralar oluşturulmuştur. Her parselin büyüklüğü 400 m² olarak belirlenmiştir. Her bir bitki türü için her bir bahçeye toplamda 400 x 3 sıra = 1200 m²'lik alana ekim yapılmış ve *N. haematoceps* popülasyonu sarı yapışkan tuzaklar ile takip edilmiştir. Sarı yapışkan

tuzakların ölçüleri ise 25x20 cm olarak seçilmiştir. Bu sarı yapışkan tuzaklar paralel olmayacak şekilde parseller arasında bir dağılım yapılmıştır (Şekil 3.2 B). Sarı yapışkan tuzaklar yerden 50 cm yukarıda olacak şekilde bir kazık ve tahta çerçeve ile sabitlenmiştir. Çalışmanın her iki yılında da sarı yapışkan tuzaklar ekimin yapılp bitkilerin çıkış yaptığı dönemden tarla sürümünün yapılacağı son haftaya kadar düzenli bir şekilde haftalık olarak değiştirilmiştir.



Şekil 3.1. Adana ili Kozan ilçesinde sarı yapışkan tuzaklarla *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* popülasyon takibinin yapıldığı deneme bahçelerinin uydudan lokasyon görüntüleri (Goog Map).



Şekil 3.2. Deneme parselleri A) Diskaro ile arazinin ekime hazırlanması; B,C,D) sarı yapışkan tuzakların araziye yerleştirilmesi ve değiştirilmesi; E-F) son sayım dönemindeki turp ve ıspanak parselleri



Şekil 3.3. A) Tuzaklarda yakalanan *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* bireylerinin laboratuvara getirilmesi, B, C, D) *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* bireylerinin stereo binoküler mikroskop ile seçilmesi

Tuzaklara yakalanan *N. haematoceps* bireyleri stereo binoküler mikroskop altında sayılmış ve teşhisleri tarafımızdan yapılmış olup Prof. Dr. Hüseyin BAŞPINAR'a doğrulatılmıştır. Sayılan bireylerden bir kısmı ince bir iğne yardımıyla tuzaktan uzaklaştırılıp 1.5 ml'lik Eppendorf tüpü içine etiket bilgileri yazılarak -20°C'de saklanmıştır (Şekil 3.3). *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* bireylerinin daha sonra *S. citri* ile bulaşık olup olmadığını anlamak için PCR testi yapılmıştır. Aynı zamanda özellikle sonbahar, kış ve ilkbahar aylarında toplanan bireylerde *S. citri* varlığı açısından moleküler yöntemlerle testlenmiştir.

3.1.2. Farklı Oranlarda *Spiroplasma citri* Enfeksiyonuna Yabancı Ot Varlığı, Bahçe İçi ve Dışı Kışlık Kültür Bitkisi Ekiminin Etkisi

Kozan bölgesinde *S. citri* yoğunluğunun nedenlerinin araştırıldığı çalışmada tek çeşit Washington Navel üzerinden yola çıkılmıştır. Farklı noktalarda farklı özelliklerde bahçeler tespit edilmiştir. Bu tespit edilen bahçelerin sahipleri ve danışmanlıklarını yapan ziraat mühendisleri ile görüşmeler yapılarak önceki yıllarda ara ekim yapılıp yapılmadığı, yabancı ot kontrolünün nasıl yapıldığı ve bitişliği tarla olan arazilerde önceki yıllarda ne ekilip biçildiği tespit edilmiştir. Farklı yoğunluklarda yabancı ot varlığının veya ara ekim yapılmasının *S. citri* bulaşıklık oranına etkisini ortaya çıkarmak için yürütülen bu çalışmada Adana'nın Kozan ilçesine bağlı alanlarda sörveyler yürütülmüştür. Yapılan bu sörveyler sonucunda temelde dört farklı özelliğe sahip aynı özellikte ikişer bahçe olacak şekilde toplamda sekiz adet Washington navel bahçesi tespit edilmiştir. Dört temel özellik ise; (I) 2 tanesinde daha önceki yıllarda ara ürün ekilmiş, (II) 2 tanesinde yabancı ot mücadelesi iyi yapılmamış, (III) 2 tanesinde bahçe bakımı gayet iyi ara ekimde yapılmamış ama bitişik parseli tarla olup orada Brassicaceae familyasına ait bitkiler yetiştirilmiş ve (IV) 2 tanesinde ise yabancı ot kontrolü iyi yapılmış ara ekim yapılmamış ve etrafında da Brassicaceae familyasına ait bitkiler yetiştirilmeyen bahçeler olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 3.4. Yabancı ot Mücadelesi iyi yapılan bahçe.



Şekil 3.5. Yabancı ot mücadelesi düzgün yapılmayan bahçeler.

Kışlık yabancı ot mücadelesi iyi bir şekilde yapılmayan bahçelerde Şekil 3.5' te görüldüğü gibidir. Bu tip olan iki adet Washington bahçelerinde gözlemler sonucunda şüphelenilen bazı meyve ve yaprak örnekleri alınıp *S. citri* varlığı açısından testlenmek için laboratuvara götürülüp -20°C' de saklanmıştır. Bu tip olan bahçelerde sörveyler yapılarak hastalığın bahçe içerisinde dağılımını gösteren haritalar çıkarılmıştır.



Şekil 3.6. Bitişigindeki tarlalarda önceki yıllarda Brassicaceae familyasına ait bitkiler ekilmiş bir bahçeden görünüm

Sörvey çalışmalarında yapılan araştırmalarda bahçe bitişiginde kışlık sebzelerden turp, lahana, marul gibi Brassicaceae familyasından bitkiler ekilmiş olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.6). Bahçede enfekteli olabileceği düşünülen ağaçlar tespit edilmiştir. *S. citri* varlığını test etmek için meyve ve yaprak örnekleri alınıp

laboratuvara getirilip -20°C’de saklanmıştır. Bu tip olan bahçelerde gözlemler yaparak hastalığın bahçe içerisinde dağılımını gösteren haritalar çıkarılmıştır.



Şekil 3.7. Ara tarım bitkisi olarak turp ekilen genç turunçgil bahçesinden bir görünüm

Bahçe 1-3 yaşında iken ara tarım bitkisi olarak turp, ıspanak ve lahanagiller ekilmiş olan bahçeler belirlenip bu bahçelerin *S. citri* ile enfekteli olabileceği düşünülen ağaçlar tespit edilmiştir (Şekil 3.7). *Spiroplasma citri* varlığını moleküler yöntemle test etmek için meyve ve yaprak örnekleri alınmıştır. Alınan örnekler laboratuvara getirilip -20°C’de saklanmıştır. Bu tipteki bahçelerde gözlemler yaparak hastalığın bahçe içerisindeki dağılımını gösteren haritalar çıkarılmıştır.

Sörveyler sonucu farklı yabancı ot düzeylerine veya ara ekime sahip bu bahçelerde ekim-kasım ayında her sıra tek tek dolaşarak ve her ağaç tek tek değerlendirilerek bahçelerde *S. citri* sptomu gösteren ağaçlar simptomolojik olarak belirlenmiştir. Seçilen bahçelerde özellikle enfekteli olabileceği düşünülen ağacın gelişiminin zayıf kalması ve yapraklarda renk açılması, meyvede oluşan şekil

bozukluğu ve ağaç üzerinde farklı dönemlerin olması simptomlarından yola çıkılarak ağaçların bulaşıklığı haritalandırılmıştır (3.8.).

Bu simptomolojik olarak *S. citri* ile bulaşık olduğu düşünülen her bir bahçeden ortalama 10-20 adet ağaçtan yaprak ve meyve örnekleri ayrı ayrı alınarak DNA izolasyonları yapılmak üzere küçük parçacıklar haline getirilip 1.5 ml'lik Ependorf tüplere aktarılıp -20°C'de saklanmıştır. DNA izolasyonlarını takiben bu örneklerle PCR testi uygulanarak *S. citri* ile bulaşık olup olmadığı moleküler olarak belirlenmiştir.

Spiroplasma citri ile bulaşık olabileceği tahmin edilen 8 farklı bahçeden ortalama 10-20 ağaçtan meyve ve yaprak örnekleri alınarak DNA izolasyonları ve PCR'ları yapılmak üzere küçük parçacıklar haline getirilerek 1.5 ml'lik Ependorf tüplere aktarılıp -20°C'de saklanmıştır.



Şekil 3.8. A, B) Enfekteli ağacın gelişiminin zayıf kalması ve yapraklarda renk açılması, C-D) ağaç üzerinde farklı dönemlerin olması, E) Meyvede göbek kayması

3.1.3. *Spiroplasma citri*'nin Kışlık Yabancı Ot Konukçularının Belirlenmesi

Spiroplasma citri'nin konukçusu olabilecek yabancı otları belirleyebilmek için ara ekim yapılan bahçeler, bahçe kenarları ve boş alanlarda boğum aralarında kısılma, sararma gibi belirtiler gösterip şüphelenilen bitkiler kökleri ile birlikte çıkarılıp bir polietilen poşet içerisine kağıda sarılarak laboratuvara götürülmüştür (Şekil 3.9). Laboratuvarda sağlıklı görünen bitkilerle *S. citri* ile enfekteli olabileceğinden şüphelenilen bitkiler yan yana getirilerek fotoğraflanmıştır. Daha sonra yabancı otların DNA' sını çıkarmak için makasla küçük parçacıklara bölünerek küçük polietilen torbalara koyulmuştur (Şekil 3.10). Her yeni örneğe geçince makas %90'lık etil alkol ile temizlenmiştir. Örnekler - 20°C'de saklanmıştır.



Şekil 3.9. Enfekteli olabileceğinden şüphelenilen yabancı otların toplanması



Şekil 3.10. Yabancı ot örneklerinin küçük parçacıklara bölünerek PCR'ları yapılmak üzere polietilen torbalara aktarılması

3.2. Laboratuvar Çalışmaları

3.2.1. CTAB Yöntemi İle DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu çalışmalarında Ahrens and Seemüller (1992)'nin kullandığı CTAB yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır;

1. Enfekteli bitkilerin genç yaprak orta damarından alınan örnekler (1 g örnek için 4 ml) CTAB buffer (%2 w/v cetyltrimethylammonium bromide, 1.4 M NaCl, %0.22-n-mercaptoethanol, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl, %2 polyvinylpyrrolidone, pH 8.0) ile Tissue Lyser II aletiyle ezilmiştir (Şekil 3.11).
2. Bu ekstraksiyonda üst fazdan 600 µl alınıp (Şekil 3.10) 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine konulmuş ve tüpler 30 dakika 65°C'de su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır.

3. Daha sonra parçalama için tüpler içerisine 600 µl chloroform-izoamylalkol (24:1) ilave edilerek 1 dakika süreyle vortex yapılmıştır.
4. Tüpler 12.000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilmiştir (Şekil 3.12).
5. Üpernatanttan 500 µl alınarak yeni eppendof tüplerine aktarılmış ve üzerine 500 µl chloroform-izoamylalkol (24:1) ilave edilerek 1 dakika süreyle vortex yapılmıştır.
6. Tüpler yine 12.000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilmiştir.
7. Süpernatanttan 350 µl alınacak ve yeni eppendorf tüplerine aktarılıp daha sonra üzerine 2/3 oranında soğuk isopropanol ilave edilip -20°C de 20 dakika bekletilmiştir.
8. Daha sonra tüpler 12.000 devir/dakika da 15 dakika santrifüj edilmiştir.
9. Pellet %70' lik etil alkol ile yıkanmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur (3.14). Daha sonra pellet 100 µl TE (1X) buffer ile çözündürülüp elde edilen DNA' lar kullanılıncaya kadar -20°C' de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Böcekten Total Nükleik Asit (DNA) Ekstraksiyonu Çalışmaları

Böcekten total nükleik asit (DNA) ekstraksiyonu daha önceden toplanıp, teşhisi yapılan ve -20°C'de saklanan *C. heamatoceps*'ler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DNA ekstrasyonu DNA easy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, 69504)'in metodunda modifikasyon yapılarak gerçekleştirilmiştir. Metot sırasıyla;

Bir adet ergin/nimf 1.5 ml'lik tüp içerisine konulmuş ve bu materyal üzerine 100 µl ATL buffer'i eklenmiştir. Sonrasında tüp içerisine demir bilye eklenerek örnekler Tissue Lyser II aletinde ezilmiştir (Şekil 3.11 B).

Daha sonra tüp içerisine 10 µl proteinase K eklenmiş ve 56 °C ayarlı ısı bloğunda böcek tamamen lysis olasıya kadar (1-3 saat) tutulmuştur. Bu ısıtılma sırasında tüp ara sıra kısa süreli vortex (15 saniye) yapılarak karıştırılmıştır (3.12 A).

Ayrı bir tüp içinde örnek sayısına yetecek kadar 1:1 oranında hazırlanan Alkol (%96-100)-AL buffer karışımından (vortex yapıp homojen hale getirilmesi önemlidir) alınan sıvıdan örnek başına 200 µl tüp içine katılıp, kısa süreli vortex yapılmıştır (15-30 sn).

1.5 ml tüp içindeki materyal DNAeasy mini spin column içine bir pipet yardımıyla aktarılıp 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmış, tüpün alt tarafındaki toplanan materyal bu tüple birlikte atılmıştır (3.12 B).

