

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZBK-YL-2007-004

AYDIN İLİ'NDE PAMUK ALANLARINDAN ELDE
EDİLEN *Verticillium dahliae* KLEB. İZOLATLARININ
VEJETATİF UYUM GRUPLARININ (VCGs)
SAPTANMASI

HAZIRLAYAN:

Havva DİNLER

DANIŞMAN:

Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU

AYDIN-2007

*** Bu Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri (ZRF- 05006 no' lu proje) ve Tübitak (TOVAG-1040181 no'lu proje) desteğiyle yürütülmüştür.**

ÖZ

Çalışma, Aydın İli pamuk ekim alanlarından elde edilen *Verticillium dahliae* izolatlarının Vegetatif Uyum Gruplarını (VCGs) tespit etmek amacıyla yapılmıştır. 2004-2005 yıllarında Aydın ilinde pamuk ekim alanı açısından önemli 12 ilçede yapılan survey çalışmalarında, 47 *Verticillium* spp. izolatu elde edilmiş ve hepsi *Verticillium dahliae* Kleb.olarak tanılanmıştır. Acala SJ2 pamuk çeşiti ile yapılan patojenisite çalışmalarında izolatların virülensi %3.83-100 arasında değişmiştir. İzolatların pamuk bitkilerindeki yaprak döküm oranlarının ise %0.0-100.0 arasında değiştiği belirlenmiştir. 24 *V.dahliae* tek spor izolatından elde edilen 64 mutant tester izolatları ile heterokaryosis testlerine alınmıştır. Pamuk alanlarından elde edilen 54 mutantın 38'i VCG2B iken, 6'sı VCG2B ile kuvvetli fakat VCG1 ile zayıf, 5' i VCG 2B ve VCG1 ile kuvvetli, 2'si VCG2A ile kuvvetli, 1'i VCG1 ile kuvvetli fakat VCG2B ile zayıf, 1'i VCG2B ve VCG4B ile zayıf, 1'i ise VCG2B ile zayıf heterokaryosis oluşturmuştur.

Anahtar sözcükler: Pamuk, *Verticillium dahliae*, Vegetatif Uyum Grupları

ABSTRACT

The study was carried to determine the Vegetative Compatibility Groups (VCGs) of *Verticillium dahliae* isolates obtained from the cotton growing areas of Aydın province. In survey studies carried out 12 important cotton-growing counties of Aydın in 2004-2005, 47 *Verticillium* spp. isolates were obtained and identified as *Verticillium dahliae* Kleb. Pathogenicity tests were performed on cotton plants cv. Acala SJ2. The virulence of the isolates changed between 3.83 and 100% while the percentage of leaf shedding ranged from 0 to 100. 64 mutants obtained from 24 single spore *V.dahliae* isolates were tested with tester strains for heterokaryosis. While 38 out of 54 mutants obtained from the cotton fields were VCG2B, 6 was strongly compatible with VCG2B but weakly compatible with VCG1, 5 of them was strongly compatible with VCG2B and VCG1, 2 was strongly compatible with VCG2A, 1 was strongly compatible with VCG1 and weakly compatible with VCG2B, 1 was weakly compatible with VCG2B and VCG4B, and 1 was weakly compatible with VCG2B.

Key words: Cotton, *Verticillium dahliae*, Vegetative Compatibility Groups

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÇİZELGELER LİSTESİ	iii
ŞEKİLLER LİSTESİ	iv
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	10
2.1. Ülkemizde Yapılan Çalışmalar	10
2.2. Dünya’da yapılan çalışmalar	13
3. MATERYAL ve METOT	18
3.1. Materyal	18
3.2. Metot	18
3.2.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması ve izolatların elde edilmesi	18
3.2.1.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması	18
3.2.1.2. İzolasyon ve tanılama çalışmaları	19
3.2.1.3. Tek Spor İzolasyonu	19
3.2.2. Patojenisite çalışmaları.....	20
3.2.3. Vejetatif uyum grubu çalışmaları.....	22
3.2.3.1. Nit mutantların elde edilmesi ve karakterizasyonu.....	22
3.2.3.2. Vejetatif uyum gruplarının saptanması	22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	24
4.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması ve izolatların elde edilmesi	24
4.2. Patojenisite çalışmaları.....	26
4.3. Vejetatif uyum grubu çalışmaları.....	32
4.3.1. Nit mutantların elde edilmesi ve karakterizasyonu.....	32
4.3.2. Vejetatif uyum gruplarının saptanması	37
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	46
ÖZET	47
SUMMARY	49
TEŞEKKÜR.....	51
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	56

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
No	No
1. Dünya'da 1997-2003 yılları arasındaki pamuk (kütü) ekim alanları, üretim ve verim değerleri	2
2. Bazı ülkelere ait 2003 yılı pamuk (kütü) ekim alanları, üretim ve verim değerleri	3
3. 2003 yılında bölgeler açısından ekim alanları, kütü pamuk, lif pamuk üretimi ve lif verimi	4
4. 2000-2005 yılları arasında Aydın İli'ne ait pamuk ekim alanı, üretim miktarı ve verimi	5
5. Aydın İli ilçelerinin 2002-2005 yılları arasındaki pamuk ekim alanı, kütü ve lif üretimi	6
6. 2004 yılında , Aydın İli ilçelerinde pamuk tarlalarından elde edilen izolatlar ve hastalıklı pamuk bitkisindeki belirti tipleri	24
7. 2005 yılında, Aydın İli ilçelerinde pamuk tarlalarından elde edilen izolatlar ve hastalıklı pamuk bitkisindeki belirti tipleri	26
8. 2004 yılı <i>V.dahliae</i> izolatlarının pamuktaki (%) hastalık şiddetleri ve (%) yaprak dökümü	27
9. 2005 yılı <i>V.dahliae</i> izolatlarının pamuktaki (%) hastalık şiddetleri ve (%) yaprak dökümü	30
10. 2004 yılında pamuktan elde edilen <i>V. dahliae</i> izolatlarının fenotipik ayrımı	33
11. 2005 yılında pamuktan elde edilen <i>V. dahliae</i> izolatlarının fenotipik ayrımı	36
12. Aydın İli'nde 2004 yılında <i>V.dahliae</i> tek spor izolatlarından elde edilen mutantlar ile tester izolatlar arasında yapılan heterokaryosis testleri	39
13. Aydın İli'nde 2005 yılında <i>V.dahliae</i> tek spor izolatlarından elde edilen mutantlar ile tester izolatlar arasında yapılan heterokaryosis testleri	41

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No		Sayfa No
1.	a. İnokulumun mikropipetle damlatılması, b. İnokulumun enjektörle bitkiye verilmesi.....	21
2.	Verticillium solgunluğu belirtisi görülen tarlada yaprağını döken ve dökmeyen bitkiler.....	25
3.	a. 3/3(2005-YD) ve b. 10/1(2004-DM) <i>V. dahliae</i> izolatlarının pamuk yaprağındaki belirtisi.....	31
4.	a. 6/1 (2004-Nazilli) no'lu <i>V. dahliae</i> izolatına ait nit1/nit3 mutantlar, b. 15/1 (2005-Nazilli) no'lu <i>V. dahliae</i> izolatına ait nit1/nit3 mutantları.....	34
5.	2/1 (2004-Merkez) no'lu <i>V. dahliae</i> izolatına ait Nit M mutanti.....	35
6.	15/1(2005- Nazilli) no'lu <i>V. dahliae</i> tek spor izolatının mutantları arasındaki kuvvetli heterokaryosis zonu.	38
7.	15/1(04)-2 ve 1/2(04)-2 no'lu <i>V. dahliae</i> tek spor izolatının mutantları arasındaki kuvvetli heterokaryosis zonu.	38
8.	16/3(04)-4 no'lu mutant ile VCG2B arasındaki mikrosklerot oluşumu.....	44
9.	6/1(04)-4 no'lu mutantın VCG2B ile gösterdiği prototrophic gelişme.	44
10.	Önce VCG2B ile uyum sağlamış, daha sonra mutant özelliğini kaybetmiş <i>V. dahliae</i> izolatı.....	45

1.GİRİŞ

Pamuk, Malvales takımına ait, Malvaceae familyasından, *Gossypium* cinsine ait bir kültür bitkisidir. Kültür pamukları Herbacea ve Hirsuta olmak üzere iki grup altında toplanmaktadır. Eski dünya pamukları adı verilen, Herbacea grubunda *G. arboreum* L. ve *G. herbaceum* L. olmak üzere iki tür bulunmaktadır. Yeni dünya pamukları adı verilen Hirsuta grubunda ise *G. hirsutum* L., *G. barbadense* L. ve *G. tomentosum* L. türleri bulunmaktadır (Anonymous, 2006a).

İnsanlar tarafından tarımının yapılma tarihi çok eski dönemlere rastlayan pamuk, lifi işlenen ilk bitkidir. Pamuğun eski dünyadaki beşiği Hindistan'da pamuk tarımının en az 5000 yıl önce yapıldığı, kumaş dokumasında kullanılmasının da M.Ö. 3000 yılına rastladığı arkeolojik kazılarda belirlenmiştir. Pamuğun anavatanı konusunda tam bir kesinlik bulunmamakla birlikte Asya, Amerika ve Afrika'nın sıcak bölgelerinden Dünya'ya yayıldığı tahmin edilmektedir (Gencer, 1987).

Pamuk bitkisi her türlü toprakta yetişebilen bir bitki olmakla birlikte, yüksek verim ve kaliteye ulaşabilmek için toprağın derin profilli ve alüvyal olması gerekir. Derin, kumlu –killi, su tutma yeteneği yüksek, geçirgenliği, işlenmesi ve sulanması kolay topraklar pamuk tarımı için ideal topraklardır. Pamuk tarımında en önemli iklim faktörlerinin başında sıcaklık, gün ışığı, yağış ve oransal nem gelmektedir. Yıllık ortalama sıcaklığın 19 °C, yaz ayları sıcaklığının ise 25 °C olması gerekir (Gencer, 1987).

Lifi ile tekstil sanayinin, çekirdeğinden elde edilen pamuk yağı ile bitkisel yağ sanayinin, kapçık ve küspesi ile yem sanayinin, ayrıca lifleri ile de selüloz sanayinin hammaddesini teşkil etmektedir. Lifi doğal oluşu, teri absorbe edişi, ısıtılıp kaynatıldığında diğer liflere göre sağlam kalışı, statik elektriği daha az iletmesi, hava geçirgenliği ve hijyenik özellik taşıma avantajları ile beşeri ihtiyaçların karşılanmasında diğer bitkisel ve sentetik elyaflara tercih edilmektedir (Anonymous, 2006a).

Dünya nüfusunun hızla artması, öte yandan sanayileşen ve kalkınan toplumlarda yaşam seviyesinin yükselmesi, pamuk tüketimini ve ihtiyacını artırmıştır. Dünya pamuk tüketimi son elli yıllık dönemde % 27 oranında artarak 24 milyon tonu geçmiştir (Anonymous, 2006b).

Dünya’da 1997-2003 yılları arasındaki pamuk ekim alanı verileri incelendiğinde, yıllar arasında önemli bir fark olmadığı ve yaklaşık 32 milyon hektar alanda pamuk tarımının yapıldığı görülmektedir. Buna paralel olarak pamuk üretiminde de önemli bir fark olmadığı ve 50 milyon ton’un üzerinde pamuk elde edildiği ancak 2001 ve 2003 yıllarında verime bağlı bir artış olduğu söylenebilir (Çizelge 1, Anonymous, 2004).

Çizelge 1. Dünya’da 1997-2003 yılları arasındaki pamuk (kütlü) ekim alanları, üretim ve verim değerleri (Anonymous, 2004)

Yıllar	Ekim Alanı (ha)	Üretim(t)	Verim(kg/da)
1997	33.956.827	54.374.752	160
1998	33.345.648	51.885.163	156
1999	32.611.052	52.884.385	162
2000	31.561.755	53.143.086	168
2001	34.433.546	60.508.684	176
2002	32.281.621	54.165.613	168
2003	32.374.092	56.969.044	176

Dünya’da bazı önemli pamuk üreticisi ülkelere ait pamuk ekim alanı, üretim ve verim değerleri Çizelge 2’de gösterilmektedir. Çizelge 2’de görüldüğü gibi, 2003 yılında Dünya’da 32.374.092 ha’lık ekim alanında 56.969.044 ton kütlü pamuk üretilmiştir. Hindistan ekim alanı açısından Dünya’da %26’lık pay ile ilk sırada yer alırken bunu, Amerika (%15) ve Çin (%13) izlemektedir. Dünya pamuk üretimi irdelendiğinde ise, Çin %27 ile birinci sırada yer alırken bunu Amerika (%17) ve Hindistan (% 11) takip etmektedir. Burada Hindistan, Dünya pamuk ekim alanının dörtte birine sahipken verim değerinin çok düşük olması nedeniyle Dünya pamuk üretiminin ancak %10’unu karşılayabilmektedir. Ülkemiz 711.000 ha’lık ekim alanı ile Dünya pamuk ekiliş alanlarının %2’sine ve yaklaşık 2.5 milyon ton’luk üretimi ile

de Dünya pamuk üretiminin %4'üne sahip olup, pamuk üreticisi ülkeler arasında 6. sırada yer almaktadır. Ülkemizin pamuk verimi 350 kg/da olup bu değer Dünya pamuk ortalama veriminin iki katıdır (Çizelge 2, Anonymous, 2004).

Çizelge 2. Bazı ülkelere ait 2003 yılı pamuk (kütü) ekim alanları, üretim ve verim değerleri (Anonymous,2004)

Ülkeler	Ekim Alanı (ha)	Ekim alanındaki % payı	Üretim (t)	Üretimdeki % payı	Verim (kg/da)
Çin	4.500.000	13	15.600.000	27	347
Amerika	4.879.750	15	10.100.000	17	207
Hindistan	8.390.000	25.9	6.300.000	11	75
Pakistan	3.000.000	9	5.455.000	9	181
Özbekistan	1.393.000	4.3	2.856.000	5	205
Türkiye	711.000	2	2.489.000	4	350
Brezilya	717.160	2.2	2.200.143	3	307
Türkmenistan	750.000	2.3	713.700	1	95
Avustralya	145.000	0.4	618.000	1	433
Dünya	32.374.074	-	56.969.044	-	176

Türkiye’de pamuk, genelde Ege, Antalya, Çukurova ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yetiştirilmektedir. Başka bir deyişle pamuk, ülkenin batı ve güney tarafında, nehir yatakları etrafında ya da arasında olan alanlarda yetiştirilmektedir. Yüksek nem ve gece – gündüz arasındaki sıcaklık farkının azlığı gibi uygun ekolojik koşullarından dolayı pamuk tarımı Ege Bölgesi’nde Gediz, Büyük ve Küçük Menderes; Antalya bölgesinde Aksu; Çukurova bölgesinde Seyhan ve Ceyhan; Güneydoğu Anadolu bölgesinde Fırat ve Dicle nehir yatakları arasında yoğunlaşmıştır (Anonymous, 2006b).

Pamuk ülke ekonomisine kazandırdığı katma değer ve istihdam katkısı yüksek olan önemli bir tarım ürünüdür. Özellikle tekstil ürünleri, ihracat gelirimizde önemli bir paya sahiptir. Ancak pamuk ekim alanlarında son yıllarda daralma görülmektedir. Bunun temel nedeni reel olarak pamuk fiyatlarının önemli oranda

gerilemesi ve pamukta girdi/ürün fiyat paritesinin girdiler lehine değişmesidir (Anonymous, 2006b).

