

The Evolution of Methods Used in The Diagnosis of Plant Bacterial Diseases: From Molecular Methods to Artificial Intelligence-Supported Methods

Özlem Bahar^{1*}, Ayşe Çandar¹

¹Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 40100, Kırşehir, Türkiye. ²National Cereals

Abstract

Significant economic losses occur in agricultural production due to diseases and pests. Fungal, bacterial, and viral pathogens cause substantial quality and yield reductions. Symptoms induced by plant bacterial pathogens, such as chlorosis, necrosis, rot, wilting, ooze formation, and gall development, not only decrease product quality but also disrupt production continuity. Early and accurate diagnosis of bacterial pathogens is therefore critical, as it enables timely and effective management strategies. This review evaluates the development of diagnostic methods used for plant bacterial diseases, examining the transition from classical isolation and serology-based approaches to molecular diagnostic techniques and contemporary digital applications. Based on a comprehensive literature analysis, the advantages of target-oriented amplification-based molecular methods in terms of sensitivity, specificity, and standardization are discussed, alongside the field applicability and rapid detection capacity of isothermal amplification techniques. In addition, gene-editing-based diagnostic systems are assessed for their selectivity and speed, while next-generation sequencing and portable sequencing technologies are comparatively evaluated for their potential in multi-pathogen detection and subspecies-level discrimination. The findings indicate that molecular-based approaches provide high accuracy in detecting latent infections and quarantine pathogens, field-adaptable isothermal systems offer practical advantages for on-site diagnosis, and sequencing technologies generate comprehensive datasets for epidemiological analyses. However, reliance on a single diagnostic strategy may be insufficient, particularly in cases where symptoms overlap with those caused by other biotic or abiotic stress factors. Therefore, integrated, multi-tiered diagnostic systems combining molecular, sequencing, and digital data-driven approaches are considered the most effective strategy for sustainable and accurate diagnosis of plant bacterial diseases.

Keywords: Plant pathogenic bacteria, qPCR, LAMP, RPA, CRISPR.

Bitki Bakteriyel Hastalıkların Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Evrimi: Moleküler Yöntemlerden Yapay Zekâ Destekli Yöntemler

Özet

Tarımsal üretimde hastalık ve zararlılar aracılığıyla önemli ekonomik kayıplar meydana gelmektedir. Fungal, bakteriyel ve viral hastalık etmenleri oldukça büyük kalite ve kantite sorunlara neden olmaktadır. Bitki bakteriyel hastalık etmenlerinin ortaya çıkardığı kloroz, nekroz, çürüklük, solgunluk akıntı ve ur oluşumu gibi belirtiler hem ürün kalitesini düşürmekte hem de üretim devamlılığını sektöre ugratmaktadır. Bakteriyel hastalık etmenlerinin erken ve doğru tanısı, beraberinde bu etmenler ile erken mücadele stratejilerini getireceğinden dolayı oldukça önemli bir noktadadır. Bu derlemede, yapılan çalışmalarla bitki bakteriyel hastalıklarının tanısında kullanılan yöntemlerin gelişimi değerlendirilmiş; klasik izolasyon ve serolojik temelli yaklaşımlardan moleküler tanı tekniklerine ve güncel dijital uygulamalara uzanan dönüşüm süreci incelenmiştir. Literatür analizine dayalı olarak gerçekleştirilen çalışmada, hedefe yönelik çoğaltım temelli moleküler yöntemlerin duyarlılık, özgüllük ve standardizasyon açısından sağladığı avantajlar; izotermal çoğaltım tekniklerinin saha uygulanabilirliği ve hızlı sonuç verme kapasitesi; gen düzenleme temelli tanı sistemlerinin seçicilik ve hız yönünden katkıları; ayrıca yeni nesil dizileme ve taşınabilir sekanslama teknolojilerinin çoklu patojen tespiti ve alt tür düzeyinde ayırım yapabilme potansiyeli karşılaştırmalı olarak ele alınmıştır. Bulgular, moleküler tabanlı yöntemlerin özellikle latent enfeksiyonların ve karantina etmenlerinin belirlenmesinde yüksek başarı sağladığını, saha koşullarına uyarlanabilen izotermal sistemlerin yerinde tanılamada önemli avantaj sunduğunu ve dizileme teknolojilerinin epidemiyolojik analizlerde kapsamlı veri ürettiğini göstermektedir. Bununla birlikte, yalnızca tek bir tanı yaklaşımına dayalı sistemlerin sınırlı kalabildiği; belirtilerin diğer biyotik ve abiyotik stres faktörleriyle karışabildiği durumlarda bütüncül değerlendirmelerin gerekli olduğu anlaşılmaktadır. Sonuç olarak, sürdürülebilir ve etkili bir bitki bakteriyel hastalıkların tanısı için moleküler, sekanslama ve dijital veri temelli yaklaşımların entegre edildiği çok basamaklı tanı sistemlerinin en uygun strateji olduğu değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bitki patojeni bakteriler, qPCR, LAMP, RPA, CRISPR,