DNAeasy mini spin column yeni toplanma tüpü içine yerleştirilmiş, mini spin kolon üstüne 300 µl AW1 Buffer'ı eklenmiş ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapılmıştır. Alt taraftaki toplanma tüpünde toplanan materyal bu tüple birlikte atılmıştır.

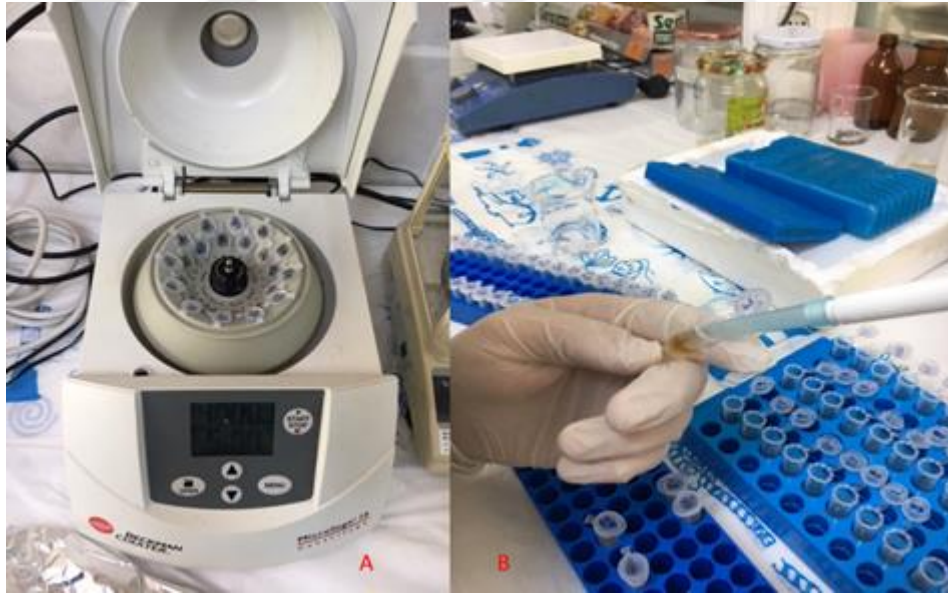
DNAeasy mini spin column yeni toplanma tüpü içine yerleştirilmiş, mini spin column üstüne 300 µl AW2 Buffer'ı eklenip 14000 rpm' de 3 dakika santrifüj yapılmıştır. Alt taraftaki toplanma tüpünde toplanan materyal bu tüple birlikte atılmıştır. (Mini spin column'un bu aşamada tüm ethanoldan kurtulması önemlidir, gerekirse 1 dak 14000 rpm yeniden santrifüj yapılabilir).

DNAeasy mini spin column'u 1.5 ml kapaklı bir tüpe (DNA'nın içinde saklanacağı temiz bir tüp) yerleştirilip üstüne 80 µl (miktar böcek iriliğine göre artırılıp azaltılabilir) AE Buffer'ı eklenmiş ve oda sıcaklığında 2-3 dak inkübe edilmiştir. S o n r a 8000 rpm'de 2 dakika santrifüj yapılmış, DNA'nın alttaki tüpe toplanması sağlanıp, mini spin kolon atılmış ve alttaki tüp gerekli etiket bilgileri yazıldıktan sonra -20°C'de muhafaza edilmiştir.

DNA'lar tüplerin dibine çöktürülünce içlerinde bulunan sıvılar dökülüp ters çevrilerek kurumaya bırakılmıştır (Şekil.3.13). Kuruduktan sonra yabancı otlar için 50 µl, meyve için 100 µl TE (1X) Buffer eklenerek DNA' ların çözünmesi için 12 saat ortam sıcaklığında bekletilmiştir. Sonrasında PCR yapmak üzere -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.11. A) DNA'ları çıkarılacak olan örneklerin tartılması, B) Örneklerin Tissue Lyser cihazında ezilmesi



Şekil 3.12. A) DNA ekstraksiyonu sırasında farklı aşamalarda kullanılan santrifüj cihazı, B) CTAB yöntemi ile DNA ekstrakte ederken Chloroform-isoamyl'den sonra üst fazı ayırma işlemi



Şekil 3.13. CTAB yönteminde son basamaktan sonra kurumaya bırakılan tüpler

3.2.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Kullanılan Primerler

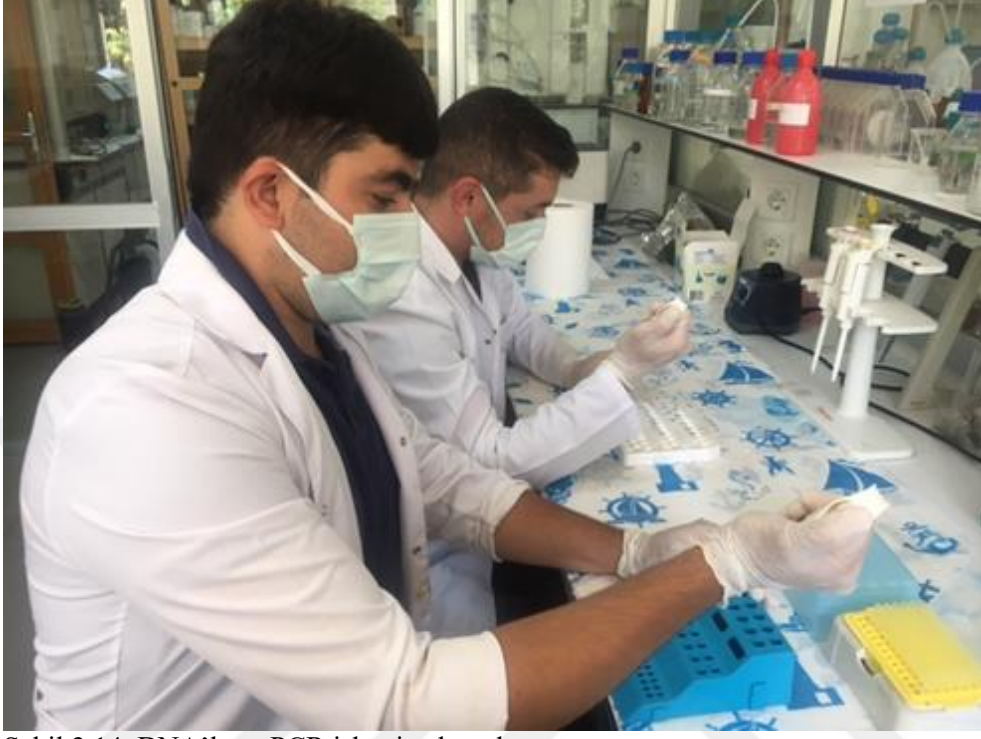
Bitkilerin genç yapraklarından toplanan örnekler ve böceklerden elde edilen DNA' lar hedef nükleik asit olarak PCR çalışmalarında kullanılmıştır. *S. citri* için Php-orf-f TGGCAGTTTTGTTTAGTCATCC, Php-orf-r GGGTCTAAACGCCGTAAAGT, P89-f Putative P89 adhesin gene (5'-ATTGACTCAACAAACGGGATAA-3') ve P89-r Putative P89 adhesin gene (5'-CGGCGTTTGTTAATTTTTGGTA-3') primer çifti kullanılmıştır. PCR çalışmaları sonucunda beklenen molekül ağırlığına sahip 190 bp ve 707 bp' lik DNA bantları görüntülenmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. PCR çalışmalarında kullanılan primerler.

Primer Adı	Dizilim (5'-3')	Hedef Gen	Molekül Ağırlığı	Referans
Php-orf1-F/R	TGGCAGTTTTGTTTAGTCATCC/ GGGTCTAAACGCCGTAAAGT	SpV1-ORF1	190 bp	Wang ve ark., 2015
P89-f/r	ATTGACTCAACAAACGGGATAA/ CGGCGTTTGTTAATTTTGGTA	Putative P89 adhesin gene	707 bp	Yokomi ve ark., 2008

3.2.4. Kimyasalların Konsantrasyonlarının Ayarlanması

PCR çalışmaları 200 µl'lik PCR eppendorf tüplerinde 50 µl hacimde yürütülmüştür. PCR çalışmalarında kullanılan DNA miktarları, nükleik asit izolasyonu sonucunda elde edilen yoğunluk dikkate alınarak sulandırılmıştır. Stok primerler 10 pmol/µl olarak ayarlanmıştır. Çalışma amacına uygun olan hedef bölgelerin çoğaltımı için gerekli olan ve 100' er mM olarak satın alınmış Deoksi nükleotid trifosfat (dTTP, dATP, dGTP, dCTP)' lardan 20' şer µl alınarak 25 mM olan 80 µl' lik dNTP karışımına 120 µl ddH₂O ilave edilmek suretiyle 200 µl' ye tamamlanmıştır. Bu karışım sonucunda dNTP' ler 10 mM olarak elde edilmiş olmuştur. DNA'ın çoğaltılması sırasında kullanılan Taq DNA Polimeraz (5u/µl) enzimi çalışmalara göre farklı miktarlarda (1,25u-2u) ve son olarak ddH₂O son hacmi tamamlayacak miktarda kullanılmıştır.



Şekil 3.14. DNA'ların PCR işlemine hazırlanması

3.2.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) İle Hedef Bölgelerin Çoğaltılması

Öncelikle 200 μl 'lik PCR eppendorf tüpüne 2 μl DNA, 1 μl ileri primer (10 pmol/ μl), 1 μl geri primer (10 pmol/ μl), 1 μl dNTP karışımı (10 mM), 5 μl Dream Taq Green Buffer (10X), 1,25u Taq polimeraz enzimi (5u/ μl) ve ddH₂O ile 50 μl 'lik son hacim oluşturulmuştur. PCR programı 2 farklı primer için farklı olarak hazırlanmıştır (Çizelge 3.2 ve 3.3).

Çizelge 3.2. P89 primer çifti için kullanılan Thermocycle programı.

1 döngü	40 döngü			1 döngü
95°C	95°C	52°C	72°C	72°C
3 dakika	30 saniye	50 saniye	1 dakika	10 dakika

Çizelge 3.3. Php-orf1 primer çifti için kullanılan Thermocycle programı.

1 döngü	40 döngü			1 döngü
95°C	95°C	58°C	72°C	72°C
3 dakika	30 saniye	45 saniye	1 dakika	10 dakika



Şekil 3.15. PCR işleminin gerçekleştirildiği Thermal Cycle Cihazı.



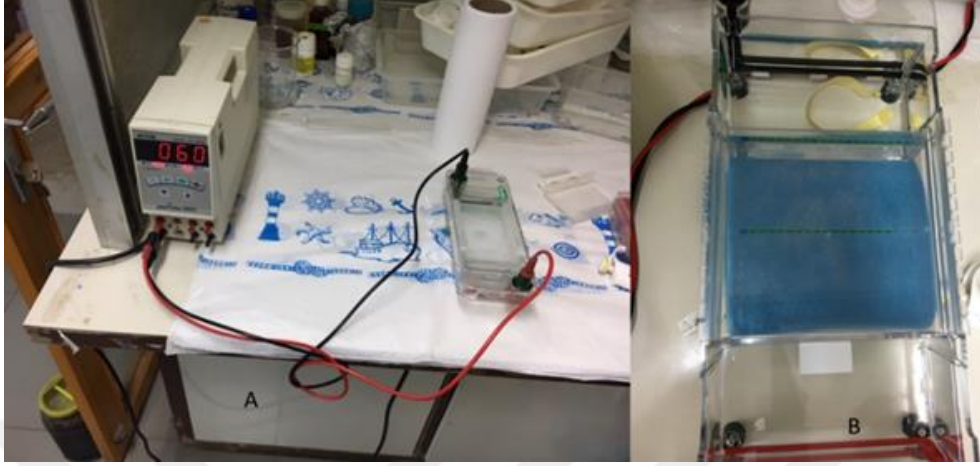
Şekil 3.16. PCR' ları yapılmış DNA'lar.

Örneklere uygulanan PCR programında 40 döngü içerisinde bulunan bağlanma sıcaklığı (annealing temperature), primerin tm (melting temperature) değeri dikkate alınarak hesaplanarak uygulanmıştır. Çalışması sonucunda çoğaltılan PCR ürünlerinden 707 bp' lik olanlar 1X' lik TAE (pH 8,3)' de hazırlanmış %1' lik agaroz jelde, 190 bp' lik olanlar ise aynı şekilde hazırlanmış %2' lik agaroz jelde kontrol edilmiştir.

3.2.6. Agaroz Jel Elektroforez Çalışmaları

Agaroz Jel Elektroforez çalışmalarında PCR çalışmaları sonucunda çoğaltılan DNA' ler kontrol edilmiştir. Agarose Jel Elektroforez çalışması Galitelli ve Minafra, (1994)'e göre yapılmıştır. İşlemler sırasıyla:

- Agarose 300 mg veya 600 mg (PCR ürünün ne kadar bp olduğuna göre) olacak şekilde 30 ml 1x TAE buffer içerisine konulmuştur.
- Bu agarose-TAE buffer karışımında agarose eriyinceye kadar ısıtılmıştır.
- Karışım tekrar 60°C' ye kadar soğumaya bırakılmış ve jel soğurken içerisine ml başına 0.1 µl gelecek şekilde ethidyum bromür eklenmiştir. Sonrasında tarak geçirilmiş olan tank içerisine boşaltılmıştır.
- Jel donduktan sonra tarak dikkatli bir şekilde çekilip tankın içerisine yerleştirilir. Daha sonra jelin üzerini 1-2 mm kadar kaplayıncaya kadar tank içerisine TAE buffer ilave edilmiştir.
- 10 µl örnek jeldeki kuyulara dikkatli bir şekilde yerleştirilmiştir. İlk kuyuya 5µl marker konulmuştur. Loading bufferdaki turuncu renk (orange G) jelin sonuna gelene kadar jel tankına elektrik akımı verilmiştir.
- Sonuçlar transilluminatör veya jel görüntüleme cihazında kontrol edilmiştir.