2003 yılında Türkiye genelinde Güneydoğu Bölgesi, 284.000 ha ekim alanı ile birinci sırada, Ege Bölgesi 212.000 ha ekim alanı ile ikinci sırada, Çukurova ise 126.000 ha ekim alanı ile üçüncü sırada yer almıştır. 2003 sezonunda Güneydoğu Anadolu Bölgesi % 46.86 pay ile kütlü pamuk üretiminin yaklaşık yarısını gerçekleştirmiştir. Kütlü pamuk üretimi açısından Ege Bölgesi % 29.09 payla ikinci sırada, Çukurova ise % 22.45 ile üçüncü sıradadır. Lif verimi açısından bölgeler bazında değerlendirme yapıldığında; Antalya birinci (1.705 kg/ha), Çukurova ikinci (1.276 kg/ha), Güneydoğu Anadolu Bölgesi ise üçüncü sırada (1.233kg/ha) yer almaktadır (Çizelge 3, Anonymous, 2006b).

Çizelge 3. 2003 yılında bölgeler açısından ekim alanları, kütlü pamuk, lif pamuk üretimi ve lif verimi (Anonymous, 2006b).

Bölgeler	Ekim Alanı (1000ha)	Ekim Alanı %	Kütlü Pamuk Üretimi (t)	Kütlü Pamuk Üretimi %	Lif Pamuk Üretimi (t)	Lif Pamuk Üret. %	Lif Verimi (kg/ha)
Ege Bölgesi	212	33.65	567.341	29.09	267.607	29.77	1.083
Güneydoğu	284	45.08	1.075.214	46.86	421.075	46.85	1.233
Çukurova	126	20.00	515.139	22.45	196.233	21.83	1.276
Antalya	8	1.27	36.605	1.60	13.909	1.55	1.705
Toplam	630	-	2.294.299	-	898.824	-	-

Pamuk ekim alanı ve üretimi açısından ülkemizde ikinci sırada yer alan Ege Bölgesinde 2004 yılı pamuk ekim alanı açısından Aydın İli birinci (65.916 ha), İzmir ikinci (50.110 ha), Manisa (28.575 ha) üçüncü sırada yer almaktadır (Anonymous, 2006b).

Ege Bölgesi'nde pamuk ekim alanı ve üretim değerleri açısından birinci sırada yer alan Aydın İli'nde 2000-2005 yılları arasındaki değerler Çizelge 4'de verilmiştir.

Çizelge 4. 2000-2005 yılları arasında Aydın İli'ne ait pamuk ekim alanı, üretim miktarı ve verimi (*)

Yıllar	Ekiliş Alanı (ha)	Üretim Miktarı (t)	Verim (kg/ha)
2000	71.874	255.829	3.559
2001	82.601	252.559	2.966
2002	79.463	269.147	3.196
2003	77.685	267.309	3.400
2004	67.636	247.008	3.620
2005	47.695	190.123	3.286

Çizelge 4'te görüldüğü gibi, Aydın İli'nde 2003 yılında 77.685 ha alanda pamuk ekimi yapılırken bu oran 2005 yılında 47.695 ha'a düşmüştür. Ekim alanında yaklaşık olarak % 39'luk bir azalma kaydedilmiştir. Buna paralel olarak pamuk üretim miktarında da % 40 oranında azalma görülmüştür. Aydın İli ilçelerine ait pamuk ekim alanı, kütlü ve lif üretimi değerleri Çizelge 5'de verilmiştir.

* Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Aydın Tarım İl Müdürlüğü Kayıtları, 2000-2005

Çizelge 5. Aydın İli ilçelerinin 2002-2005 yılları arasındaki pamuk ekim alanı, kütlü ve lif üretimi *

İLÇELER	Ekim Alanı (ha)				Kütlü Üretimi (t)				Lif Üretimi (t)			
	2002	2003	2004	2005	2002	2003	2004	2005	2002	2003	2004	2005
Merkez	7000	6065	5458	3500	11200	21227	21832	14750	28000	8491	8733	5900
Bozdoğan	1485	1100	710	504	1366	2805	2485	1512	3415	1122	994	605
Buharkent	513	579	587	417	656	1966	2054	1667	1642	786	821	667
Çine	3000	1700	2200	2200	4200	5950	8800	8800	10500	2380	3520	3520
Didim	2900	3030	3224	2400	3712	9999	10883	9600	9280	4000	4353	3840
Germencik	4720	4350	3045	1600	6042	14790	10200	6400	15104	5916	4080	2560
İncirliova	3600	3350	3120	2000	5760	14725	12480	6200	14400	4690	4992	2480
Karacasu	150	150	75	450	180	450	300	1350	450	180	120	540
Karpuzlu	1200	1085	1050	600	1140	2622	3675	2500	2850	1049	1470	1000
Koçarlı	7500	8500	8500	5100	11400	34000	32300	17000	28500	13600	12750	6800
Köşk	365	546	500	194	414	1638	1650	582	1036	655	660	232
Kuşadası	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kuyucak	3400	3180	2891	1800	4080	10812	12000	7200	10200	4325	4800	2880
Nazilli	6500	5500	4500	2500	8320	16500	14625	8500	20800	6600	5850	3485
Söke	33000	34500	28000	22000	43560	117300	100800	94600	108900	44920	40320	37840
Sultanhisar	700	750	730	430	868	2325	2263	1462	2170	930	905	584
Yenipazar	3400	3300	3046	2000	4760	13200	10661	8000	11900	5280	4264	3200
TOPLAM	79463	77685	67636	47695	107659	267309	247008	190123	269147	107485	98632	76133

* Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Aydın Tarım İl Müdürlüğü Kayıtları

Çizelge 5 incelendiğinde, 2003 - 2005 yılları arasında hem ekim alanında hem de kütlü üretiminde önemli derecede düşüşler kaydedilmiştir. 2005 yılı pamuk ekim alanı açısından değerlendirildiğinde, Söke ilçesi birinci (%46) sırada yer alırken, bunu sırasıyla Koçarlı (%11), Merkez (%7.3) ve Nazilli (%5.2) ilçeleri izlemektedir. Bu ilçeler 2003 yılı pamuk ekim alanlarıyla karşılaştırıldığında % 40' lara varan azalışlar görülmektedir. Benzer durum pamuk kütlü ve lif üretim değerleri içinde söz konusudur.

Türkiye'de pamuk tarımını etkileyen faktörlerden biri de *Verticillium dahliae* Kleb.'nin neden olduğu Verticillium Solgunluğu hastalığıdır. Yapılan çalışmalarda, bu hastalığın Türkiye'nin bütün pamuk ekim alanlarında yaygın olduğu ve önemli ürün kayıplarına neden olduğu tespit edilmiştir (Karaca *et al.*, 1971; Esentepe, 1979; Sağır ve Tatlı, 1995).

Hastalık, pamukta çiçek dönemine yakın bir dönemde solgunluk olarak görülmektedir. Alt yapraklardan başlayan solma ve pörsüme üst yapraklara doğru ilerlemektedir. Solgunluğu artan yaprakların damar aralarında sararmalar görülmekte, daha sonra sararan yerler kuruyup esmerleşmektedir. Bazen hastalıklı yapraklar dökülmektedir. Hastalık erken başlamış veya tohum ekimi gecikmişse, hastalanan bitkilerin boyu kısa kalır, koza sayısı azalır ve kozalar küçük kalır. Hasta bitkinin gövdesi alt tarafa yakın enine kesilirse odun borularının esmer veya kahverengine döndüğü görülür. Etmen xylem içinde alttan yukarı yayılarak tohuma kadar ulaşabilmektedir. Fungusun miselleri odun borularında yayılarak yer yer tıkanıklıklara yol açmaktadır. Bununla birlikte asıl solma ve kuruma belirtileri fungusun salgıladığı toksinlerden ileri gelmektedir (Karaca, 1974).

Verticillium Solgunluğu'na neden olan *V. dahliae*'nin toprak kaynaklı oluşu, toprakta 15 yıl kadar canlı kalabilmesi, geniş bir konukçu dizisine sahip olması, mücadelesinin çok zor olması ve etmenin üretim materyali ile de taşınması (Agrios, 1997), hastalığın önemini daha da artırmaktadır. Bu hastalığın zararını azaltmak için bazı kültürel önlemlerle birlikte dayanıklı ya da tolerant çeşitlerin yetiştirilmesi gerekmektedir.

Korolev *et al.*, (2000a), *V.dahliae*'nin geniş bir konukçu dizisine sahip olması ve görünüşte konukçuya özelleşmesinin az olması nedeniyle genetik farklılığın az olduğunu belirtmiştir. Ancak son zamanlarda yapılan vejetatif uyum ve moleküler çalışmalar, *V.dahliae*'deki genetik farklılığın önemli olduğunu göstermektedir. Vejetatif uyum, hifsel anastomosis'e maruz kalan fungal ırkların heterokaryon oluşturma yeteneğini ifade etmektedir. Bu heterokaryonu oluşturan izolatlar aynı vejetatif uyum grubunda yer almaktadır (Korolev *et al.*, 2000a). Vejetatif veya heterokaryon uyum birçok bitki patojeni fungusta gösterilmiş olup onların doğal popülasyonları arasındaki genetik farklılığı değerlendirmede önemlidir. Biri diğeriyle heterokaryonlar oluşturan ve anastomosis'i gerçekleştiren fungal ırklar, vejetatif uyumlu olarak değerlendirilmekte ve tek bir VCG (vegetative compatibility group = vejetatif uyum grubu)'ye dahil edilmektedir. Aksine biri diğeriyle anastomosis oluşturmayan ırklar (bunlar heterokaryon oluşturmaz) vejetatif uyumsuz olarak adlandırılır (Joaquim and Rowe, 1990). Anastomosis özel dallanmış hifler arasında oluşur, hifin uca doğru gelişen büyüme noktalarının 1-2 mm gerisinde oluşan yan dallar, iki hifi birleştiren anastomosis köprülerini oluştururlar. Sonuçta birleşen hücreler H şeklinde ve çift nükleusludur. Ancak hif boyunca hücreden hücreye çekirdek göçü olmaz ve bu iki nükleuslu hücreler çoğalma özelliğine sahip değildirler (Puhalla and Mayfield, 1974' e atfen Katan, 2000). Anastomosis sonucu oluşan hücrenin çekirdekleri genetik olarak birbirinin benzeri ise bu tip hücrelere homokaryon denir. Eğer anastomosis sonucu oluşmuş hücrenin çekirdekleri genetik olarak farklı bireylerden geliyor ise bu tip hücrelere de heterokaryon denir (Katan, 2000). Farklı bireyler arasındaki anastomosis rastgele bir olay değildir ve bazı özel genetik mekanizmalarla yönetilir. Burada vejetatif uyumluluk, kromozomlar üzerinde bulunan het (heterokaryon) ve vic (vegetative incompatibility) olarak isimlendirilmiş çoklu gen lokuslarının yönetimi altındadır (Katan, 2000). Vejetatif uyumsuzluk doğada heterokaryosis'in kurulmasını engeller ve genetik olarak farklı misellerin birleşmesini engeller. Ancak laboratuarda uygun mutantlar heterokaryonlar yaratmak için rutin olarak bir araya getirilmektedir. Nitrati kullanmayan mutantlar (nit) arasındaki heterokaryon testleri, *V.dahliae* izolatları arasındaki vejetatif uyumu saptamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Nit

mutantlar, klorat eklenmiş ortamlarda klorate'a dayanıklı sektörler şeklinde ortaya çıkmaktadır (Katan, 2000).

Vejetatif uyum terimi, seksual uyumdan oldukça farklıdır. *V. dahliae* seksual devresi bilinmeyen anamorfik bir fungustur. *V. dahliae*'de hifsel anastomosis ve heterokaryosis sadece farklı ırklar arasındaki genetik bilgi alışverişi demektir. Böylece aynı VCG'e ait ırklar diğer VCG gen havuzlarından ayrı bir gen havuzunu paylaşma potansiyeline sahiptir (Korolev *et al.*, 2000a). *Verticillium*'da eşeyli üremenin olmaması nedeniyle bu farklılıkların oluşması, *Verticillium*' un iki ırkı arasındaki genetik materyal değişiminin sadece anastomosis ya da heterokaryosisle olduğunu göstermektedir. Bu genetik materyal değişiminin bütün ırklar arasında olduğunu söylemek mümkün değildir (Hastie and Heale, 1984'e atfen Katan, 2000). Bu ırklar arasında vejetatif uyumsuzluk da söz konusudur. Kendi aralarında anastomosis oluşturmamayan izolatlar gerçekte genetik olarak birbirinden farklıdır. Kendi aralarında anastomosis oluşturanlar aynı vejetatif uyum grupları içerisine girmektedirler. Bunların aralarında genetiksel olarak benzerliklerin olabileceği düşünülmektedir.

Ülkemizde *V. dahliae*'nin vejetatif uyum gruplarının (VCG) saptanması konusunda yapılan bir çalışmada, 5 konukçu bitkiden (pamuk, patlıcan, karpuz, bamya ve zeytin) elde edilen 102 *V. dahliae* izolatının 89'unun fenotipi belirlenmiştir. Bu çalışmada, 77 izolat arasında 3 belirgin VCG grubu (VCG2, VCG4, VCG1) ve 4 belirgin VCG alt grubu (VCG2A, VCG2B, VCG4A, VCG4B) belirlenmiş, geri kalan 12 izolatın durumu netleştirilememiştir (Derviş ve Biçici, 2003).

V. dahliae'nin konukçusu olan ana ürünlerdeki VCG'ler ve alt gruplarının bilinmesi, izolatlar içindeki genetiksel benzerliklerin veya farklılıkların anlaşılmasında önemli yararlar sağlayacak ve ıslahçılara da katkı sağlayacaktır.

Bu nedenle çalışma, Aydın ilinde önemli pamuk alanlarından elde edilen *V. dahliae* izolatlarının vejetatif uyum gruplarını (VCG) saptamak amacıyla ele alınmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Ülkemizde Yapılan Çalışmalar

Pamuklarda *Verticillium* Solgunluğu, ülkemizde ilk kez 1941 yılında Manisa Kırkağaç'ta İyriboz (1941) tarafından saptanmış, ancak etmenin *Verticillium dahliae* Kleb. olduğu Karaca *et al.*(1971) tarafından bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, hastalığa yakalanma oranının İzmir, Aydın ve Manisa illerinde %27 (Uygun ve ark., 1978'e atfen Sezgin, 1985), Adana'da %0.01(Esentepe, 1979), Güneydoğu Anadolu Bölgesinde %16.27 (Sağır ve ark., 1995), Antalya'da %14 (Esentepe, 1979) olduğu, ürün kaybının ise İzmir, Aydın ve Manisa illerinde %12 (Uygun ve ark., 1978'e atfen Sezgin, 1985), Adana'da %0.03, Antalya'da %4 olduğu bulunmuştur (Esentepe, 1979). Yapılan başka bir çalışmada da, bu hastalığın Türkiye'nin bütün pamuk ekim alanlarında yaygın olduğu ve önemli ürün kayıplarına neden olduğu, Güneydoğu Anadolu bölgesinde bir survey çalışmasında hastalığın bölgedeki ortalama yaygınlık oranının %79.28 ve yakalanma oranının ise %16.27 olduğu saptanmıştır (Karaca *et al.*,1971; Sağır ve ark., 1995).

