

Amik Ovası Havuç Ekim Alanlarında Sorun Olan Fungal ve Bakteriyel Hastalık Etmenlerin Belirlenmesi

Soner SOYLU¹, Merve KARA², Aysun UYSAL³, Şener KURT⁴, Emine Mine SOYLU⁵, İlhan ÜREMİŞ⁶

Erdal SERTKAYA⁷, İmam Adem BOZKURT⁸, Murat ÖZTÜRK⁹

^{1,2,4,5,6,7,8}Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 31034 Antakya-HATAY, ³Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi, 31034 Antakya-HATAY, ⁹Yozgat Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 66900 YOZGAT,

¹<https://orcid.org/0000-0003-1002-8958>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7320-3376>, ³<https://orcid.org/0000-0002-9067-285X>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-4545-5968>, ⁵<https://orcid.org/0000-0001-5961-0848>, ⁶<https://orcid.org/0000-0001-5937-9244>

⁷<https://orcid.org/0000-0001-9956-943X>, ⁸<https://orcid.org/0000-0002-4826-0317>, ⁹<https://orcid.org/0000-0002-9677-3651>

✉: soylu@mku.edu.tr

ÖZET

Havuç [*Daucus carota* L.], içermiş olduğu vitamin, amino asitler ve yüksek besin içeriği nedeni ile Dünya genelinde en fazla tüketilen sağlıklı sebzelerden biridir. Bu çalışmada 2018-2019 yetiştirme sezonunda Hatay ilinde havuç yetiştiriciliğinin yapıldığı Amik Ovası'nda yer alan tarlalarda karşılaşılan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Hastalık surveyleri bitkinin 3 farklı fenolojik döneminde gerçekleştirilmiştir. Hastalık belirtisi gösteren şüpheli bitkilerin yaprak, gövde ve meyvelerinden yapılan izolasyonlarda farklı türlere ait fungal ve bakteriyel izolatlar elde edilmiştir. Havuç meyvelerinde enine kahverengi kuru çöküntü şeklindeki hastalık belirtilerinin yanısıra yaprak ve gövdelerde görülen kahverengi-siyah lekelerden *Alternaria dauci*, *A. alternata*, *Rhizoctonia solani*, *R. carotae*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Geotrichum candidum*, *Pythium* spp., *Fusarium brachygibbosum*, *F. equiseti*, *F. proliferatum* ve *F. solani* türlerine ait fungal izolatları elde edilmiş olup yapılan morfolojik özelliklerinin yanısıra, moleküler ve MALDI-TOF protein profil analizleri sonucu tanımlanmışlardır. Bölgede *Erysiphe heraclei* tarafından neden olunan külleme hastalığı da belirlenmiştir. Yumuşak çürüklük belirtileri gösteren havuç meyvelerinden yapılan izolasyonlardan elde edilen saf izolatların MALDI-TOF analiz sonuçlarına göre ise yumuşak çürüklük hastalığı etmenleri *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Pseudomonas corrugata*'nın yanısıra sekonder fırsatçı (opportunistic) yumuşak çürüklük hastalığı etmenleri olan *P. marginalis*, *P. fluorescens*, *P. mediterranea*, *P. veronii*, *Erwinia rhapontici*, *E. persicina*, *Enterobacter cloacae*, *Lelliottia amnigena*, *Rahnella aquatilis* ve *Pantoea agglomerans* gibi bakteriyel hastalık etmenleri belirlenmiştir. Bilindiği kadarı ile tespit edilen fungal etmenlerden *F. brachygibbosum* ile tanımlanan bakteriyel hastalık etmenlerin tamamı ülkemizde havuçta hastalığa neden olduğu ilk kez bu çalışma ile tespit edilmiştir.

Fitopatoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 28.10.2021

Kabul Tarihi : 13.12.2021

Anahtar Kelimeler

Havuç
Fungal Hastalıklar
Bakteriyel Hastalıklar
Hatay

Determination of Fungal and Bacterial Diseases Agents Encountered in Carrot Growing Fields in Amik Plain of Turkey

ABSTRACT

Carrot [*Daucus carota* L.] is one of the most consumed healthy vegetables worldwide due to its vitamins, amino acids and high nutritional content. Fungal and bacterial disease agents, encountered in the fields where carrots are grown in the Amik Plain of Hatay province, were determined during 2018-2019 growing season. Disease surveys were carried out at three different phenological stages of the plant. Different fungal and bacterial

Phytopathology

Research Article

Article History

Received : 28.10.2021

Accepted : 13.12.2021

disease agents were isolated and subsequently identified from diseased leaves, stems and fruits. *In addition to the disease symptoms in the form of transverse brown dry depressions on carrot fruits, from the brown-black spots on the leaves and stems, Alternaria dauci, A. alternata, Rhizoctonia solani, R. carotae, Botrytis cinerea, Sclerotinia sclerotiorum, Geotrichum candidum, Pythium spp., Fusarium bra. equiseti, F. proliferatum and F. solani species were obtained and identified as a result of molecular and MALDI-TOF protein profile analyzes as well as their morphological features.* Powdery mildew caused by *Erysiphe heraclei* was also determined in the surveyed area. By the bacterial isolates obtained from carrot showing soft rot symptoms, major soft rot disease agents, such as *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *Pseudomonas corrugata* and opportunistic soft rot disease agents, such as *P. marginalis, P. fluorescens, P. mediterranea, P. veronii, Erwinia rhapontici, E. persicina, Enterobacter cloacae, Lelliottia amnigena, Rahnella aquatilis, Pantoea agglomerans*, were identified by using MALDI-TOF analyses. To the best of our knowledge, this is the first report in which fungal disease agent *Fusarium brachygibbosum* and all soft rotting bacterial disease agents were determined at species level on carrot roots growing in Turkey.

Keywords

Carrot
Fungal Diseases
Bacterial Diseases
Hatay

Atıf Şekli: Soylu S, Kara M, Uysal A, Kurt Ş, Soylu EM, Üremiş İ, Sertkaya E, Bozkurt İA, Öztürk M 2022. Amik Ovası Havuç Ekim Alanlarında Sorun Olan Fungal ve Bakteriyel Hastalık Etmenlerin Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1326-1340. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogava.vi.1015936>

To Cite : Soylu S, Kara M, Uysal A, Kurt Ş, Soylu EM, Üremiş İ, Sertkaya E, Bozkurt İA, Öztürk M 2022. Determination of Fungal and Bacterial Diseases Agents Encountered in Carrot Growing Fields in Amik Plain of Turkey. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1326-1340. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogava.vi.1015936>

GİRİŞ

Umbelliferae (Apiaceae) familyasında yer alan, kökleri tüketilen, iki yıllık bir serin iklim bitkisi olan havuç (*Daucus carota* L.) bitkisinin ana vatanı Afganistan, İran, Pakistan ve Türkiye olarak bilinir (Rubatzky, 2002; Safadi, 2008). Havuç içerdiği A, B1, B2 vitaminlerinin yanısıra sahip olduğu yüksek besin içeriğinden dolayı insan sağlığına önemli yararları bulunmaktadır (Yanmaz, 1994; Munro ve Small, 1997). Dünyanın birçok yerinde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan havuçlar genel olarak turuncu renkli olup, mor, siyah, kırmızı, beyaz ve sarı renkte tüketilen yabani çeşitleri de mevcuttur (Rubatzky ve ark., 1999).

Dünya genelinde 2019 yılında toplam 1.128.695 ha alanda yapılan havuç ekim alanlarından toplam 44.762.859 ton havuç üretimi gerçekleştirilmiştir. Dünya genelinde en fazla havuç üreten ülkeler arasında Çin 21.379.073 ton ile ilk sırada yer alırken bunu 2.769.613 ton ile Özbekistan ve 2.259.000 ton ile A.B.D izlemiş olup Türkiye ise 666.270 ton üretim miktarı ile 10. sırada yer almıştır (Anonymous, 2019). Türkiye’de 2020 yılı itibarı ile 11.311 ha alanda toplam 666.270 ton havuç üretilmiştir. Türkiye genelinde en fazla havuç üretimi 50.373 da alanda 337.820 ton üretim ile Konya ilinde gerçekleşmiş olup, bu ili 28.041 da alanda 154.944 ton üretim ile Ankara ve 22.158 da alanda 68.933 ton üretim ile Hatay illeri takip etmiştir (Anonim, 2020). Hatay ilinin önemli üretim alanlarından olan Amik Ovası

özellikle havuç bitkisinin isteği olan iklim şartlarına sahip olmasının yanısıra, ürünün ihracat, piyasa özelliği ve üreticilerin kış aylarında en önemli geçim kaynağı olması sebebi ile bölgede havuç üretimi gün geçtikçe artmaktadır (Bıyıktaş, 2018). Hatay ilinde en yoğun havuç üretimi 19.000 dekar alanda 57.000 ton ile Amik Ovası’nda yer alan Kırıkhan ilçesinde yapılmış olup bu ilçeyi 430 dekar alanda 1.290 ton üretimle Antakya, 82 da alan ve 205 ton üretim miktarları ile Kumlu ilçeleri takip etmiştir (Anonim, 2020).

