

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI



ORTA KARADENİZ BÖLGESİNDE DOMATESTE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *LYCOPERSICI* VE *F. OXYSPORUM* F. SP. *RADICIS-LYCOPERSICI* ETMENLERİNİN PATOJENİSİTESİ, MOLEKÜLER TANISI VE *NİT* MUTANTLARININ ELDESİ

Doktora Tezi

Gülay KILIÇ

Danışman

Prof. Dr. Berna TUNALI

SAMSUN
2023

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

10/03/2023
Gülay KILIÇ

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : ORTA KARADENİZ BÖLGESİNDE DOMATESTE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *LYCOPERSICI* VE *F. OXYSPORUM* F. SP. *RADICIS-LYCOPERSICI* ETMENLERİNİN PATOJENİSİTESİ, MOLEKÜLER TANISI VE *NİT* MUTANTLARININ ELDESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 10.03.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 14

Tek kaynak oranı : % 4 çıkmıştır.

10/03/2023
Prof. Dr. Berna TUNALI

ÖZET

ORTA KARADENİZ BÖLGESİNDE DOMATESTE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *LYCOPERSICI* VE *F. OXYSPORUM* F. SP. *RADICIS-LYCOPERSICI* ETMENLERİNİN PATOJENİSİTESİ, MOLEKÜLER TANISI VE *NIT* MUTANTLARININ ELDESİ

Gülay KILIÇ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Bitki Koruma Ana Bilim Dalı
Doktora, Mart/2023
Danışman: Prof. Dr. Berna TUNALI

Bu çalışmada Orta Karadeniz Bölgesi domates üretim alanlarında bulunan, birbirinden morfolojik olarak ayırt edilemeyen *Fusarium* solgunluğu etmeni *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) ve *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğü etmeni *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL)'nin yaygınlık ve şiddetinin belirlenmesi, moleküler yöntemler kullanılarak FOL (ırk 1, 2, 3) ve FORL izolatlarının birbirinden ayrılması, patojenisiteleri ve *nit* mutantlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Solgunluk ve kök, kökboğazı çürüklüğü hastalıklarının yaygınlığı ve şiddetinin belirlenmesi amacıyla yapılan survey sonucunda solgunluk belirtisi en yaygın olarak Ordu ilinde (%11), en yüksek hastalık şiddeti ise yine Ordu ilinde (%3.3) gözlemlenmiştir. Kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalık belirtileri ise en yaygın olarak %52.3 ile Amasya ilinde görülürken, en yüksek hastalık şiddeti ise yine Amasya ilinde (%19.4) tespit edilmiştir. Survey yapılan alanlardan alınan hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyonlarda 121 FORL izolatu elde edilirken, izolatların 50'si (%41.3) Samsun ilinden bunu takiben 40'ı (%33.1) Tokat, 20'si (%16.5) Amasya, altısı (%5) Çorum ve beşi (%4.1) ise Ordu ilinden elde edilmiştir. Üç farklı ırkı bulunan FOL etmeninden ise toplam 27 izolat elde edilmiş olup Tokat'tan yedi ve Samsun'dan dört adet FOL-1 izolatu, Tokat'tan üç adet FOL-2 izolatu ve Tokat'tan beş, Samsun'dan dört, Amasya'dan üç ve Ordu'dan bir adette FOL-3 ırkına ait izolat elde edilmiştir. Çorum ilinden ise hiçbir FOL izolatu elde edilmemiştir. Böylece bölgemizde yaygın olarak bulunan ve hastalık şiddeti en yüksek olan alt türün FORL olduğu ortaya konulmuştur. FOL etmenine ait üç ırkın (1, 2, 3) da Orta Karadeniz bölgesinde olduğu belirlenmiştir. Yapılan patojenisite testi sonucu elde edilen izolatlara ait değerlendirilen kriterler, kontrol ile önemli düzeyde farklılık göstermiştir ($P<0.01$). İzolatlar arasında da bitki gelişim parametreleri ile ilişkili olarak istatistiksel farklılıklar bulunduğu anlaşılmıştır. Ayrıca izolatlara ait skala değerleri ile bitki gelişim parametreleri arasında negatif bir ilişki belirlenmiştir. Elde edilen *nit* mutantlar fenotiplerine göre değerlendirildiğinde FOL için %74 (28) oranla *nit1* bulunurken, bunu %24 (9) oranla NitM ve %2 (1) oranla *nit3* takip etmiştir. FORL için ise %82 (123) oranla *nit1* elde edilirken, bunu %15 (22) oranla NitM ve %3 (5) oranla *nit3* izlemiştir.