Verticillium Solgunluğu etmeni *V.dahliae*'nin toprak fungusu olması, ekonomik mücadelesini güçleştirmektedir. Bu hastalıktan korunmada dayanıklı çeşit yetiştirilmesi oldukça önemlidir. Bu amaçla yapılan araştırmalarda bir çok pamuk çeşidinin etmene karşı duyarlılıkları saptanmıştır. Akdeniz Bölgesi'nde dayanıklı çeşitleri saptamak amacıyla 19 pamuk çeşidi, saksı ve tarla koşullarında denemeye alınmış ve bu hastalığa karşı duyarlılıkları belirlenmiştir. 19 çeşitten Taşkent 1 çeşidinin en dayanıklı, Acala S.J.1, Aleppo 1, Nazilli 66-100, QF 34/1 ve Coker 310 çeşitlerinin orta derecede duyarlı, Delcott, Stonville 7-A, Mo-del , 8/2-1972-43 ve Deltapain 61 çeşitlerinin duyarlı, bölgenin standart çeşitleri olan Deltapain 15/21, Çukurova 1518, Adana 967-10 ve Sayar 314 ile bunların melezleri olan Deltapain 1521×C.Queen/969-96, Deltapain 15×Acala 292, Ç.M.B. 975-85, Deltapain 16/1975-1 çeşitlerinin en duyarlı oldukları belirlenmiştir (Dolar, 1984).

Ege Bölgesi'nde yapılan bir diğer çalışmada pamuk solgunluk etmeni *V.dahliae*'ye karşı bazı pamuk çeşitlerinin duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla 18

pamuk çeşidi saksı ve tarla denemeleri olarak değerdendirmeye alınmıştır. Bu eşitlerden ST 250/1, ST 250/2 ve ST 226/2 eşitleri dayanıklı, Stoneville-506, Stoneville-825 eşitleri duyarlı olarak bulunmuştur (Karcılıoğlu *et al.*, 1992).

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde pamuk ekim alanlarında görülen solgunluk hastalığı etmeni *V. dahliae*'ye karşı tarla ve saksı denemeleri şeklinde 18 pamuk çeşidi test edilmiştir. Tarla denemelerinde çeşitlerin ortalama hastalık oranları % 27.5- 87.5, saksı denemelerinde ise % 0.00- 87.5 arasında değışiklik göstermiştir. Her iki denemede Taşkent 1, Nazilli 87, Nazilli M 39, Nazilli M 503-6, ST 250/1, ST 250/2, Erşan 92 (sat 32), Maraş 92 (Kat 64) ve Delta Pine 90 eşitleri dayanıklı, Sayar 314, Stoneville 453, Stoneville 825, Stoneville 691/32, Stoneville 907, Delta Pine 20, Delta Pine 50, Mc Neir 235 ve Aktaş 3 eşitleri duyarlı bulunmuştur (Sağır ve Tatlı, 1995) .

V. dahliae' e karşı pamuk çeşitlerinin duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla Ege Bölgesi'nde yapılan çalışmada, M-504, M-342, Nazilli 84, Nazilli 84 (87-18), Nazilli 87, Nazilli 87 (87-10), NF-872/2, NF-872-3, NF 872-7, NC 872/43, NC 872/162 ve Stoneville 453 eşitleri kullanılmıştır. Değerdendirmeye alınan çeşitlerden Nazilli 87 ve Nazilli 87 (87-10) eşitleri en dayanıklı bulunurken bu eşidi Nazilli 84 izlemiştir. Diğerd eşitler ise duyarlı bulunmuştur (Karcılıoğlu ve ark., 1995).

Adana'da *V.dahliae*'ye karşı bazı pamuk çeşitlerinin duyarlılıklarını belirlemek amacıyla 11 pamuk hat ve çeşidi değerdendirmeye alınmıştır. Denemeler yetiştirme havuzlarında, yapay inokulasyon koşullarında M-46, Aktaş 3, Nazilli 84, Nazilli 87, Erşan 92, Maraş 92, M-39, M-503/6, Stonville 907, Stonville 9106, Çukurova 1518 çeşit ve hatları ile yürütölmüştür. Hasat dönemine gelen bitkiler kök, kökboğazı ve kökboğazının üzerinden kesilerek iletim dokularındaki renk değışimine göre hasta ve sağılam olarak değerdendirilmiştir. Bunlardan Nazilli 84, Nazilli 87, Erşan 92, Maraş 92, M-503/6 ve M-39 çeşit hatları dayanıklı, Aktaş 3, Çukurova 1518 eşitleri duyarlı bulunmuştur (Çetin ve Ata, 1996).

Göre ve ark.(2004) tarafından 2002 ve 2003 yıllarında yapılan çalışmada, 13 pamuk çeşidi hastalığa karşı dayanıklılıkları açısından tarla, saksı ve kontrollü çevre

koşullarında denenmiştir. Tarla denemeleri, Nazilli Pamuk Araştırma Enstitüsü (Aydın)'nde gerçekleştirilmiş ve çeşitler arasında duyarlı olanların tolerant olanlardan daha yaygın olduğu belirlenmiştir. Çeşitler arasında yaprak belirtilerinin farklı gelişimi ve vasküler sistemdeki kahverengileşmeler dikkate alındığında, bütün denemelerde Carmen, N-84-S, STG-14 ve NDT-11 etmene tolerant reaksiyon gösterirken, geriye kalan çeşitler etmene duyarlı yada çok duyarlı bulunmuştur.

Ülkemizde pamuk çeşit ve hatlarının *V.dahliae*'ye duyarlılıkları konusunda birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen *V.dahliae*'nin doğal populasyonundaki genetik farklılıkları değerlendirebilmek için VCG'lerin tespiti ve dağılımı konusunda tamamlanmış sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Ege Bölgesinde Pamuk Solgunluk Hastalığı etmeni *V. dahliae*'nin patotiplerinin ve Nazilli 84 pamuk çeşidinin solgunluğa toleransının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, Ege Bölgesi'ndeki pamuk bitkilerinde solgunluk hastalığından *V.dahliae*'nin SS-4 tipi patotipinin sorumlu olduğunu ve Verticillium Solgunluğu Hastalığına karşı tolerant olan Nazilli 84 çeşidinin patojene karşı toleranslığını yitirdiğini göstermiştir (Onan and Karcıoğlu, 1998).

Kurt ve Biçici (1997)'e atfen Derviş ve Biçici (2003), mikrosklerot morfolojileri, *invitro*'da optimum miseliyal gelişme sıcaklıkları ve pamuk bitkilerinde patojenisite durumları açısından T-1 (yaprak dökken) ve SS-4 (yaprak dökmeyen) izolatu olarak ayrılmış *V.dahliae* pamuk biyotiplerinin, vejetatif uyum gruplarının araştırıldığını belirtmektedir.

Bu konuda yapılmış diğer çalışmada pamuk (Ceyhan, Hatay, Karataş, Kozan, K. Maraş, Osmaniye, Yüreğir, İzmir-Güzelköy), patlıcan (Hatay ve Tarsus), bamya (Ceyhan), karpuz (Tarsus) ve zeytinden (İzmir, Aydın) elde edilen 102 *V.dahliae* izolatu vejetatif uyum açısından incelenmiştir. Çalışmada 890 mutant elde edilmiş ve bu mutantların %78.65'i nit1, % 19.1'i Nit M yaklaşık %2.24'ü nit 3 olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmalarda 77 izolat arasında 3 belirgin VCG grubu (VCG2, VCG4, VCG1) ve 4 belirgin VCG alt grubu (VCG2B, VCG2A, VCG4B, VCG4A) belirlenmiş geri kalan 12 izolatın durumu netleştirilememiştir. 77 izolattan 49

tanesinin VCG2B'e, 19 tanesinin VCG2A'a, 6 tanesinin VCG4B'e, 1 tanesinin VCG4A'a ve 2 tanesinin VCG1'e ait olduğu bulunmuştur (Derviş ve Biçici, 2003).

2.2. Dünya'da yapılan çalışmalar

V. dahliae'nin geniş bir konukçu dizisine sahip olması ve görünüşte konukçuya özelleşmesinin az olması nedeniyle genetik farklılığın az olduğu düşünülmüştür. Ancak son zamanlarda yapılan vejetatif uyum ve moleküler çalışmalar, *V. dahliae*'deki genetik farklılığın önemli olduğunu göstermektedir.

V. dahliae'nin vejetatif uyum grupları konusunda yapılan çalışmalara 1979'lu yıllardan itibaren başlanmış ve bu çalışmalar 1990'lı yıllardan itibaren hız kazanmıştır.

Puhalla (1979), çeşitli konukçulardan ve coğrafik alanlardan elde edilen 19 *V. dahliae* izolatını birbiri ile heterokaryon oluşumu açısından testlemiştir. Testlenen 19 izolat'ın 4 alt grup içerisinde yer aldığı görülmüştür. Bir alt grup içerisindeki izolatlar birbirleriyle heterokaryon oluşturmuş fakat farklı alt gruplar arasındaki izolatlar heterokaryon oluşturmamıştır. Çünkü heterokaryosisin ve sonraki paraseksüel evrenin genellikle aseksüel funguslardaki genetik değişim yolu olduğu bilinmektedir. Alt gruplar ayrı popülasyonları genetik olarak gösterebilir. *V. dahliae* içinde genetik olarak ayrı popülasyonların belirlenmesi, bilinen patotiplerin dağılımı veya yeni patotiplerin orjinlerinin saptanmasına olanak sağlayabilir.

V. dahliae'nin, 15 ülkeden ve 38 farklı konukçu bitkiden izole edilen 96 izolatının heterokaryon oluşturma yeteneği test edilmiştir. Çalışmada mikrosklerotial renk mutantları kullanılmıştır. Heterokaryon olayı, albino ve kahverengi mikrosklerotial (ultraviyole ışığa maruz kalan) izolatların besi ortamında eşleştirildiğinde mikrosklerotların siyah bir hat oluşturmaları olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma sonunda 6 izolat arasında heterokaryosis ortaya çıkmamıştır. Kalan 86 izolat 16 VCG grubunda yer almıştır. Aynı VCG grubu içindeki izolatlar arasında heterokaryon oluşmuş, farklı gruptaki izolatlar arasında ise oluşmamıştır. Çeşitli VCG gruplarının farklı coğrafik dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Gruplar içinde

genetik homojenlik olduğu kanıtlanmıştır. Grup içindeki izolatların konukçu dizisi ve virülensliklerinin benzer olabileceği belirlenmiştir (Puhalla and Hummel, 1983).

Ohio'nun Colombiana, Portage, Sandusky ve Wayne kentlerindeki ticari patates üretilen tarlalardaki toprak ve *Verticillium* Solgunluğu belirtisi gösteren patates bitkilerinden *V.dahliae* izolatları elde edilmiştir. Elde edilen mikrosklerot renk mutantları kullanılarak orjinal olarak 15 VCG'e ayrılmış 22 *V.dahliae* izolatı tamamlayıcı auxotrophic nit mutantları kullanılarak vejetatif uyum açısından test edilmiştir. Nit mutantlar, *V.dahliae*'nin wild tiplerinde potasyum klorat (15-25 g/l) eklenen dekstroz'lu cornmeal agar'da klorat'a dayanıklı sektörlerin seçimiyle üretilmiştir. Bu izolatlardan elde edilen nit mutantlar arasındaki eşleştirme testleri 4 farklı VCG'nin tanımlanmasını sağlamıştır. Bu sonuçlar mikrosklerot renk mutantları kullanıldığında uyumsuz olduğu düşünülen birçok izolatin nit mutantlar kullanıldığında uyumlu olduğunu göstermiştir. Ohio'dan gelen 21 ilave *V.dahliae* izolatından elde edilen nit mutantlar ile 4 VCG'e ait tester izolatlar arasındaki tamamlama testleri, testlenen izolatların 4 VCG arasında dağıldığını göstermiştir. Test edilen izolatların VCG gruplarına dağılımı; 3'ü VCG1, 21'i VCG2, 2'si VCG3 ve 15'i VCG4 şeklinde olmuştur. Bir VCG içindeki tüm izolatlar seçilen tester izolatların en az biriyle kuvvetli olarak uyumlu fakat diğer VCG'lerin izolatlarıyla tamamen uyumsuz olmamıştır (Joaquim and Rowe,1990).

Joaquim and Rowe (1991), Ohio'da 22 patates tarlasındaki patates bitkileri ve topraktan 187 *V.dahliae* izolatı elde etmiştir. Bu izolatların klorate içeren besi ortamında nit mutantları (nitrat kullanmayan) belirlenmiş ve bu nit mutantlar kullanılarak vejetatif uyum grupları saptanmıştır. Bu izolatların 2'sinin VCG1, 53'ünün VCG2 ve 128'inin VCG4 içinde yer aldığı bulunmuştur. Kalan 4 izolatin nit mutanti elde edilemediği için vejetatif uyum için testlenememiştir. ABD'de 9 eyaletteki patates bitkilerinden elde edilen 47 *V.dahliae* izolatı da vejetatif uyum açısından testlenmiş ve bu izolatlardan 2'sinin VCG2'e, 45'inin VCG4 'e ait olduğu belirlenmiştir. Her iki koleksiyonun VCG4'leri VCG4A ve VCG4B alt gruplarına ayrılmıştır. VCG4A'a ait birçok izolat VCG3 tester izolatı ile zayıf vejetatif uyum göstermiştir. Bunun aksine VCG4B'nin bütün izolatlarının VCG3 tester izolatıyla vejetatif uyumsuz olduğu belirlenmiştir. VCG2, 4A ve 4B'e ait Ohio'dan izole edilen

129 *V.dahliae* izolatının patojenisite testleri sonucunda, VCG4A'a ait birçok izolatın VCG 2 ve 4B 'den daha virulent olduğu görülmüştür.

Bao *et al.* (1998), İsrail'de 12 yerdeki pamuk, patates, zeytin, patlıcan, krizantem ve domatesten izole ettikleri 34 *V.dahliae* izolatının vejetatif uyumunu saptamak için nit mutantları kullanmıştır. Heterokaryon oluşumuna dayanarak 33 izolat 2VCG'e ayrılmıştır. Bunlardan biri pamuk, patlıcan, krizantem ve zeytinden elde edilen 15 izolatı içermiş, diğeri ise patates, zeytin ve pamuktan elde edilen 18 izolatı içermiştir. 10 izolatla yapılan sınırlı patojenisite testinde, domates ve patlıcandan izole edilen iki izolat; domates, patlıcan ve pamukta patojen, pamuktan elde edilen birçok izolatın ise sadece pamuk ve patlıcanda patojenik olduğu, pamuktan elde edilen bir izolatın ise patojenik olmadığı belirlenmiştir. Birkaç izolatın ise pamuk ve patlıcandan ziyade domateste patojenik olduğu belirlenmiştir.

Bhat and Subbarao (1999), enginar, dolmalık biber, lahana, karnabahar, sivri biber, pamuk, patlıcan, marul, nane, patates, çilek, domates ve karpuzdan elde edilen *V. dahliae* izolatları ve yoncadan elde edilen *V. albo-atrum* izolatlarını patojenisiteleri açısından 14 konukçuda değerlendirmiştir. Dolmalık biber, lahana, karnabahar, pamuk, patlıcan ve naneden elde edilen *V. dahliae* izolatları konukçuya özelleşmiş ve diğerkonukçularda farklı patojenik reaksiyon göstermişlerdir. Ancak enginar, marul, patates, çilek, domates ve karpuzdan elde edilen *V. dahliae* izolatlarında konukçuya özelleşme görülmemiştir. Dolmalık biber; dolmalık biber ve patlıcandan elde edilen *V. dahliae* izolatları dışında tüm *Verticillium* izolatlarına dayanıklı olmuştur. Bu sonuçlar *V. dahliae* izolatlarının bazılarında konukçuya özelleşmenin olduğunu göstermektedir. Aynı izolatların vejetatif uyum grupları (VCG), nitrati kullanmayan mutantların (nit) eşleştirilmesi yoluyla karakterize edilmiştir. Lahana ve karnabahar izolatları nit mutant oluşturmamıştır. Pamuktan elde edilen izolat VCG1 grubuna, dolmalık biber, patlıcan, patates ve domatesten elde edilenler VCG4 grubuna ve kalan izolatların VCG2 grubuna ait oldukları bulunmuştur.