Şekil 3.17. Elektroforez aletine PCR ürünlerinin yüklenmesi.

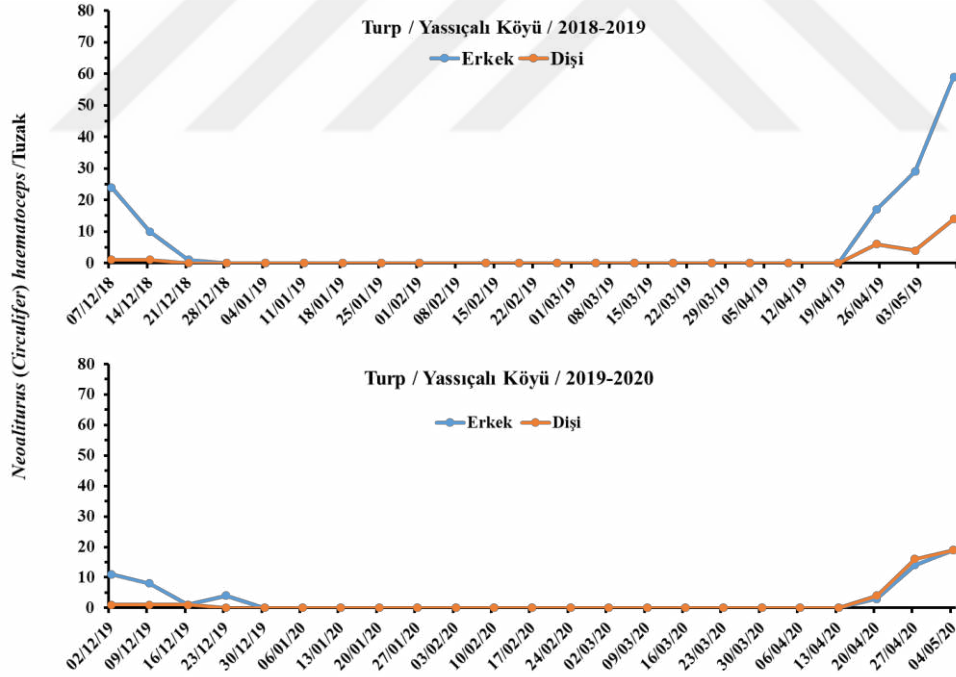


Şekil 3.18. Jelde koşturulan PCR ürünlerinin görüntülendiği cihaz

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

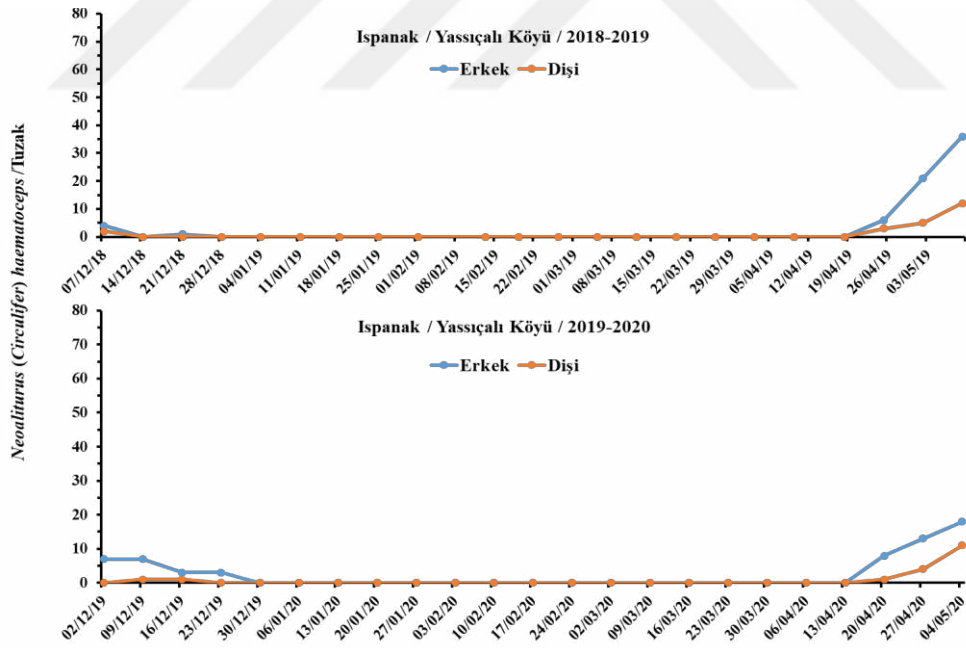
4.1. Ara Ekim Yapılan Genç Turunçgil Bahçelerindeki *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* Popülasyon Dalgalanması ve *Spiroplasma citri* Enfekte Durumu

Yürütülen çalışmalarda 2018-2019 ve 2019-2020 yıllarının turp ve ıspanak yetiştirme dönemlerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan *N. haematoceps* sayımları yapılmıştır. Sarı yapışkan tuzaklar bitkilerin toprak yüzeyine çıkışıyla birlikte asılmış olup ilk sayımlar asıldıktan bir hafta sonra yapılmıştır. Sayımlarda aralık ayı boyunca *N. haematoceps* popülasyonu tespit edilmiş ancak hava sıcaklığının düşmesiyle ocak ayından itibaren mart ayı sonlarına kadar çıkışlar olmamıştır. Ancak nisan ayı ortalarından itibaren çıkışlar tekrar hızlı bir şekilde gözlenmiştir.



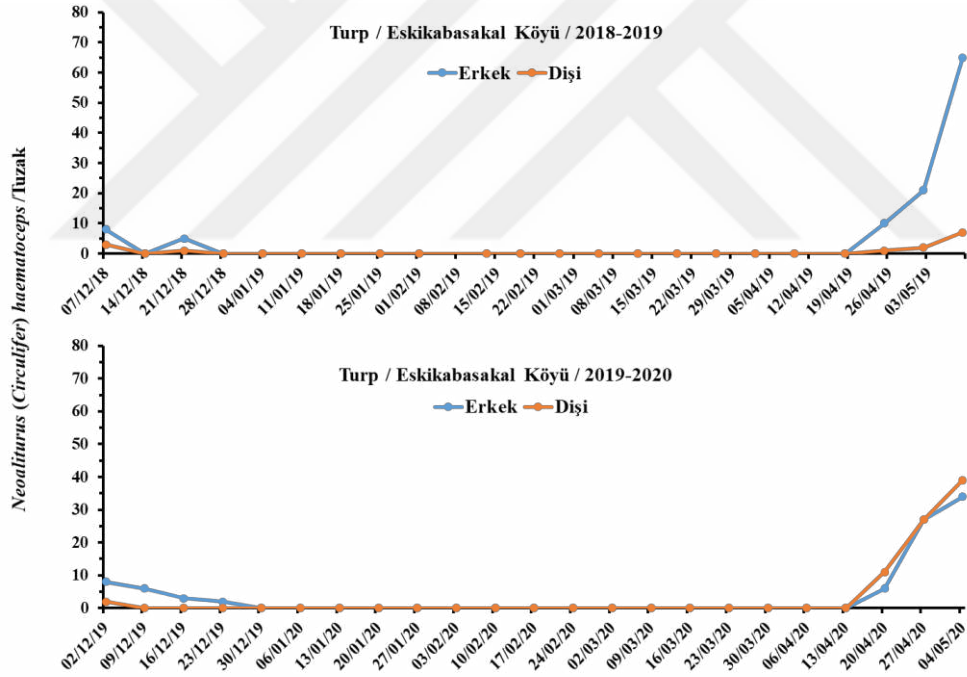
Şekil 4.1. Adana ili Kozan ilçesi Yassıçalı köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında turp parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* birey sayılarındaki dalgalanma

Yassıçalı köyünde iki farklı üretim döneminde, turunçgil bahçesinde, ara ekim olarak yetiştirilen turp bitkisinde yürütülen çalışmada sarı yapışkan tuzaklarda görülen *N. haematoceps* erginlerinin takip edilmesi sonucunda, denemenin ilk üretim döneminde, ilk yapılan sayımda 7 Aralık'ta 25 birey yakalanmıştır. Denemede 28 Aralık'a kadar yapılan sayımlarda tuzaklarda bireyler gözlenmiş ancak bu tarihen itibaren 18 Nisan'a kadar tuzaklarda birey yakalanmamıştır. 26 Nisan'da yapılan sayımda tuzaklarda görülmeye başlayan *N. haematoceps* bireyleri hasat yapılana kadar artan bir şekilde görülmeye devam etmiştir. Denemenin ikinci yılında 2 Aralık'tan 23 Aralık'a kadar yapılan sayımlarda birey yakalanırken bu tarihten itibaren 20 Nisan'a kadar yapılan sayımlarda birey gözlenmemiştir. Popülasyonun takip edildiği süre boyunca en yüksek popülasyona 4 Mayıs'ta 38 bireyle ulaşılmıştır. 2018-2019 üretim döneminde yapılan denemede sarı yapışkan tuzaklarda toplamda 166 birey yakalanırken, 2019-2020 üretim döneminde 102 birey yakalanmıştır (Şekil 4.1).



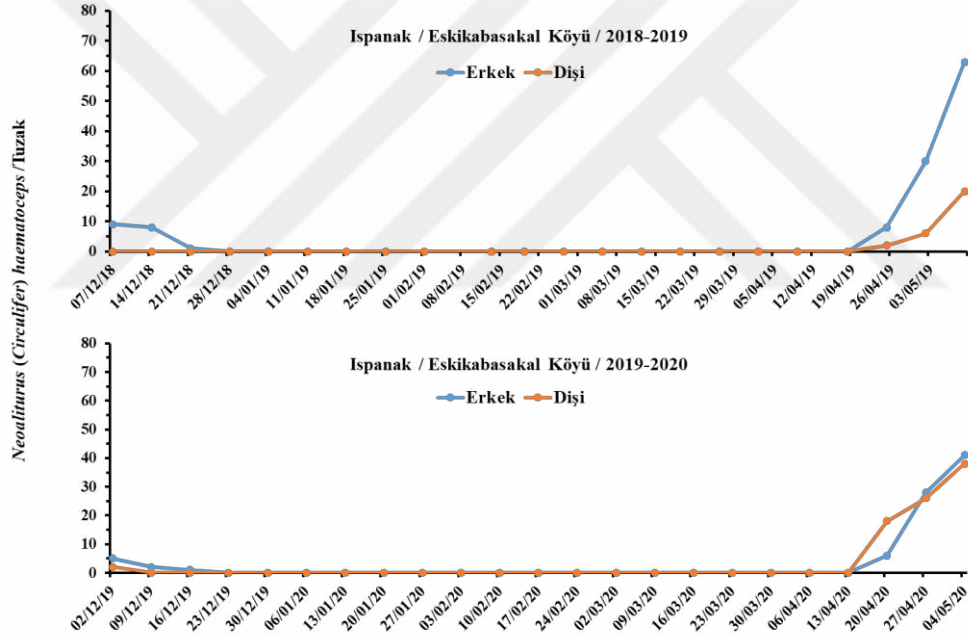
Şekil 4.2. Adana ili Kozan ilçesi Yassıçalı köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında ıspanak parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* birey sayılarındaki dalgalanma

Adana ili Kozan ilçesine bağlı Yassıçalı köyünde turunçgil bahçesinde ara ekim olarak yetiştirilen ıspanak bitkisinde sarı yapışkan tuzaklar ile *N. haematoceps*'in popülasyon takibi sonucunda denemenin birinci yılında ilk bireyler 7 Aralık'ta yakalanmıştır. Denemenin ilk yılında (2018-2019) Aralık ayında tuzaklarda toplam 47 birey yakalanmıştır. Ocak, Şubat ve Mart aylarında *N. haematoceps*'e rastlanmazken, tekrar çıkış 26 Nisan tarihinde görülmüştür. Denemenin ikinci yılındaki (2019-2020) veriler ilk yıla benzerlik gösterirken popülasyonun daha düşük seyrettiği görülmüştür (Şekil 4.2). Denemenin ilk yılında yetiştirme dönemi süresince toplam 179 birey yakalanırken, denemenin ikinci yılında 77 birey yakalanmıştır.