Dünya genelinde sebze pazarında ve yaş sebze-meyve ihracatında önemli bir yere sahip olan havuç bitkisinin verim ve kalitesi birçok hastalık, zararlı ve yabancı otlar tarafından etkilenmektedir. Havuç bitkisi yetiştirme periyodunda olduğu kadar depolanma koşullarında da birçok bakteriyel, fungal ve viral hastalık etmenleri tarafından tehdit altındadır (Koike ve ark., 2007). Havuç bitkisinin yetiştiriciliğini, verim ve ürün kalitesini etkileyen biyotik faktörlerin başında yaprak ve toprak kökenli fungal ve bakteriyel hastalıklar gelmektedir. Toprak kökenli birçok hastalık etmeni havuç bitkisinin gerek fide döneminde gerekse ileri aşamada yumrularında (kök) ortaya çıkarak ürünün verimi ve kalitesi üzerine önemli etkide bulunur (Bruehl, 1987). Havuç yumrularında siyah çürüklük hastalığı *Alternaria radicina*; kavite lekeli hastalığı *Rhizoctonia solani* ve *Pythium violae*; beyaz çürüklük hastalığı *Sclerotinia sclerotiorum* ve *S. minor*; çökerten, taç çürüklüğü,

kök boğazı çürüklüğü, *Fusarium* kuru çürüklüğü hastalıkları *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Fusarium avenaceum*; Phytophthora kök çürüklüğü hastalığı *Phytophthora megasperma*; Pythium kök çürüklüğü hastalığı *Pythium* spp; mor kök çürüklüğü hastalığı *Helicobasidium brebissonii*; Krater çürüklüğü hastalığı *Rhizoctonia carotae* gibi fungal hastalık etmenleri tarafından neden olduğu bildirilmiştir (Marziano ve ark., 1992; Snowdown, 1991; El-Tarabily ve ark., 1996; Raid, 2006; Koike ve ark., 2007). Havuç bitkisinin yaprak ve yaprak saplarında kahverengi lezyonlar şeklinde hastalık belirtilerine genelde *Alternaria* ve *Cercospora* etmenleri tarafından neden olunurken, genç yapraklarda *Cercospora carotae*, yaşlı yapraklarda ise *Alternaria dauci*'nin hastalık belirtileri oluşturdukları bildirilmiştir (Farrar ve ark., 2004).

Fungal hastalıkların yanı sıra bakteriyel hastalık etmenleri de havuç bitkisinde önemli sorunlara neden olmaktadır. Havuç üretimini ve verimini olumsuz yönde etkileyen önemli bakteriyel hastalık etmenlerin başında yumuşak çürüklük hastalığına neden olan *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* (= *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*), *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (= *E. carotovora* subsp. *carotovora*), *Dickeya dadantii* (= *Dickeya chrysanthemi*) nin yanı sıra, yaprak yanıklığı etmeni *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*, kök ur hastalığı *Agrobacterium tumefaciens*, saçak kök hastalığı etmeni *A. rhizogenes* ve uyuz hastalığı etmeni *Streptomyces scabiei* gelmektedir (Koike ve ark., 2007). Yapılan literatür araştırmasına göre havuçta bakteriyel hastalık etmenlerinin Türkiye genelinde varlığı konusunda yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Türkiye genelinde olduğu gibi, Hatay ilinde de havuç ekim alanı ve üretim miktarında son 10 yıl içerisinde 2 katı artış gözlenmiştir. Dünya çapında yetiştiriciliği yapılan havuç ekim alanlarında hastalık etmenlerinin belirlenmesi üzerine pek çok araştırma mevcut iken, Türkiye'nin önemli havuç üretimi yapılan alanlarında sorun olan fungal ve bakteriyel hastalıklar konusunda oldukça kısıtlı çalışma bulunmaktadır (Kurt ve ark., 2004a,b; Soylu ve ark., 2005; Tülek, 2010; Uysal, 2012; Çabuk, 2014). Hatay ilinde üretimi yapılan havuç alanlarından son günlerde gerek yetiştiriciler gerekse Tarım Bakanlığı yetkilileri tarafından pek çok şikayet gündeme getirilmiştir. Bölgede yaprak ve toprak kökenli hastalık etmenlerinden *Alternaria dauci* ve *Rhizoctonia carotae* hastalık etmeni ilk kayıt bildirimini dışında, kapsamlı bir fungal ve bakteriyel kökenli hastalıklar üzerine yapılmış survey çalışması bulunmamaktadır. Havuç alanlarında önemli verim kayıplarına neden olabilen hastalık etmenlerinin Türkiye havuç alanlarındaki durumlarının yeterli olarak bilinmemesi, Hatay ili havuç ekim

alanlarındaki sorun olan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinin ortaya konulması için kapsamlı bir araştırma yapma gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Bu çalışma ile Hatay ilinin önemli havuç ekim alanlarında sorun olan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinin morfolojik ve moleküler teşhisleri ile survey alanlarındaki yaygınlıkları belirlenmiştir.

MATERYAL ve METOD

Hastalık etmenlerinin belirlenmesine yönelik survey çalışması, örnekleme yöntemleri ve örneklerin alınması

Hastalık survey çalışmaları, 2017 yılı Tarım İl Müdürlüğü verileri göz önüne alınarak Hatay ilinde 20.389 da alanda yetiştiriciliği yapılan havuç alanlarının yaklaşık % 10'unu kapsayacak şekilde en yoğun havuç ekim alanlarının yer aldığı Antakya, Kırıkhan, Kumlu ve Reyhanlı ilçelerinde 15 Ağustos 2018 ve 15 Ekim 2019 ayları arasında seksen farklı tarlada yapılmıştır. Bu amaca yönelik hazırlanan survey programı Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Hatay İl Müdürlüğü'nden alınan veriler doğrultusunda hazırlanmış olup, her ilçe için yapılması gereken örnekleme sayısı toplam ekiliş alanı üzerinden "tartılı ortalama yöntemi" (Bora ve Karaca, 1970) kullanılarak belirlenmiştir. Hastalıklı bitkiler survey yapılan tarlalardaki yaygınlığı tarlayı temsil edecek şekilde zikzak çizmek suretiyle rastgele seçilen bitkiler üzerinde olduğu gibi, hastalık etmenin izolasyonu açısından güdümlü olarak zarar görmüş bitkiler üzerinde yapılmıştır. Hastalık belirtileri gösteren şüpheli bitki toprak üstü aksamaları ve havuç kökleri kâğıt keselere konulup etiketlenmiş, daha sonra hastalık etmeninin belirlenmesi için laboratuvara getirilerek hemen izolasyonları yapılmıştır.

Fungal ve Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Yaygınlıklarının Tespiti

Bu kapsamda bitkilerin tarlalara dikimlerini müteakiben fide döneminde (Ağustos-Eylül), meyve olumu öncesi (Ekim) ve sonrası (Kasım-Nisan) farklı ilçelere surveyler yapılmıştır. Gözlem yapılan tarlalarda tüm tarlayı temsil edecek şekilde zikzaklar ile bitkiler kontrol edilmiştir. Şüpheli örnekler kodlanarak izolasyon ve kesin teşhisi yapılmak üzere laboratuvara getirilmiştir. Sonuçta hastalık yaygınlığı toplam gezilen tarlalar içinde hastalığın görüldüğü tarla sayısına göre, rastlama sıklığı ise her tarla için hastalıklı örnek sayısının o tarlada yapılan 100 bitkiye oranlanarak tespit edilmiştir.

Fungal Türlerin İzolasyonları

Fungal etmenler, tipik hastalık belirtilerinin gözlemlendiği bitkilerden yüzey sterilizasyonu yapılmak suretiyle Patates Dekstroz Agar (PDA; Merck,

Darmstadt, Germany), Czapek Dox Agar (CPA; Merck, Darmstadt, Germany), Karanfil Yaprak Parçacığı Agarı (CLA) gibi genel ve seçici besi ortamları üzerinde izole edilmek suretiyle teşhisleri yapılmıştır (Domsch ve ark., 1980). Hastalıklı bitkilerin yumruları, gövde ve yaprak dokularından hastalık etmenlerini izole etmek için bitki dokuları, çeşme suyu altında yıkanmış, enfeksiyon nedeni ile oluşmuş klorotik veya nekrotik dokuları içeren bitki dokuları (1-5 mm büyüklüğünde) steril bir bistüri ile kesildikten sonra, önce %75'lik etanol' de 1 dakika sonrada %3 lük sodyum hipoklorid içerisinde 5 dak. süreyle yüzey dezenfeksiyonları yapılmıştır. Dezenfekte edilen bu doku parçaları, steril distile suda çalkalanıp steril kurutma kağıtlarında 1-2 saat kurumaya bırakılmış, kuruyan doku parçaları, 50 mg L⁻¹ streptomycin sülfat içeren genel ve seçici besi yerleri içeren petrilere aktarılmıştır. Hastalıklı bitki dokularından alınan ve yüzey sterilizasyonu yapılmış parçalardan alınmış dokular 9 cm'lik petriye 4'er parça aktarıldıktan sonra, 27°C'de 5-7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra her bir izolatanın aktif olarak gelişen kolonilerinden hifsel diskler alınarak, taze PDA içeren petrilere aktarılmış ve 27°C'de 5 gün inkübe edilmiştir. Daha sonra spor oluşturan fungal izolatların tek spor kültürleri elde edilmiştir (Kurt ve ark., 2020). Elde edilen fungal izolatların patojenisiteleri belirti oluşturdıkları bitki kısımlarına göre üç haftalık havuç fidelerinin yapraklarında veya sağlıklı havuç yumruları üzerinde yapılmıştır (Kara ve Soylu, 2020; Soylu ve ark., 2021).

