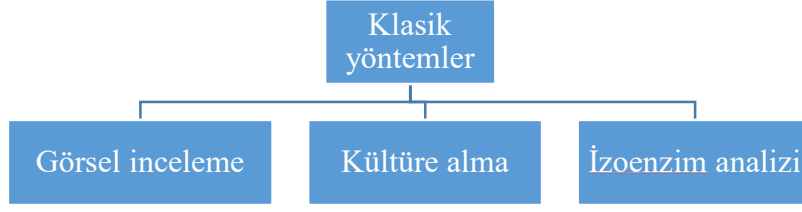


Kültür bitkilerini etkileyen hastalık etmenleri olan fungus, bakteri, fitoplazma, virüs ve viroidler nedeniyle önemli ekonomik kayıplar meydana gelmektedir. Bu hastalık etmenleri farklı yaşam döngülerine sahip olup bitkilerdefarklı şekillerde zarara neden olmaktadır. Bu hastalık etmenleri içerisinde yer alan bazı fungus türlerinin tarımsal ürünlerdeki tahripkâr etkisi ortaya konmuştur. Örneğin 1940'larda *Phytophthora infestans*'ın neden olduğu patates geç yanıklığı nedeniyle İrlanda'da yaklaşık bir milyon insan açlıktan ölmüş, bir milyonun üzerinde göç yaşamıştır (Fry ve Goodwin 1997). Benzer şekilde Hindistan'da Büyük Bengal kıtlığı (Padmanabhan 1973), USA'da mısır yaprak yanıklığı (Ullstrup 1972) fungal etmenler tarafından meydana getirilen önemli epidemik hastalıklardır. Hindistan'da çeltikte görülen *Cochliobolus miyabeanus* yaklaşık 2 milyon insanın ölümüne neden olmuştur. USA'da aynı cinsten *Cochliobolus heterostrophus*, mısır bitkisini tamamen tahrip etmiş ve şiddetli derecede ekonomik zarar oluşturmuştur. Dünya nüfusunun çeyreğinin temel gıdasını oluşturan çeltikte ise çeltik yanıklığına neden olan *Pyricularia oryzae* her yıl %10-30 arasında verim kayıplarına sebep olmaktadır (Talbot 2003). Benzer şekilde diğer hastalık etmenlerininde epidemilere neden olarak önemli ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir.

Bu kapsamda:

Hastalığa sebep olan etmenlerin tespit ve tanısının yapılması, Yaşam döngüleri ve hastalık mekanizmalarının incelenmesi, Korunma ve savaşım yöntemleri geliştirilerek neden oldukları ekonomik kayıpların azaltılması amacıyla pek çok çalışma gerçekleştirilmektedir.

Bitki patojenlerine karşı etkin mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi için bu patojenlerin doğru ve hızlı bir şekilde tespit edilmesi oldukça önem taşımaktadır. Bu kapsamda son yıllarda hastalık etmenlerinin tespiti ve tanısı amacıyla farklı yöntemler üzerinde yoğun araştırmalar gerçekleştirilmektedir. Bitki hastalıklarının tespitinde klasik yöntemler yaygın olarak kullanılmakla birlikte bu yöntemlerin uzun zaman alması, her zaman güvenilir sonuçlar vermemesi ve deneyimli personel gerektirmesi en önemli dezavantajları olarak görülmektedir. Örneğin bitki patojeni fungusların tespitinde kullanılan yöntemler şematik olarak aşağıda gösterilmiştir



Şekil 1.1 Bitki patojeni fungusların tespitinde kullanılan klasik yöntemler

## **Bitki Patojenlerinin Tespitinde Kullanılan Klasik Yöntemler**

Klasik yöntemler kullanılarak hastalıklarının belirlenmesi ve tanımlanması genel olarak hastalık etmeninin başlıca morfolojik, mikrobiyolojik ve biyokimyasal özelliklerine dayanmaktadır. Örneğin fungal hastalıkların klasik yöntemlerle tespitinde hastalık belirtilerinin görsel incelenmesi, kültür ortamındaki morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi ve izoenzim analizi kullanılmaktadır.

### **Görsel inceleme**

Bitki hastalıklarının tespitinde görsel inceleme ile patojenin bitki dokusunda oluşturduğu hastalık belirtileri incelenmekte, ardından hedef patojenin bitki dokusundan izole edilerek mikroskopta teşhisi yapılmaktadır. Bazı hastalık etmenlerinin konukçu dokusu üzerindeki belirtileri oldukça spesifik olup oldukça kolay tanımlanabilmektedir. Ancak kesin tanı için patojenlerin teşhis anahtarları kullanılarak tür ve daha alt seviyede teşhisinin yapılması önem taşımaktadır (Ray vd. 2017).