Şekil 4.3. Adana ili Kozan ilçesi Eskikabasakal köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında turp parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* birey sayılarındaki dalgalanma

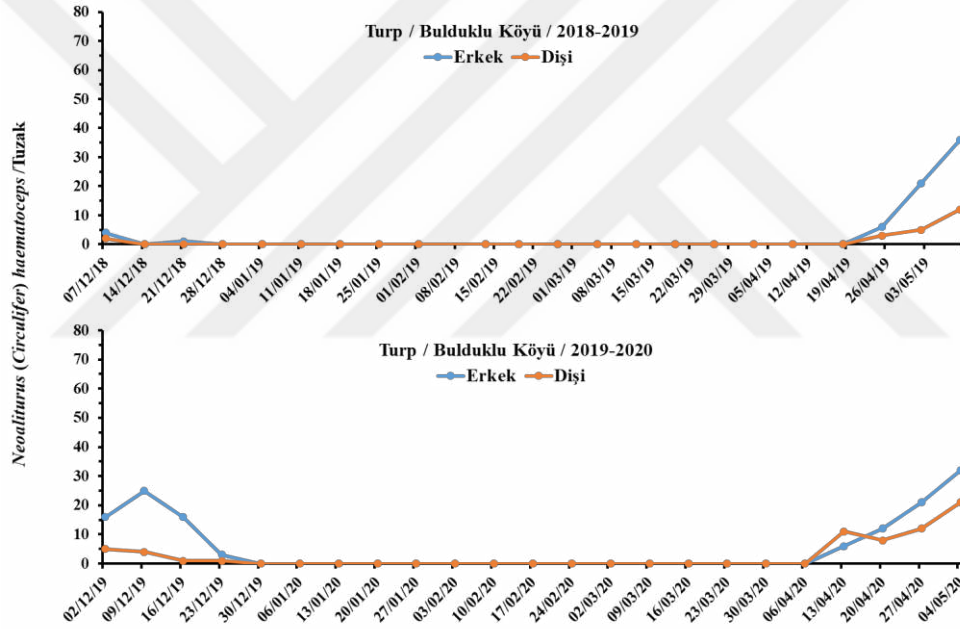
Adana ili Kozan ilçesine bağlı olan bir diğer köy olan Eskikabasakal'da yapılan çalışmada, turunçgil bahçesinde ara ekim olarak yetiştirilen turp bitkisi içerisinde yer alan sarı yapışkan tuzaklarda 2018-2019 yılında ilk çıkış tuzaklar asıldıktan bir hafta sonra tespit edilmiştir. Çalışmanın her iki sezonunda da turp bitkisinin çıkışından sonra sarı yapışkan tuzaklarda *N. haematoceps* erginleri görülmeye başlanmıştır. Ocak ayından itibaren düşen hava sıcaklığı nedeniyle Nisan ayının ikici yarısına kadar sarı yapışkan tuzaklarda zararlı gözlenmemiştir. Denemenin ilk yılında tuzaklarda toplam 123 birey yakalanırken, ikinci yılda 165 birey yakalanmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.4. Adana ili Kozan ilçesi Eskikabasakal köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında ıspanak parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan *Neolittorus (Circulifer) haematoceps* birey sayılarındaki dalgalanma

Adana ili Kozan ilçesine bağlı Eskikabasakal köyünde ara ekim olarak ıspanak ekili arazide üretim sezonu boyunca yürütülen çalışmada, 2018-2019 sezonunda sarı yapışkan tuzaklarda *N. haematoceps* erginleri 21 Aralık'a kadar

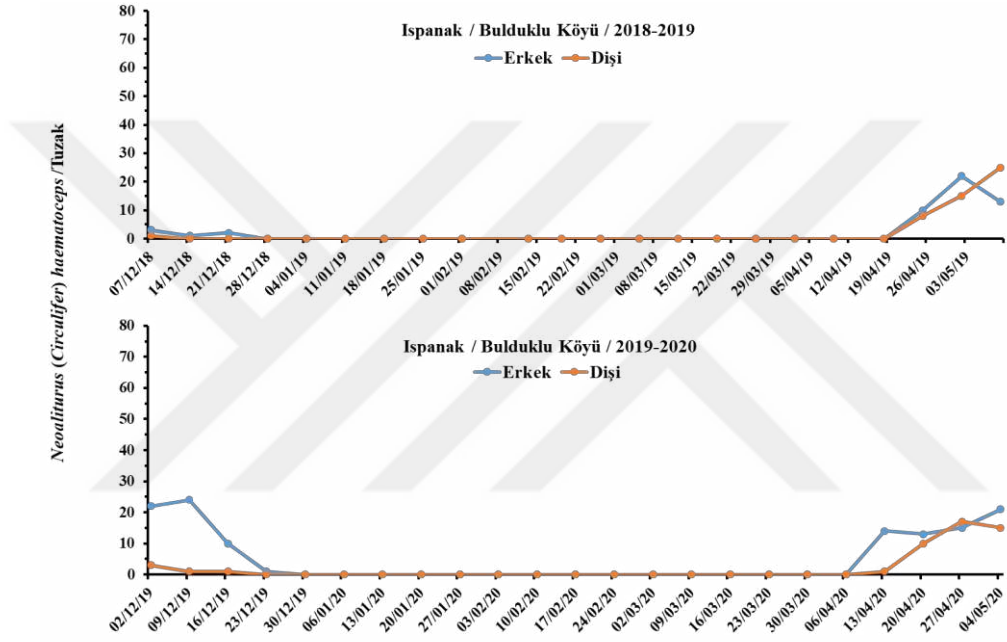
tespit edilirken ayın sonunda hava sıcaklığının düşmesi ve artan yağışlar ile birlikte 26 Nisan'a kadar sarı yapışkan tuzaklarda *N. haematoceps* yakalanmamıştır. 26 Nisan'dan itibaren haftalık olarak artışa geçen popülasyon, araziler sürülene kadar devam etmiştir. Denemenin ikinci yılında (2019-2020) ıspanak üretim sezonunda tuzaklarda 16 Aralık'a kadar birey yakalanmıştır. Düşen hava sıcaklıkları ve yağışlı havanın etkisiyle 20 Nisan'a kadar tuzaklarda bireye rastlanmamıştır. 2018-2019 üretim döneminde toplam 147 birey sarı yapışkan tuzaklara yakalanırken, 2019-2020 üretim döneminde ise 167 birey yakalanmıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.5. Adana ili Kozan ilçesi Bulduklu köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında turp parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* birey sayılarındaki dalgalanma

Adana ili Kozan ilçesi Bulduklu köyünde ara ekim olarak turp ekili arazide çalışmanın birinci yılında aralık ayında yapılan sarı yapışkan tuzakların yakaladığı birey sayısı 7 olarak tespit edilirken, ikinci yıl aralık ayında 71 birey yakalanmıştır. Her iki yılda ocak, şubat ve mart aylarında tuzaklarda hava sıcaklığının az olması

nedeniyle birey yakalanmazken ilk yıl 26 Nisan'da, ikinci yıl ise 13 Nisan'da ilk *N. haematoceps* erginleri görülmüştür. Her iki yılda Mayıs ayının başında ekili arazinin sürülmesi nedeniyle deneme sonlanmıştır. Birinci dönem (2018-2019) tuzaklarda toplam yakalanan birey sayısı 90, ikinci üretim döneminde 194 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.5).

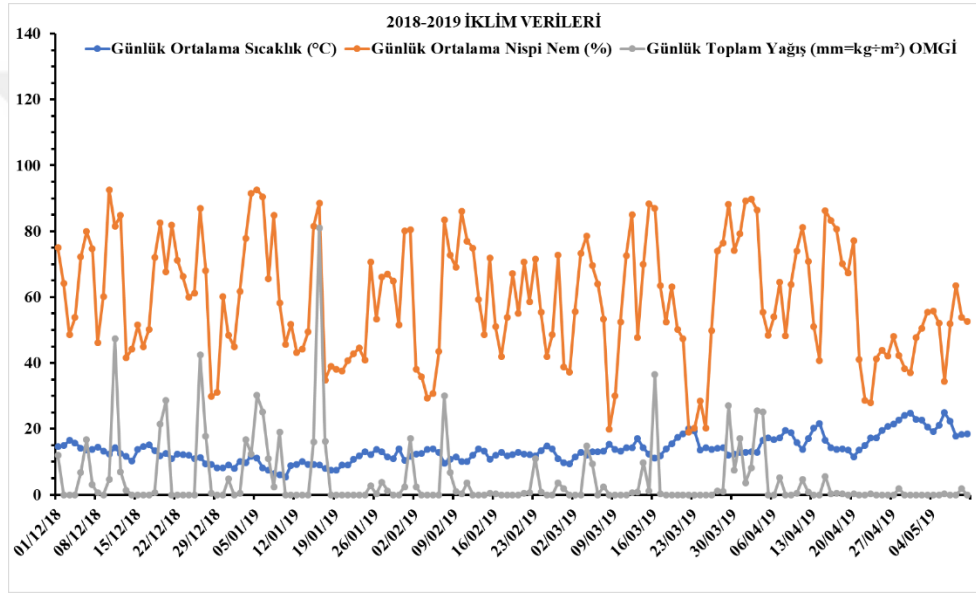


Şekil 4.6. Adana ili Kozan ilçesi Bulduklu köyünde 2018-2019, 2019-2020 yıllarında ıspanak parsellerinde sarı yapışkan tuzaklara yakalanan *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* birey sayılarındaki dalgalanma

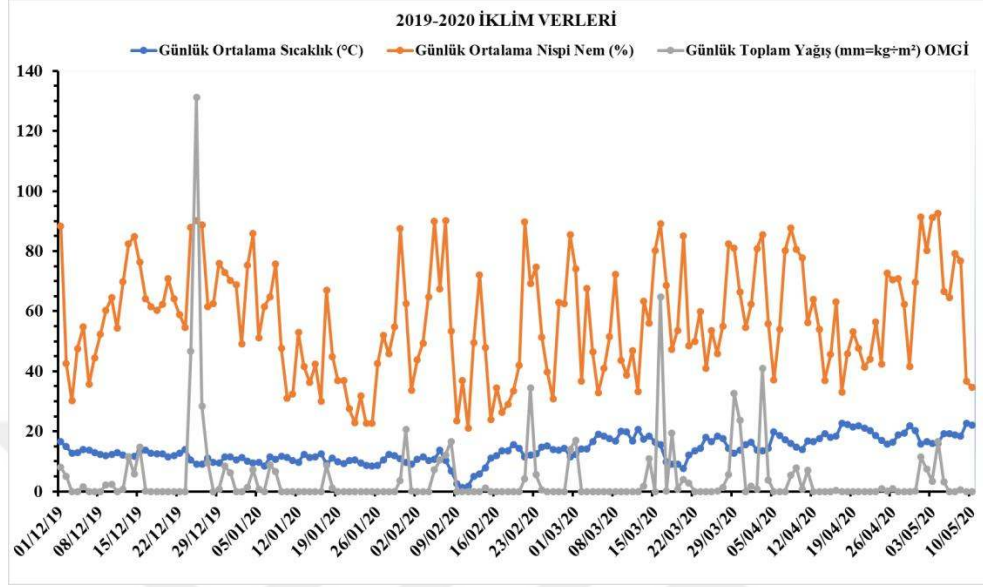
Adana ili Kozan ilçesine bağlı Bulduklu köyünde turuncgil bahçesinde ara ekim olarak yetiştirilen ıspanak bitkisinde yapılan sarı yapışkan tuzaklar ile yürütülen denemelerde ilk üretim dönemi aralık ayında 7 birey yakalanırken, ikinci üretim dönemi 62 birey yakalanmıştır. Hava sıcaklığının düşmesi ve artan yağışlarla birlikte ocak ayından itibaren tuzaklarda birey gözlenmemiş, ilk üretim döneminde ilk bireyler 26 Nisan'da, ikinci üretim döneminde ise 13 Nisan'da

yakalanmıştır. Denemenin ilk yılında tuzaklarda toplam 100 birey yakalanırken, ikinci yılda 168 birey yakalanmıştır (Şekil 4.6).

Kışı ergin olarak geçiren *N. haematoceps*, ilkbaharın ilk aylarında (Mart) yumurtalarını konukçusu olduğu bitkilere bırakmaktadır. Bu bitkilere bırakılan yumurtalardan çıkan nimfler *S. citri* ile Enfekteli bitkilerle beslendikten sonra *S. citri* ile bulaşık hale gelmektedirler.



Şekil 4.7. Adana ili Kozan ilçesi 2018-2019 yıllarındaki iklim verileri



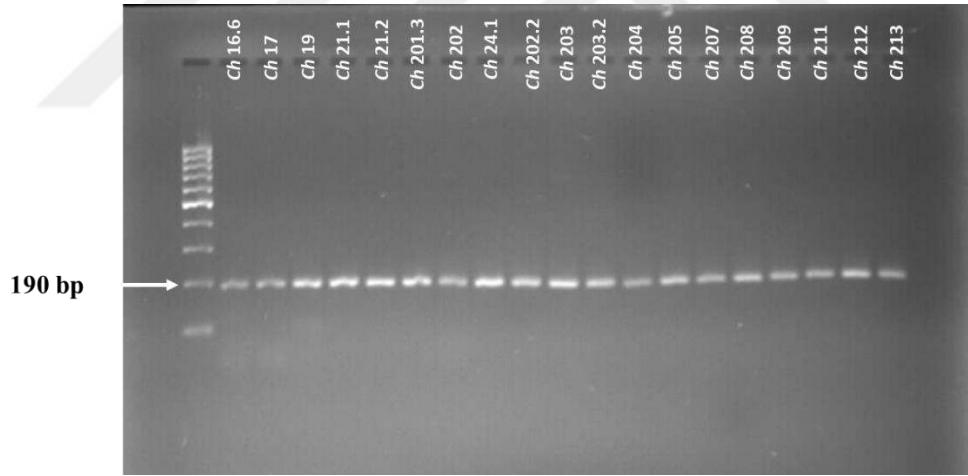
Şekil 4.8. Adana ili Kozan ilçesi 2019-2020 yıllarındaki iklim verileri

Her iki yılda benzer iklime sahip olduğu için *N. haematoceps* erginleri aynı zamanda tuzaklarda görülmeye başlamıştır. Çalışmanın ilk yılında ocak ayından itibaren artan yağmurlar sebebiyle tuzaklarda bireylere rastlanılmamıştır (Şekil 4.7.). Çalışmanın ikinci yılında ise aralık ayının sonunda artan yağışlar nedeniyle tuzaklarda birey gözlenmemiştir (Şekil 4.8.).