Giriş

Günden güne değişen iklim özellikleri tarımsal üretim açısından büyük kayıpların ortaya çıkmasını da arttırmaktadır. İklim özellikleri ile doğrusal olarak değişmeye başlayan biyotik ve abiyotik stres faktörleri tarımsal üretim açısından daha fazla tehditkâr olma yolundadır. Biyotik faktörler arasında yer alan viral, fungal ve bakteriyel etmenler, ekonomik getirisi yüksek olan bitkiler için yıkıcı kayıplar doğurmaktadır. Bu etmenler arasında yer alan bakteriyel patojenler ise Tarımsal üretim açısından ekonomik değeri yüksek, besin değerin zengin olan birçok bitki için önemli zararlar ortaya koymaktadır. Bitki bakteriyel hastalık etmenleri ürünlerin hem kalitesini hem de kantitesini olumsuz yönde etkileyerek pazar değerinde düşüşe ve üretimin sürdürülebilirliğinde negatifliğe yol açmaktadır. Bakteriyel hastalık etmenlerinin stoma, lentisel, hidatod ve nektar gibi doğal açıklıklardan, kitinleşmemiş bitki dokularından, rüzgar, dolu, vektör böcekler, funguslar, nematodlar aracılığı ile açılan yaralardan ve uygulanan kültürel işlemler sırasında ortaya çıkan yara dokularından hızlı bir şekilde bitki içine girebilmeleri, bu etmenlerle oldukça hızlı ve zamanında mücadele edilmesi gerektiğini de vurgulamaktadır (Aysan vd., 2019). Ülkemiz açısından ekonomik değeri yüksek birçok bitki türü için tehlike oluşturan en önemli bitki bakteriyel hastalıkları, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Clavibacter*, *Rolstonia*, *Pectobacterium*, *Dickeya* ve *Agrobacterium* cinsleri içerisinde yer almaktadır (Mansfield vd., 2012). Bitki bakteriyel hastalık etmenlerinin oluşturduğu kloroz, nekroz, çürüklük, solgunluk, akıntı, bitki organlarının atılması ve doku anormallikleri gibi belirtiler genel olarak tipik olsa da zaman zaman bu belirtiler abiyotik stres faktörleri (tuzluluk, besin noksanlığı, sıcaklık stresi vb.) veya fungal etmenlerin oluşturduğu belirtilerle karışabilmektedir (Aysan vd., 2019). Bu durum, özellikle erken dönem enfeksiyonlarda doğru teşhisi güçleştirmektedir. Yanlış veya gecikmiş tanı ise hatalı mücadele stratejilerine, gereksiz pestisit kullanımına ve ekonomik kayıpların artmasına neden olmaktadır. Bu noktada bitki bakteriyel hastalıklarının doğru ve hızlı tanısı, modern bitki koruma yaklaşımlarının temel taşlarından biri haline gelmiştir. Geleneksel tanı yöntemleri uzun yıllar boyunca morfolojik gözlemler, izolasyon, kültür karakterizasyonu, patojenisite testleri ve biyokimyasal analizler üzerine kurulmuştur. Ancak bu yöntemlerin zaman alıcı olmaları, uzmanlık gerektirmeleri ve bazı durumlarda düşük özgüllük göstermeleri nedeniyle sınırlılıklar taşımaktadır (Schaad vd., 2001). Özellikle latent enfeksiyonların tespiti ve yakın akraba türlerin ayırt edilmesi konusunda klasik yöntemler yetersiz kalabilmektedir.

2000'li yılların ortalarından itibaren moleküler biyolojide yaşanan gelişmeler, bitki bakteriyel hastalıklarının tanısında önemli bir değişime yol açmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), gerçek zamanlı PCR (qPCR), çoklu PCR sistemleri ve sekans analizleri gibi yöntemler; hızlı, duyarlı ve özgül tanı imkânı sunarak klasik yöntemlerin yerini giderek daha fazla almaya başlamıştır (Schaad vd., 2003). Özellikle 16S rRNA gen bölgesi, housekeeping genleri ve tür-spesifik gen bölgeleri kullanılarak yapılan moleküler analizler; patojenlerin doğru tür ve hatta ırk düzeyinde belirlenmesini mümkün kılmıştır. Bununla birlikte, yeni nesil dizileme (NGS) teknolojilerinin gelişimi, metagenomik yaklaşımlar ve taşınabilir sekanslama sistemleri sayesinde tanı süreçleri yalnızca laboratuvar ortamıyla sınırlı kalmamış; sahada uygulanabilir hale gelmeye başlamıştır. Bu gelişmeler, özellikle karantina patojenlerinin erken tespiti ve epidemiyolojik izleme çalışmalarında önemli avantajlar sağlamıştır (Mansfield vd., 2012). Son on yılda ise dijital tarım uygulamalarının yaygınlaşması ve yüksek çözünürlüklü görüntüleme teknolojilerinin gelişmesi, bitki hastalıklarının tanısında yeni bir dönemin kapısını aralamıştır. Görüntü işleme teknikleri, hiperspektral analizler ve makine öğrenmesi algoritmaları kullanılarak belirtilerin otomatik olarak tanınması mümkün hale gelmiştir. Özellikle derin öğrenme temelli konvolüsyonel sinir ağları (CNN), yaprak lekelerinin ve stres belirtilerinin yüksek doğruluk oranlarıyla sınıflandırılmasında etkili sonuçlar vermektedir (Mohanty vd., 2016).