Fungal Hastalık Etmenlerin Morfolojik Karakterizasyonu

İzolasyonlar sonucu elde edilen fungal izolatların genel ve seçici besi yerleri üzerindeki koloni morfolojileri, pigment oluşumları, eşeyli ve eşeysiz formlarının varlığı, konidilerin büyüklük, şekil ve bölme yapıları, konidiofor ve dallanma şekilleri gibi karakteristik özellikler, Sentetik Nutrient Agar (SNA), V8 Juice Agar ve Karanfil Yaprak Agar (CLA) ortamları üzerinde ölçümleri, trinoküler araştırma mikroskobu (NİKON Eclipse Nİ-U Model Floresan DIC Ataçmanlı DS-Ri2) kullanılarak belirlenmiştir. Türlerin belirlenmesi için, türlere spesifik morfo-kültürel özellikleri esas alan teşhis anahtarları kullanılmıştır (Ellis, 1971; Ellis ve Holliday, 1972; Domsch ve ark., 1980; Leslie ve Summerell, 2006).

Fungal Hastalık Etmenlerin Moleküler Karakterizasyonu

Enfekteli farklı havuç organlarından izole edilen ve morfolojik ve kültürel çalışmalarla ön teşhisleri yapılmış etmenlerin morfolojik tanısını doğrulamak için ilave olarak moleküler teşhis çalışmaları yapılmıştır.

Fungal Genomik DNA Ekstraksiyonu. PDA besi

yerinde 5-7 gün boyunca geliştirilen tek spordan üretilmiş fungal kültürlerden, DNA izolasyonu yapılmıştır. Bu amaçla, PDA'da geliştirilen kültürden steril olarak alınan fungus miselleri, 2 ml ependorf tüplerine alındıktan sonra homojenizatör yardımıyla parçalanmış ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda genomik DNA izolasyon kiti (DNeasy Plant Mini Kit, Qiagen Inc., Valencia, CA) protokolü uygulanmak suretiyle DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ekstrakte edilen genomik DNA'ların miktar ve kalitesi, Qubit 3.0 fluorometer cihazı ile belirlenmiştir (Kurt ve ark., 2020).

PCR amplifikasyonu ve sekanslama. Teşhis edilen izolatların ribozomal DNA'nın ITS bölgesi için, evrensel fungal primerler ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCG-3'), ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') kullanılarak amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (White ve ark., 1990). PCR işlemi, toplam 25 µl' lik hacimde içinde bir termal cyclus (Applied Biosystems, Singapur)'da gerçekleştirilmiş ve her bir karışım, 1 x PCR tamponu, 0,2 µM dNTP, 0,5 µM primer, 1 U taq polimeraz (Invitrogen) ve 2 µl genomik DNA içermiştir. Farklı gen bölgelerine spesifik primerlerle PCR amplifikasyon koşulları, 94°C'de 3 dakika başlangıç denatürasyonunu gerçekleştirmek üzere programlanmış, bunu takiben her çevrim 94°C'de 45 saniye denatürasyon, 55°C'de 30 saniye annealing, 72°C'de 60 saniye için extensiyon ve 10 dakika boyunca 72°C'de son extensiyon olacak şekilde 35 döngüden oluşan program kullanılmıştır.

PCR ürünlerinin kalitesini belirlemek için DNA Kapiler elektroforez (QIAxcel Advanced, Qiagen, Almanya) cihazı kullanılmıştır. Bantların kalitesine göre PCR ürünleri dizilenmiştir. ITS primeri ile yapılan PCR sonuçları, sekans işlemine tabi tutulmuştur. Farklı türlere ait sekanslar BLAST programı kullanarak Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) verileri ile karşılaştırılmak suretiyle moleküler tanılamaları yapılmıştır.

Bakteriyel Hastalık Etmenlerin Karakterizasyonu

Bakteriyel hastalık etmenlerine ait izolatların izolasyonları doğrudan King B Agar (Merck, Darmstadt, Germany) seçici besi ortamları üzerine yapıldıktan sonra 25°C'de 24-48 saat inkübatörlerde bekletilmiştir. Petrilere gelişen farklı morfolojik yapılar sahip bakteri izolatları tek koloniden saflaştırılmaya gidilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987). Elde edilen tek koloniden gelişen izolatlar önce tütünde aşırı duyarlık testine tabi tutulmuş, daha sonra izolatların tümü gerek konukçusu olan havuç dilimi, gerekse patates dilimleri üzerinde yumruda çürüklük testlerine tabi tutulmuştur. Buradan tipik yumuşak çürüklük ve/veya benzer simptomlara neden olan izolatların ön seçimleri için biyokimyasal (koloni rengi, koloni formu, hücre morfolojisi, gram reaksiyonu, oksidaz ve katalaz üretimi, levan

oluşumu) testler yapılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987). Biyokimyasal testlerde benzerlik gösteren izolatlardan gerekli ön seçimler yapıldıktan sonra kalan tüm izolatların kesin tür teşhisleri için MALDI-TOF cihazının (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) kullanıldığı yöntem ile belirlenmiştir (Aktan ve Soylu, 2020).

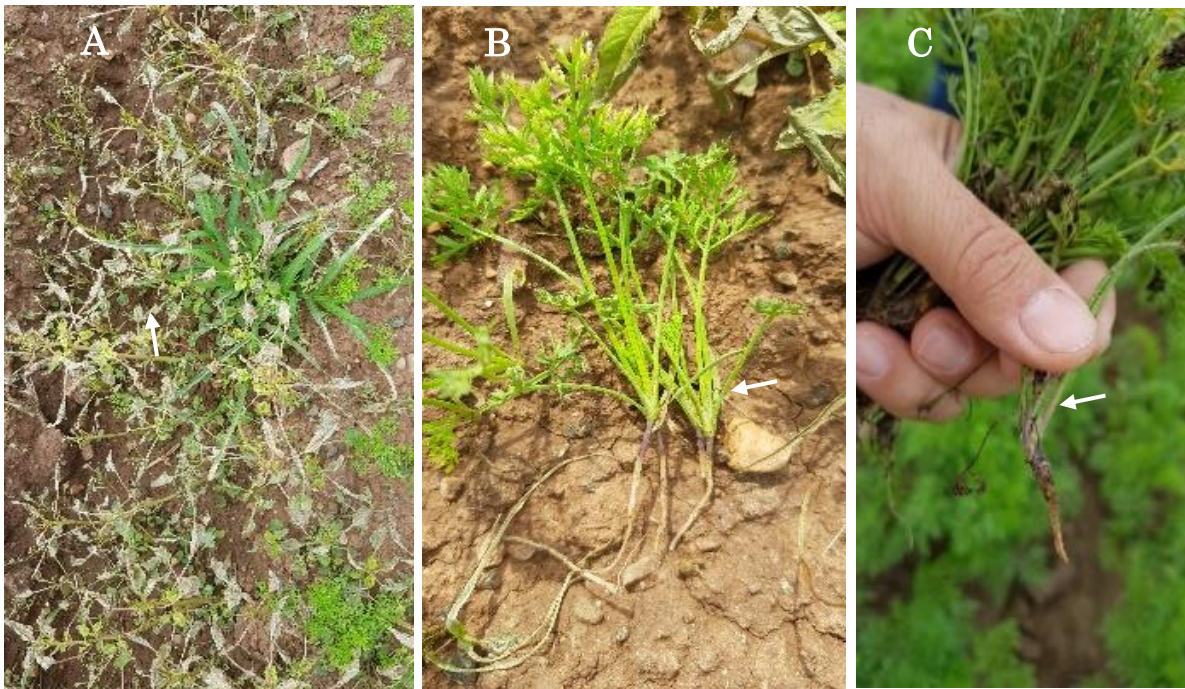
MALDI-TOF ile tanılaması yapılmış ve Türkiyede varlığı henüz bildirilmemiş izolatların moleküler tanılamaları bakterilerin 16S rDNA gen bölgesine spesifik 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') ve 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') universal primer çiftinin kullanılmasıyla belirlenmiştir (Lane, 1991). Taze bakteri kültürlerinden alınan bakteri hücrelerinden genomik DNA ticari izolasyon kiti (QIAGEN DNeasy) ve üretici firması tarafından tavsiye edilen protokol kullanılarak elde edilmiştir. Yaklaşık 50 ng kalıp DNA 1 x PCR tamponu, 0,2 µM dNTP, 0,4 µM primer, 2,5 U taq polimeraz (Invitrogen) 50 µl tüplerde reaksiyona sokulmuştur. PCR amplifikasyon koşulları, 94°C'de 2 dakika başlangıç denatürasyonunu gerçekleştirmek üzere programlanmış, bunu takiben her çevrim 94°C'de 1 dakika denatürasyon, 55°C'de 90 saniye annealing, 72°C'de 60 saniye için extensiyon ve 3 dakika boyunca 72°C'de son extensiyon olacak şekilde 35 döngüden oluşan program kullanılmıştır. Farklı türlere ait sekanslar BLAST programı kullanarak Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) verileri ile karşılaştırılmak suretiyle moleküler tanılamaları yapılmıştır.