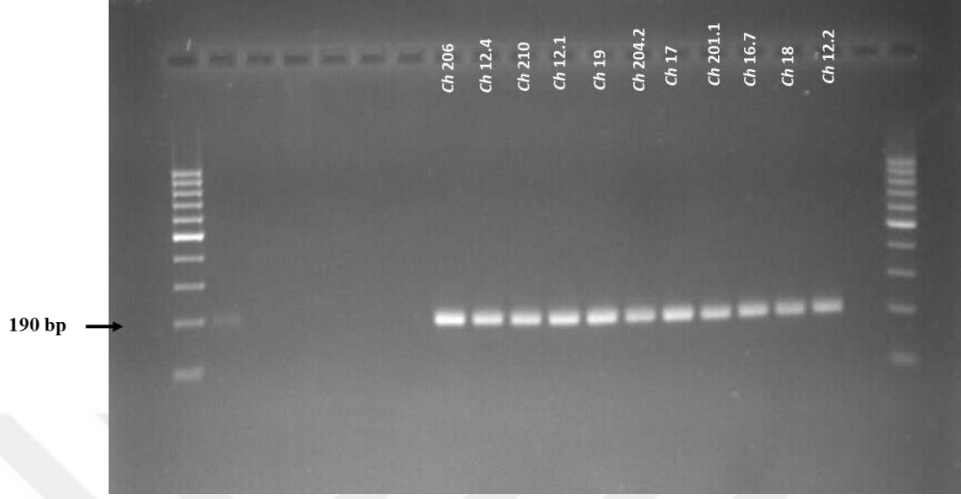
Adana ili Kozan ilçesinden farklı konumlardan toplanan *N. haematoceps* erginlerinde, *S. citri*'nin kışı geçirip geçirmediğini tespit etmek amacıyla DNA izolasyonu yapıp, PCR gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonları yapılırken tek bir bireyden izolasyon yapılarak sonuç elde edilmiştir. İlk başta kullanılan P89 primerinin pozitif sonuç vermemesi nedeniyle, Php-orf1 primeri kullanılmış ve pozitif sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.9, Şekil 4.10). Çalışmada 2019, 2020 ve 2021 yıllarında farklı aylarda toplanan erginlerden, toplamda 105 birey testlenip 79 tanesinin *S.citri* ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. 2019, 2020, 2021 yıllarında farklı aylarda toplanan *Neoaliturus (Circulifer) haematoceps* erginlerinde PCR sonucunda tespit edilen bulaşıklık oranı

Araziden Toplanma Tarihi	Testlenen <i>Neoaliturus (Circulifer) haematoceps</i> sayıları	Pozitif <i>Neoaliturus (Circulifer) haematoceps</i> sayıları
Nisan 2019	3	3
Mayıs 2019	3	2
Ağustos 2019	1	1
Kasım 2019	1	1
Aralık 2019	12	8
Ekim 2020	1	1
Aralık 2020	45	34
Ocak 2021	20	15
Mart 2021	15	12
Toplam	105	79



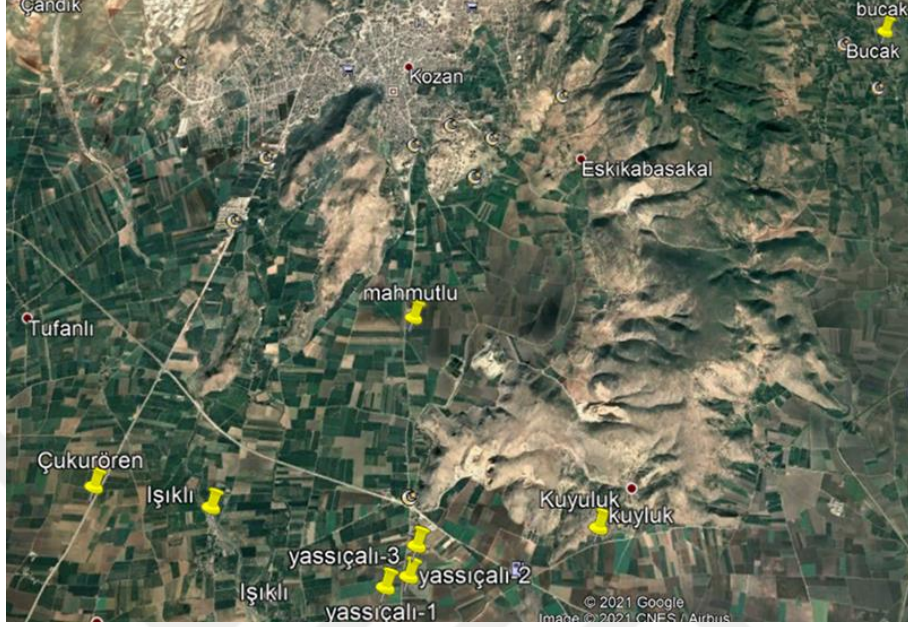
Şekil 4.9. *Neoaliturus (Circulifer) haematoceps* bireylerinden *Spiroplasma citri* ile Enfekteli olanların PCR ürünlerinin jel elektroforez işlemi sonucu oluşan görüntüsü.



Şekil 4.10. *Neoliturus (Circulifer) haematoceps* bireylerinden *Spiroplasma citri* ile Enfekteli olanların PCR ürünlerinin jel elektroforez işlemi sonucu oluşan görüntüsü.

4.2. Farklı Oranlarda *Spiroplasma citri* Enfeksiyonuna Yabancı Ot Varlığı, Bahçe İçi ve Dışı Kışlık Kültür Bitkisi Ekiminin Etkisi

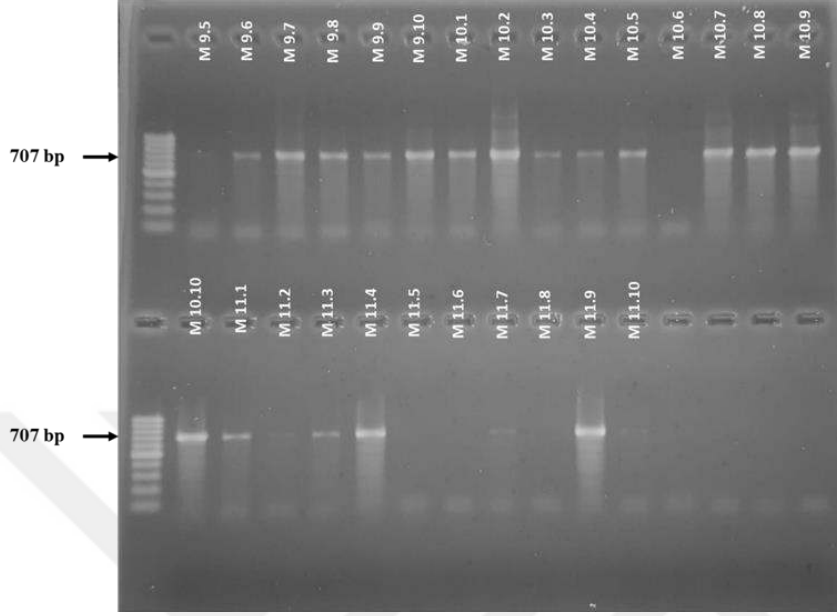
Bu amaçla Adana ili Kozan ilçesinde (Şekil 4.10) yapılan çalışmada; 5-6 yaşlarında olan sadece Washington bahçelerinde dikimden itibaren 3-4 yaşlarına kadar ne tür işlemler yapıldığı; ara ekimin yapılıp yapılmadığı, yapıldıysa hangi ürünlerin ekildiği, yabancı ot kontrolünün nasıl yapıldığı, bitişik parselinin bahçe ya da tarla tarımı yapılan araziler mi olduğu araştırılmıştır. Bu bahçeler tesis edilirken *S. citri* ile bulaşık olmayan sertifikalı fidanların tercih edildiği belirlenmiştir.



Şekil 4.11. Kışlık yabancı ot olmayan veya az olan bahçeler (Işıkli, Yassıçalı-1), Ara ekim yapılan bahçeler (Mahmutlu, Yassıçalı-3), bitişiğinde Brassicaceae ekilen bahçeler (Çukurören, Yassıçalı-2), kontrol bahçeleri (Kuyuluk, Bucak) (Google Map).

Yapılan gözlemlerde Washington Navel bahçelerindeki *S.citri*'nin tipik semptomlarıyla karşılaşılmıştır. Ağaçlarda gelişim geriliği, yapraklarda renk açılması ve kaşıklasma, meyvede şekil bozuklukları ve aynı ağaç üzerinde farklı dönemlerde bulunan meyvelerin görülmesi gibi belirtiler çalışmalara yön vermiştir.

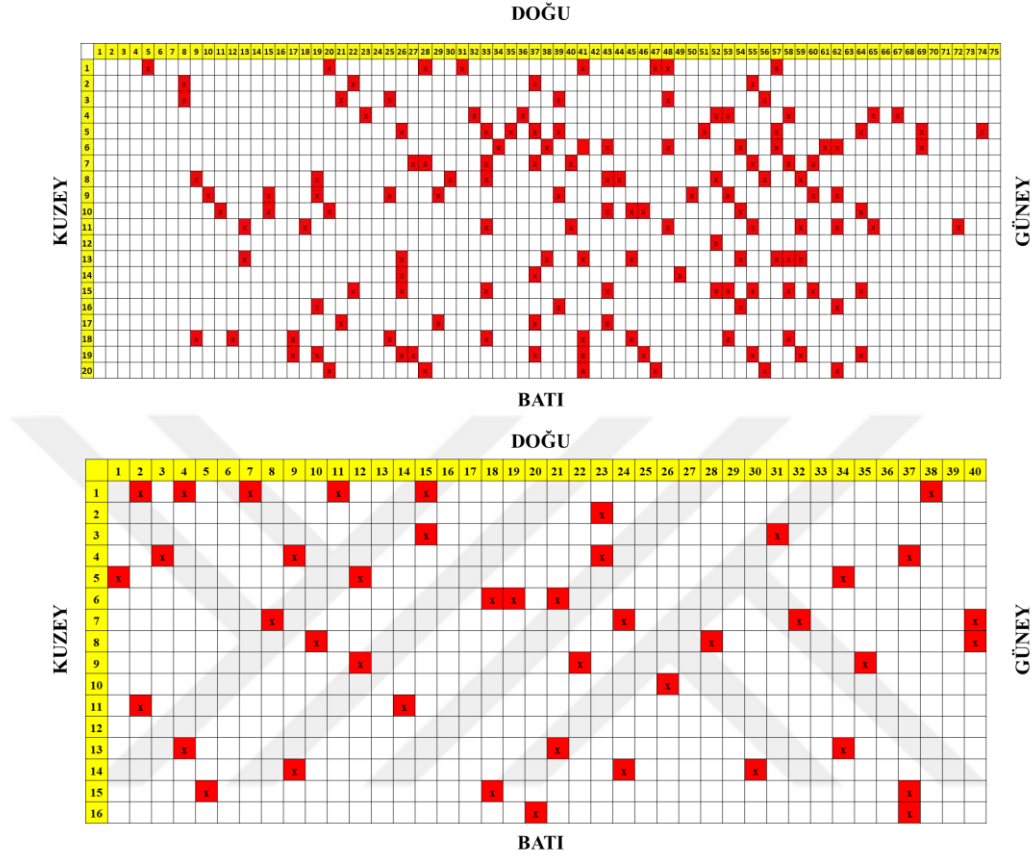
Spiroplasma citri ile enfekteli olduğu düşünülen ağaçlardan örnekler alınıp PCR testleri yapılmıştır. *Spiroplasma citri* enfeksiyonu sonucunda semptom görülen 8 farklı bahçeden alınan yaprak ve meyve örneklerinin DNA' ları izole edilmiş ve PCR'ları yapılmıştır. PCR ürünleri Jel Elektroforez cihazında görüntülenmiş ve yapraklardan izolasyon sonucunda *S. citri*'nin varlığı düşük miktarda tespit edilmiştir. Meyvelerin kolumella kısmından yapılan izolasyon sonucu yüksek oranda bulaşık olduğu belirlenmiştir. Her bir bahçeden alınan örneklerin yaklaşık %90'ında bulaşıklık tespit edilmiştir.



Şekil 4.12. Meyvelerden elde edilen DNA'ların PCR ürünlerinin jel elektroforez işlemi sonucu oluşan görüntüsü.