Yapay zekâ destekli sistemler yalnızca görüntü temelli analizlerle sınırlı kalmayıp; sensör verileri, iklim parametreleri ve epidemiyolojik modellerle entegre edilerek karar destek sistemlerine dönüştürülmektedir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde; klasik kültür ve biyokimyasal testlerden moleküler tanı tekniklerine, yapay zekâ ve büyük veri temelli sistemlere uzanan çok katmanlı bir dönüşüm süreci gözlenmektedir. Bu bağlamda, bitki bakteriyel hastalıklarının tanısında kullanılan yöntemlerin evrimini ortaya koymak; hem tarihsel gelişimi değerlendirmek hem de gelecekteki araştırma eğilimlerini belirlemek açısından önem taşımaktadır. Özellikle moleküler yöntemlerin sağladığı yüksek duyarlılık ve özgüllük ile yapay zekâ destekli sistemlerin hız ve ölçeklenebilirlik avantajlarının karşılaştırmalı olarak ele alınması, entegre tanı sistemlerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Bu çalışma, bitki bakteriyel hastalıklarının tanısında kullanılan yöntemlerin dönüşümünü literatür temelli olarak analiz etmeyi ve moleküler biyoloji ile yapay zekâ temelli yaklaşımlar arasındaki geçiş sürecini bütüncül bir perspektifle değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

Moleküler Tanı Yöntemleri

Moleküler tanı yöntemleri, bitki patojenlerinin hedef nükleik asit dizilerinin özgül olarak saptanmasına dayanmakta olup, yüksek duyarlılık ve özgüllük gerektiren tanı senaryolarında temel teşhis basamağını oluşturmaktadır. Özellikle latent enfeksiyonların belirlenmesi, düşük inokulum yoğunluğuna sahip örneklerde erken dönem enfeksiyonların tespiti, karantina uygulamaları kapsamında sınır kontrol analizleri ve tohum sağlığı testleri gibi yanlış negatif ya da yanlış pozitif sonuçların ciddi ekonomik sonuçlar doğurabileceği durumlarda,



moleküler teknikler; klasik, kültürel ve serolojik yöntemlere kıyasla önemli avantajlar sağlamaktadır (Schaad vd., 2003). Nükleik asit temelli yaklaşımlar, patojenin kültüre alınmasını gerektirmeden genetik materyalin doğrudan saptanmasına olanak tanıdığı için, semptom oluşumundan önce teşhise imkân vermekte ve epidemiyolojik izleme çalışmalarında güvenilir veri üretimini desteklemektedir (López vd., 2003). Konvansiyonel PCR, termal döngü ile hedef DNA'nın çoğaltılmasıyla ve genellikle jel elektroforezi gibi okuma ile patojenin varlığının doğrulanmasına dayanır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde moleküler tanıya doğru eğilim gösteren teşhis ve tanı yöntemleri, hız, standardizasyon ve taşınabilirlik açısından önemli avantajları da beraberinde getirir. Kantitatif bilgi ortaya koyamaması gibi dezavantajları da mevcuttur. Gerçek zamanlı PCR (qPCR) teknikleri, yüksek özgüllükte prob sistemleri ve floresan temelli izleme mekanizmaları sayesinde hem kalitatif hem de kantitatif analiz imkânı sunarak bitki patojenlerinin tanı ve teşhisinde büyük kolaylıklar sağlamıştır (Mackay vd., 2002; Schaad ve Frederick, 2002). qPCR'nin validasyon ve standardizasyon süreçleri, özellikle karantina patojenlerinin teşhisinde eşik değer temelli karar mekanizmalarının geliştirilmesine katkı sağlamıştır (EPPO, 2019). Cihaz ve sarf malzemelerin maliyeti, yöntem standardizasyonu ve kontaminasyonu gibi kontrollere ihtiyaç duyulması yöntemin eksik ve yetersiz kalan taraflarını da ortaya koymaktadır.

Loop-Aracılı İzotermal Amplifikasyon Yöntemi (LAMP)

Termal döngüleyici gereksinimini ortadan kaldıran izotermal amplifikasyon teknikleri ise bu dönemin en dikkat çekici gelişmelerinden biri olmuştur. Loop aracılı izotermal amplifikasyon (LAMP) yöntemi, yüksek amplifikasyon verimliliği ve saha koşullarında uygulanabilirliği sayesinde bitki patojenlerinin hızlı teşhisinde yaygınlaşmıştır (Notomi vd., 2000). Geleneksel PCR tekniklerinin yanı sıra sabit sıcaklıkta çalışabilen bu yöntem, düşük maliyeti ve hızlı sonuç vermesi ile tarımsal üretimde ekonomik kayıpları meydana getiren bakteriyel hastalıkların teşhisinde oldukça önemli bir noktada yerini almıştır (Yang ve ark., 2025). Ayrıca Kant ve ark. (2021), *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Psp) ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) etmenlerinin hızlı teşhisi amacıyla LAMP tabanlı bir tanılama yöntemi geliştirmiştir. Araştırmacılar, geliştirilen LAMP testi ile her iki bakteriyel etmeni laboratuvar ve saha koşullarında 20 dakikadan kısa sürede yüksek özgüllükte tespit etmiş, ayrıca belirtiler ortaya çıkmadan önce enfekteli bitki dokularında patojen varlığını belirleyebilmişlerdir (Kant vd., 2021). Loop-Aracılı İzotermal Amplifikasyon (LAMP) yönteminin bitki hastalıklarının hızlı teşhisindeki önemine ilişkin kapsamlı bir derleme çalışmasında, Aglietti ve ark. (2024) tarafından LAMP tekniğinin; *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xylella fastidiosa*, *Xanthomonas euvesicatoria*, *Erwinia amylovora* ve *Pectobacterium carotovorum* gibi çok sayıda bakteriyel bitki patojeninin tespitinde başarıyla kullanıldığı bildirilmiştir. Araştırmacılar, yöntemin sabit sıcaklıkta çalışabilmesi, taşınabilir cihazlarla uygulanabilmesi, düşük maliyetli olması ve saha koşullarında hızlı sonuç verebilmesi nedeniyle bitki hastalıklarının erken teşhisinde önemli avantajlar sağladığını vurgulamışlardır (Aglietti vd., 2024).