Her bir bitki veya yumru grubundan izole edilen bakteri kolonisi ayrı izolat olarak kabul edilmiş çalışmalarda kullanılmak üzere %40'lık gliserol solüsyonu içerisinde -80°C'de saklanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Havuç Ekim Alanlarında Fungal ve Bakteriyel Hastalık Etmenleri ve Yaygınlıkları

Hatay ilinin en önemli havuç ekim alanlarından olan Antakya, Kırıkhan, Kumlu ve Reyhanlı ilçelerinde yer alan havuç alanlarına 1. sürvey tohumdan ilk çıkışların olduğu 13.09.2018 tarihinde, 2. sürvey fidelerin büyüdüğü havuç yumrularının bağladığı 08.11.2018 tarihinde, 3. sürvey ise hasat öncesi dönem olan 20.11.2018 tarihinde yapılmıştır. 2019 yılında aynı bölgelerde geç ekim yapılan alanlarda 4. sürvey 12.02.2019, 5. sürvey 06.03.2019, 6. sürvey ise 03.04.2019 tarihlerinde yapılmıştır. Hastalık etmenlerin belirlenmesine yönelik amacıyla 2018 yılında yapılan 3 sürvey çalışmasında Antakya ilçesinde 4, Kırıkhan ilçesinde 18, Kumlu ilçesinde 8, Reyhanlı ilçesinde 9 olmak üzere toplam 39 tarlada; 2019 yılında aynı bölgelerde yapılan 3 farklı sürveyde, Antakya ilçesinde 8, Kırıkhan ilçesinde 24, Kumlu ilçesinde 15, Reyhanlı ilçesinde 12 olmak üzere toplam 59 tarlada gözlemler yapılmıştır. Bölgede 2018-2019 yılında yapılan toplam 6 sürvey sonucunda toplam 98 tarla "tartılı ortalama yöntemine" göre hastalık etmenlerin tarlalardaki yaygınlığı belirlenmiştir.



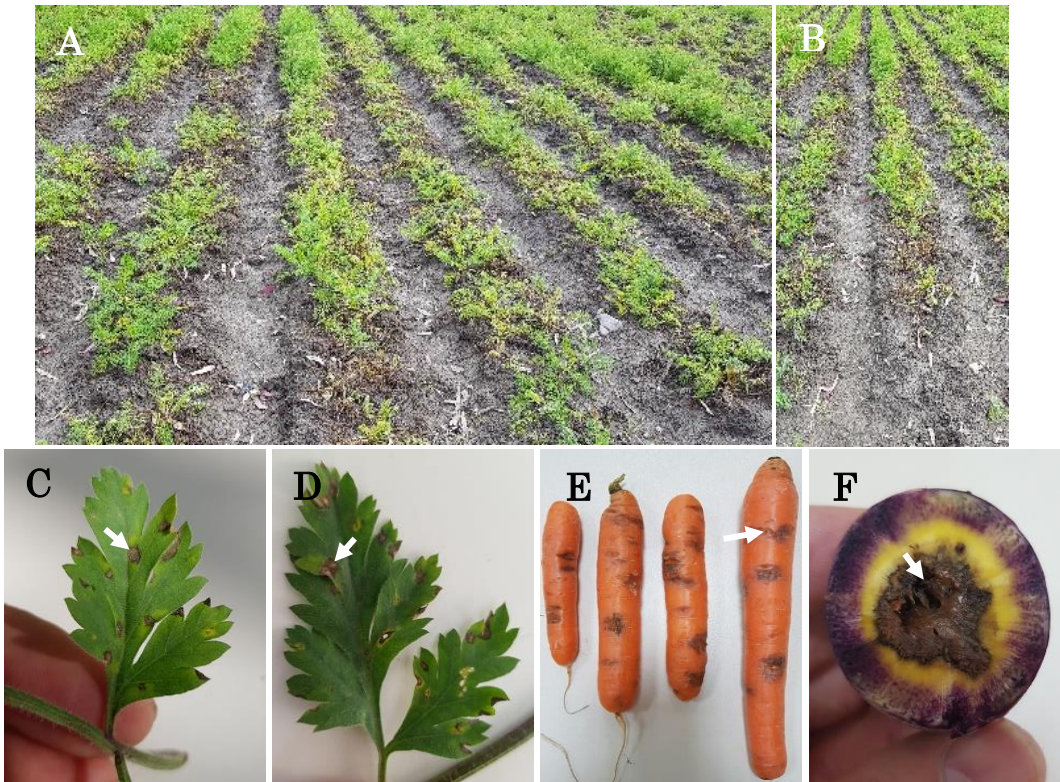
Şekil 1. Hatay ili havuç ekim alanlarında erken dönemde düşük sıklıkta karşılaşılan külleme (A) ve kök çürüklük (B ve C) hastalık belirtileri (ok).

Figure 1. Disease symptoms (arrows) caused by powdery mildew (A) and root rot (B and C) with low disease incidence at early stage of carrot plants growing in fields in Hatay province

Yapılan 1. sürveyde (13.09.2018) tarlalarda yeni çıkışların olduğu, tohumlardan çıkış yapan küçük havuç bitkilerinde genelde hastalık etmenlerinin görülmediği belirlenmiştir. Yapılan 2. sürveyde (08.11.2018) tarlalarda çıkış yapan havuç bitkilerinin 5-10 cm boyunda havuç meyvesini oluşturduğu, bazı tarlalarda *Erysiphe heraclei* etmeni tarafından neden olunan külleme hastalığı belirtilerine rastlanılmış olup (Şekil 1A), hastalığın sürvey yapılan alanlar içindeki yaygınlığının %7, rastlama sıklığının ise %10-45 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu bitkilerden bazılarının köklerinde yapılan incelemelerde *Rhizoctonia* kök çürüklük hastalık belirtisine rastlanılmıştır (Şekil 1B,C).

Dikim zamanı geç yapılan havuçların yetiştirildiği alanlara yapılan 3. ve 4. sürveyler 20.11.2018-12.02.2019 tarihlerinde yapılmıştır (Şekil 2A,B). Gözlem sırasında havuç bitkilerinin hasat

olgunluğunda (15-20 cm boyunda) yumrular oluşturduğu, bazı tarlalarda 2. sürvey çalışmalarında olduğu gibi *Alternaria* spp. tarafından neden olunan yapraklarda ıslaklık belirtisinin yanısıra sarı hale ile çevrili nekrotik lekelerin olduğu (Şekil 2C,D) hastalığın sürvey yapılan havuç tarlalarında yaygınlığının %26, rastlama sıklığının ise %19-55 arasında değiştiği belirlenmiştir. Sürvey yapılan birçok tarlada taban suyu kaynaklı hasat edilmiş meyvelerde kısmi çürümeler, yine sağlam olarak çıkan meyvelerde ise enine kahverengi çöküntü, yumuşamalar (Şekil 2E,F), bazı meyve üzerinde beyaz, gri fungal sporulasyonlar şeklinde belirtiyeye sahip meyve örnekleri gözlenmiştir. Hasat yapılan bölgedeki uzun süreli yoğun yağışlardan dolayı hasadı yapılmış olan meyvelerde yoğun miktarda (%55-65 yaygınlık, %35-80 rastlama sıklığı) enine kahverengi lekelenmelerin olduğu gözlenmiştir.



Şekil 2. Yoğun yağış ve taban suyu yüksek hasata gelmiş havuç ekim alanlarında yumru oluşturma dönemlerinde yapılan sürveylerde (A ve B), *Alternaria* yaprak yanıklık hastalık etmenleri tarafınca (C ve D) yapraklarda ıslaklık belirtisinin yanısıra sarı hale ile çevrili nekrotik lekeler (ok), (E ve F) havuç köklerinde kısmi çürümeler, enine kahverengi çöküntü (ok), ve iç dokuda yumuşak çürüklük (ok) belirtileri.

Figure 2. In the surveys (A and B) carried out during tuber formation periods in carrot cultivation areas with heavy rainfall and high groundwater, *Alternaria* leaf blight disease agents (C and D) show wetness on the leaves as well as necrotic spots (arrow) surrounded by a yellow halo, (E and F) partial rots on carrot roots, transverse brown depression (arrow), and signs of soft rot (arrow) on internal tissue.

Bölgede yapılan 5. (06.03.2019) ve 6. sürveylerde (03.04.2019) söküm işlemlerin hava koşullarının uygun olması nedeniyle bölgede yoğun sökümlerin olduğu, birçok tarlada bölgedeki yoğun yağıştan dolayı oluşan taban suyu kaynaklı meyvelerde

çürümeler, yine sağlam olarak çıkan meyvelerde ise enine kahverengi çöküntü, yumuşamalar, bazı meyve üzerinde beyaz, gri fungal sporulasyonlar şeklinde belirtiyeye sahip örnekler toplanmıştır. Bölgede ayrıca bazı tarlalarda külleme hastalığı belirtileri kayıtl edilmiştir. Bölgede önemli düzeyde alım/paketleme

yapılan tesislere yapılan ziyaretlerde, üreticiden gelen toplam ürünün %60-70 gibi oldukça yüksek oranda meyve lekelenmelerinden dolayı pazar değeri olmayan ürünlerin geldiği, bu ürünlerin yıkama

yapıldıktan sonra genelde farklı şehirlere hayvan yemi olarak veya meyve suyu fabrikalarına işlenmek üzere gönderildiği belirlenmiştir (Şekil 3A,B).



Şekil 3. (A) Bölgede yıkama ve paketlenme evlerinde tarladan gelen ürünlerin işlenmesi. (B) Yoğun yağış ve taban suyu yüksek tarlalardan hasat edilen, pazar değeri olmayan lekeli ürünlerin hayvan yemliği olarak ayrılması. (C ve D) Hayvan yemi veya meyve suyu işletmelerine yollanan pazar değeri olmayan lekeli ürünlerin (ok) genel görünümü.

Figure 3. Processing of products from the field in washing and packaging houses in the region. (B) Separation of damaged carrots with no market value, harvested from fields with heavy rainfall and high groundwater, as animal fodder. (C and D) General appearance of damaged carrots (arrow) with no market value sent to animal feed or juice factory.