Rowe *et al.* (2000), ABD ve Kanada'nın batısındaki 114 ticari patates tohum partisinden 41'inden, ABD ve Kanada'nın doğusundaki 113 ticari tohum patates

partisinin 24'ünden *V.dahliae* izole etmiştir. Testlenen tüm *V.dahliae* izolatlarının VCG4'e ait olduğu bulunmuştur. Oregon ve Washington'da patates gövdesinden alınan toplam 140'dan fazla izolatin %78'inin VCG4A, %15'inin VCG4B ve %7'sinin ise VCG4AB olduğu, patates tohumlarından alınan 130 *V.dahliae* izolatinin %67'sinin VCG4A, %30'unun VCG4B ve %3'ünün VCG4AB olduğu saptanmıştır. Doğudan patates yumrularından alınan 18 izolatinin %67'sinin VCG4A, %33'ünün VCG4B olduğu belirlenmiştir.

Elena (2000), Yunanistan'ın merkez ve güneyindeki hastalıklı pamuk, domates ve karpuz bitkilerinden elde edilen *V.dahliae* izolatlarındaki farklılıkları değerlendirmek amacıyla yaptığı çalışmada, pamuktan elde edilen 28, domatesten 19 ve karpuzdan 17 *V.dahliae* tek spor izolatinı değerlendirmeye almıştır. Pamuktan elde edilen 28 *V.dahliae* izolatından 20'si VCG2B, 3'ü VCG2A ve VCG2B ile kuvvetli reaksiyon göstermiştir. 5 izolat ise kendine uyumsuz olarak bulunmuştur. Bu çalışma, Yunanistan'da pamuk alanlarındaki *V.dahliae* popülasyonunun genel olarak homojen olduğunu göstermiştir.

Korolev *et al.* (2000a), İspanya'nın güneyindeki pamuk alanlarından izole edilen 57 *V.dahliae* izolatu ve İsrail'den gelen 178 *V.dahliae* izolatinı kullanarak VCG'lerini belirlemiştir. İspanya'dan alınan 57 *V.dahliae* pamuk izolatu'nun 26'sı VCG1, 25'i VCG2A ve 5'i VCG4B olarak değerlendirilmiştir. Bir izolatta kendine uyumsuz olarak bulunmuştur. İsrail'den alınan 178 *V.dahliae* pamuk izolatinin ise 114'ü VCG2B, 63'ü VCG4B ve 1'i VCG2A olarak belirlenmiştir. İsrail'den alınan tüm VCG2B izolatları ve tek VCG2A pamuk izolatinin ülkenin kuzeyinden elde edildiği halbuki tüm VCG4B izolatlarının güneyden elde edildiği ve izolatların her bölgede homojen olarak dağıldığı bildirilmiştir. Ayrıca İsrail'den alınan tüm VCG2B izolatlarının (2 patojen olmayan hariç) inokule edilen bitkilerde cüceleşme ve kısmen yaprak dökümüne neden olduğu bulunmuş ve bu izolatlar "yaprak dökken benzeri" olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma, İspanya ve İsrail'de pamuğu hastalandıran *V.dahliae*'nin VCG4B olduğunu, VCG2'nin her iki Akdeniz ülkesinde yetiştirilen pamuktan elde edildiğini fakat VCG2B'nin sadece İsrail'de, VCG1'in ise sadece İspanya'da bulunduğunu ortaya koymuştur. VCG'ler ile patojenisiteleri arasındaki ilişkinin de araştırıldığı çalışmada her iki ülkede VCG2A ve VCG4B'nin

“yaprak dökmeyen” patotipte görüldüğü, VCG1 (İspanya)’ın “yaprak dökken”, VCG2B (İsrail)’nin “yaprak dökken benzeri” olduğu da ortaya konmuştur.

Korolev *et al.* (2000b), 1992 ve 1997 yılları arasında İsrail’de 47 yerdeki toprak ve 3 konukçu bitki türünden elde ettikleri 565 *V.dahliae* izolatu koleksiyonunu nit mutantları kullanarak vejetatif uyum açısından testlemişlerdir. Çalışmada 3 VCG grubu bulunmuş ve 28 izolat VCG2A, 158 izolat VCG2B ve 378 izolat ise VCG4B olarak tanımlanmıştır. Bir heterokaryon izolat ise kendine uyumsuz bulunmuştur. VCG2B izolatlarının % 92’si İsrail’in kuzey bölümünden ve VCG4B izolatlarının % 90’ı ise güneyden elde edilmiştir. VCG2A’daki tüm izolatlar ve VCG4B’deki izolatların %86’sı orijinlerine bakılmaksızın pamukta zayıf-orta, patlıcanda orta-şiddetli belirti oluşturmuş ve daha önce açıklanan pamukta “yaprak dökmeyen” patotipe benzemişlerdir. Aksine VCG2B’deki tüm pamuk izolatları ise şiddetli yaprak belirtileri, cüceleşme ve çoğu zaman ölüme neden olmuş ancak pamuk bitkilerine inokule edildiklerinde yaprak dökülmesine neden olmamış veya az yaprak dökümü olmuştur. Bunlar pamukta “yaprak dökken benzeri” patotip olarak tanımlanmış ve patlıcanda sadece zayıf-orta belirtiler oluşturmuştur.

Japonya’da temin edilen *V.dahliae* patotipleri ile VCG’ler arasındaki ilişkinin saptanması amacıyla yapılan çalışmada, izolatların birçoğunun hem patlıcan hem de Çin lahanasında patojen olması nedeniyle, “domates patotipi” (domatese patojen), “biber patotipi” (tatlı bibere patojen) ve “patlıcan patotipi” (domates veya bibere patojen olmayan)’lerini belirlemek için patlıcana ilaveten iki farklı konukçu bitki daha kullanılmıştır. Tamamlama (heterokaryon) testlerinde, J1 ,J2 ,J3 alt gruplarından oluşan tek VCG belirlenmiştir. J1 ve J3 alt gruplarının her birinin hem patlıcan hem de biberde patojen olduğu fakat domatestede olmadığı ve bunun VCG2B olarak isimlendirildiği, J2 alt grubunda yer alan domates patotiplerinin ise VCG2A olarak isimlendirildiği bildirilmiştir (Katan, 2000).

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

2004 ve 2005 yıllarında Aydın İli'ne bağlı Merkez, Yenipazar, Koçarlı, Germencik, Söke, Nazilli, Kuyucak, Buharkent, İncirliova, Çine, Köşk, Karpuzlu ilçelerindeki pamuk ekim alanlarından elde edilen hastalıklı bitki örnekleri, bu örneklerden elde edilmiş *V. dahliae* izolatları, patojenisite testleri için kullanılan pamuk bitkileri (cv.Acala SJ 2) çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Ayrıca Dr. N. Korolev ve Dr. Tsrer (Lahkim) (İsrail) 'in VCG1 (cot 200-5) nit1, VCG2A (pt 72) nit1, VCG2B (cot 274) nit1, VCG4B (tom 53) nit1, VCG1 (cot 201) Nit M, VCG2A (Ep-8) Nit M, VCG2B (cot 11) Nit M, VCG4B (Pn- 4) Nit M referans izolatları da çalışmada kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması ve izolatların elde edilmesi

3.2.1.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması

Aydın İli'nde pamuk ekim alanı açısından önemli olan 12 ilçeden (Merkez, Yenipazar, Koçarlı, Germencik, Söke, Nazilli, Kuyucak, Buharkent, İncirliova, Çine, Köşk, Karpuzlu) 2004 ve 2005 yıllarında hastalıklı bitki örnekleri alınmıştır. Bu amaçla 27/9 – 1/10/2004 ve 28/09 – 5/10/2005 tarihleri arasında toplam 48 tarlaya gidilmiş ve *Verticillium solgunluğu* belirtisi gösteren pamuklardan sap örnekleri alınmıştır. Alınan örnekler etiketlenip naylon torbalara konularak laboratuara getirilmiştir. Laboratuara getirilen örneklerden 24-48 saat içerisinde izolasyon çalışmalarına başlanmıştır.

3.2.1.2. İzolasyon ve tanılama çalışmaları

Laboratuara getirilen pamuk sap örneklerinin hastalık belirtisi gösteren kısımlarından sağlıklı dokuları da içerecek şekilde küçük parçalar alınarak, bu parçalar yüzey dezenfeksiyonu için % 2'lik sodyum hipoklorid (NaOCl) çözeltisinde 2 dakika bekletilmiştir. Daha sonra steril saf su ile durulanıp , steril kurutma kağıtları ile kurulanmıştır.Yüzey dezenfeksiyonu yapılan bu hastalıklı kısımlar, litresine 100 ppm streptomycinsülfat ilave edilmiş Su Agar-SA (%1.6 agar,11 damıtık su) ortamına ekilerek inkubasyon için 24°C'deki inkubatörde bırakılmıştır. 48-72 saatlik inkubasyon sonrası petriler mikroskop altında incelemeye alınmıştır. Verticillat dallanma gösteren alanlardan steril bir öze yardımıyla alınan kültür, içerisinde Patates Dextroze Agar-PDA (200gr patates, 20gr. dextroze, 18gr agar, 11 damıtık su) bulunan petrilere aktarılmıştır. İzolasyon sonrası petriler 24°C'deki inkubatöre konmuş ve 14 günlük bir inkubasyon sonrası izolatlar, içerisinde PDA bulunan tüplere aktarılmıştır. Tüpler aynı sıcaklıkta inkubasyona bırakılmış, gelişen etmen daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere +4 °C'deki buzdolabına kaldırılmıştır.

İzole edilen *Verticillium* spp. izolatlarının mikroskobik özellikleri göz önüne alınarak Melouk (1992)'de belirtilen morfolojik kriterlere göre tanılaması yapılmıştır. Bu tanılamada miselyum yapısı, konidi taşıyıcılarının şekli ve dallanma durumu, dalcıkların ucunda küçük, uzunca, renksiz veya çok açık esmer, tek hücreli konidiler bulunuşu, mikrosklerot oluşturup oluşturmadığı gibi kriterler dikkate alınmıştır.

3.2.1.3. Tek Spor İzolasyonu

V.dahliae izolatları, PDA'da 24°C'de 14 gün süreyle geliştirilmiştir. Petride gelişen izolatların üzerine, litresinde 1-2 damla Tween 80 bulunan steril saf sudan 2-3ml dökülmüştür. Elde edilen spor süspansiyonunun hemacytometrede yoğunluğu saptanmış ve konsantrasyonu 10^3 spor/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu spor süspansiyonundan mikropipetle 100µl alınarak içerisinde SA bulunan petrilere ilave edilmiş ve süspansiyon steril bir baget yardımıyla dağıtılarak $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de inkubasyona bırakılmıştır. İnokulasyondan 24 saat sonra petrilere mantar delici

(cork borer) yardımıyla 2 mm çaplı diskler açılmış ve diskler mikroskop altında incelenmiştir. İçerisinde bir adet çimlenmiş spor bulunan disk/diskler öze yardımıyla alınarak petri kaplarındaki PDA ortamına aktarılmış ve inkubatörde 24°C’de geliştirilmiştir. Bunlar ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere PDA’lı tüplere (16mm çaplı) aktarılmış ve etmen gelişimini tamamladıktan sonra tüpler +4 °C’deki buzdolabına kaldırılmıştır.

3.2.2. Patojenisite çalışmaları

Aydın İli’ne bağlı 3.1’de belirtilen ilçelerdeki pamuk bitkilerinden elde edilen *V.dahliae* izolatlarının patojenisite çalışmaları Acala SJ-2 pamuk çeşidinde yapılmıştır (Korolev et al.,2000b). Bu amaçla pamuk fideleri, içerisinde 1/3 kum,1/3 toprak, 1/3 torf bulunan saksılarda, $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ’de 16 saat aydınlık/8 saat karanlık koşullarındaki iklim odasında geliştirilmiştir. Pamuk fiderine ilk gerçek yapraklı dönemden 5-6 yapraklı döneme gelinceye kadar, N-P-K(15-16-17)10 günlük periyotlarla her saksıya 50ml [3g/l(N-P-K)] olarak verilmiştir. Patojenisite çalışmalarında 5-6 yapraklı pamuk bitkileri ile *V.dahliae*’e ait izolatların PDA’daki 14 günlük kültürleri kullanılmıştır.

Kültürün bulunduğu petrilerin kapakları açılarak üzerine litresinde 1-2 damla Tween 80 içeren steril saf su konulmuştur. Petriler elde hafifçe çalkalanarak elde edilen spor süspansiyonunun hemacytometrede spor sayımı yapılmıştır. İnokulum, 4×10^6 spor/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Saksılarda 5-6 yapraklı dönemde olan pamuk bitkilerinin kotiledon yapraklarının arasına 4×10^6 spor/ml’lik spor süspansiyonu, mikropipetle her bir bitkiye 10 µl olacak şekilde damlatılmıştır. Süspansiyon damlatılan kısma 22 gauge’luk enjektör yardımı ile dairesel hareketlerle yara açılarak bitkinin inokulumu alması sağlanmıştır (Şekil 1). Kontrol amacıyla bırakılan pamuk bitkilerine yine aynı yöntemle steril saf su inokule edilmiştir (Hanson 2000). İnokulasyonu takiben bitkiler iklim odasında $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ’de 16 saat aydınlık/8 saat karanlık periyodunda inkubasyona bırakılmıştır. Patojenisite çalışmaları, her izolat için 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 2 bitki olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür. İnokulasyondan 5 hafta sonra

hastalık şiddetleri, Al-Ahmad and Mosli (1993)'nin 0-5 skalası her bitkideki hastalıklı yaprak alanları esas alınarak değerlendirilmiştir.

0-5 Skalası

İndeks	% Hastalık
0	0
1	%10
2	%25
3	%50
4	%75
5	%100

Tüm istatistiki analizler JMP IN (SAS Institute, Cary, NC, ABD) bilgisayar programı ile yapılmıştır.



Şekil 1. a. İnokulumun mikropipetle damlatılması, b. İnokulumun enjektörle bitkiye verilmesi.

3.2.3. Vejetatif uyum grubu çalışmaları

3.2.3.1. Nit mutantların elde edilmesi ve karakterizasyonu

Pamuktan elde edilen *V.dahliae* tek spor izolatlarının Czapek Dox Agar (CDA)'da geliştirilen kültürlerinden alınan 2 mm çapındaki miseliyal diskleri içerisinde Su Agar Klorat [(WAC: %0.02 glucose, %2 agar ve %3 potasyum klorat (KCLO3)] bulunan petrilere ekilmiştir. Her izolat, bir petride 5 noktaya olmak üzere 2 petriye inokule edilmiştir. WAC'deki *V.dahliae* izolatları 24 °C'de 28 gün inkubasyona bırakılmıştır. 28. günün sonunda her bir koloninin kenarından alınan misel CDA'ya aktarılmış ve aynı sıcaklıkta 5 gün gelişmeye bırakılmıştır. CDA'da ince, yaygın ve havai olmayan gelişme gösteren koloniler nit mutant olarak değerlendirilmiştir.