Rekombinaz polimeraz amplifikasyonu (RPA)

Rekombinaz polimeraz amplifikasyonu (RPA) gibi yeni nesil izotermal yöntemler ise düşük sıcaklıkta kısa sürede sonuç vermesi nedeniyle "point-of-care" (POC) uygulamalarında öne çıkmıştır (Piepenburg vd., 2006). Rekombinaz polimeraz amplifikasyonu (RPA), sabit sıcaklıkta çalışan, hızlı sonuç verebilen ve saha koşullarında uygulanabilirliği yüksek yeni nesil izotermal amplifikasyon yöntemlerinden biridir. Cai ve ark. (2023), RPA yönteminin minimal örnek hazırlığı ile enfekteli bitki dokularından doğrudan patojen tespitine olanak sağladığını, ayrıca konakçı kaynaklı inhibitörlerden daha az etkilenmesi nedeniyle klasik PCR tabanlı yöntemlere göre önemli avantajlar sunduğunu bildirmiştir. Araştırmacılar, geliştirilen RPA/LFD sisteminin herhangi bir gelişmiş laboratuvar ekipmanına ihtiyaç duymadan, taşınabilir cihazlar veya doğrudan saha koşullarında kullanılabildiğini ve kısa sürede güvenilir sonuçlar verdiğini vurgulamışlardır.

Çok Lokuslu Dizi Analizi (MLSA) Ve Tüm Genom Sekanslama (WGS) Yaklaşımları

Sekanslama teknolojilerindeki ilerlemeler de moleküler tanının ayırtandırma kapasitesini önemli ölçüde genişletmiştir. Çok lokuslu dizi analizi (MLSA) ve tüm genom sekanslama (WGS) yaklaşımları, yakın akraba bakteri türlerinin ve patovaryalarının yüksek çözünürlükte ayırma olanak tanımış; filogenetik analiz ve epidemiyolojik iz sürme çalışmalarında güçlü bir araç olarak kullanılmaya başlanmıştır (Maiden vd., 1998; Loman vd., 2012). Yeni nesil sekanslama (NGS) platformları, özellikle kompleks enfeksiyonların ve metagenomik örneklerin analizinde kültüre bağımlılığı azaltarak kapsamlı tanısal veri sağlamıştır (Adams vd., 2009). Çok lokuslu dizi analizi (MLSA), birden fazla housekeeping geninin birlikte değerlendirilmesine dayanan ve bakteriyel türler ile haplotipler arasındaki filogenetik ilişkilerin daha yüksek çözünürlükte ortaya konulmasını sağlayan moleküler bir yaklaşımdır. Ruiz-Padilla ve ark. (2020), tek gen analizlerinin filogenetik ilişkileri her zaman yeterince doğru yansıtamayabileceğini, bu nedenle birden fazla korunmuş gen bölgesinin birlikte analiz edildiği MLSA yaklaşımının daha güvenilir sonuçlar sunduğunu bildirmiştir. Araştırmacılar, özellikle yavaş ve kararlı evrim gösteren protein kodlayıcı housekeeping genlerinin kullanılmasıyla ribozomal gen analizlerine kıyasla daha yüksek taksonomik çözünürlük elde edildiğini vurgulamışlardır. Tüm genom sekanslama (WGS) yaklaşımları ise bakteriyel genomun tamamının analiz edilmesine olanak sağlayarak yalnızca filogenetik ilişkilerin değil, aynı



zamanda virölens genleri, yatay gen transferi, evrimsel farklılaşma ve antimikrobiyal direnç mekanizmalarının da ayrıntılı biçimde incelenmesini mümkün kılmaktadır. MLSA yöntemleri belirli housekeeping genlerine dayalı yüksek çözünürlüklü analizler sunarken, WGS teknolojileri genom düzeyinde çok daha kapsamlı genetik bilgi sağlayarak modern bakteriyel tanı ve epidemiyolojik çalışmalarda önemli bir referans yaklaşım haline gelmiştir.

CRISPR/Cas

CRISPR/Cas tabanlı moleküler tanı platformları 2015 sonrası dönemde yüksek özgüllük ve hız avantajı ile dikkat çekmiştir. Cas12 ve Cas13 enzimlerinin hedefe özgül kesim mekanizmasına dayanan DETECTR ve SHERLOCK sistemleri, dakikalar içinde sonuç verebilen ve floresan ya da lateral akış şeridi ile okunabilen yeni nesil tanı yaklaşımları olarak geliştirilmiştir (Gootenberg vd., 2017; Chen vd., 2018). Günümüzde yapılan bir çalışmada, okaliptüslerde Bakteriyel Solgunluğa neden olan *Ralstonia pseudosolanacearum*'un hızlı ve duyarlı tespiti amacıyla ERA-CRISPR/Cas12a temelli yeni bir moleküler tanı yöntemi geliştirilmiş olup, söz konusu sistemin düşük DNA konsantrasyonlarında dahi yüksek özgüllük ve hassasiyet sağladığı bildirilmiştir (Peng ve ark., 2025). Bu tür CRISPR tabanlı tanı stratejileri, bitki patojenlerinin erken evrede saptanmasına olanak tanıyarak entegre hastalık yönetiminde karar destek süreçlerini güçlendirmektedir.