Bölgede yapılan surveyler sonucunda toplanan şüpheli meyvelerden (Şekil 4) yapılan izolasyonlarda pek çok fungal hastalık etmeni izolatlar elde edilmiştir. Özellikle havuç meyvelerinde enine kahverengi kuru çöküntü şeklindeki hastalık belirtilerinin yanısıra yaprak ve gövdelerde görülen etrafı sarı hale ile çevrili olan veya olmayan kahverengi-siyah lekelerden (Şekil 4) *Fusarium* spp, *Alternaria* spp, *Rhizoctonia* spp., *B. cinerea*, *S. sclerotiorum*, *G. candidum*, *Pythium* spp. ait farklı koloni görünüşlü fungal izolatlar elde edilmiştir (Şekil 5). Elde edilen izolatların tek spor kültürlerinin patojenisite testleri bölgede en fazla ekimi yapılan ve hastalığın gözlemlendiği tarlardan sökülen sağlıklı

Maestro F1 çeşidi havuç meyvesi üzerinde yapılmıştır. Yapılan patojenisite testinde orijinal hastalık belirtilerinin gözlemlendiği meyvelerden tekrar izolasyonlar yapılarak hastalık etmenleri teyit edilmiştir.

Morfolojik özelliklerine göre ayrımı yeterli olmayan *Fusarium* ve *Alternaria* türlerinin morfolojik teşhis sonuçları ITS1-4 primerler kullanılarak moleküler olarak teyit edilmiştir. Moleküler analizler sonucunda morfolojik olarak teşhisleri yapılmış olan *F. brachygibbosum* CF1 (OK614923), *F. solani* CF9 (OK614924), *A. alternata* CA5 (OK614925), *F. proliferatum* CF13 (OK614926), *F. equiseti* CF15 (OK914927), *R. solani* CR2 (OK614928), *F. equiseti*

CF4 (OK614929), *G. candidum* CG5 (OK605021) izolatların sekans bilgileri Gen Bankasına kayıt edilmiş ve erişim numaraları alınmıştır (Çizelge 1). Moleküler tanılama sonuçlarına göre, *F. brachygibbosum* (MK752430 ile %100 benzerlik oranında), *F. equiseti* (MT967223, KU041633 ile %100 benzerlik oranında), *F. proliferatum* (MT966018 ile %100 benzerlik oranında) ve *F. solani*'nin (MN535847 ile %100 benzerlik oranında) havuç kök ve yumrularındaki belirtilerden sorumlu *Fusarium* türleri olarak belirlenmiştir. Yine *Alternaria* spp. olarak bölgede varlığı önceden

bildirilmiş olan *A. daucini*'nin yanısıra *A. alternata* CA5 izolatu da OK082076 ile %100 benzerlik oranı ile yapraklarda leke belirtilerine neden olan bir diğer *Alternaria* cinsi hastalık etmeni olarak teşhis edilmiştir (Çizelge 1). Bölgede varlığı önceden bildirilmiş olan ve *R. solani* CR2 izolatu Gen Bankasında mevcut KF372652 ile %100 benzerlik oranı ile *G. candidum* CG5 izolatu ise Gen Bankasında mevcut MT071788 ile %100 benzerlik oranı ile tespit edilen toprak kökenli fungal hastalık etmeni türü olarak teşhis edilmiştir (Çizelge 1).

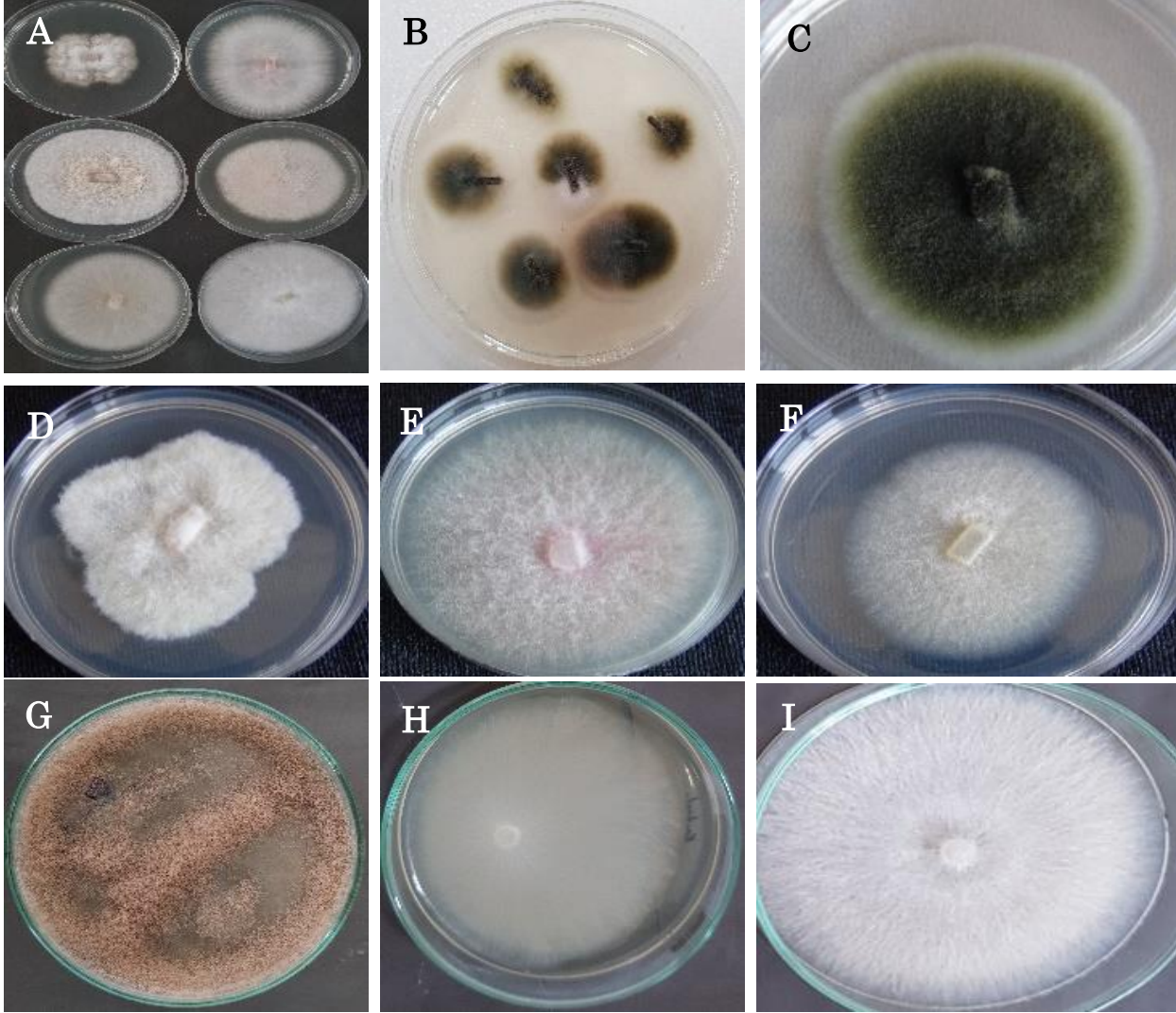


Şekil 4. Bölgede farklı sürveylerde tarlalardan toplanan havuç meyvelerinde tipik fungal hastalık belirtileri. (A) Meyve üst uç kısımlarında kararma ve üzerinde fungal sporulasyon (ok). (B ve C) Genelde yaygın olan enine kahverengi çürüklük, çöküntü ve kısmi sporulasyon (ok). (D) Meyve boyunca çatlama ve çatlak kısmın çöküntü ve çürümesi sonucu sporulasyon (ok). (E) Meyve boyunca görülen ıslak, kuru yüzey çöküntü ve lekelenmeleri (ok). (F) Meyve iç kısmında görülen kuru veya ıslak çürüklük belirtileri.

Figure 4. Typical fungal disease symptoms in carrot fruits collected from the fields in different surveys in the region. (A) Blackening of the upper ends of the fruit and fungal sporulation on it (arrow). (B and C) Generally common transverse brown rot, depression and partial sporulation (arrow). (D) Sporulation (arrow) as a result of cracking along the fruit and collapse and decay of the cracked part. (E) Wet, dry surface depression and spotting throughout the fruit (arrow). (F) Signs of dry or wet rot on the fruit interior.

Sürvey alanlarında bir diğer tespit edilen yaprak kökenli fungal hastalık, *Erysiphe heraclei* tarafından neden olunan külleme hastalığıdır. Hastalık belirtileri daha çok yaşlı yaprakların üst kısmında, kısa konidifor üzerinde zincir şeklinde konidilerin oluşturduğu beyaz kül tabakası şeklindedir. Hastalık

bölgede Ekim 2018 (2. sürvey) ile Mart-Nisan 2019 tarihlerinde (5. ve 6. Sürvey) yapılan sürveylerde özellikle bitkinin orta ve alt kısımlarındaki yaşlı yapraklarında (ortalama %15-18 yaygınlık, %21-35 rastlama sıklığı) gözlenmiştir.



Şekil 5. (A) Bölgede farklı sürveylerde tarlalardan toplanan havuç bitkileri üzerinde tipik fungal hastalık belirtilerinden izole edilmiş farklı türlere ait fungal koloniler. (B ve C) Yaprak ve gövdelerdeki leklerden gelişen *Alternaria* spp. (D) Meyve lezyonlarından elde edilen *Pythium* sp. (E ve F) *Fusarium* spp., (G) *Botrytis cinerea*, (H) *Geotrichum candidum* ve (I) *Rhizoctonia carotae* izolatlarına ait fungus kültürleri.