Nit mutantların fenotipik ayırımı için her izolata ait iki miseliyal disk (4 mm çapında), CDA'ya , CDA+ 0.2g/l hypoxantine'e ve hem de CDA+ sodium nitrite (0.5g/l) inokule edilmiştir. Kültürler 27°C'de 5 gün inkubasyona bırakılmıştır. CDA+ 0.2g/l hypoxantine'de wild tip gibi bol, CDA'da ince gelişen mutantlar nit1, hem CDA+ sodium nitrite'te hem de CDA'da ince gelişen mutantlar nit3 olarak belirtilmiştir. Ayrıca hem CDA hem de CDA+ hypoxantine'de ince gelişen miselyuma sahip koloniler NitM olarak isimlendirilmiştir (Korolev et al., 2000b; Tsrör (Lahkim) and Levin, 2003).

3.2.3.2. Vejetatif uyum gruplarının saptanması

Fenotipik olarak farklı nit mutantlar arasındaki tamamlama CDA besi ortamında 2 tekerrürlü olarak yapılmıştır. 9cm çapında ve içerisinde CDA bulunan petrilere altlarından 1-1.5cm uzaklıkta üçgen oluşturacak şekilde işaretlenmiştir. 2004-2005 yıllarında elde edilen nit mutantlar işaretli noktalara ekilmiş ve 24°C'de 28 gün inkubasyona bırakılmıştır. 2 mutanta ait miselyumun karşılaştığı yerde yoğun havai miselyum gelişimi (prototrophic gelişim) varsa bu heterokaryosisi yani komplementasyonu gösterir. Bu şekildeki heterokaryosis ile 2 farklı izolatın mutantlarının aynı VCG grubuna ait olduğuna karar verilir (Korolev et al., 2000b; Tsrör (Lahkim) and Levin, 2003).

Tüm izolatların heterokaryosis çalışmaları tamamlandıktan sonra aynı VCG grubunda olduğu belirlenen bazı izolatlar ile Dr. Korolev ve Dr. Tsrer (Lahkim)'den sağlanan tester izolatlar arasında heterokaryosis testleri yapılmış ve VCG grupları belirlenmiştir. Değerlendirme; kombinasyonlar arasında tam bir heterokaryosis zonu oluşumu “+”, hiç zon oluşmaması “-”, hem geç oluşan hemde ince, kabarık olmayan zayıf bir zon oluşumu “+/-” şeklinde gösterilerek yapılmıştır (Korolev et al., 2000b).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması ve izolatların elde edilmesi

Aydın İli'nde 2004 ve 2005 yıllarında pamuk ekim alanı açısından önemli olan 12 ilçede (Merkez, Yenipazar, Koçarlı, Germencik, Söke, Nazilli, Kuyucak, Buharkent, İncirliova, Çine, Köşk, Karpuzlu) toplam 48 tarlaya gidilmiş ve *Verticillium Solgunluğu* belirtisi gösteren pamuklardan sap örnekleri alınmıştır. Hastalıklı bitkilerin alındığı tarlalardaki belirti tipleri ve elde edilen izolatlar aşağıda verilmiştir (Çizelge 6 ve Çizelge 7).

Çizelge 6. 2004 yılında , Aydın İli ilçelerindeki pamuk tarlalarından elde edilen izolatlar ve hastalıklı pamuk bitkisindeki belirti tipleri

İlçe	Tarla no	İzolat no	Hastalık belirti tipi
MERKEZ	1	1/2	DM
	2	2/1	YD
YENİPAZAR	3	3/1	DM
	4	4/3	YD
NAZİLLİ	5	5/3	YD
	6	6/1	YD
KUYUCAK	7	7/2	YD, DM
	8	8/2	YD, DM
BUHARKENT	9	9/1	YD, DM
	10	10/1	YD, DM
KÖŞK	11	11/1	YD
	12	12/3	YD
ÇİNE	13	13/1	DM
	14	14/1	DM
KARPUZLU	15	15/2	DM
	16	16/3	DM
İNCİRLİOVA	17	17/3	YD, DM
	18	18/4	YD
KOÇARLI	19	19/3	YD, DM
	20	20/2	YD
GERMENCİK	21	kontaminasyon	
	22	22/2	YD
SÖKE	23	23/1	DM
	24	24/2	YD

YD: yaprak dökme , DM: yaprak dökme

Çizelge 6 incelendiğinde, hastalıklı bitki örneklerinin alındığı pamuk tarlalarının % 30.4'ünde bitkiler yaprağını dökmezken, % 43.5'i yaprağını büyük ölçüde dökmektedir. *Verticillium* solgunluğu belirtisi gösteren tarlaların % 26.1'inde ise hem yaprağını dökmeyen hem de döken bitkilere rastlanmıştır (Şekil 2). Ayrıca Karpuzlu ilçesindeki 15 no'lu tarlada *Verticillium* solgunluğu tarlaların büyük bir kısmında görülmüştür. Çizelge 6'da belirtilen 23 pamuk tarlasındaki hastalıklı bitkilerden 3.2.1.2'de belirtildiği gibi yapılan izolasyon çalışmalarında 23 *Verticillium* spp. izolatı elde edilmiştir. Germencik ilçesindeki 21 no'lu tarlaya ait izolat ise bulaşma nedeniyle elden çıkmıştır.



Şekil 2. *Verticillium* solgunluğu belirtisi görülen tarlada yaprağını döken ve dökmeyen bitkiler.

2005 yılında, hastalıklı bitki örneklerinin alındığı pamuk tarlalarının da % 29.2'sinde bitkiler yaprağını dökmezken, % 58.3'ünde yaprağını dökmektedir. *Verticillium* solgunluğu belirtisi gösteren tarlaların %12.5'inde ise hem yaprağını dökmeyen hem de döken bitkilere rastlanmıştır. Ayrıca 24 pamuk tarlasından alınan hastalıklı bitkilerden yapılan izolasyon çalışmaları sonunda 24 *Verticillium* spp. izolatı elde edilmiştir (Çizelge 7).

Çizelge 7. 2005 yılında, Aydın İli ilçelerindeki pamuk tarlalarından elde edilen izolatlar ve hastalıklı pamuk bitkisindeki belirti tipleri

İlçe	Tarla no	İzolat no	Hastalık belirti tipleri
SÖKE	1	1/1	DM
	2	2/1	YD*
GERMENCİK	3	3/3	YD
	4	4/2	YD*
İNCİRLİOVA	5	5/3	YD*
	6	6/2	YD*
KOÇARLI	7	7/2	YD*
	8	8/2	YD
MERKEZ	9	9/1	DM
	10	10/3	DM
BUHARKENT	11	11/2	DM
	12	12/1	DM
KUYUCAK	13	13/3	YD*
	14	14/1	YD*, DM
NAZİLLİ	15	15/1	DM
	16	16/1	YD
YENİPAZAR	17	17/3	YD, DM
	18	18/3	YD
KÖŞK	19	19/1	YD, DM
	20	20/2	DM
ÇİNE	21	21/1	YD
	22	22/1	YD
KARPUZLU	23	23/3	YD*
	24	24/2	YD

(*) YD'nin pamuk tarlasında yoğun olduğunu gösterir.

İzolasyon çalışmaları sonucunda elde edilen toplam 47 *Verticillium* spp. izolatının tanınması 3.2.1.2'deki gibi Melouk (1992)'e göre yapılmış ve tüm izolatların *V. dahliae* olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu izolatların 3.2.1.3'e göre tek spor çalışmaları yapılmış ve 47 *V.dahliae* tek spor izolatı elde edilmiştir.

4.2. Patojenisite çalışmaları

Aydın İli'nde 2004 ve 2005 yıllarında pamuk ekim alanlarından elde edilen toplam 47 *V. dahliae* izolatının 3.2.2'de belirtilen metoda göre patojenisite çalışmaları yapılmış ve pamuk bitkisindeki hastalık şiddetleri (%) değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Çizelge 8 ve Çizelge 9'da verilmiştir.

Çizelge 8. 2004 yılı *V.dahliae* izolatlarının pamuktaki (%) hastalık şiddetleri ve (%) yaprak dökümü

İzolat no	İzolatın elde edildiği ilçe	Hast.şiddeti ort. (%)*	Yaprak dökümü ort (%)*
18/4	İncirliova	93.37 A	77.49 ABC
19/3	Koçarlı	89.99 A	86.66 A
12/3	Köşk	88.95 A	82.59 AB
20/2	Koçarlı	84.26 AB	72.22 ABCD
5/3	Nazilli	73.55 ABC	60.37 ABCD
22/2	Germencik	72.31 ABC	54.61 BCDEF
17/3	İncirliova	65.20 ABCD	62.03 ABCD
16/3	Karpuzlu	64.33 ABCD	59.12 ABCDE
24/2	Söke	64.28 ABCD	48.42 CDEFG
13/1	Çine	62.57 ABCD	26.72 FGH
4/3	Yenipazar	57.33 BCDE	45.83 DEFG
14/1	Çine	55.16 BCDE	9.70 H
23/1	Söke	52.66 CDE	14.51 H
15/2	Karpuzlu	49.55 CDEF	9.88 H
3/1	Yenipazar	42.42 CDEFG	18.51 GH
11/1	Köşk	39.72 DEFG	29.16 EFGH
8/2	Kuyucak	34.15 DEFGH	5.55 H
10/1	Buharkent	28.83 EFGH	12.50 H
1/2	Merkez	28.10 EFGH	8.33 H
9/1	Buharkent	19.58 FGH	4.17 H
6/1	Nazilli	19.01 FGH	0.00 H
2/1	Merkez	12.54 GH	7.41 H
7/2	Kuyucak	3.83 H	4.17 H

(*) Aynı sütun içinde aynı harfle gösterilen rakamlar arasında istatistiki açıdan fark yoktur ($p<0.05$).

Çizelge 8 incelendiğinde, 17/3 ve 18/4 (İncirliova), 19/3 ve 20/2 (Koçarlı), 12/3 (Köşk), 5/3 (Nazilli), 22/2 (Germencik), 16/3 (Karpuzlu), 24/2 (Söke), 13/1 (Çine) no'lu izolatların virülensinin yüksek olduğu ve bu izolatların istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı, 7/2 ve 8/2 (Kuyucak), 1/2 ve 2/1 (Merkez), 6/1 (Nazilli), 9/1 ve 10/1 (Buharkent) izolatlarının ise virülensinin düşük olduğu ve bu izolatların da diğer grupta yer aldığı görülmektedir. 4/3 (Yenipazar), 14/1 (Çine), 23/1 (Söke), 15/2 (Karpuzlu), 3/1 (Yenipazar) ve 11/1 (Köşk) izolatları ise ayrı bir grup oluşturmıştır. Pamuk bitkileri yüzde yaprak dökümü açısından değerlendirildiğinde ise, 19/3 ve 20/2 (Koçarlı), 12/3 (Köşk), 17/3 ve 18/4 (İncirliova), 5/3 (Nazilli), 16/3 (Karpuzlu) izolatlarının yaprak dökürme yüzdelerinin %59.12-86.66 arasında değiştiği ve bu izolatların istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı saptanmıştır. Bu da bize virülensi yüksek olan *V. dahliae* izolatlarının yaprak dökürme yüzdelerinin de yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca yaprak dökürme yüzdeleri yüksek olan izolatların, Çizelge 6'daki başlangıç değerlendirmesiyle paralellik gösterdiği de görülmektedir. 6/1 (Nazilli), 9/1 ve 10/1 (Buharkent), 7/2 ve 8/2 (Kuyucak), 2/1 ve 1/2 (Merkez), 13/1 ve 14/1 (Çine), 15/2 (Karpuzlu), 23/1 (Söke), 3/1 (Yenipazar) ve 11/1 (Köşk) izolatlarının ise pamukta yaprak dökürme yüzdeleri %0.00-29.16 arasında değişmiş ve bu izolatlar istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır. Ancak yaprak dökürme yüzdeleri düşük olan izolatlarda Çizelge 6'daki başlangıç değerlendirmesiyle farklılıklar saptanmıştır. Şekil 3'de yaprağını döken ve dökmeyen izolatlara ait patojenisite sonuçları verilmiştir.

Aydın İli'nde 2005 yılında pamuk ekim alanlarından elde edilen *V. dahliae* izolatlarının pamuktaki yüzde hastalık şiddetlerinin % 29.5-100.00 arasında değiştiği ancak 16/1 ve 15/1(Nazilli), 7/2 ve 8/2 (Koçarlı), 24/2 (Karpuzlu), 21/1 (Çine), 5/3 (İncirliova), 18/3(Yenipazar), 4/2 ve 3/3 (Germencik), 2/1(Söke), 19/1 (Köşk) ve 14/1 (Kuyucak) izolatlarının virülensinin yüksek (%73.52-100.00) olduğu belirlenmiştir. 12/1 ve 11/2 (Buharkent), 1/1 (Söke), 6/2 (İncirliova), 13/3 (Kuyucak), 17/3 (Yenipazar), 9/1 (Merkez) ve 23/3 (Karpuzlu) izolatların ise virülensinin düşük olduğu ve bu izolatların istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı saptanmıştır. Sonuçlar pamuk bitkisindeki yüzde yaprak dökümü açısından değerlendirildiğinde de, virülensi yüksek olan izolatların, yaprak dökürme

yüzdelерinin de yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 9). Bu izolatların pamuktaki yüzde yaprak döküm değeri %66.67-100.00 arasında değışmiş ve sonuçlar Çizelge 7'deki arazi gözlemleriyle de örtüşmüştür. Onan and Karcıoğlu (1998) ise, Ege Bölgesi'nde Pamuk Solgunluk Hastalığı etmeni *V. dahliae*'nin patotiplerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 85 izolat kullanmış ve yapılan inokulasyon çalışmalarında 10^7 spor/ml'lik inokulumun Deltapine pamuk çeşidinde yaprak dökmeksizin ölüme neden olduğunu, Acala pamuk çeşidinde ise hafif simptom oluşturduğunu bildirmiştir.

Ancak 2005 yılında pamuk ekim alanlarından elde edilen ve pamukta yüzde yaprak döküm değeri %0.00-33.50 arasında değışen izolatların bazıları, Çizelge 7'deki arazi gözlemleriyle örtüşmemiştir.

Çizelge 9. 2005 yılı *V.dahliae* izolatlarının pamuktaki (%) hastalık şiddetleri ve (%) yaprak dökümü

İzolat no	İzolatın elde edildiği ilçe	Hast.şiddeti ort. (%) *	Yaprak dökümü ort. (%)*
16/1	Nazilli	100.00 A	100.00 A
7/2	Koçarlı	91.33 AB	61.35 BCD
24/2	Karpuzlu	90.50 AB	82.50 AB
21/1	Çine	89.08 AB	33.33 CDE
5/3	İncirliova	88.77 AB	86.11 AB
18/3	Yenipazar	86.67 AB	66.67 ABC
4/2	Germencik	84.50 ABC	67.80 AB
2/1	Söke	82.50 ABC	73.97 AB
8/2	Koçarlı	81.33 ABC	60.37 BCD
3/3	Germencik	76.96 ABCD	69.73 AB
15/1	Nazilli	75.00 ABCDE	26.11 E
19/1	Köşk	74.75 ABCDE	25.00 E
14/1	Kuyucak	73.52 ABCDE	16.67 E
10/3	Merkez	66.00 BCDEF	32.50 DE
20/2	Köşk	65.54 BCDEFG	10.00 E
22/2	Çine	65.37 BCDEFG	11.67 E
23/3	Karpuzlu	57.33 CDEFGH	3.33 E
9/1	Merkez	56.77 CDEFGH	18.89 E
17/3	Yenipazar	50.91 DEFGH	3.33 E
13/3	Kuyucak	47.12 EFGH	4.17 E
11/2	Buharkent	39.16 FGH	3.33 E
6/2	İncirliova	37.17 GH	23.60 E
1/1	Söke	29.73 H	7.15 E
12/1	Buharkent	29.50 H	0.00 E

(*) Aynı sütun içinde aynı harfle gösterilen rakamlar arasında istatistiki açıdan fark yoktur(p<0.05).