Anahtar Sözcükler: Kök ve kök boğazı çürüklüğü, Solgunluk, Bitki gelişimi, Patojenisite, *Nit* mutant.

ABSTRACT

PATHOGENICITY, MOLECULAR DIAGNOSIS AND OBTAINED *NIT* MUTANTS OF AGENT *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *LYCOPERSICI* AND *F. OXYSPORUM* F. SP. *RADICIS-LYCOPERSICI* IN TOMATO IN THE CENTRAL BLACK SEA REGION

Gülay KILIÇ

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Plant Protection

Ph.D., March/2023

Supervisor: Prof. Dr. Berna TUNALI

In this study, it was aimed to determine prevalence and severity of *Fusarium* wilt agent, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) and *Fusarium* root and crown rot agent *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) cannot be distinguished from each other morphologically in tomato production areas of Central Black Sea Region, distinguish between FOL (race 1, 2, 3) and FORL isolates using molecular methods, their pathogenicity and identification of nit mutants. As a result of the survey conducted to determine the prevalence and severity of wilt and root and crown rot diseases, wilt symptoms were most common in Ordu (11%), and the highest disease severity was observed in Ordu (3.3%). Root and crown rot disease symptoms were most common in Amasya with 52.3%, while the highest disease severity was found in Amasya (19.4%). While 121 FORL isolates were obtained from diseased plant samples taken from the surveyed areas, 50 (41.3%) of the isolates were from Samsun, followed by 40 (33.1%) Tokat, 20 (16.5%) Amasya, six (5%) Çorum and five. (4.1%) was obtained from the province of Ordu. A total of 27 isolates were obtained from the agent FOL with three different races, seven from Tokat and four FOL-1 isolates from Samsun, three FOL-2 isolates from Tokat and five from Tokat, four from Samsun, three from Amasya and one from Ordu isolates of the FOL-3 strain were obtained. FOL isolate was not obtained from Çorum province. Thus, it has been revealed that FORL is the most common subtype in our region and has the highest disease severity. It was determined that all three races (1, 2, 3) belonging to the FOL agents were in the Central Black Sea region. Evaluated criteria of the isolates obtained as a result of the pathogenicity test showed significant differences with the control ($P<0.01$). It was understood that there were statistical differences between the isolates in relation to plant growth parameters. In addition, a negative relationship was determined between the scale values of the isolates and plant growth parameters. When the nit mutants obtained were evaluated according to their phenotypes, *nit1* was found at the rate of 74% (28) for FOL, followed by NitM at 24% (9) and *nit3* at 2% (1). For FORL, *nit1* was obtained with 82% (123), followed by NitM with 15% (22) and *nit3* with 3% (5).

Keywords: Root and crown rot, Wilt, Plant growth, Pathogenicity, *Nit* mutant.