Figure 5. (A) Fungal colonies of different species isolated from typical fungal disease symptoms on carrot plants collected from fields during different surveys in the region. (B and C) *Alternaria* spp., (D) *Pythium* sp., (E-F) *Fusarium* spp., (G) *Botrytis cinerea*, (H) *Geotrichum candidum* and (I) *Rhizoctonia carotae* isolates obtained from fruit lesions.

Yakın zamanda bölgede yetişen havuç tarlalarında sorun olan yabancı ot türlerinin belirlenmesine yönelik yapılmış çalışma dışında (Üremiş ve ark., 2020), bölgede ve ülkede havuçlarda sorun fungal hastalıkların belirlenmesi üzerine oldukça kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Daha önce bölgede yürütülen ön çalışmada Amik Ovası'nda yetişen havuç

meyvelerinden krater çürüklüğü hastalığı etmeni *R. carotae* ile *Alternaria* yaprak yanıklığına neden olan *A. dauci* izole edilmiş olup Türkiye için havuçlarda hastalık etmeni olarak varlığı ilk kez bildirilmiştir (Kurt ve ark., 2004a; Soylu ve ark., 2005). Ankara ili havuç ekim alanlarında görülen hastalıklar üzerine yapılan çalışmada, yaprak ve toprak kökenli hastalık

etmenlerinden *Alternaria radicina*, *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. dauci*, *R. solani* AG-4, *Binükleat Rhizoctonia* spp., *Erysiphe heraclei*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *Pythium amasculinum*, *P. periplocum* ve *Gliocladium* spp. etmenleri bildirilmiştir (Tülek, 2010). Türkiye'nin bir diğer önemli havuç üretim alanı olan Konya ilinde yapılan

bir diğer çalışmada, hasat edilmiş havuç depolarında en fazla sıklıkla karşılaşılan hastalık etmenlerinin *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Rhizoctonia* spp., *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, *Mycocentrospora acerina*, *Rhizopus* spp., *Pythium* spp., *Thielaviopsis basicola*, *Aspergillus* spp., *Ulocladium* sp. ve *Penicillium* spp. olduğu bildirilmiştir (Uysal, 2012).

Çizelge 1. Hastalıklı havuç kök ve yapraklarından izole edilip morfolojik tanıları moleküler olarak teyit edilmiş fungal ve bakteriyel türlerin Gen Bankasına kayıt edilen ve eşleştikleri erişim numaraları.

Table 1. Fungal and bacterial species isolated from diseased carrot roots and leaves and their morphological diagnosis confirmed molecularly, accession numbers registered and matched in the GenBank.

Tür ve İzolat Numarası	Erişim Numarası (EN)	NCBI'da Eşleştiği EN ve Benzerlik oranı (%)
<i>Fusarium brachygibbosum</i> CF1	OK614923	MK752430- % 100
<i>Fusarium solani</i> CF9	OK614924	MN535847- %100
<i>Alternaria alternata</i> CA5	OK614925	OK082076- %100
<i>Fusarium proliferatum</i> CF13	OK614926	MT966018- %100
<i>Fusarium equiseti</i> CF15	OK614927	MT967223- %100
<i>Rhizoctonia solani</i> CR2	OK614928	KF372652- %100
<i>Fusarium equiseti</i> CF4	OK614929	KU041633- % 100
<i>Geotrichum candidum</i> CG5	OK605021	MT071788- %100
<i>Erwinia rhapontici</i> H3	MW832500	LC406414-%99.78
<i>Erwinia persicina</i> H7	OK597191	LC490819-%100
<i>Pseudomonas marginalis</i> H9	OK597192	KT825800-%100
<i>Pseudomonas veronii</i> H10	OK597190	MG972913-%100

Fusarium brachygibbosum'un gerek morfolojik gerekse moleküler analiz sonuçlarına göre Türkiye için havuçlarda hastalık etmeni olarak varlığı ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Hastalık etmenin daha önce İran'da zakkum yaprak lekesi (Mirhosseini ve ark., 2014), Çin'de mısır bitkisinde sap çürüklüğü (Shan ve ark., 2017), Kaliforniya eyaletinde bademde kanser (Stack ve ark., 2017) ve Meksika'da karpuzda solgunluk (Renteria-Martinez ve ark., 2015) ve soğan yumru çürüklüğü (Tirado-Ramirez ve ark., 2019) hastalıklarına neden olduğu bildirilmiştir. Hastalık etmenin ayrıca Çin'de yetiştirilen ayçiçeği bitkilerinin önemli yabancı otlarından tam parazit canavar otu *Orobancha cumana* bitkilerinde de solgunluğa neden olduğu bildirilmiştir (Xia ve ark., 2018).

Yine yoğun yağış almış taban suyu yüksek tarlardaki yoğun çürüme ve yumuşak çürüklük belirtisi gösteren havuç meyveleri üzerinde gelişen yumuşak çürüklük belirtilerinden (Şekil 3 ve Şekil 6) bakteriyel hastalık etmenlerin izolasyonları yapılmış, izolasyon sonucunda King B besi yerinde farklı morfolojik görünüşte floresans görünüşlü, floresan görünüşte olmayan krem, sarı, beyaz renkli kolonilerden izole edildikleri ilçe ve tarlaları temsilen 45 izolat tek koloniden saflaştırılmış ve konukçusu olan havuç ile patates dilimleri üzerinde yumuşak çürüklük (Şekil 7) ve tütün yaprağında HR testleri yapılmıştır. Test edilen izolatlardan *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* tütünde HR reaksiyonuna neden olurken, diğer izolatlar çok zayıf veya HR

reaksiyonuna neden olmamıştır.

Yumuşak çürüklük gösteren yumrulardan yapılan izolasyonlardan elde edilen 45 saf bakteri izolatının MALDI-TOF protein profil analiz sonuçlarına göre ise yumuşak çürüklük hastalığı etmenleri *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Pseudomonas corrugata*'nın yanısıra fırsatçı (opportunistic) yumuşak çürüklük hastalığı etmenleri olan *P. marginalis*, *P. putida*, *P. veronii*, *P. fluorescens*, *P. mediterranea*, *E. rhapontici*, *E. persicina*, *Enterobacter cloacae*, *Lelliottia amnigena*, *Rahnella aquatilis* ve *Pantoea agglomerans* gibi türler elde edilmiştir. Bu türler tekrar sağlıklı havuç meyvelerine verildiğinde sadece *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Pseudomonas corrugata* yumuşak çürüklük hastalığı belirtisine sebep olurken, diğer etmenlerin inokulasyon noktasında tek başlarına tarlada görülen semptomlara benzer semptomları oluşturmadıkları, ancak *P. marginalis*, *P. mediterranea*, *P. veronii* gibi *E. rhapontici* ve *E. persicina* izolatlarının sadece inokulasyon noktasında çok zayıf yumuşamaya neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 7).

Türkiyede havuçlarda sorun olan bakteriyel hastalıkların belirlenmesi üzerine oldukça kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Daha önce bölgede yürütülen ön çalışmada Amik Ovası'nda yetişen havuç meyvelerinden *Erwinia* spp. ve floresan *Pseudomonas* spp. izole edilmiş olup, detaylı olarak tür ayırımına gidilememiştir (Kurt ve ark., 2004b). Bu çalışmada

gerek biyokimyasal gerekse MALDI-TOF analiz sonuçlarına göre bakteri izolatlarının tür düzeylerinde teşhisleri yapılmıştır. Bakteriyel hastalık etmenlerin tamamının Türkiye için havuçlarda hastalık etmeni olarak varlığı ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Protein kütle parmak izini kullanan MALDI-TOF/MS tabanlı tanımlamalar, bakteri türlerinin hızlı ve güvenilir düzeyde tanımlanmasında hızlı ve hassas bir yöntemdir. Birçok durumda MALDI-TOF/MS tabanlı tanımlamalar, jel bazlı protein veya DNA parmak izi tekniklerinden daha iyi çözünürlük ve tekrarlanabilirlik gösterdiği bildirilmiştir (Saleeb ve ark. 2011; Singhal ve ark. 2015). Yapılan birçok tanımlama çalışmalarında, MALDI-TOF/MS yönteminde olduğu gibi proteomik yaklaşım kullanılarak bakteri türlerinin tanımlanması, kromatografik ve hatta DNA'ya bağlı moleküler yöntemlere alternatif olarak popüler hale gelen güvenilir bir bakteri tanımlama sistemi olduğu

kanıtlanmıştır (Panda ve ark., 2013). Çeşitli çalışmalarda MALDI-TOF/MS'in bakteri türlerinin tanımlanmasında geleneksel tanı yöntemlerinden daha doğru olduğu bulunmuştur (Pavlovic ve ark., 2012; Singhal ve ark. 2015; Aktan ve Soylu 2020; Soylu ve ark. 2020). MALDI-TOF bakteri tanımlama yönteminin doğruluğunun kanıtlandığı birçok çalışma göz önüne alındığında, havuç bitkilerinden izole edilen bakteri izolatlarının doğru şekilde tanımlandığı varsayılmıştır. MALDI-TOF tanımlama sonuçları yapılmış ve havuç patojenite testinde kısmi yumuşamalara neden olan *Pseudomonas marginalis* H9, *Pseudomonas veronii* H10, *Erwinia rhapontici* H3, *Erwinia persicina* H7 izolatların (Şekil 7) moleküler tanımlamaları 16S rDNA gen bölgesine spesifik universal primerlerle çoğaltılmış ve yapılan BLAST analizi sonucunda MALDI-TOF tanımlama sonuçlarını tamamen destekleyen türler ile eşleşmiştir (Çizelge 1).