Şekil 3. a. 3/3(2005-YD) yaprak döken, b. 10/1(2004-DM) yaprak dökmeyen *V. dahliae* izolatlarının pamuk yaprağındaki belirtisi.

4.3. Vejetatif uyum grubu çalışmaları

4.3.1. Nit mutantların elde edilmesi ve karakterizasyonu

Aydın İli'nde 2004-2005 yıllarında pamuktan elde edilen *V.dahliae* tek spor izolatlarına ait 10'ar diskin WAC ortamındaki inkubasyonu sonrası, asimetrik ve ortamda ince, hızlı gelişen miselyum oluşturan koloniler klorate'a dayanıklı olarak tanımlanmıştır.

2004 yılına ait 23 *V. dahliae* tekspor izolatından 18 tanesi WAC ortamında klorate'a dayanıklılık açısından değerlendirilmiş, 4/3 (Yenipazar), 14/1 (Çine), 19/3 (Koçarlı), 22/2 (Germencik) ve 24/2 (Söke) no'lu izolatlar ise kontaminasyon nedeniyle değerlendirilmeye alınamamıştır. Klorate'a dayanıklılık açısından denemeye alınan 18 *V. dahliae* tekspor izolatından toplam 176 adet koloni elde edilmiştir. Klorate'a dayanıklı kolonilerden 90 tanesi CDA'a aktarılmış ve bu ortamda ince, yaygın ve havai olmayan gelişme gösteren 33 koloni "nit mutant" olarak değerlendirilmiştir. Nit mutant'ların fenotipik ayrımı 3.2.3.1'e göre yapılmış ve 33 nit mutant'ın % 96.97'si nit¹ (Şekil 4) iken % 3.03'ü Nit M (Şekil 5) olarak belirlenmiştir. Ancak 18 *V. dahliae* tekspor izolatının 6'sından [5/3 (Nazilli), 10/1 (Buharkent), 17/3 ve 18/4 (İncirlioğlu), 20/2 (Koçarlı), 23/1 (Söke)] nit mutant elde edilememiştir. (Çizelge 10).

Çizelge 10. 2004 yılında pamuktan elde edilen *V. dahliae* izolatlarının fenotipik ayrımı

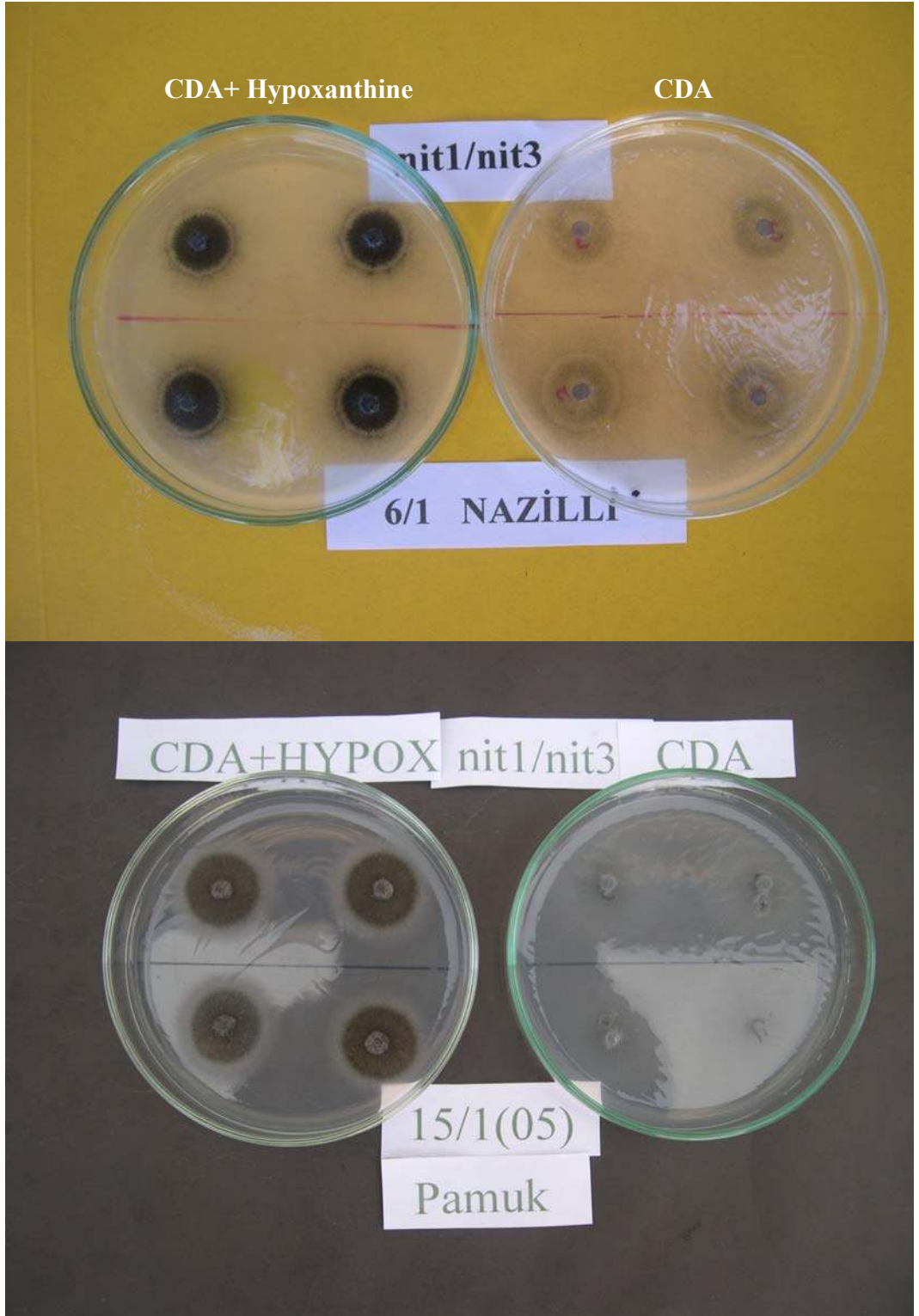
İlçe	İzolat no	Klorate'a dayanıklı ¹	Değ. alınan mutant sayısı ² (5 diskten)	nit1	nit3	NitM
Merkez	1/2	10	3	3	-	-
	2/1	10	1	-	-	1
Yenipazar	3/1	10	3	3	-	-
	4/3*					
Nazilli	5/3	10	Mutant yok.			
	6/1	10	4	4	-	-
Kuyucak	7/2	10	1	1	-	-
	8/2	10	4	4	-	-
Buharkent	9/1	10	5	5	-	-
	10/1	10	Mutant yok.			
Köşk	11/1	8	4	4	-	-
	12/3	10	1	1	-	-
Çine	13/1	10	1	1	-	-
	14/1*					
Karpuzlu	15/2	10	2	2	-	-
	16/3	10	4	4	-	-
İncirliova	17/3	10	Mutant yok.			
	18/4	8	Mutant yok.			
Koçarlı	19/3*					
	20/2	10	Mutant yok.			
Germencik	22/2*					
Söke	23/1	10	Mutant yok.			
	24/2*					
TOPLAM		176	33	32	-	1

¹WAC'e 10 adet *V. dahliae* diski ekildi. Klorate' dayanıklı olanlardan ince gelişen 5 disk CDA'a aktarıldı.

²CDA'a ekilen 5 diskten ince gelişenler mutant olarak değerlendirildi.

* Kontaminasyon nedeniyle izolat elden çıkmıştır.

Benzer şekilde 2005 yılında pamuktan elde edilen 24 *V.dahliae* tek spor izolatının 8 [2/1(Söke), 7/2 ve 8/2 (Koçarlı), 14/1 (Kuyucak), 16/1 (Nazilli), 17/3 ve 18/3 (Yenipazar), 22/2 (Çine)] 'inden klorate'a dayanıklı koloni elde edilmemiştir. Kalan 16 *V.dahliae* tek spor izolatdan 149 klorate'a dayanıklı koloni elde edilmiştir. Bu kolonilerden 80 tanesi CDA'a aktarılmış ve 31 nit mutant elde edilmiştir. Nit mutantların fenotipik ayrımı yapılmış ve tamamının nit1 grubunda yer aldığı görülmüştür. 5/3 (İncirliova), 10/3 (Merkez), 13/3 (Kuyucak) ve 23/3 (Karpuzlu) izolatlarından ise mutant elde edilmemiştir (Çizelge 11).



Şekil 4. a. 6/1 (2004-Nazilli) no'lu *V. dahliae* izolatına ait nit1/nit3 mutantlar, b. 15/1 (2005-Nazilli) no'lu *V. dahliae* izolatına ait nit1/nit3 mutantları.



Şekil 5. 2/1 (2004-Merkez) no'lu *V. dahliae* izolatına ait Nit M mutanı.

Aydın İli'nde 2004 ve 2005 yıllarında pamuktan elde edilen 47 *V.dahliae* izolatının 10 tanesinden nit mutant edilmemiş, 8 izolattan ise klorate'a dayanıklı koloni elde edilemediği için nit mutant değerlendirmesine alınamamıştır. Beş *V.dahliae* izolatı ise kontaminasyon nedeniyle elden çıkmıştır. Bu durumda kalan 24 *V. dahliae* izolatından ise toplam 64 nit mutant elde edilmiştir. Bu mutantların 63'ü (%98.44) nit1 iken 1'i (%1.56) NitM fenotipinde yer almıştır. Çalışmalar sonunda nit 3 fenotipine rastlanmamıştır. Nitekim Derviş ve Biçici (2003), pamuk, patlıcan, karpuz, bamy ve zeytinden elde edilen 89 *V.dahliae* izolatının fenotipini belirlemiş ve bu izolatlardan 70 tanesinin nit1 (%78.65), 2 tanesinin nit3 (%2.24) ve 17 tanesinin Nit M fenotipinde (%19.1) olduğunu belirtmiştir. Bao *et al.*(1998), İsrail'de pamuk, patates, zeytin, patlıcan, krizantem ve domatesten elde edilen 34 *V.dahliae* izolatının herbirinden sayıları 3-33 arasında değişen 488 mutant elde etmiş ve bunlardan 466'sının fenotipini belirlemiştir. Bu mutantlardan 66'sı (%14) Nit M, kalan 400'ü (%86) nit1 olarak tanımlanmış ancak nit3 fenotipi saptanmamıştır.

Çizelge 11. 2005 yılında pamuktan elde edilen *V. dahliae* izolatlarının fenotipik ayrımı

İlçe	İzolat no	Klorate'a dayanıklı ¹	Değ.alınan mutant sayısı ² (5 diskten)	nit1	nit 3	Nit M
Söke	1/1	10	1	1	-	-
	2/1	-				
Germencik	3/3	10	1	1	-	-
	4/2	10	1	1	-	-
İncirliova	5/3	10	Mutant yok.			
	6/2	10	4	4	-	-
Koçarlı	7/2	-				
	8/2	-				
Merkez	9/1	9	4	4	-	-
	10/3	10	Mutant yok.			
Buharkent	11/2	9	3	3	-	-
	12/1	9	3	3	-	-
Kuyucak	13/3	9	Mutant yok.			
	14/1	-				
Nazilli	15/1	9	5	5	-	-
	16/1	-				
Yenipazar	17/3	-				
	18/3	-				
Köşk	19/1	10	4	4	-	-
	20/2	9	2	2	-	-
Çine	21/1	10	1	1	-	-
	22/2	-				
Karpuzlu	23/3	10	Mutant yok.			
	24/2	5	2	2	-	-
TOPLAM		149	31	31	-	-

¹WAC'e 10 adet *V. dahliae* diski ekildi. Klorate dayanıklı olanlardan ince gelişen 5 disk CDA'a aktarıldı.

²CDA'a ekilen 5 diskten ince gelişenler mutant olarak değerlendirildi.

4.3.2. Vejetatif uyum gruplarının saptanması

Aydın İli'nde 2004 yılında 23 *V.dahliae* tek spor izolatının 12'sinden elde edilen 33 adet nit mutant arasında 3.2.3.2'e göre eşleştirme çalışmaları yapılmıştır. Eşleştirme çalışmalarında öncelikle her izolatta bulunan mutantlar arasında eşleştirmeler yapılmıştır. Şekil 6'da Nazilli ilçesi'nden elde edilen 15/1 (05) no'lu *V.dahliae* tek spor izolatının mutantları arasındaki heterokaryosis zonu görülmektedir. Daha sonra aynı izolat içerisinde eşleşenlerden biri, diğer izolatların eşleşenlerinden biriyle heterokaryosis testlerine alınmıştır (Şekil 7). Ancak 5/3 (Nazilli), 10/1(Buharkent), 17/3 ve 18/4 (İncirliova), 20/2(Koçarlı), 23/1 (Söke) izolatlarından mutant elde edilemediğinden heterokaryosis testlerine alınamamıştır (Çizelge 10). Ayrıca, 2005 yılında 24 *V.dahliae* tek spor izolatının 12'sinden elde edilen 31 adet nit mutant arasında da eşleştirme çalışmaları yapılmıştır. Ancak 5/3 (İncirliova), 10/3 (Merkez), 13/3 (Kuyucak) ve 23/3 (Karpuzlu) izolatlarından ise mutant elde edilemediği için heterokaryosis testlerine alınamamıştır (Çizelge 11).

Sonuçta, 2004 ve 2005 yıllarında elde edilen 47 *V.dahliae* tek spor izolatının 24'ünden toplam 64 nit mutant elde edilmiştir. Bunların heterokaryosis çalışmaları sonucunda aynı VCG grubunda olduğu belirlenen mutantlar, Dr. Korolev ve Dr. Tsrer (Lahkim)'den sağlanan tester izolatların nit1 ve Nit M'leri [VCG1, VCG2A, VCG2B, VCG4B] ile heterokaryosis testlerine alınmış ve VCG grupları belirlenmiştir (Çizelge 12 ve Çizelge 13).



Şekil 6. 15/1(2005- Nazilli) no'lu *V. dahliae* tek spor izolatının mutantları arasındaki kuvvetli heterokaryosis zonu.



Şekil 7. 15/1(04)-2 ve 1/2(04)-2 no'lu *V. dahliae* tek spor izolatının mutantları arasındaki kuvvetli heterokaryosis zonu.