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
2.1. <i>Fusarium</i> Cinsinin Tanımı ve Sistematikteki Yeri	7
2.2. <i>Fusarium</i> Türlerinin Morfolojik Özellikleri ve Morfolojik Teşhisleri	8
2.3. <i>Fusarium</i> Türlerinin Moleküler Teşhisleri	10
2.4. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un Genel Özellikleri	10
2.5. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> W.C. Snyder & H.N. Hansen ve Irkları	12
2.6. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i> Jarvis & Shoemaker	13
2.7. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i> ve <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> ile Mücadele	14
2.8. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> ve <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis lycopersici</i> 'nin Moleküler Ayrımı ve Irkların belirlenmesi	15
2.9. <i>Nit</i> Mutant Eldesi ile İlgili Çalışmalar	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. Fungus İzolatları	20
3.1.2. Domates Tohumu	20
3.1.3. Referans İzolatlar	20
3.1.4. Primerler	20
3.2. Yöntem	21
3.2.1. Sürvey Çalışmaları	21
3.2.2. Patojen İzolasyonu	25
3.2.3. Patojenisite Çalışmaları	26
3.2.4. Fungusların Gelişim Parametrelerinin Ölçümü ve İstatistiksel Analizler	26
3.2.5. Moleküler Çalışmalar	27
3.2.5.1. DNA İzolasyonu	27
3.2.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Çalışmaları	28
3.2.5.3. Agaroz Jel Elektroferez	28
3.2.6. <i>Nit</i> Mutantların Elde Edilmesi	30
3.2.6.1. <i>Nit</i> Mutantların Fenotiplerinin Belirlenmesi	30
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	32
4.1. Bulgular	32
4.1.1. Orta Karadeniz Bölgesinde Domates Ekim Alanlarında Oluşan Solgunluk ile Kök ve Kök Boğazı Çürüklüğü Hastalıklarının Durumu	32
4.1.2. Elde Edilen İzolatların Tanımlanması	33
4.1.3. <i>Fusarium oxysporum</i> İzolatlarının Moleküler Tanımlanması	34
4.1.4. Patojenisite Çalışmaları	40
4.1.4.1. Patojenisite Sonuçlarının İstatistiksel Analizleri	40
4.1.5. <i>Nit</i> Mutantlar ve Fenotiplerinin Elde Edilmesi	56
4.1.5.1. FOL İzolatlarından <i>Nit</i> Mutantların Eldesi	58
4.1.5.2. FORL İzolatlarından <i>Nit</i> Mutantların Eldesi	60
4.2. Tartışma	62