Şekil 6. (A-C) Yoğun yağış ve taban suyu yüksek tarlardaki yoğun çürüme ve yumuşak çürüklük belirtisi gösteren havuç meyveleri. (D-F) Kısmi çürüme gösteren meyvelerin yüzeysel ve içsel dokularındaki yumuşak çürüklükler (ok). (G) Paketleme evlerinde pazar değeri olmayan yumuşak çürüklük belirtisi gösteren havuç meyvelerin (ok) genel görüntüsü.

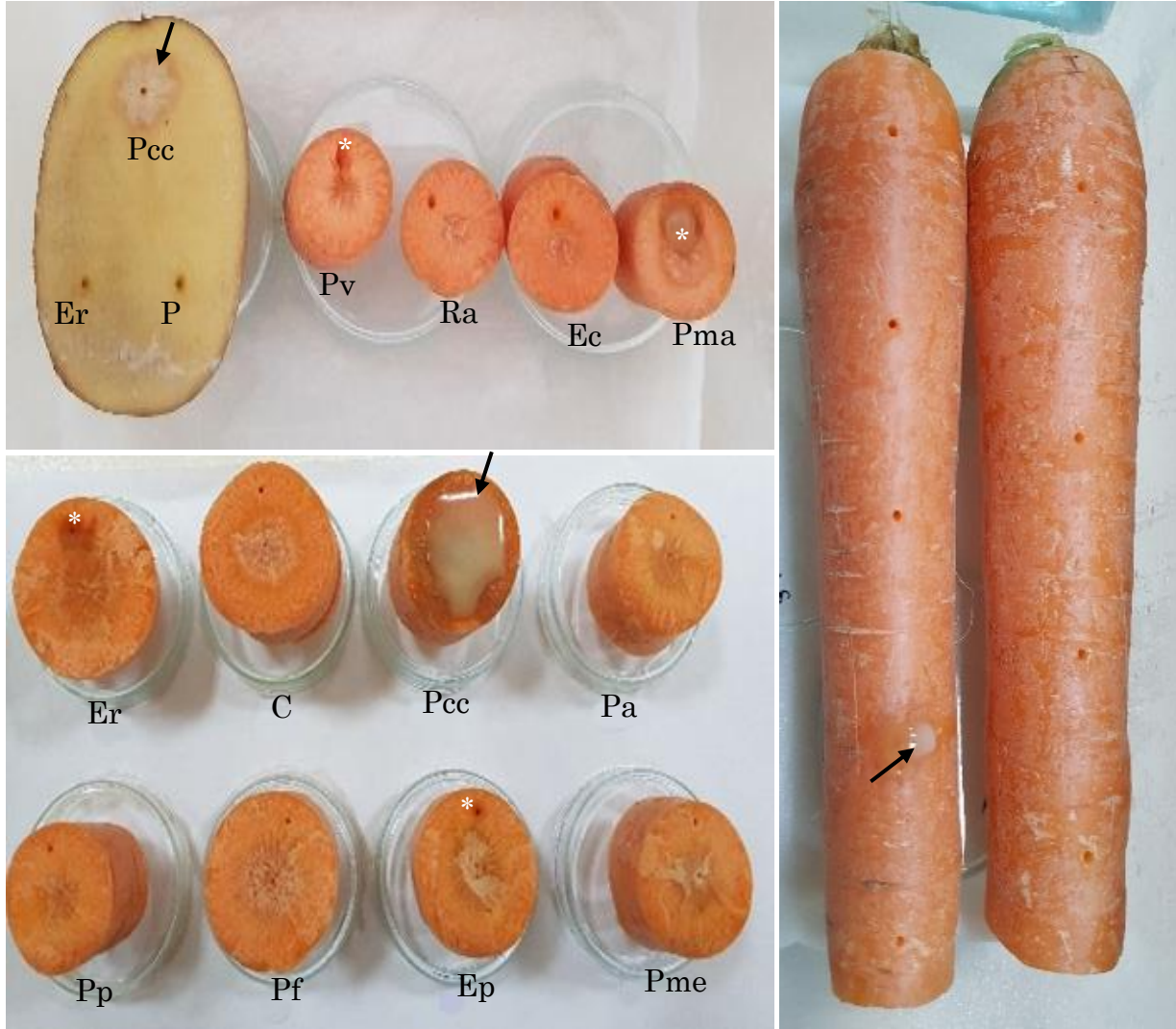
Figure 6. (A-C) Carrot fruits showing signs of intense rot and soft rot in areas with heavy rainfall and high groundwater. (D-F) Soft rots on the superficial and internal tissues of partially rotted fruits (arrow). (G) General view of carrot fruits (arrow) showing signs of soft rot with no market value in packing houses.

P. marginalis, *P. veronii*, *P. fluorescens*, *P. mediterranea*, *E. rhapontici*, *E. persicina*, *E. cloacae*, *L. amnigena*, *R. aquatilis* ve *P. agglomerans* gibi

fırsatçı hastalık etmenlerin daha önceden yapılan çalışmalarda havuç dahil birçok yaprağı yenen, yumrulu bitki ve sebzelerde yumuşak çürüklüğüne

neden olduğu bildirilmiştir (Godfrey ve Marshall, 2002; Huang ve ark., 2003; Koike ve ark., 2007; Mikiciński ve ark., 2010; Hausdorf ve ark., 2011; Achbani ve ark., 2014; Lambert ve ark., 2017; García-González ve ark., 2018). Türkiye'nin farklı bölgelerinde yetiştirilen yumrulu ve yaprağı yenen

sebzelere *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Pseudomonas corrugata* hastalık etmenlerinin yumuşak çürüklüğüne neden olduğu yakın zamanda yapılan bir çok çalışmada bildirilmiştir (Demir, 1990; İmriz ve Çınar, 2015; Öztürk ve Soylu, 2022a,b)



Şekil 7. Sürveysler sırasında hastalıklı havuç meyvelerden izole edilen farklı bakteriyel etmenlerin sağlıklı havuç meyveleri üzerinde patojenite testleri. Test edilen izolatlardan *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc) gerek havuç gerekse patates dilimi üzerinde ıslak çürüklük belirtisi oluşturmuş olup (ok), bazı fırsatçı patojenler havuç meyvesi üzerinde kısmi ıslaklık belirtisine neden olmuştur (*).

Figure 7. Pathogenicity tests of different bacterial agents isolated from diseased carrot fruit during surveys on healthy carrot fruit. Of the tested isolates, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc) produced signs of soft rot (arrow) on carrot and potato slice, some opportunistic pathogens caused signs of partial wetness (*) on carrot fruits.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışma ile Türkiye'nin önemli havuç ekim alanlarında sorun olan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinin karakterizasyonu ve tanılamaları yapılmıştır. Yapılan literatür araştırmasına göre izolasyonu yapıp, morfolojik, moleküler ve patojenite testleri ile hastalık etmeni olarak tespit edilen fungal etmenlerden *Fusarium*