4.2.1. Turunçgil Bahçelerindeki Kışlık Ara Ekimin *Spiroplasma citri* Bulaşıklık Oranına Etkisi

Adana ili Kozan ilçesinde yürütülen çalışmada bahçe fidan iken ara ekim yapılmış 2 adet bahçe tespit edilmiştir. Daha önceki yıllarda ara ekim yapılan bitkilerin Brassicaceae familyasından bitkiler (turp, lahana, marul) olduğu tespit edilmiştir. Bu bahçelerde *S. citri* ile bulaşık olduğu tahmin edilen ağaçlar belirlenip bahçedeki enfekteli ağaçların bahçe içerisindeki dağılımını gösteren tablolar oluşturulmuştur.



Şekil 4.13. Ara ekim yapılmış iki bahçedeki *S. citri* ile enfekteli olabileceğinden şüphelenilen ağaçların dağılımı

Ara ekimin yapıldığı bahçelerde *N. haematoceps* bireylerine konukçuluk yapabilecek özellikle Brassicaceae familyasından bitkiler olduğu için hastalığın bu yetiştirilen ara ekim bitkilerinden turuncgillere taşınmasında önemli rolleri olabileceği kanısına varılmıştır.

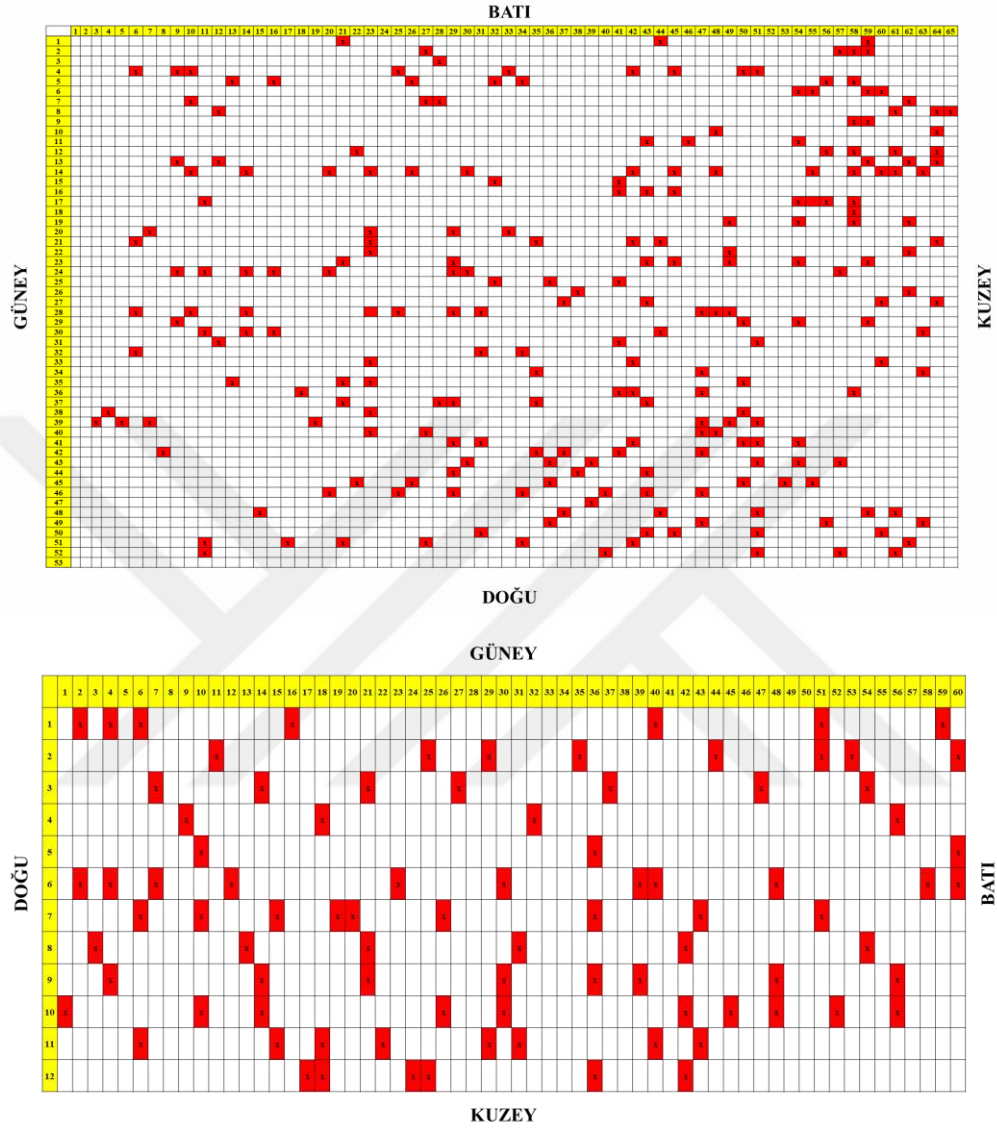
Ara ekim yapılan bahçelerde enfekte olma durumu homojen bir dağılım göstermektedir. *S.citri*'ye konukçuluk yapabilecek bitkilerin bahçe içerisinde ekilmesi hastalığın vektör böcek *N. haematoceps* ile bahçe içerisinde yayılmasına neden olabileceği düşünülmektedir. Yapılan gözlemler sonucunda 1. bahçede toplam 1500 ağaçtan 146 tanesi yani yaklaşık %10 civarında bulaşık olduğundan

şüphelenilen tespit edilmiştir. 2. bahçede ise 640 ağaçtan 44 tanesinin (%7) bulaşık olduğundan şüphelenilmiştir (Şekil 4.13).

4.2.2. Turunçgil Bahçelerinde Kışık Yabancı Ot Mücadelesinin Yeterli Yapılmamasının *Spiroplasma citri* Bulaşık Duruma Etkisi

Bahçeye genç iken ara ekim yapılmamış ama yabancı ot mücadelesi düzenli yapılmayan bahçelerde oluşan infekte olma durumu ara ekim yapılan bahçelerdeki gibi homojen dağılım göstermiştir. Bahçe içerisinde *N. haematoceps* bireylerinin konukçusu olan yabancı otların olduğu için hastalığı turunçgillere taşımada yabancı otlar kaynaklık yapmış olabileceği düşünülmektedir.

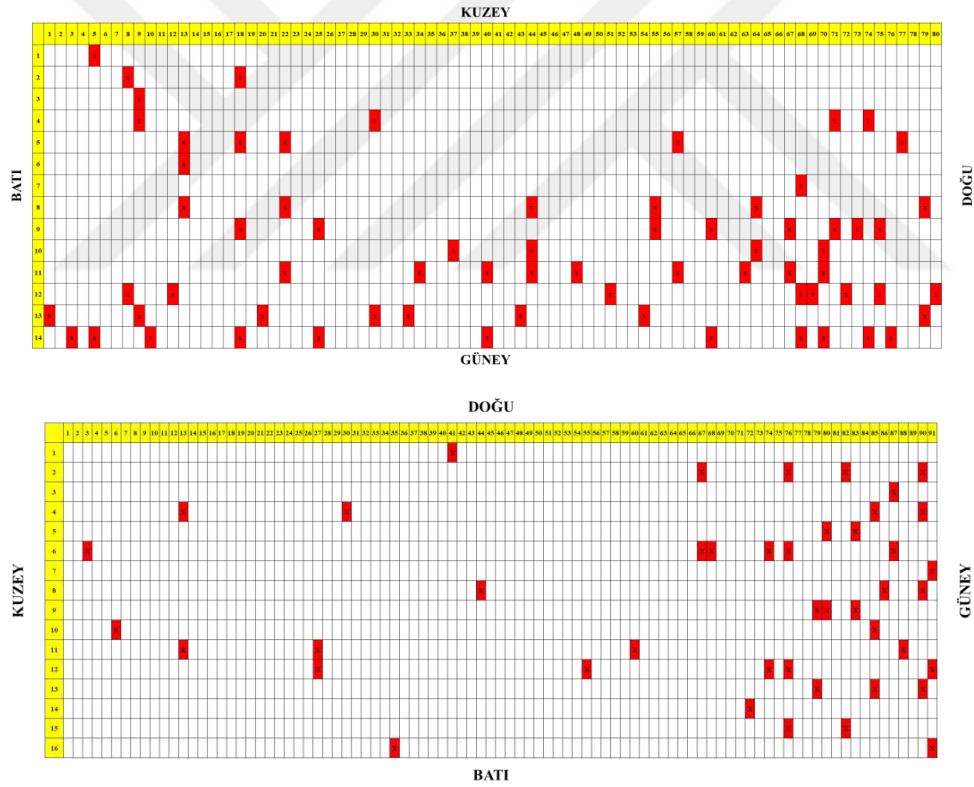
Yabancı ot mücadelesi iyi yapılmayan bahçelerde *S. citri* enfeksiyon oranları %6-12 civarlarında olduğu görülmüştür. Bahçe içerisinde yer alan Enfekteli ağaçların belirli bir bölgede yığılım göstermediği, bahçe içerisinde homojen bir dağılım olduğu gözlemlenmiştir. İlk bahçede yapılan gözlemler sonucunda 3445 ağaçtan 220 tanesinin, ikinci bahçede 720 ağaçtan 86 tanesinin Enfekteli olduğundan şüphelenilmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Yabancı ot mücadelesi iyi yapılmamış iki bahçede *S. citri* ile enfekteli olduğundan şüphelenilen ağaç dağılımı.

4.3.3. Turunçgil Bahçeleri Etrafında Yetiştirilen Brassicaceae Familyası Bitkilerinin *Spiroplasma citri* Bulaşıklık Oranına Etkisi

Adana ilinin Kozan ilçesinde tarla bitkisi olarak buğday ve mısır yoğun olarak ekilmektedir. Bunun yanında mevsimin uygun olması nedeniyle kışlık sebze türleri yoğun olarak yetiştirilmektedir. Bölgede bulunan turunçgil bahçeleri ile ekilişi yapılan bu bitkiler bitişik parsellerde yer alabilmektedir. Yapılan gözlemler sonucunda Brassicaceae familyasına ait bitkilerin yetiştirildiği tarlaların yanında yer alan bahçelerde *S. citri* yoğunluk oranının tarla tarafında daha yoğun olduğu bahçe içine doğru gittikçe yayılımın azaldığı görülmüştür.

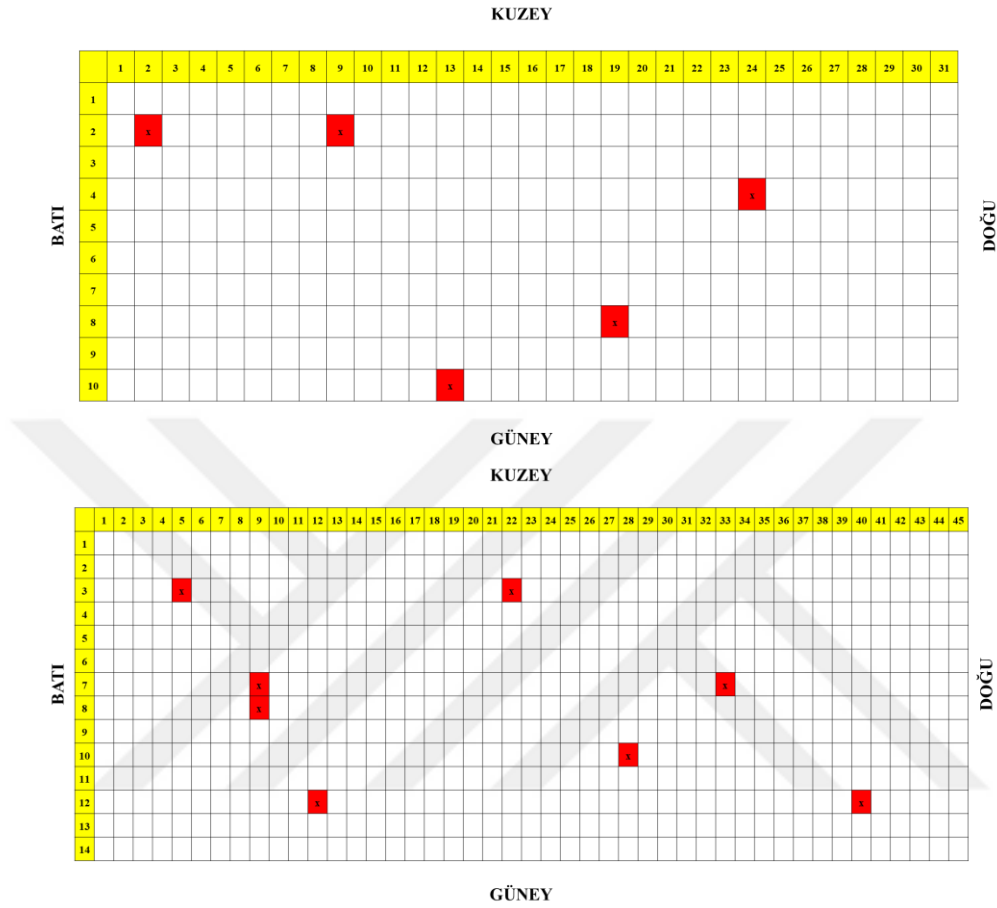


Şekil 4.15. Bitişik parselde Brassicaceae familyasından bitkilerin yetiştirildiği iki bahçede *Spiroplasma citri* ile enfekteli olabileceği düşünülen ağaçların dağılımı

Bahçelerin tarla tarımı yapılan taraflarında *S. citri* enfeksiyon yoğunluğunun fazla olduğu içe doğru enfeksiyonun çok az olduğu gözlemlenmiştir. Burada da tarlada yetiştirilen Brassicaceae familyasındaki bitkilerin konukçuluk yaptığı *N. haematoceps* bireyleri uçuşa geçip bahçeye doğru yöneldiğinde ilk konakladığı ağaçlara *S. citri*'yi daha kolay bulaştırmış olabileceği, bahçe içerisine doğru hem içeriye giren birey sayısında olabilecek azalmalar ve hem de vektör böceğin bünyesindeki *S. citri* konsantrasyonunun azalması nedeniyle hastalığın bulaşmasının daha düşük düzeylerde gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir. Birinci bahçede yapılan gözlemler sonucunda 1120 ağaçtan 68 tanesinin (%6), ikinci bahçede 1456 ağaçtan 44 tanesinin (%3) bulaşık olduğundan şüphelenilmiştir (Şekil 4.15).