Bu sistemler, klasik PCR temelli yöntemlere alternatif olarak hızlı, taşınabilir ve yüksek özgüllükte moleküler teşhis imkânı sunmaktadır. Genel olarak değerlendirildiğinde, moleküler tanı yöntemleri; laboratuvar merkezli yüksek hassasiyetli platformlardan, saha uygulanabilir ve kullanıcı dostu sistemlere doğru evrilmiştir. Sekanslama ve CRISPR tabanlı teknolojilerle birlikte yüksek çözünürlüklü ve hızlı tanı imkânı sağlayan yöntemlere geçiş sağlamıştır.

Görüntü Tabanlı ve Yapay Zeka Destekli Tanı Sistemleri

Görüntü tabanlı yaklaşımlar, patojeni doğrudan tespit etmek yerine bitkide oluşturduğu fizyolojik ve optik değişimleri yakalamayı hedefler. Bu durum, geniş alan tarama ve erken uyarı için avantaj sağlarken, bakteriyel semptomların, fungal patojenlerin ve abiyotik stres faktörlerin meydana getirdiği belirtilerle benzeşmesi nedeniyle yöntemin kesin verilere dayalı olarak sunduğu bulguların doğruluğu risk haline getirir ve problem yaratır (Zhang ve ark., 2024). Görüntü tabanlı ve yapay zekâ destekli tanı sistemleri, özellikle bakteriyel bitki hastalıklarının hızlı ve temassız şekilde belirlenmesinde son yıllarda önemli gelişmeler göstermiştir. Mohanty ve ark. (2016), derin öğrenme tabanlı konvolüsyonel sinir ağları (CNN) kullanarak domates ve biberde görülen bakteriyel leke hastalığının (*Xanthomonas* spp.) görüntü tabanlı teşhisini gerçekleştirmiştir. Araştırmacılar, yaprak görüntülerinden elde edilen semptomatik verilerin derin öğrenme algoritmaları ile analiz edilmesi sonucunda yüksek doğruluk oranlarına ulaşıldığını ve bu yaklaşımın özellikle saha koşullarında erken hastalık teşhisi için önemli bir potansiyel taşıdığını bildirmiştir. Çalışmada geliştirilen modelin kontrollü veri setlerinde %99'un üzerinde doğruluk sağladığı belirtilmiştir.

Görüntü İşleme ve CNN Tabanlı Derin Öğrenme

CNN tabanlı tanı, genellikle yaprak görüntüsü sınıflandırması veya lezyon segmentasyonu üzerinden yürütülür. Performans değerlendirmesinde doğruluğun yanında duyarlılık, F1 skoru ve ROC-AUC gibi metriklerin raporlanması, sınıf dengesizliği ve saha varyasyonu nedeniyle önemlidir (Terentev ve ark., 2022). Kontrollü veri setlerinde CNN tabanlı sınıflandırmanın yüksek doğruluklara ulaşabileceği; ancak saha görüntülerinde alan uyarlaması nedeniyle performansın düşebileceği kanıtlanmıştır (Barbedo, 2018). Ayrıca farklı CNN mimarilerinin geniş ölçekli karşılaştırmaları, bitki hastalık sınıflandırmasında derin öğrenmenin genel gücünü desteklemiştir (Mohanty ve ark., 2016). Pirinçte görülen ve önemli ekonomik kayıplara yol açan bakteriyel hastalıklar için mobil veya saha uygulamalarına dönük derin öğrenme yaklaşımları raporlanmaktadır; bu çalışmalar, çok sınıflı tanı senaryosunda metrik raporlamanın önemini artırır (Lu ve ark., 2017).

Hiperspektral Görüntüleme ve Makine Öğrenmesi

Yöntem. Hiperspektral görüntüleme (HSI), görünür–yakın kızılötesi bantlarda yaprak dokusunun spektral imzasını ölçerek presimptomatik değişimleri yakalamayı amaçlar. Bitki hastalıklarında HSI'nin erken tespit potansiyeli, yöntemsel derlemelerle de desteklenmiştir. Bakteriyel patosistem örnekleri. Domateste bakteriyel yaprak lekesi (*Xanthomonas perforans*) için yüksek çözünürlüklü HSI veri seti ve makine öğrenmesi ile presimptomatik tespit yapılabildiği; ayrıca abiyotik lekelerden ayrımın mümkün olabildiği raporlanmıştır (Terentev ve ark., 2022).

Sensör Entegrasyonu

Sensör entegrasyonu; sera içi iklim sensörleri, spektral sensörler ve robotik-UAV sistemleriyle “erken uyarı + tanı” birleşimini hedefler. Hiperspektral yaklaşımın erken bitki hastalığı tespitinde genel durumunu özetleyen Sensors derlemesi, sahada sensör tabanlı sistemlerin (uydu-UAV–yer sensörleri) yaygınlaştığını vurgular (Terentev ve ark., 2022).