brachygibbosum ve bakteriyel hastalık etmenleri *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *P. corrugata*, *P. marginalis*, *P. putida*, *P. veronii*, *P. fluorescens*, *P. mediterranea*, *E. rhapontici*, *E. persicina*, *Enterobacter cloacae*, *Lelliottia amnigena*, *Rahnella aquatilis* ve *Pantoea agglomerans*'ın Türkiyede yetiştirilen havuç meyvelerinde hastalık etmenleri olduğu ilk kez bu çalışma ile tespit edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca (BAP-18.M.069) desteklenmiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Achbani EH, Sadik S, El Kahkahi R, Benbouazza A, Mazouz H 2014. First report on *Pseudomonas marginalis* bacterium causing soft rot of onion in Morocco. Atlas Journal of Biology 3: 218-223.
- Aktan ZC, Soylu S, 2020. Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarından endofit ve epifit bakteri türlerinin izolasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının karakterizasyonu. KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi 23: 641-654.
- Anonim 2020. TÜİK, Bitkisel Üretim İstatistikleri-Türkiye İstatistik Kurumu. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. (Erişim Tarihi 15.08.2021)
- Anonymous 2019. FAOSTAT-Agriculture Database, Crops and livestock products. https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize_ (Access Date: 15.08.2021)
- Bıyıktay İ 2018. Kırıkhan ilçesinde siyah havuçta farklı ekim zamanlarının verim ve kaliteye etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 51 s.
- Bora T, Karaca İ 1970. Kültür Bitkilerinde Hastalık ve Zararlıların Ölçülmesi. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı Yayın No: 167, İzmir, 43s.
- Bruehl GW 1987. Soilborne Plant Pathogens. Macmillan, New York.
- Çabuk TŞ 2014. Ankara İli Havuç (*Daucus carota* L. subsp. *sativus*) Üretim Alanlarında Verimi Ve Kaliteyi Olumsuz Yönde Etkileyen Sistemik Hastalıkların Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. Bitki Koruma ABD, 51 sayfa.
- Demir G 1990. The occurrence of *Pseudomonas corrugata* on tomatoes in Turkey. Journal of Turkish Phytopathology 19: 63-70.
- Domsch KH, Gams W, Anderson TH 1980. Compendium of soil fungi. Academic Press, London: 859 p.
- Ellis MB 1971. Dematiou Hypomycetes. Commonwealth Mycol. England, 608.
- Ellis MB, Holliday P 1972. *Alternaria radicina*. [Descriptions of Fungi and Bacteria]. Descriptions of Fungi and Bacteria, (No. 35): Sheet 346.
- El-Tarabily KA, Hardy GESTJ, Sivasithamparam K 1996. Association of *Pythium coloratum* and *Pythium sulcatum* with cavity spot disease of carrots in Western Australia. Plant Pathology 45: 727-735.
- Farrar JJ, Pryor BM, Davis RM 2004. *Alternaria* diseases of carrot. Plant Disease 88: 776-784.
- García-González T, Sáenz-Hidalgo HK, Silva-Rojas HV, Morales-Nieto C, Vancheva T, Koebnik R, Ávila-Quezada GD 2018. *Enterobacter cloacae*, an emerging plant-pathogenic bacterium affecting chili pepper seedlings. Plant Pathology Journal 34(1): 1-10.
- Godfrey S, Marshall J 2002. Identification of cold-tolerant *Pseudomonas viridiflava* and *P. marginalis* causing severe carrot postharvest bacterial soft rot during refrigerated export from New Zealand. Plant Pathology 51: 155-162.
- Hausdorf L, Fröhling A, Schlüter O, Klocke M 2011. Analysis of the bacterial community within carrot wash water. Canadian Journal of Microbiology 57: 447-452.
- Huang HC, Hsieh TF, Erickson RS 2003. Biology and epidemiology of *Erwinia rhapontici*, causal agent of pink seed and crown rot of plants. Plant Pathology Bulletin 12: 69-76.
- İmriz G, Çınar 2015. ELISA-based and traditional diagnosis methods for identification of *Pseudomonas cichorii* and *Pseudomonas corrugata* causing pith necrosis on tomato plants. Journal of Bahri Dagdas Crop Research 3 (1):7-13.
- Kara M., Soylu EM 2020. Assessment of glucosinolate-derived isothiocyanates as potential natural antifungal compounds against citrus sour rot disease agent *Geotrichum citri-aurantii*. Journal of Phytopathology 168: 279-289
- Koike ST, Gladders P, Paulus AO 2007. Vegetable Diseases: A Colour Handbook. Manson Publishing, London, pp 95-115.
- Kurt S, Soylu EM, Soylu S, Tok FM 2004a. First report of crater rot caused by *Rhizoctonia carotae* on carrots in Turkey. Plant Pathology 54: 251-252.
- Kurt S, Soylu EM, Soylu S, Tok FM 2004b. Determination of causal disease agent on carrot plant growing in Amik Plain. Turkey 1st Plant Protection Congress Proceedings 8-10 September, Samsun, pp 193.
- Kurt Ş, Soylu S, Uysal A, Soylu EM, Kara M 2020. Ceviz gövde kanseri hastalığı etmeni *Botryosphaeria dothidea*'nın tanımlanması ve bazı fungusitlerin hastalık etmenine karşı *in vitro* antifungal etkinliklerinin belirlenmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 25: 46-56.

- Lampert Y, Dror B, Sela N, Teper-Bamnlker P, Daus A, Sela S, Eshel D 2017. Emergence of *Leuconostoc mesenteroides* as a causative agent of oozing in carrots stored under non-ventilated conditions. *Microbial Biotechnology* 10: 1677-1689.
- Lane DJ 1991. 16S/23S rRNA sequencing. (Nucleic acid techniques in bacterial systematics. New York: John Wiley and Sons. Eds. Stackebrandt E, Goodfellow M) pp 115-175.
- Lelliot RA, Stead DE 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. (Methods in plant pathology, Vol 2, Oxford: Blackwell Scientific Publications: ed. Preece TF). pp 176-177.
- Leslie JF, Summerell BA 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Oxford: Blackwell publishing, p 388.
- Marziano F, Nanni F, Scalcione M, Noviello C 1992. *Fusarium solani* and *F. avenaceum* as causal agents of a post - harvest rot of carrots. *Informatore Fitopatogico* 42(7-8): 57-63.
- Mikiciński A, Sobiczewski P, Sulikowska M, Puławska J, Treder J 2010. Pectolytic bacteria associated with soft rot of Calla Lily (*Zantedeschia* spp.) tubers. *Journal of Phytopathology* 158: 201-209
- Mirhosseini HA, Babaeizad V, Hashemi L 2014. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing leaf spot on oleander in Iran. *Journal of Plant Pathology* 96 (2): 431.
- Munro DB., Small E 1997. Vegetables of Canada. National Research Council, Ottawa, Ontario.
- Öztürk M, Soylu S 2022a. Yozgat ili beyaz baş lahana üretim alanlarında bakteriyel yumuşak çürüklük hastalığına neden olan *Pectobacterium* izolatlarının tanılanması. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi* 25 (3): 495-503.
- Öztürk M, Soylu S 2022b. Yozgat ve Kırşehir illerinde tüketime sunulmuş patates yumrularında bakteriyel yumuşak çürüklük etmeni *Pectobacterium* izolatlarının izolasyonu ve tanılanması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19 (2): 332-342.
- Panda A, Kurapati S, Samantaray JC, Myneedu VP, Verma A, Srinivasan A, Ahmad H, Behera D, Singh UB 2013. Rapid identification of clinical mycobacterial isolates by protein profiling using matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Indian Journal of Medical Microbiology* 31: 117-122.
- Pavlovic M, Konrad R, Iwobi AN, Sing A, Busch U, Huber I 2012. A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. *FEMS Microbiology Letters* 328: 46-53.
- Raid RN 2006. Florida Plant Disease Management Guide: Carrot (*Daucus carota*) <http://edis.ifas.ufl.edu/pg043> -FOOTNOTE_2#FOOTNOTE_2. (Alınma Tarihi: 02.06.2018).
- Renteria-Martinez ME, Meza-Moller A, Guerra-Camacho MA, Romo-Tamayo F, Ochoa-Meza A, Moreno-Salazar SF, 2015. First report of watermelon wilting caused by *Fusarium brachygibbosum* in Sonora, Mexico. *Plant Disease* 99 (5): 729.
- Rubatzky VE 2002. Origin and domestication of carrot. (Compendium of Umbelliferous Crop Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul: Eds. Davis MNRM, Raid RN) Pages 1-3
- Rubatzky VE, Quiros CF, Simon PW 1999. Carrots and related Vegetable Umblifera. CAB Publishing Company, p 294.
- Safadi B 2008. Characterization and distribution of *Daucus* species in Syria. *Biologia* 63 (2): 177-182.
- Saleeb PG, Drake SK, Murray PR, Zelazny AM 2011. Identification of mycobacteria in solid-culture media by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *Journal of Clinic Microbiology* 49: 1790-1794.
- Shan LY, Cui WY, Zhang DD, Zhang J, Ma N N, Bao YM, Dai XF, Guo W 2017. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing maize stalk rot in China. *Plant Disease* 101 (5): 837-838.
- Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Viridi JS 2015. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology* 6: 791.
- Snowdown AL 1991. A Colour Atlas of Postharvest Diseases and Disorders of Fruit and Vegetables General Introduction and Fruits. Wolfe Scientific Ltd, pp 11-53.
- Soylu EM, Soylu S, Kara M, Kurt Ş 2020. Sebzelelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi* 23: 7-18.
- Soylu S, Kara M, Toketti O, Soylu EM, Uysal A, Kurt Ş 2021. Konya ilinde yetiştirilen patates yumrularında lastik çürüklük hastalık etmeni *Geotrichum candidum*'un izolasyonu, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi* 24: 353-361.
- Soylu S, Kurt Ş, Soylu EM, Tok FM 2005. First report of Alternaria leaf blight caused by *Alternaria dauci* on carrot in Turkey. *Plant Pathology* 54:252
- Stack AJ, Yaghmour MA, Kirkpatrick SC, Gordon TR, Bostock RM 2017. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing cankers in cold-stored, bare-root propagated almond trees in California. *Plant Disease* 101 (2): 390
- Tirado-Ramírez MA, López-Orona CA, Díaz-Valdés T, Velarde-Félix S, Martínez-Campos AR, Romero-Gómez SJ, Retes-Manjarrez JE 2019. First report of basal rot of onion caused by *Fusarium brachygibbosum* in Sinaloa, Mexico. *Plant Disease* 103 (3): 582.
- Tülek S 2010. Ankara ili havuç alanlarında görülen

- fungus hastalıklarının belirlenmesi ve yaygınlık oranlarının saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. Bitki Koruma ABD, 79 sayfa.
- Üremiş İ, Soylu S, Kurt Ş, Soylu EM, Sertkaya E 2020. Hatay ili havuç ekim alanlarında bulunan yabancı ot türleri, yaygınlıkları, yoğunlukları ve durumlarının değerlendirilmesi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi 17: 211-228.
- Uysal N 2012. Konya İli Kadınhanı Kasabesindeki Havuç Depolarında Görülen Fitopatolojik Sorunlar. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. Bitki Koruma ABD, 99 sayfa.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. (PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. New York: Academic Press Inc; Eds. Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ) pp. 315-322.
- Xia B, Hu JY, Zhu XF, Liang Y, Ren X, Wu YH, Chen DX 2018. First report of sunflower broomrape wilt caused by *Fusarium brachygibbosum* in China. Plant Disease 102 (11): 2372.
- Yanmaz R 1994. Havuç yetiştiriciliği. Standard Dergisi 34: 21-22.