Çizelge 12. Aydın İli'nde 2004 yılında *V.dahliae* tek spor izolatlarından elde edilen mutantlar ile tester izolatlar arasında yapılan heterokaryosis testleri

İlçe	İzolat ve mutant no	Tester izolatların grupları, isimleri ve fenotipleri			
		VCG1 cot 201 (Nit M)	VCG2A Ep-8 (Nit M)	VCG2B cot 11 (Nit M)	VCG4B Pn-4 (Nit M)
Merkez	1/2(04)-1	-	-	+	-
	1/2(04)-2	-	-	+	-
	1/2(04)-3	-	-	+	-
Merkez	2/1(04)-1	+	-	+	-
Yenipazar	3/1(04)-3	-	-	+	-
	3/1(04)-4	-	-	+	-
	3/1(04)-5	Mutant özelliğini kaybetmiş.			
Nazilli	6/1(04)-1	-	-	+	-
	6/1(04)-2	-	-	+	-
	6/1(04)-3	-	-	+	-
	6/1(04)-4	-	-	+	-
Kuyucak	7/2(04)-2	-	-	+	-
Kuyucak	8/2(04)-1	-	-	+	-
	8/2(04)-2	Mutant özelliğini kaybetmiş.			
	8/2(04)-3	-	-	+	-
	8/2(04)-4	-	-	+	-
Buharkent	9/1(04)-1	Mutant özelliğini kaybetmiş.			
	9/1(04)-2	-	-	+	-
	9/1(04)-3	-	-	+	-
	9/1(04)-4	Mutant özelliğini kaybetmiş.			
	9/1(04)-5	-	-	+	-
Köşk	11/1(04)-1	-	-	+	-
	11/1(04)-2	+/-	-	+	-
	11/1(04)-3	-	-	+	-
	11/1(04)-4	-	-	+	-
Köşk	12/3(04)-2	-	-	+	-
Çine	13/1(04)-1	-	-	+	-
Karpuzlu	15/2(04)-1	-	-	+	-

	15/2(04)-2	-	-	+	-
Karpuzlu	16/3(04)-1	+	-	+	-
	16/3(04)-2	Mutant özelliğini kaybetmiş.			
	16/3(04)-4	+	-	+	-
	16/3(04)-5	+	-	+	-

“+”, tam bir heterokaryosis zonu oluşumu

“+/-”, hem geç oluşan hemde ince, kabarık olmayan zayıf bir zon oluşumu

“-”, hiç zon oluşmaması

Çizelge 12’de görüldüğü gibi, 2004 yılına ait 33 mutant, tester izolatlarla heterokaryosis çalışmalarına alınmıştır. 33 mutanttan 28 (% 84.85)’i VCG grupları ile heterokaryosis zonu oluştururken, 5 (%15.15)’i mutant özelliğini kaybetmiştir. 28 mutanttan 23 (% 82.14)’ü VCG2B ile eşleşirken, 5 (%17.86)’i VCG2B ve VCG1 ile heterokaryosis oluşturmuştur. Heterokaryosis testleri sonucunda; 1/2 (Merkez), 3/1 (Yenipazar), 6/1 (Nazilli), 7/2 ve 8/2 (Kuyucak), 9/1 (Buharkent), 11/1 (3 mutant) ve 12/3 (Köşk), 13/1 (Çine), 15/2 (Karpuzlu) izolatlarına ait mutantlar VCG2B grubunda yer almıştır. Mutantların tamamı tam bir heterokaryosis zonu oluşturmuştur (Şekil 9). 2/1(04)-1 (Merkez) ve 16/3(04) (Karpuzlu) no’lu *V. dahliae* tek spor izolatlarına ait mutantlar ise, hem VCG1 (prototrophic gelişme ve mikrosklerot oluşumu) ve hem de VCG2B (mikrosklerot oluşumu)] (Şekil 8) ile uyum göstermiştir. 2/1(04)-1 (Merkez) NitM mutanti tester izolatların nit1’leriyle eşleştirildiğinde sadece VCG2B ile uyum göstermiştir. Ayrıca 11/1(04)-2 no’lu mutant VCG2B ile kuvvetli, VCG1 ile zayıf heterokaryosis oluşturmuştur. 3/1(04)-5, 8/2(04)-2, 9/1(04)-1,4 ve 16/3(04)-2 mutantları ise sonradan prototrophic gelişme göstererek mutant özelliğini yitirmiştir (Çizelge 12, Şekil 10).

Benzer şekilde, 2005 yılına ait 12 *V. dahliae* tek spor izolatından elde edilen 31 adet nit mutant ile tester izolatlar arasında heterokaryosis testleri yapılmış ve VCG grupları belirlenmiştir. VCG değerlendirmelerinde 11/2(05)-3,4, 12/1(05)-5, 19/1(05)-4 ve 20/2(05)-5 no’lu mutantların sonradan prototrophic gelişme göstererek mutant özelliğini kaybettiği görülmüştür. Değerlendirmeye alınan 26 mutanttan 15 (%57.7)’i VCG2B iken 5(%19.2)’ i VCG2B ile kuvvetli ve VCG1 ile zayıf, 2(%7.7)’si VCG2A, 1 (%3.8)’i VCG1 ile kuvvetli ve VCG2B ile zayıf, 1 (%3.8)’i VCG2B ve VCG4B ile zayıf, 1 (%3.8) hem VCG2B hem de VCG1 ile kuvvetli ve 1

(%3.8)'i VCG2B ile zayıf heterokaryosis oluşturmuştur (Çizelge 13). Buna göre 3/3 ve 4/2 (Germencik), 6/2 (3 mutant) (İncirliova), 9/1 (2 mutant) (Merkez), 11/2 (1 mutant) ve 12/1 (1 mutant) (Buharkent), 15/1 (3 mutant) (Nazilli), 19/1 (2 mutant) ve 20/2 (1 mutant) (Köşk), 21/1 (Çine) izolatlarına ait mutantlar VCG2B (prototrophic gelişme ve mikrosklerot oluşumu) içerisinde yer almıştır. 9/1(05)-1 VCG1 ile kuvvetli, VCG2B ile zayıf, 1/1(05)-2, 12/1(05)-4, 15/1(05)-4 ve 5, 19/1(05)-2 mutantları ise VCG2B ile kuvvetli, VCG1 ile zayıf, 6/2(05)-1 hem VCG1 hem de VCG2B ile kuvvetli heterokaryon oluşturmuştur. 9/1(05)-3 mutantı hem VCG2B ve hem de VCG4B ile zayıf heterokaryon oluşturmuştur. 24/2(05) (Karpuzlu) izolatına ait mutantlar ise yalnızca VCG2A ile uyumlu bulunmuştur.

Çizelge 13. Aydın İli'nde 2005 yılında *V.dahliae* tek spor izolatlarından elde edilen mutantlar ile tester izolatlar arasında yapılan heterokaryosis testleri

İlçe	İzolat ve mutant no	Tester izolatların grupları ve fenotipleri			
		VCG1 cot 201 (Nit M)	VCG2A Ep-8 (Nit M)	VCG2B cot 11 (Nit M)	VCG4B Pn-4 (Nit M)
Söke	1/1(05)-2	+/-	-	+	-
Germencik	3/3(05)-3	-	-	+	-
	4/2(05)-4	-	-	+	-
İncirliova	6/2(05)-1	+	-	+	-
	6/2(05)-2	-	-	+	-
	6/2(05)-3	-	-	+	-
	6/2(05)-5	-	-	+	-
Merkez	9/1(05)-1	+	-	+/-	-
	9/1(05)-3	-	-	+/-	+/-
	9/1(05)-4	-	-	+	-
	9/1(05)-5	-	-	+/-	-
Buharkent	11/2(05)-2	-	-	+	-
	11/2(05)-3	Mutant özelliğini kaybetmiş.			
	11/2(05)-4	Mutant özelliğini kaybetmiş.			
Buharkent	12/1(05)-2	-	-	+	-
	12/1(05)-4	+/-	-	+	-
	12/1(05)-5	Mutant özelliğini kaybetmiş			
Nazilli	15/1(05)-1	-	-	+	-
	15/1(05)-2	-	-	+	-
	15/1(05)-3	-	-	+	-
	15/1(05)-4	+/-	-	+	-
	15/1(05)-5	+/-	-	+	-
Köşk	19/1(05)-1	-	-	+	-
	19/1(05)-2	+/-	-	+	-
	19/1(05)-4	Mutant özelliğini kaybetmiş			
	19/1(05)-5	-	-	+	-

Köşk	20/2(05)-3	-	-	+	-
	20/2(05)-5	Mutant özelliğini kaybetmiş.			
Çine	21/1(05)-3	-	-	+	-
Karpuzlu	24/2(05)-1	-	+	-	-
	24/2(05)-5	-	+	-	-

“+”, tam bir heterokaryosis zonu oluşumu

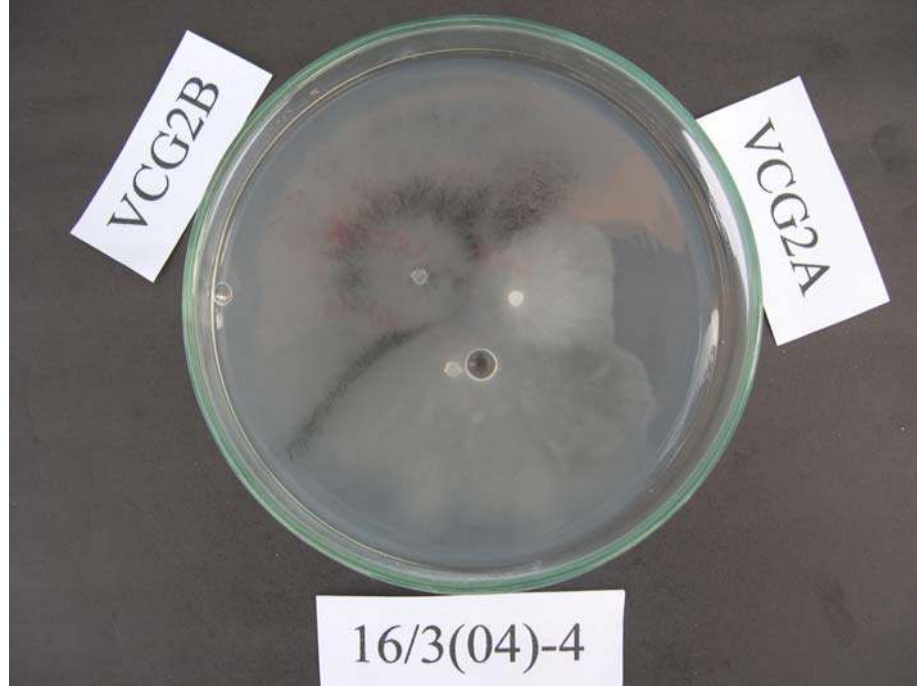
“+/-”, hem geç oluşan hemde ince, kabarık olmayan zayıf bir zon oluşumu

“-”, hiç zon oluşmaması

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, her iki yıla ait toplam 24 *V.dahliae* tek spor izolatından elde edilen 64 mutant heterokaryosis testlerine alınmış ancak bunlardan 10'u daha sonra prototrophic gelişme göstererek mutant özelliğini yitirmiştir. Pamuk alanlarından elde edilen 54 mutantın 38 (%70.4)' i VCG2B iken, 6 (%11.1)'sı VCG2B ile kuvvetli ve VCG1 ile zayıf, 5 (%9.3)' i VCG 2B ve VCG1 ile kuvvetli, 2 (%3.7)'si VCG2A ile kuvvetli, 1 (%1.8) VCG1 ile kuvvetli ve VCG2B ile zayıf, 1 (%1.8)'i VCG2B ve VCG4B ile zayıf , 1 (%1.8)'i ise VCG2B ile zayıf heterokaryosis oluşturmuştur. Bu sonuçlar Aydın İli'nde pamuğu hastalandıran *V.dahliae* popülasyonunun çoğunluğunun VCG2B olduğunu ayrıca VCG2A ve VCG1'in de mevcut olduğunu göstermektedir. Derviş ve Biçici (2003) tarafından yapılan çalışmada Ceyhan'dan elde edilen *V.dahliae* izolatlarının %40'ı VCG2B, %40' VCG2A; Karataş'tan elde edilen izolatların %66.7'si VCG2B, %33.3'ü VCG2A; Kozan'dan elde edilen izolatların %37.5'i VCG2B, %12.5'i VCG2A, %12.5'i VCG4B, %12.5'i VCG4A; Yüreğir'de %57.14'ü VCG2A, %28.77'si VCG2B, %14.29'u VCG4B; Osmaniye'den elde edilen izolatların %66.7'si VCG2B, %33.3'ü VCG2A; Hatay'dan elde edilen izolatların %58.82'si VCG2B, %23.53'ü VCG2A ve %2.94'ü VCG4B ve Kahramanmaraş'dan elde edilen izolatların %100'ü VCG2B bulunmuştur. Bu çalışma da Ege Bölgesi'nde İzmir (Güzelköy)'den elde edilen 2 pamuk izolatının da VCG2B olduğu ve bu nedenle Kahramanmaraş, Hatay, Osmaniye ve Mersin illerindeki *V. dahliae* popülasyonu ile genetik benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Elena (2000), Yunanistan'da hastalıklı pamuk bitkilerinden elde edilen 28 *V.dahliae* izolatından 20'sinin VCG2B, 3'ünün VCG2A ve VCG2B ile kuvvetli reaksiyon gösterdiğini belirtmiştir. 5 izolat ise kendine uyumsuz olarak bulunmuştur.

Yapılan benzer çalışmalarda da İspanya'dan alınan 57 *V.dahliae* pamuk izolatu'nun 26'sı VCG1, 25'i VCG2A ve 5'i VCG4B olarak değerlendirilmiştir. Bir izolatta kendine uyumsuz olarak bulunmuştur. İsrail'den alınan 178 *V.dahliae* pamuk izolatının 114'ü VCG2B, 63'ü VCG4B ve 1'i VCG2A olarak dağılmıştır (Korolev *et al.*, 2000a). Yunanistan, İsrail ve İspanya'dan elde edilen pamuk izolatları ile yapılan çalışmalar, Yunanistan ve İsrail'deki *V. dahliae* pamuk izolatlarında VCG2B'nin yaygın olduğunu, İspanya'da VCG1'in görüldüğü ve VCG2B'nin görülmediğini göstermektedir. Bu sonuçlar çerçevesinde, bulgularımız Yunanistan ve İsrail'de elde edilen sonuçlara benzerlik göstermiştir. Ancak 5 mutant VCG2B ve VCG1 ile kuvvetli, 1 mutant ise VCG1 ile kuvvetli ve VCG2B ile zayıf heterokaryosis oluşturmuştur.

Çalışmamızda, *V. dahliae* izolatlarının pamuk bitkisindeki yüzde hastalık şiddeti ve yüzde yaprak dökümü değerleriyle elde edilen VCG sonuçları arasında ilişki olup olmadığı incelendiğinde, VCG2B ve VCG1 içerisinde hem yüzde hastalık şiddeti hem de yüzde yaprak dökümü düşük ve yüksek izolatların (Çizelge 8,9) yer aldığı görülmektedir. Korolev *et al.* (2000a, b), VCG2B'deki tüm pamuk izolatlarının şiddetli yaprak belirtileri, cüceleşme ve çoğu zaman ölüme neden olduğunu ancak izolatlar pamuk bitkilerine inokule edildiklerinde yaprak dökülmesine neden olmadıklarını veya az yaprak dökümü olduğunu belirtmiş ve bunları pamukta “yaprak döken benzeri” patotip olarak tanımlanmıştır.



Şekil 8. 16/3(04)-4 no'lu mutant ile VCG2B arasındaki mikrosklerot oluşumu.



Şekil 9. 6/1(04)-4 no'lu mutantın VCG2B ile gösterdiği prototrophic gelişme.



Şekil 10. Önce VCG2B ile uyum sağlamış, daha sonra mutant özelliğini kaybetmiş *V. dahliae* izolatı.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma, Aydın İli'nde pamuklardan elde edilen *V. dahliae* izolatlarının vejetatif uyum gruplarının tespit edildiği ilk çalışmadır. *V. dahliae* izolatlarından elde edilen mutantların çoğu VCG2B ile uyum göstermiştir. Ayrıca bazı mutantlar VCG2A, VCG1, VCG4B ile de reaksiyon vermiştir. Aydın İli'nde yapmış olduğumuz gözlemler ve survey çalışmaları, Verticillium Solgunluk Hastalığı'nın yörede pamuk ve zeytinlerde önemli zararlara neden olduğunu göstermiştir (Benlioğlu ve ark., 2001). Bu nedenle her iki konukçuya ait *V. dahliae* izolatlarının VCG'nın belirlenmesi, hem *V. dahliae* popülasyonundaki genetik farklılıkları tespit etmek hem de *V. dahliae*'e dayanıklı pamuk ve zeytin çeşitlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalarda ıslahçılara katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızda pamuk ekim alanlarından elde edilen 47 *V. dahliae* izolatının yarısının virülensi yüksek ve genellikle virülensi yüksek izolatların yaprak dökürme yüzdelерinin de fazla olduğu belirlenmiştir. Ancak bu izolatların T-1 (yaprak döküren) veya SS-4 (yaprak dökürmeyen) patotipi olup olmadığı bilinmemektedir. Patotiplerin belirlenmesi için daha detaylı çalışmalara gereksinim vardır.