Sonuç

Yapılan çalışmalar incelendiğinde bitki bakteriyel hastalık tanısında qPCR'in standardizasyon ve kantitatif tanı ihtiyacını karşılayarak “çekirdek yöntem” hâline geldiği; LAMP ve RPA gibi izotermal yöntemlerin sahaya yakın hızlı tanıyı güçlendirdiği; CRISPR/Cas platformlarının yüksek özgüllük ve hızlı okuma avantajıyla hibrit POC çözümlere dönüştüğü bir evreyi temsil eder. NGS ve taşınabilir nanopore sekanslama, tanıyı sürveyans/epidemiolojik izleme bütünleştirme potansiyeli taşıırken; görüntü ve hiperspektral tabanlı AI, presimptomatik tespit ve geniş alan izleme için güçlü bir tamamlayıcı hat sunar. Bununla birlikte, AI tabanlı yaklaşımlarda saha genellenebilirliği ve standardizasyon; moleküler POC sistemlerinde ise kontaminasyon kontrolü, validasyon ve regülasyon uyumu belirleyici sınırlılıklar olmaya devam etmektedir. Türkiye bağlamında karantina ve sürvey çerçevesi için yerel moleküler çalışmalar önemli bir temel sunmakta; önümüzdeki dönemde POC validasyonu, veri paylaşımı ve çok lokasyonlu saha testlerinin genişletilmesi en yüksek etki potansiyeline sahiptir. Bitki bakteriyel hastalıklarının tanısında kullanılan yöntemler incelendiğinde, klasik kültürel ve biyokimyasal tekniklerden; yüksek duyarlılığa sahip moleküler sistemlere ve yapay zekâ destekli dijital tanı platformlarına doğru belirgin bir dönüşüm gerçekleştiği görülmektedir. Özellikle qPCR, yüksek özgüllük, kantitatif veri üretme kapasitesi ve uluslararası validasyon protokollerine uygunluğu nedeniyle bu dönemde “referans moleküler tanı yöntemi” konumuna ulaşmıştır. Karantina uygulamaları, latent enfeksiyonların belirlenmesi ve düşük inokulum yoğunluklarının tespiti gibi yüksek doğruluk gerektiren senaryolarda qPCR'nin halen en güvenilir yöntemlerden biri olduğu anlaşılmaktadır. Ancak cihaz maliyeti, laboratuvar altyapısı gereksinimi ve uzman personel ihtiyacı yöntemin saha uygulanabilirliğini sınırlayan temel faktörler arasında yer almaktadır.

İzotermal amplifikasyon sistemleri olan LAMP ve RPA yöntemleri ise qPCR'ye alternatif değil, onu tamamlayan “saha odaklı” teknolojiler olarak ön plana çıkmıştır. LAMP yöntemi; yüksek amplifikasyon kapasitesi, düşük maliyetli ekipman ihtiyacı ve kısa analiz süresi nedeniyle özellikle *Xanthomonas*, *Erwinia*, *Pectobacterium* ve *Xylella* gibi bakteriyel etmenlerin hızlı teşhisinde önemli avantajlar sağlamıştır. RPA sistemleri ise daha düşük sıcaklıkta çalışabilmesi ve minimal örnek hazırlığı gerektirmesi sayesinde “point-of-care” (POC) uygulamalarında LAMP'a kıyasla daha taşınabilir bir yapı sunmaktadır. Bununla birlikte her iki yöntemde de primer tasarım hassasiyeti, yanlış pozitif riskleri ve kontaminasyon kontrolü önemli sınırlılıklar olarak değerlendirilmektedir. Özellikle saha koşullarında standardizasyon eksikliği ve operatör kaynaklı varyasyonlar, bu yöntemlerin rutin kullanımdaki güvenilirliğini etkileyebilmektedir.

MLSA ve WGS tabanlı sekanslama yaklaşımları, bitki bakteriyel hastalıklarının yalnızca teşhisinde değil; aynı zamanda filogenetik sınıflandırma, epidemiyolojik iz sürme, patovar ayrımı ve antimikrobiyal direnç mekanizmalarının belirlenmesinde yüksek çözünürlüklü analiz imkânı sağlamıştır. MLSA, housekeeping genleri kullanarak yakın akraba bakteriyel türlerin ayrımında güvenilir sonuçlar üretirken; WGS teknolojileri tüm genom düzeyinde veri sunarak virülens genleri, yatay gen transferi ve evrimsel farklılaşmaların ayrıntılı biçimde incelenmesine olanak tanımaktadır. Ancak bu yöntemlerin yüksek maliyet, biyoinformatik uzmanlığı gereksinimi ve büyük veri yönetimi gibi önemli dezavantajları bulunmaktadır. Özellikle WGS sistemleri günümüzde araştırma merkezleri için güçlü araçlar olsa da rutin saha teşhisinde henüz ekonomik ve operasyonel olarak tam anlamıyla uygulanabilir değildir.

CRISPR/Cas tabanlı tanı sistemleri ise son yıllarda moleküler teşhis alanındaki en dikkat çekici gelişmelerden biri olarak öne çıkmıştır. Cas12 ve Cas13 tabanlı DETECTR ve SHERLOCK sistemleri, çok düşük DNA konsantrasyonlarında dahi yüksek özgüllük sağlayabilmekte ve lateral akış şeritleriyle hızlı saha okuması yapılabilmektedir. Bu yönüyle CRISPR sistemleri, qPCR'nin yüksek doğruluğunu; LAMP ve RPA'nın taşınabilirlik avantajıyla birleştiren hibrit bir teknoloji olarak değerlendirilebilir. Bununla birlikte CRISPR tabanlı sistemlerin validasyon eksiklikleri, ticari kit standardizasyonunun henüz tam oturmamış olması ve regülasyon süreçlerinin devam etmesi yöntemin yaygın kullanımını sınırlamaktadır.