### **Kültür metodu**

Kültüre alma metodu çeşitli kültür ortamlarında patojenlerin geliştirilmesine ardından mikroskopta morfolojik özellikler kullanılarak teşhis edilmesine dayanmaktadır. Etmenin spor morfolojisi, sporulasyon şekli, eşeyli ve eşeysiz sporulasyon yapılarının özellikleri gibi morfolojik özelliklerine bakılmakta ve patojen teşhisi doğrulanmaktadır. (Narayanasamy 2011). Yöntem kolay ve ucuz olmasına rağmen doğruluk ve güvenilirliği teşhisi yapan kişinin yetenek ve deneyimine dayanmaktadır (McCartney vd. 2003). Bunun yanında oldukça fazla zaman almakta, sonuca ulaşmak günler veya haftalar sürebilmektedir.

## **İzoenzim analizi**

İzoenzim analizi morfolojik olarak benzer veya yakın ilişkili türleri tanımlamak, ayırımını yapmak ve teşhis etmek amacıyla kullanılan bir teşhis yöntemidir. Ayrıca fungus popülasyonundaki genetik varyasyonu ortaya çıkarmak için kullanılan etkili ve köklü bir yöntem olduğu bildirilmektedir (Micales vd. 1986). Bu yöntemde farklı izoenzimleri kodlayan allellerin ifadesi genetik varyasyonu tespit etmek için kullanılmaktadır. İzoenzim analizi tür ayırımı ve popülasyon yapılarını incelemek için ekonomik ve hızlı bir teknik olarak bildirilmekle beraber fungusların tespitinde kullanım olanağı sınırlı kalmıştır (Guarro vd. 1999).

## **Bitki Patojenlerinin Tespitinde Kullanılan İmmünolojiye Dayalı Yöntemler**

Antijen antitady ilişkisine dayalı olan bu yöntemlerde başta viral etmenler olmak üzere farklı bitki hastalıklarının tespiti amacıyla farklı tipte antitadiler geliştirilmiştir (poliklonal antitadiler, monoklonal antitadiler, bakteriyofaj displayed recombinant antitadiler vb.). Bu yöntemin temel prensibi hastalıktan sorumlu olan esas patojenin tespitini sağlayan uygun antiserumun geliştirilmesidir. Klasik kültür yöntemlerine göre çok daha hızlı patojen tespitine olanak sağlamasına rağmen düşük hassasiyet ve kontaminasyon gibi dezavantajlarından dolayı fungusların tespitinde yaygın bir kullanım olanağı bulamamıştır (Meng ve Doyle 2002).

Bu yöntem içerisinde immunodifüzyon test, ELİSA, Radio Immunosorbent Test (RISA), Dipstick Immunoassay, Dot Immunobinding Assay (DIBA), Tissue Blot Immunoassay (TBIA), Western Blot Analiz, Serolojik olarak özel elektron mikroskobu (SSEM), Immunosorbent elektron mikroskobu, Flow cytometry gibi çok sayıda immünolojiye dayalı tespit yöntemi bulunmaktadır.

## **Bitki Patojeni Fungusların Tespitinde Kullanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)'a Dayalı Yöntemler**

Bitki hastalıkları ile mücadelede ve patojenlerin geniş alanlara yayılmasının engellenmesinde en önemli kriter patojenlerin erken teşhis edilmesidir (Garrido vd. 2012). Bu kapsamda bitki patojenlerinin tespitinde hızlı, hassas ve kesin yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Patojenlerin morfolojik özellikleri dikkate alınarak yapılan klasik yöntemler, geniş taksonomi bilgisi ve tecrübe gerektirmekle beraber uzun zaman almaktadır (Capote vd. 2012). Aynı zamanda

bazı etmenlerin kültüre alınıp geliştirilmesi oldukça zor olduğundan patojenin kesin tespiti yapılamamaktadır (Goud ve Termorshuizen 2003). Bu gibi sınırlayıcı faktör nedeniyle moleküler yöntemler bitki hastalıkların teşhisinde geniş bir kullanım olanağı bulmuştur. Moleküler yöntemler ile kültürde gelişmeyen obligat patojenlerin doğrudan tespiti kolaylıkla yapılabilmektedir (Martin vd. 2004).

PCR yöntemi ile hızlı, hassas ve güvenilir sonuçlar elde edilmekte, klasik yöntemlere göre daha avantajlı olmaktadır. Bu avantajlardan birincisi patojen fungusların kültüre alınmasına ihtiyaç duyulmaması, ikincisi birçok etmen içerisinden tek bir hedef molekülü tespit etme imknı sunması, üçüncüsü ise klasik yöntemlere göre önemli derecede zaman kazandırmasıdır.