4.2.4 Turunçgil Bahçelerindeki İyi Yabancı Ot Mücadelesinin Yapılması ve Ara Ekimin Yapılmamasının *Spiroplasma citri* Bulaşıklık Oranına Etkisi

Bu bahçelerde ara ekim yapılmadığı, yabancı ot mücadelesinin iyi olduğu, etrafında tarla olmadığı, yapılan gözlemlere göre *N. haematoceps* bireylerine kaynaklık yapacak bir bitki bulunmadığı için hastalık oranının çok az olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.16. *Spiroplasma citri* enfeksiyon oranlarının çok düşük olduğu bahçeler

Bu bahçelerde yabancı ot mücadelesi çok iyi yapılmış, etrafları bahçe olup, ara tarım yapılmayan bahçelerde *S. citri* enfeksiyon oranının çok düşük miktarlarda olduğu gözlemlenmiştir. Birinci bahçede yapılan gözlemler sonucunda 310 ağaçtan 5 tanesinin (%1.6), ikinci bahçede 630 ağaçtan 8 tanesinin (%1.3) bulaşık olduğundan şüphelenilmiştir (Şekil 4.16).

4.3. *Spiroplasma citri*'nin Kışlık Yabancı Ot Konukçularının Belirlenmesi

Yapılan sörveyler sonucunda *S. citri* varlığını tespit etmek amacıyla 29 yabancı ot türü ve 3 tane kültürü yapılan bitki olmak üzere toplamda 32 farklı tür toplanmıştır.

Bunlar; *Amaranthus viridis* L., *Conyza canadensis* L., *Rubus* sp. L., *Sorghum halapense* L., *Cynodon dactylon* L., *Solanum nigrum* L., *Paspalum dilatatum*, *Euphorbia heterophylla* L., *Euphorbia cyparissias* L., *Chenopodium album* L., *Convolvulus arvensis* L., *Capsella bursa pastoris* L., *Lamium amplexicaule*, L., *Malva neglecta* Wallr., *Veronica hederifolia* L., *Centaurea calcitrapa* L., *Marrivum vulgare* L., *Urtica urens* L., *Mercurialis annua* L., *Sonchus asper* L. , *Sinapis arvensis* L., *Taraxacum officinale* L., *Papaver rhoeas* L., *Fumaria officinalis* L., *Spinacia oleracea* L., *Raphanus sativus* L., *Lactuca sativa* L., *Verbascum* sp. L., *Anthemis* sp. L., *Senecio vernalis* Waldst. & Kit., *Eryngium* sp., *Carduus pycnocephalus*, L. olarak teşhisleri yapılmıştır (Şekil 4.17-4.21).



Şekil 4.17. *Spiroplasma citri* varlığından şüphelenilen ve sağlıklı görünen yabancı otlar; A) *Amaranthus viridis*, B) *Conyza canadensis*, C) *Rubus* sp D) *Sorghum halepense* E) *Solanum nigrum*, F) *Paspalum dilatatum*, G) *Euphorbia heterophylla*, H) *Chenopodium album*



Şekil 4.18. *Spiroplasma citri* varlığından şüphelenilen ve sağlıklı görünen yabancı otlar; 16) *Convolvulus arvensis*, 17) *Capsella bursa pastoris*, 18) *Lamium amplexicaule* 19) *Papaver rhoeas*, 20) *Malva neglecta*, 21) *Veronica hederifolia*



Şekil 4.19. *Spiroplasma citri* varlığından şüphelenilen ve sağlıklı görünen yabancı otlar; 22) *Centaurea calcitrapa*, 23) *Urtica urens*, 24) *Mercurialis annua*, 25) *Sonchus asper*, 26) *Sinapis arvensis*, 27) *Papaver rhoeas*



Şekil 4.20. *Spiroplasma citri* varlığından şüphelenilen ve sağlıklı görünen yabancı otlar; 28) *Fumaria officinalis* 29) *Sinapis arvensis* 30) *Spinacia oleracea* 31) *Raphanus sativus* 32) *Lactuca sativa*



Şekil 4.21. *Spiroplasma citri* varlığından şüphelenilen ve sağlıklı görünen yabancı otlar; 33) *Verbascum* sp. 34) *Anthemis* sp. 35) *Senecio vernalis* 36) *Eryngium* sp. 37) *Carduus pycnocephalus*

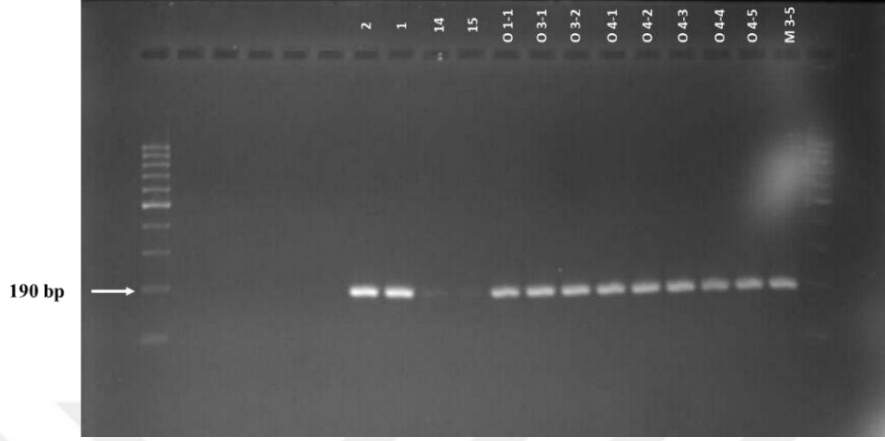
PCR sonucu Kasım, Aralık ve Nisan aylarında toplanan 32 yabancı ot türünün 12 tanesinde moleküler yöntemlerle *S. citri* varlığı tespit edilmiştir. Bunlar; *Convolvulus arvensis*, *Taraxacum officinale*, *Sorghum halepense*, *Cynodon dactylon*, *Conyza canadensis*, *Amaranthus viridis*, *Chenopodium album*, *Paspalum dilatatum*, *Euphorbia heterophylla*, *Solanum nigrum*, *Mercurialis annua*, *Fumaria officinalis*'tir.

Uygur (1991) tarafından yapılan çalışmada ise, *Sorghum halepense*, *Convolvulus arvensis*, *Salsola kali*, *Sonchus oleraceus* gibi 4 adet yabancı ot türünde etmene rastlamıştır. Kersting ve ark. (1993) ise yaptıkları çalışmada *Catharanthus roseus* (L.), *Crepis echinops* (L.), *Digitaria sanguinalis* (L.), *Echium* sp., *Salsola kali* (L.), *Sesamum indicum* (L.), *Sorghum halepense* (L.), *Xanthium* sp., *Zea mays* bitkilerinde *S. citri* varlığını ELISA yöntemi ile tespit etmiştir. Bu çalışmalar ile benzer olarak *Sorghum. halepens* ve *Convolvulus arvensis*'te *S. citri* varlığı tespit edilmiştir.

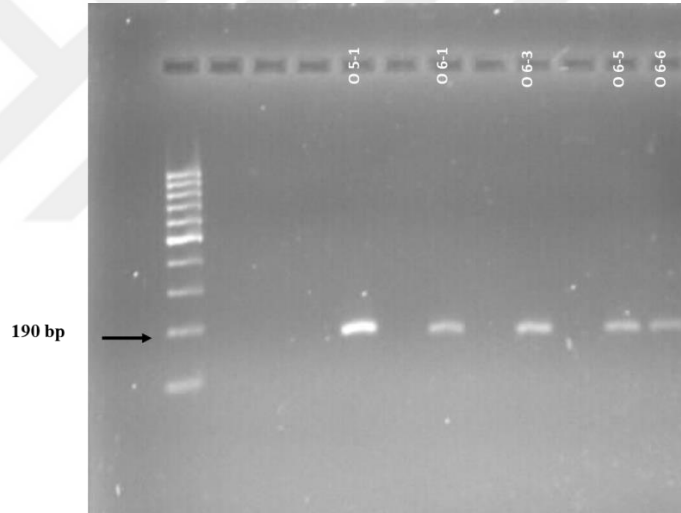


Çizelge 4.2. Farklı zamanlarda toplanan yabancı otların PCR sonucunda tespit edilen *Spiroplasma citri* ile bulaşıklık durumu

Bitki adı	Örnekleme Tarihi	Testlenen Bitki Sayısı	Pozitif Bitki Sayısı
<i>Convolvulus arvensis</i>	20/11/2020	3	1
<i>Sinapis arvensis</i>	20/11/2020	2	0
<i>Taraxacum officinale</i>	20/11/2020	2	2
<i>Sorghum halepense</i>	20/11/2020	8	5
<i>Cynodon dactylon</i>	20/11/2020	2	1
<i>Conyza canadensis</i>	20/11/2020	6	3
<i>Amaranthus viridis</i>	20/11/2020	4	2
<i>Chenopodium album</i>	20/11/2020	2	1
<i>Paspalum dilatatum</i>	20/11/2020	2	1
<i>Malva neglecta</i>	20/11/2020	4	0
<i>Euphorbia heterophylla</i>	20/11/2020	4	3
<i>Euphorbia cyparissias</i>	20/11/2020	2	0
<i>Solanum nigrum</i>	20/11/2020	2	1
<i>Rubus</i> sp.	22/12/2020	7	0
<i>Marrivum vulgare</i>	22/12/2020	1	0
<i>Sorghum halepense</i>	22/12/2020	1	1
<i>Conyza canadensis</i>	22/12/2020	3	1
<i>Amaranthus viridis</i>	22/12/2020	2	2
<i>Chenopodium album</i>	22/12/2020	1	1
<i>Convolvulus arvensis</i>	07/04/2021	1	0
<i>Sinapis arvensis</i>	07/04/2021	2	0
<i>Malva neglecta</i>	07/04/2021	1	0
<i>Capsella bursa pastoris</i>	07/04/2021	1	0
<i>Lamium amplexicaule</i>	07/04/2021	1	0
<i>Urtica urens</i>	07/04/2021	1	0
<i>Mercurialis annua</i>	07/04/2021	3	1
<i>Papaver rhoeas</i>	07/04/2021	1	0
<i>Fumaria officinalis</i>	07/04/2021	2	1
<i>Spinacia oleracea</i>	07/04/2021	2	0
<i>Raphanus sativus</i>	07/04/2021	4	0
<i>Lactuca sativa</i>	07/04/2021	3	0
<i>Veronica hederifolia</i>	07/04/2021	1	0
<i>Centaurea calcitrapa</i>	07/04/2021	1	0
<i>Sonchus asper</i>	07/04/2021	1	0
<i>Verbascum</i> sp.	29/04/2021	1	0
<i>Anthemis</i> sp.	29/04/2021	1	0
<i>Senecio vernalis</i>	29/04/2021	1	0
<i>Eryngium</i> sp.	29/04/2021	1	0
<i>Carduus pycnocephalus</i>	29/04/2021	1	0



Şekil 4.22. Yabancı otlardan elde edilen DNA'ların PCR ürünlerinin jel elektroforez işlemi sonucu elde edilen görüntüsü



Şekil 4.23. Yabancı otlardan elde edilen DNA'ların PCR ürünlerinin jel elektroforez işlemi sonucu elde edilen görüntüsü

Ekim ayı gibi kışlık yabancı ot tohumlarının büyük bir kısmı yağışlar ile birlikte çimlenmekte ve bu dönemde doğada var olan ve bazıları *S. citri* ile enfekteli *N. haematoceps* bireylerinin konaklamış olduğu yabancı otların bir kısmını *S. citri* ile bulaşık hale getirmiş olabileceği kanısını oluşturmaktadır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Spiroplasma. citri'nin *N. haematoceps* ile yayılışının araştırıldığı bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Turp ve ıspanak denemelerinin kurulduğu 2018-2019 ve 2019-2020 yetiştirme döneminde 1-3 yaş arası Washington çeşidi portakal bahçelerine asılan sarı yapışkan tuzaklarla *N. haematoceps*'lerin tüm kışı ve ilkbahar mayıs ayına kadar bahçe içinde kışı geçirdiği ve bu bitkiler üzerinde döl vererek popülasyonunu nisan sonu ve mayıs başında pik noktasına taşıdığı belirlenmiştir. Bu zaman diliminde vektörün yabancı otlardan veya konukçusu olduğu Brassicaceae familyası bitkilerinden *S. citri*'yi alarak doğada erginlerinin var olduğu dönemde turunçgil türlerine aktarmış olabileceği düşünülmektedir.
2. Washington portakal bahçeleri tesis edildiğinde içerisinde kışlık ara tarım bitkilerinin özellikle Brassicaceae familyasına ait bitkilerin yetiştirilmesi *S. citri* yoğunluğunu artırmış olabileceği belirlenmiştir. İçerisinde ara tarım yapılmamış olmasına rağmen ağaçlar 1-5 yaşlarında iken yabancı ot kontrolü düzgün bir şekilde yapılamamış bahçelerde de hastalık oranı fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bahçenin yabancı ot kontrolü iyi yapılmış ara ürün bitkisi yetiştirilmemiş ama bahçenin bitişiğinde tarla bulunması ve önceki yıllarda Brassicaceae familyasından bitkilerin yetiştiriciliğinin yapıldığı yerlerde bu bahçelerin tarlaya yakın kısımlarında hastalık yoğun olup uzaklaştıkça yoğunluğun azaldığı tespit edilmiştir. Bahçe yabancı ot mücadelesi zamanında yapılmış, içerisinde herhangi bir başka ürün yetiştirilmemiş ve etrafında boş arazi olmayan bahçelerde bulaşıklık oranının çok düşük olduğu tespit edilmiştir.
3. Sarı yapışkan tuzaklardan elde edilen ve ayrı olarak turp ekili tarlalardan ve bahçe kenarlarından atrap yardımıyla toplanan *N. haematoceps* erginlerinin

pasPCR yöntemi ile testlenmesi sonucunda örneklerin büyük bir kısmından (%75) pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Washington cinsi 8 farklı portakal bahçesinden alınan yaprak ve meyve örneklerinin PCR yöntemi ile testlenmesi sonucunda ise yapraklarda *S. citri*'nin varlığı düşük oranda tespit edilirken, meyvelerin kolumella kısmından yapılan izolasyon sonucu yüksek oranda bulaşıklık tespit edilmiştir.