Görüntü tabanlı yapay zekâ sistemleri ve hiperspektral görüntüleme teknolojileri ise bitki bakteriyel hastalıklarının tanısında tamamen farklı bir paradigma oluşturmuştur. Moleküler yöntemler doğrudan patojeni hedef alırken; yapay zekâ tabanlı sistemler bitkide oluşan fizyolojik, morfolojik ve optik değişimleri analiz etmektedir. CNN tabanlı derin öğrenme modelleri kontrollü veri setlerinde oldukça yüksek doğruluk oranlarına ulaşmış olsa da saha koşullarında ışık farklılıkları, yaprak deformasyonları, semptom benzerlikleri ve abiyotik stres faktörleri nedeniyle performans kayıpları yaşanabilmektedir. Özellikle bakteriyel hastalık semptomlarının fungal enfeksiyonlar ve besin noksanlıklarıyla benzerlik göstermesi, görüntü tabanlı sistemlerin en önemli sınırlılıklarından biri olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle yapay zekâ tabanlı tanı sistemlerinin tek başına kesin teşhis yöntemi olmaktan çok, “erken uyarı” ve “ön tarama” sistemi olarak kullanılması daha gerçekçi görünmektedir.

Hiperspektral görüntüleme (HSI) teknolojileri, semptom oluşmadan önce bitkide meydana gelen biyokimyasal değişimleri tespit edebilmesi nedeniyle geleceğin en güçlü erken teşhis araçlarından biri olarak değerlendirilmektedir. Özellikle UAV (drone), robotik sistemler ve IoT sensörleri ile entegre edilen hiperspektral platformlar; geniş alan taraması, epidemiyolojik sürvey ve hassas tarım uygulamaları açısından önemli avantajlar



sunmaktadır. Bununla birlikte veri işleme kapasitesi, yüksek donanım maliyeti ve spektral veri standardizasyonu gibi problemler bu sistemlerin yaygınlaşmasını sınırlandırmaktadır.

Genel olarak yöntemler karşılaştırıldığında:

- **qPCR**, yüksek doğruluk ve kantitatif analiz açısından halen en güçlü referans yöntemdir.
- **LAMP ve RPA**, saha uygulanabilirliği ve hız bakımından qPCR'ye göre üstünlük sağlamaktadır.
- **CRISPR/Cas sistemleri**, yüksek özgüllük ile taşınabilirliği birleştiren yeni nesil hibrit tanı platformları olarak öne çıkmaktadır.
- **MLSA ve WGS**, filogenetik ve epidemiyolojik analizlerde diğer tüm yöntemlerden daha yüksek çözünürlük sunmaktadır.
- **Yapay zekâ ve görüntü tabanlı sistemler**, geniş alan izleme ve erken uyarı açısından avantajlı olsa da doğrudan patojen doğrulamasında moleküler yöntemlerin gerisinde kalmaktadır.

Gelecek perspektifi açısından değerlendirildiğinde, bitki bakteriyel hastalıklarının tanısında tek bir yöntemin tüm ihtiyaçları karşılaması beklenmemektedir. Bunun yerine hibrit ve entegre sistemlerin ön plana çıkacağı öngörülmektedir. Özellikle yapay zekâ destekli görüntü analiz sistemlerinin, CRISPR veya izotermal amplifikasyon tabanlı taşınabilir moleküler platformlarla birleştirilmesi; hem hızlı ön tarama hem de yüksek özgüllükte doğrulama sağlayabilecek yeni nesil entegre tanı sistemlerinin temelini oluşturacaktır. Ayrıca nanopore sekanslama, taşınabilir biyosensörler, IoT tabanlı sensör ağları ve bulut tabanlı epidemiyolojik veri paylaşım platformlarının gelişmesiyle birlikte gelecekte gerçek zamanlı, otomatik ve karar destek sistemleriyle entegre çalışan “akıllı bitki hastalık yönetim sistemleri”nin yaygınlaşması beklenmektedir. Türkiye açısından ise yerel patojen popülasyonlarına yönelik validasyon çalışmaları, çok lokasyonlu saha denemeleri, veri standardizasyonu ve ulusal tanı veri tabanlarının oluşturulması; önümüzdeki dönemin en kritik araştırma alanları arasında yer almaktadır.