ÖZET

Bu çalışma, 2004-2005 yıllarında Aydın İli'ne bağlı pamuk ekim alanı açısından önemli olan 12 ilçeden (Merkez, Yenipazar, Koçarlı, Germencik, Söke, Nazilli, Kuyucak, Buharkent, Incirlioğlu, Çine, Köşk, Karpuzlu) elde edilen *V. dahliae* izolatlarının Vegetatif Uyum Gruplarını (VCG) saptamak amacıyla yapılmıştır.

Verticillium solgunluğu belirtisi gösteren pamuk tarlalarındaki bitkilerden toplam 47 *Verticillium* spp. izolatu elde edilmiş ve tanılama çalışmalarında tüm izolatların *Verticillium dahliae* olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu izolatların tek spor çalışmaları yapılmış ve 47 *V.dahliae* tek spor izolatu elde edilmiştir.

V.dahliae izolatlarının patojenisite çalışmaları pamuk bitkilerinde (cv.Acala SJ 2) yapılmış ve 2004 yılı izolatlarının virulensi %3.83-93.37, yaprak döküm oranları % 0.0-86.66, 2005 yılı izolatlarının virulensi %29.5-100 arasında bulunurken yaprak döküm oranlarının %0.0-100 arasında değiştiği saptanmıştır. Bununla beraber, virulensleri yüksek olan *V. dahliae* izolatlarının pamuk bitkilerinde neden olduğu yaprak döküm oranlarının da yüksek olduğu görülmüştür.

2004 yılında pamuktan alınan, 23 *V. dahliae* tekspor izolatının 12'sinden 33 nit mutant elde edilmiş ve bu mutantların % 96.96'sı nit1 iken, % 3.03'ü Nit M olarak belirlenmiştir. Ancak 6 *V. dahliae* tekspor izolatından nit mutant elde edilememiştir. 2005 yılında pamuktan elde edilen 24 *V.dahliae* tek spor izolatının 8'inden klorate'a dayanıklı koloni elde edilememiştir. Geri kalan 16 *V.dahliae* tek spor izolatının 12'sinden 31 nit mutant elde edilirken bunlardan 4'ünden mutant elde edilememiştir. Nit mutantların fenotipik ayrımı yapılmış ve tamamının nit1 grubunda yer aldığı görülmüştür. 2004 ve 2005 yıllarında pamuktan elde edilen *V.dahliae* mutantları arasında nit 3 fenotipine rastlanmamıştır.

24 *V.dahliae* tek spor izolatından elde edilen 64 mutant tester izolatların nit1 ve Nit M'leri (VCG1, VCG2A, VCG2B ve VCG4B) ile heterokaryosis testlerine alınmıştır. Ancak bunlardan 10'u daha sonra prototrophic gelişme göstererek mutant özelliğini yitirmiştir. Pamuk alanlarından elde edilen 54 mutantın 38 (%70.4)' i

VC2B iken, 6 (%11.1)'sı VC2B ile kuvvetli ve VC1 ile zayıf, 5 (%9.3)' i VC2B ve VC1 ile kuvvetli, 2 (%3.7)'si VC2A ile kuvvetli, 1 (%1.8) VC1 ile kuvvetli ve VC2B ile zayıf, 1 (%1.8)'i VC2B ve VC4B ile zayıf , 1 (%1.8)'i ise VC2B ile zayıf heterokaryosis oluşturmuştur.

SUMMARY

DETERMINATION OF VEGETATIVE COMPATIBILITY GROUPS (VCGs) OF *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEB. ISOLATES OBTAINED FROM COTTON GROWING AREAS OF AYDIN PROVINCE

This study was conducted to determine the Vegetative Compatibility Groups (VCGs) of the *Verticillium dahliae* isolates obtained from 12 important cotton growing counties of Aydın (Aydın(Center),Yenipazar, Koçarlı, Germencik, Söke, Nazilli, Kuyucak, Buharkent, Incirlioğlu, Çine, Köşk, Karpuzlu) in the years 2004-2005.

Total 47 *Verticillium* spp. isolates were obtained from the cotton plants which exhibited the symptoms of Verticillium Wilt. In the diagnostic studies, all isolates were identified as *Verticillium dahliae*. Single spore studies of these isolates were also performed and 47 single spore *V.dahliae* isolates were obtained.

The pathogenicity tests of these *V.dahliae* isolates were carried on cotton plants(cv.Acala SJ 2). The virulence of the isolates collected in 2004 changed between 3.83 and 93.37% while the percentage of leaf shedding ranged from 0 to 86.66%. For the 2005, the virulence of the isolates was found 29.5-100 % and the percentage of leaf shedding changed between 0.0 % and 100 %. It was found that *V.dahliae* isolates having high virulence caused heavy leaf-shedding.

In 2004, 32 nit mutants were obtained from 12 of 23 *V.dahliae* single spore isolates obtained from the cotton plants. While 96.88 % of these mutants were determined as nit1, 3.12 % of them were determined as NitM. But no nit mutants were obtained from 6 *V.dahliae* single spore isolates. In 2005, a colony resistant to chlorate couldn't be obtained from 8 of 24 *V.dahliae* single spore isolates obtained from the cotton plants. Whereas 31 nit mutants were obtained from the rest 12 of 16 *V.dahliae* single spore isolates, no mutants could be obtained from 4 of them. Nit mutants were phenotypically classified and all of them were in the nit1 group. Among the *V.dahliae* mutants obtained from cotton in 2004 and 2005, nit 3 phenotype wasn't encountered.

64 mutants obtained from 24 single spore *V.dahliae* isolates were tested with nit1 and NitM tester strains (VCG1, VCG2A, VCG2B and VCG4B) for heterokaryosis. But 10 of the mutants developed prototrophically and then lost their mutant features. While 38 (70.4 %) of 54 mutants obtained from the cotton fields were VCG2B, 6 (11.1%) was strongly compatible with VCG2B but weakly compatible with VCG1, 5 (9.3 %) of them was strongly compatible with VCG2B and VCG1, 2 (3.7%) was strongly compatible with VCG2A, 1 (1.8%) was strongly compatible with VCG1 but weakly compatible with VCG2B, 1 (1.8%) was weakly compatible with VCG2B and VCG4B, and 1(1.8 %) was weakly compatible with VCG2B.

TEŞEKKÜR

Araştırma konumun seçiminde ve çalışmalarım sırasında büyük katkı ve yardımlarını gördüğüm değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU'na, maddi katkılarından dolayı Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri ZRF-05006 no'lu projeye, TÜBİTAK TOVAG-104O181 no'lu projeye ve ayrıca desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

- AGRIOS, G.N., 1997. Plant Pathology, Fourt Edition. Academic Press, Florida, p.633.
- AL-AHMAD, M.A.and M.N., MOSLİ 1993. Verticillium Wilt of Olive in Syria.EPPO Bulletin 23: 521-529.
- ANONYMOUS, 2004. Food and Agriculture Organization of USA (FAO). [<http://www.fao.org>] Erişim Tarihi: 11.08.2004.
- ANONYMOUS,2006a.Pamuk[<http://www.bahce.biz/bitki/tarla/endustri/pamuk.htm>] Erişim Tarihi: 13.09.2006.
- ANONYMOUS, 2006b. Tarih AR-GE, Pamuk Raporu.
- BAO, J. R., J. KATAN, E. SAHABİ and T. KATAN, 1998. Vegetative-compatibility groups in *Verticillium dahliae* from Israel. European Journal of Plant Pathology, 104: 263-269.
- BENLİOĞLU, S., H. ULUSAL ve M. DEMİRBAŞ, 2001. Aydın İlinde zeytin ağaçlarında Verticillium Solgunluğu . Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 3-8 Eylül 2001, Tekirdağ, 307-316.
- BHAT, R. G., and K. V. SUBBARAO, 1999. Host range specifity in *Verticillium dahliae*. Phytopathology, 89: 1218-1225.
- ÇETİN, V. ve A. ATAÇ, 1996. Adana’da bazı pamuk çeşitlerinin solgunluk (*Verticillium dahliae* Kleb.) hastalığına duyarlılıklarının belirlenmesi üzerinde çalışmalar. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 26-29 Eylül 1995, Adana, 240s.
- DERVİŞ, S. ve M. BİÇİCİ, 2003. Pamuk Alanlarındaki *Verticillium dahliae* Kleb.’nin Yoğunluğu, Solgunluk Çıkışı ve Etmen İzolatlarının Konukçuya Özelleşmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi. 2003, Adana, 135s.
- DOLAR, M. S., 1984. Akdeniz Bölgesi Pamuklarında Görülen Solgunluk Hastalığı (*Verticillium dahliae* Kleb.)’na Karşı Bazı Pamuk Çeşitlerinin Duyarlılıklarının Saptanması Üzerinde Çalışmalar, Bitki Koruma Bülteni, Eylül 1984, 24(3):3,148-158.

- ELENA, K., 2000. Genetic Relatedness of *Verticillium dahliae* Isolates from Cotton, Tomato and Watermelon Plants. (E. J. TYJAMOS, R. C. ROWE, J. B. HEALE, and D. R. FRAVEL eds.) Advances in Verticillium Research and Disease Management. APS Pres, St. Paul, Mn., p.106-108
- ESENTEPE, M., 1979. Adana ve Antalya illerinde pamuklarda görülen solgunluk hastalığının etmeni, yayılışı, kesafeti ve zarar derecesi ile ekolojisi üzerinde araştırmalar, Bornova Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Araştırma Eserleri Serisi No:32., Bornova/İzmir. 47s.
- GENCER, O., 1987. Genel Tarla Bitkileri. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi. Adana, 135s.
- GÖRE, M. E., H. DÜNDAR, O. ERDOĞAN, İ. EKŞİ ve A. SAĞDEMİR, 2004. Bazı pamuk çeşitlerinin solgunluk hastalığı etmenine (*Verticillium dahliae* Kleb.) karşı duyarlılıklarının saptanması üzerinde araştırmalar, Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 8-10 Eylül 2004, Samsun, 161s.
- HANSON, L. E., 2000. Reduction of Verticillium Wilt Symptoms in Cotton Following Seed Treatment with *Trichoderma virens*, The Journal of Cotton Science 4:224-231.
- İYRİBOZ, N., 1941. Mahsul hastalıkları. No:1, Ziraat Vekaleti Neşriyatı, Umum No: 237, Ankara.
- JOAQUIM, T. R. and R. C. ROWE, 1990. Reassessment of vegetative compatibility relationships among strains of *Verticillium dahliae* using nitrate- nonutilizing mutants. Phytopathology, 80 : 1160-1166.
- JOAQUIM, T. R. and R. C. ROWE, 1991. Vegetative Compatibility and virulence of strains of *Verticillium dahliae* from soil and potato plants. Phytopathology, 81: 552-558.
- KARACA, İ., KARCILIOĞLU, A. and CEYLAN, S., 1971. Wilt disease of cotton in the Ege region of Turkey. The journal Turkish Phytopathol., İzmir. 1 (1):4-11.
- KARACA, İ., 1974. Sistemik Bitki Hastalıkları. Deuteromycetes (Fungi Imperfecti), Cilt, IV. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:217. 148-159 s.

- KARCILIOĞLU, A., E. ONAN, B. KABADAYI and İ. NAZA, 1992. Behaviour of Some Cotton Varieties to Cotton Wilt disease Caused by *Verticillium dahliae* Kleb. J. Turkish Phytopath., 21(1), 49-53 (Cab Abstracts 1992).
- KARCILIOĞLU, A., E. ONAN, M., ÇİMEN, 1995. Pamuk Solgunluk Hastalığı Etmeni (*Verticillium dahliae* Kleb.)'ne Karşı Pamuk Çeşitlerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar. Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü-35040 Bornova/ İzmir.
- KATAN, T., 2000. Vegetative Compatibility in Populations of *Verticillium*-An Overview. (E. J. TYJAMOS, R. C. ROWE, J. B. HEALE, and D. R. FRAVEL eds.) Advances in *Verticillium* Research and Disease Management. APS Pres, St. Paul, Mn., p.69-86.
- KOROLEV, N.; R. M. JIMENEZ-DIAZ, J. KATAN, E. PEREZ-ARTES, M.GARCIA-PEDRAJAS, J.BEJARANO-ALCAZAR, D. RODRIGUEZ-JURADO and T. KATAN, 2000a. (E. J. TYJAMOS, R. C. ROWE, J. B. HEALE, and D. R. FRAVEL eds.) Advances in *Verticillium* Research and Disease Management. APS Pres, St. Paul, Mn., p.109-111.
- KOROLEV, N.; J. KATAN and T. KATAN, 2000b. Vegetative Compatibility Groups of *Verticillium dahliae* in Israel: Their Distribution and Association with Pathogenicity. Phytopathology, 90: 529-536.
- MELOUK, H. A., 1992. *Verticillium* (in: Singleton, L. L., J. D. Mihail and C.M. Rush (eds.), 1992. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. APS Pres. St. Paul, Minnesota).
- ONAN, E. and A. KARCILIOĞLU, 1998. Pathotypes of *Verticillium dahliae* from Cotton in Aegean Region and Review of *Verticillium* Wilt Tolerance in Nazilli 84 Cotton. J. Turk Phtopath., 27 (2-3): 113-120.
- PUHALLA, J. E., 1979. Classification of Isolates of *Verticillium dahliae* based on heterokaryon incompatibility. Phytopathology, 69: 1186-1189.
- PUHALLA, J. E. and M. HUMMEL, 1983. Vegetative compatibility groups within *Verticillium dahliae*. Phytopathology, 73: 1305-1308.

- ROWE, R. C., D. A. JOHNSON and M. A. OMER, 2000. Vegetative Compatibility Analysis of Strains of *Verticillium dahliae* from Potato Seed Tubers and Plants from Western and Eastern North Amerika. (E. J. TYJAMOS, R. C. ROWE, J. B. HEALE, and D. R. FRAVEL eds.) Advances in Verticillium Research and Disease Management. APS Pres, St. Paul, Mn., p.95-99.
- SAĞIR, A. ve F. TATLI, 1995. Pamuk Solgunluk Hastalığı Etmeni (*Verticillium dahliae* Kleb)'ne Karşı Pamuk Çeşitlerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar, VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri. 26-29 Eylül 1995, Adana, 5-9.
- SAĞIR, A., F. TATLI, B. GÜRKAN, 1995. Güney doğu Anadolu Bölgesinde Pamuk Ekim Alanlarında Görülen Fungal Hastalıklar Üzerinde Çalışmalar. GAP Bölgesi Bitki Koruma Sorunları ve Çözüm Önerileri Sempozyumu, 27-29. Nisan. 1995, Şanlıurfa.
- SEZGİN, E.,1985. Pamuk solgunluk hastalığı ile savaşta kültürel işlemlerin önemi, Bornova Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü. Yıllık, 3:23-31.
- TSROR (LAHKIM), L. and A. G. LEVIN, 2003. Vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium dahliae* Kleb. Isolates from olive in Israel. J. Phytopathology, 151, 451-455.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Manisa’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Manisa’da tamamladı. 1997 yılında girdiği Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi’nin Bitki Koruma Bölümü’nden 2001 yılında mezun oldu. 2003 yılında Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. 2005 yılından itibaren yüksek lisans öğrenimine devam ettiği Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi’nin Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.