4. Turunçgil bahçelerinde veya kenarlarında yoğun olarak görülen yabancı otların *S. citri* varlığı açısından PCR yöntemi ile testlenmesi sonucunda 12 farklı yabancı ot türünde *S.citri*'nin var olduğu belirlenmiştir. Bunlar; *Convolvulus arvensis*, *Taraxacum officinale*, *Sorghum halepense*, *Cynodon dactylon*, *Conyza canadensis*, *Amaranthus viridis*, *Chenopodium album*, *Paspalum dilatatum*, *Euphorbia heterophylla*, *Solanum nigrum*, *Mercurialis annua*, *Fumaria officinalis*'tir.

Neoliturus (Circulifer) haematocephus'in konukçusu olan Brassicaceae familyasından ürünlerin bahçe içerisinde yetiştirilmemesi, yabancı otların vektör böceğe konukçuluk yapması nedeniyle bahçenin yabancı ot mücadelesi iyi yapılması gerekmektedir. Yabancı ot mücadelesi ve Brassicaceae familyası bitkilerinin hasadı mümkünse *N. haematocephus*'in yumurta bırakma döneminden (mart ayı) önce yapılması *S. citri*'nin sağlıklı bitkilere bulaşmasını engelleyecektir. Bunun yanı sıra Washington grubu bahçeler içerisinde vektör hareketliliğini engellemek için bahçe içerisinde Brassicaceae familyasındaki bitkilerin yetiştirilmemesi ve bu familyaya ait bitkilerin yetiştiriciliğinin bahçe dışarısında yapılsa da bu tip bahçelere yakın yerlerde yapılmaması önerilmelidir.

KAYNAKLAR

- Alfaro-Fernández, A., Ibañez, I., Bertolini, E., Hernández-Llopis, D., Cambra, M., & Font, M. I. (2017). Transmission of *Spiroplasma citri* in carrot seeds and development of a real-time PCR for its detection. *Journal of Plant Pathology*, 371-379.
- Başpınar, H., Korkmaz S., Önelge C., Çınar A., Uygun C., & Kersting U., 1993. Studies on citrus stubborn disease and sesame phyllody in sesame and their related leafhopper vector. *J. Turk. Phytopathology* 22:1-8.
- Benazzouz, K., Belkahla, H., Hamiche, S., & Hattab, M. E. (2020). Effect of Citrus Stubborn Disease (*Spiroplasma citri*) on Chemical Composition of Orange (*Citrus Sinensis* (L) Osbeck) Essential Oil Fruits. *International Journal of Fruit Science*, 20(sup3), S1360-S1372.
- Bove, J.M., 1986. Stubborn and its natural transmission in the Mediterranean Area and the Near East. *FAO Plant ProteC. Bull.* 34(1): 15-24.
- Bove J.M., 1995. Virüs and virus- like disease of citrus in the Near East Region of Turkey (Chapter 23) pp. 337-351. *FAO Rome*.
- Calavan, E.C., D.W. Christianse., 1961. Stunting and Chlorosis induced in Young-line Citrus Plants by inoculations from Navel Orange Tree Having Symptoms of Stubborn Disease. "Proc. 2 nd. Conf. IOCV (W.C. Price, ed.), 69-76 pp. Univ. Fla. Press. Gainesville.
- Calavan, Roistacher C.C. And Christiansen D.W., 1969. Distribution of stubborn disease virus in trees of *Citrus sinensis* and *C. paradise* at different seasons. In: *Proc. 4th IOCV*, Riverside, USA.
- Calavan, Oldfield G.C., 1979. Symptomatology of spiroplasmal plant diseases. In *the Mycoplasmas*, Vol III, p. 37-64. Whitcomb R.F. and Tully W.G. (Vol. Eds). Academic Press. New York.
- Calavan, Bove, J.M., 1989. Ecology of *Spiroplasma citri*. *The Mycoplasmas*. Vol. V, 425-484, Academic Press. New York

- Çağlar, B. K., Satar, G., Baloglu, S., Drais, M. İ., ve Djelouah, K. (2020). Detection of *Spiroplasma citri* from citrus trees in Turkey by molecular techniques. Mediterranean Agricultural Sciences, 33(1), 37-42.
- Çağlayan, K. ve Çınar A., 1990. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde turunçgil ağaçlarında gözlenen stubborn hastalığı etmeni *Spiroplasma citri*'nin simptomoloji ve tanılanması üzerinde araştırmalar. Doğa –Türk. J. Agric. and Forestry 14:58-70.
- Cengiz, A., 1965. Güney Bölgesi turunçgillerinde stubborn hastalığı üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 5(4): 163-169 s.
- Childs, J. F.L. 1968 Symptoms of Stubborn disease in Florida In “Proc. 4th. Conf. IOCV”, Univ. Fla. Press. Gainesville. 204-207 p.
- Çınar, A., Kersting, U., Önelge, C., Korkmaz, S., 1993. Virus and virus-like diseases of citrus in the Eastern Mediterranean Region of Turkey. In Proc. 12th IOCV Riverside, USA. P. 397-400.
- Çınar, A., Şaş, G., 1997. *Circulifer haematoceps* vöktörü ile taşınan turunçgil stubborn hastalığı etmeni *Spiroplasma citri*'nin turunçgil ve susamda yayılması ve epidemiyolojisi üzerinde araştırmalar (Doktora Tezi). Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Adana.
- Fletcher, Schultz G. A., Davis R.E., Eastman C.E And Goodman R.M. 1981. Brittle root disease of horseradish: Evidence for an etiological role of *Spiroplasma citri*. Phytophology 71: 1073-1080.
- Fletcher, J., 1983. Brittle root of horseradish in Illinois and the distrubution of *Spiroplasma citri* in the United States. Phytopathology 73: 354-357.
- Kersting, Şengonca Ç., 1992. Detection of insect vectors of the citrus stubborn disease pathogen, *Spiroplasma citri* Saglio et al, in citrus growing area of South Turkey. J. Appl. Ent. 113, 356-364.
- Kersting, U. (1993). Symptomatology, etiology and transmission of sesame phyllody in Turkey. Journal of Turkish Phytopathology, 22(2), 47-54.

- Kersting and Başpınar, 1995. Seasonal and diurnal flight activity of *Circulifer haematocephus* (Hom., Cicadellidae), an important leafhopper vector in the Mediterranean Area and the Near East. J. Appl., 119:533-537.
- Kersting, 1996. Seasonal flight pattern of *Circulifer haematocephus* (M.et. R.) (Hom.: Cicadellidae) in young citrus orchards. In: Proc XX. Int. Conf. of Entomology. (Abst). P, 478. Firenze-Italy
- Kersting, U., Başpınar, H., Uygun, C., & Satar S. (1997). Comparison of two sampling methods for leafhoppers (Homoptera, Cicadellidae) associated with sesame in the east Mediterranean region of Turkey. Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz, 70(7), 131-135.
- Korkmaz, S., 1992 Turunçgil Stubbörn hastalığı etmeni *Spiroplasma citri*'nin aşıgözü ile taşınmasında mevsime bağılı değışiklikler. Yüksek Lisans Tezi, Adana, 72 s.
- Marcone, C. And Ragozzino A., 1995. First report of mycoplasma-like organisms on wild radish (*Raphanus raphanistrum* L.). J. Plant Diseases and Protection 102 (3) : 233-242.
- Nestel, D. and Klein M., 1995. Geostatistical analysis of leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) colonization and spread in deciduous orchards. Environ. Entomology. 24(5): 1032-1039.
- Mello, A. F. S., Yokomi, R. K., Melcher, U., Chen, J. C., Wayadande, A. C., & Fletcher, J. (2008). Genetic diversity of *Spiroplasma citri* strains from different regions, hosts, and isolation dates. Phytopathology, 98(9), 960-968.
- Meyer, J.R And Calvin S.A. 1985. Diel periodicity and trap bias in sticky trap sampling of sharpnosed leafhopper populations. J. Entomology Sci, 20(2): 237-243

- Mello, A. F. S., Yokomi, R. K., Melcher, U., Chen, J. C., Wayadande, A. C., & Fletcher, J. (2008). Genetic diversity of *Spiroplasma citri* strains from different regions, hosts, and isolation dates. *Phytopathology*, 98(9), 960-968.
- Oldfield, G.C., 1987. Leafhopper vectors of citrus stubborn disease, *Spiroplasma citri*. In: ProC. 2 nd. Int. Workshop on Leafhoppers and Planthoppers of Economic Importance. CIE. London, P. 151-159.
- Olson, E.D. 1969. Mottled-leaf Symptom on Index Plants Graft Inoculated from Citrus Trees Showing Various Symptoms of Stubborn Disease. IC. (ProC. First Inter. Citrus Symp). Vol.3: 1413-1420 pp.
- Omidi, M., Hosseini-Pour, A., Rahimian, H., Massumi, H., & Saillard, C. (2011). Identification of *Neoaliturus* (Circulifer) *haematoceps* (Hemiptera: Cicadellidae) as vector of *Spiroplasma citri* in the Kerman province of IraC. *Journal of Plant Pathology*, 167-172.
- Roistacher, C.C., 1995. A. historical review of the major graft- transmissible diseases of citrus. FAO. p. 56-60.
- Salibe, A.A., 1986. A. programme for citrus improvement and protection in Turkey. Report to the Government of Turkey, FAO, Roma, 1-84.
- Teraguchi S.E., 1986. Migration patterns of leafhoppers (Homoptera:Cicadellidae) in Ojio old field. *EnviroC. Entomology* 15:1199-1211.
- Uygur, S., Uygur F.C. ve Çınar, A., 1991. Çukurova Bölgesinde *Spiroplasma citri* 'nin konukçusu olan yabancı ot türlerinin saptanması. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi. 7-11 Ekim-İzmir, s. 311-314.
- Wang, X., Doddapaneni, H., Chen, J., & Yokomi, R. K. (2015). Improved real-time PCR diagnosis of citrus stubborn disease by targeting prophage genes of *Spiroplasma citri*. *Plant Disease*, 99(1), 149-154.
- Yokomi, R. K., Mello, A. F., Saponari, M., & Fletcher, J. (2008). Polymerase chain reaction-based detection of *Spiroplasma citri* associated with citrus stubborn disease. *Plant Disease*, 92(2), 253-260.

- Yokomi, R., Chen, J., Rattner, R., Selvaraj, V., Maheshwari, Y., Osman, F., & Vidalakis, G. (2020). Genome sequence resource for *Spiroplasma citri*, strain CC-2, associated with citrus stubborn disease in California. *Phytopathology*, 110(2), 254-256.
- Zarei, Z., Salehi, M., Azami, Z., Salari, K., & Béven, L. (2017). Stubborn disease in Iran: diversity of *Spiroplasma citri* strains in *Neolittoratus* (*Circulifer*) *haematocephus* leafhoppers collected in sesame fields in Fars Province. *Current microbiology*, 74(2), 239-246.



ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise öğrenimini Kozan'da tamamladı. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde 2007 yılında yükseköğrenime başladı. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi'ne 2008 şubat ayında yatay geçiş yaptı ve 2011 yılında Bitki Koruma Bölümünden mezun oldu. Bayer Cropscience firmasında 2012 yılında Çukurova Bölgesinde teknik destek mühendisi olarak çalıştı. Aynı yılın aralık ayında Pioneer firması Çukurova bölgesine satış ve teknik mühendisi olarak geçiş yaptı ve halen aynı firmada çalışmaya devam etmektedir. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalında 2017 yılında yüksek lisansa başlayıp 2021 yılında bitirmiş bulunmaktadır.