Kaynaklar

- Adams, I. P., Glover, R. H., Monger, W. A., Mumford, R., Jackeviciene, E., Navalinskiene, M., ... & Boonham, N. (2009). Next-generation sequencing and metagenomic analysis: a universal diagnostic tool in plant virology. *Molecular plant pathology*, 10(4), 537-545.
- Aglietti, C., Benigno, A., Cacciola, S. O., & Moricca, S. (2024). *LAMP reaction in plant disease surveillance: Applications, challenges, and future perspectives*. *Life*, 14(12), 1549. <https://doi.org/10.3390/life14121549>
- Aysan, Y., Şahin, F., Kotan, R., Mirik, M., & Saygılı, H. (2019). *Bitki Bakteri Hastalıkları Kitabı*, Toprak Ofset Matbaacılık, 291-298, Tekirdağ
- Barbedo, J. G. A. (2018). Impact of dataset size and variety on the effectiveness of deep learning and transfer learning for plant disease classification. *Computers and electronics in agriculture*, 153, 46-53.
- Cai, L., Tian, Q., Meng, Q., Bao, X., Xu, P., Liu, J., Zhao, W., & Wang, H. (2023). *Recombinase polymerase amplification assay for rapid field diagnosis of Stewart's wilt of corn pathogen Pantoea stewartii subsp. stewartii*. *Agriculture*, 13(10), 1982. <https://doi.org/10.3390/agriculture13101982>
- Chen, J. S., Ma, E., Harrington, L. B., Da Costa, M., Tian, X., Palefsky, J. M., & Doudna, J. A. (2018). CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity. *Science*, 360(6387), 436-439.
- Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., Lee, J. W., Essletzbichler, P., Dy, A. J., Joung, J., ... & Zhang, F. (2017). Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science*, 356(6336), 438-442.
- Kant, P., Fruzanoghar, M., Mann, R., Rodoni, B., Holloway, G., & Rosewarne, G. (2021). Development and application of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the detection of *Pseudomonas syringae* pathovars *pisi* and *syringae*. *Agriculture*, 11(9), 875. <https://doi.org/10.3390/agriculture11090875>
- Loman, N. J., Constantinidou, C., Chan, J. Z., Halachev, M., Sergeant, M., Penn, C. W., ... & Pallen, M. J. (2012). Yüksek verimli bakteri genom dizilemesi: çok fazla seçenek, bir fırsatlar dünyası. *Nature Reviews Microbiology*, 10 (9), 599-606.
- López, M. M., Bertolini, E., Olmos, A., Caruso, P., Gorris, M. T., Llop, P., Penyalver, R., & Cambra, M. (2003). Innovative tools for detection of plant pathogenic viruses and bacteria. *International Microbiology*, 6, 233-243.
- Lu, Y., Yi, S., Zeng, N., Liu, Y., & Zhang, Y. (2017). Identification of rice diseases using deep convolutional neural networks. *Neurocomputing*, 267, 378-384.
- Mackay, I. M., Arden, K. E., & Nitsche, A. (2002). Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Research*, 30(6), 1292-1305. <https://doi.org/10.1093/nar/30.6.1292>
- Maiden, M. C., Bygraves, J. A., Feil, E., Morelli, G., Russell, J. E., Urwin, R., ... & Spratt, B. G. (1998). Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(6), 3140-3145.
- Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Dow, M., Verdier, V., Beer, S. V., Machado, M. A., Toth, I., Salmond, G. and Foster, G. D. 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(6): 614-629.
- Mohanty, S. P., Hughes, D. P., & Salathé, M. (2016). *Using deep learning for image-based plant disease detection*. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1419. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01419>
- Mohanty, S. P., Hughes, D. P. ve Salathé, M. (2016). Görüntü tabanlı bitki hastalığı tespiti için derin öğrenmenin kullanımı. *Frontiers in plant science*, 7, 1419.
- Mohanty, S. P., Hughes, D. P. ve Salathé, M. (2016). Görüntü tabanlı bitki hastalığı tespiti için derin öğrenmenin kullanımı. *Frontiers in plant science*, 7, 1419.





- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., & Hase, T. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic acids research*, 28(12), e63-e63.
- Peng, X., Wang, S., Zhang, Y., Wang, S., Meng, S., Hu, L., & Ma, H. (2025). Development of a new ERA-CRISPR/Cas12a method for rapid sensitive detection of *Ralstonia pseudosolanacearum* in eucalyptus. *Frontiers in Plant Science*, 16, 1706542.
- Piepenburg, O., Williams, CH, Stemple, DL ve Armes, NA (2006). Rekombinasyon proteinleri kullanılarak DNA tespiti. *PLoS biyoloji*, 4 (7), e204.
- Ruiz-Padilla, A., Redondo, C., Asensio, A., Garita-Cambronero, J., Martínez, C., Pérez-Padilla, V., Marquinez, R., Collar, J., García-Méndez, E., Alfaro-Fernández, A., Asensio-S.-Manzanera, C., Palomo, J. L., Siverio, F., De León, L., & Cubero, J. (2020). *Assessment of multilocus sequence analysis (MLSA) for identification of Candidatus Liberibacter solanacearum from different host plants in Spain. Microorganisms*, 8(9), 1446. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091446>
- Schaad, N. W., & Frederick, R. D. (2002). Real-time PCR and its application for rapid plant disease diagnostics. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24(3), 250–258.
- Schaad, N. W., Frederick, R. D., Shaw, J., Schneider, W. L., Hickson, R., Petrillo, M. D., & Luster, D. G. (2003). Advances in molecular-based diagnostics in meeting crop biosecurity and phytosanitary issues. *Annual Review of Phytopathology*, 41(1), 305-324.
- Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. (2001). Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria.
- Terentev, A., Dolzhenko, V., Fedotov, A., & Eremenko, D. (2022). Current state of hyperspectral remote sensing for early plant disease detection: A review. *Sensors*, 22(3), 757.
- Yang, L., Sun, Y., Sun, L., Wang, Z., Feng, J., & Liang, Y. (2025). Application of loop-mediated isothermal amplification in plant pathogen detection. *Phytopathology*, 115(1), 6–13. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-23-0391-KC>
- Zhang, X., Vinatzer, B. A., & Li, S. (2024). Hyperspectral imaging analysis for early detection of tomato bacterial leaf spot disease. *Scientific Reports*, 14(1), 27666.