5. SONUÇ	71
KAYNAKLAR	74
EKLER	84
ÖZ GEÇMİŞ	85



SİMGELER VE KISALTMALAR

FAO	: Food and Agricultural Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
FOL	: <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>
FORL	: <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i>
f. sp.	: spesiyal form (alt tür)
sp.	: tür
ort.	: ortalama
<i>nit</i>	: Nitrate nonutilizing mutants (Nitrat kullanmayan mutantlar)
VCG	: Vegetative Compatibility Group (Vejetatif uyum grubu)
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
PDA	: Patates dekstrozu agar
FMM	: Fusarium Minimal Media
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
da	: dekar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Domatesin dünyada dağılışı yolları	1
Şekil 2.1. <i>Fusarium</i> türlerine ait fungal yapılar a) Makro konidi b) sporodokyum c-d) fiyalit yapıları e) mikrokonidi f) klamidospore	9
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan fungal izolatların domates bitkilerinden temin edildiği iller.....	20
Şekil 3.2. Sürvey yapılan açık alan (Tokat-Erbaa) (A) ve örtü altı (Amasya-Taşova) üretim alanlarına (B) ait domates bitkilerinin genel görünüşleri	22
Şekil 3.3. Sürvey çalışmalarında örnekleme yapılan hastalıklı domates bitkileri. Samsun/Çarşamba/Damlataş köyü'nden örnekleme yapılan solgunluk semptomu gösteren domates bitkisi (A) ile kök çürüklüğü belirtisine sahip domates bitkisinin (Samsun/Çarşamba/Damlataş köyü) (B) görünüşleri	23
Şekil 3.4. Hastalıklı domates bitki örneklerinin kök ve kökboğazından kesit alım işlemi (A ve B)	25
Şekil 3.5. PDA besi ortamında geliştirilen ve <i>F. oxysporum</i> olarak teşhis edilen bir izolat...26	
Şekil 4.1. <i>F. oxysporum</i> olarak teşhis edilen 15-60-TS1 izolatı	34
Şekil 4.2. uni primeri (16-55-CT1 izolatı/Çarşamba, Turgutlu), sprl primeri (16-55-CT1 izolatı/Çarşamba, Turgutlu), sp13 primeri (15-55-CD2 izolatı/Çarşamba, Damlataş), sp23 primeri (15-55-CD2 izolatı, Çarşamba, Damlataş), uni primeri (15-55-BA1 izolatı/Bafra, Ağıllar) (M: 100bp DNA ladder, Bio Basic Inc.)	34
Şekil 4.3. Soldan sağa 16-05-MB2 (Merkez, Büyükkızılca) izolatı, 15-60-NY3 (Niksar, Yolkonak) izolatı ve 16-55-BKar1 (Bafra, Karıncak) izolatının sp13'te 445 bp'de ve sp23 te 518 bp'de oluşturdukları bantlar (M: 100bp DNA ladder, Bio Basic Inc.)	35
Şekil 4.4. FOL-1 (15-60-ET3/Erbaa-Tosunlar izolatı), FOL-2 (16-60-TN2/Turhal-Necip izolatı), FOL-3 (15-05-TM1/Taşova-Mülkbükü izolatı) ırklarının spesifik primerler ile belirlenmesi	36
Şekil 4.5. 15-55-BA1 (Bafra, Ağıllar) izolatı (uni ve sprl primeri), 15-05-TM1 (Taşova, Mülkbükü) izolatı (sp13 ve sp23 primeri)'nin teşhisi (M: 100bp DNA ladder, Bio Basic Inc.)	36
Şekil 4.6. Elde edilen izolatların illere göre dağılımı	37
Şekil 4.7. Samsun ilinden elde edilen izolatların ilçelere göre dağılımı	38
Şekil 4.8. Tokat ilinden elde edilen izolatların ilçelere göre dağılımı	38
Şekil 4.9. Amasya ilinden elde edilen izolatların ilçelere göre dağılımı	39
Şekil 4.10. Çorum ilinden elde edilen izolatların dağılımı	39
Şekil 4.11. Ordu ilinden elde edilen izolatların ilçelere göre dağılımı	40
Şekil 4.12. Samsun'dan alınan örneklerden izole edilen FORL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P<0.01$)	41
Şekil 4.13. Samsun'dan alınan örneklerden izole edilen FOL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P<0.01$)	43
Şekil 4.14. Tokat'tan alınan örneklerden izole edilen FORL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P<0.01$)	45
Şekil 4.15. Tokat'tan alınan örneklerden izole edilen FOL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P<0.01$)	48

Şekil 4.16. Amasya'dan alınan örneklerden izole edilen FORL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P<0.01$)	49
Şekil 4.17. Amasya'dan alınan örneklerden izole edilen FOL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P<0.01$)	51
Şekil 4.18. Çorum'dan alınan örneklerden izole edilen FORL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P<0.01$)	52
Şekil 4.19. Ordu'dan alınan örneklerden izole edilen FORL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P<0.01$)	53
Şekil 4.20. 15-55-BKa3 FOL 1 (Samsun/Bafra/Kalaycılı) nolu izolatın patojenisite çalışması sonucu bitkinin solgunluk semptomu göstermesi	54
Şekil 4.21. 15-60-ME1 FORL (Tokat/Merkez/Emirseyit) nolu izolatın patojenisite çalışması sonucu bitkinin kök ve kök boğazı çürüklüğü nedeniyle oluşan solgunluk semptomu	54
Şekil 4.22. 15-60-ME1 FORL (Tokat/Merkez/Emirseyit) nolu izolatın patojenisite çalışması sonucu bitki kök ve kök boğazlarında oluşan belirtiler	55
Şekil 4.23. 15-05-MY1 FORL (Amasya/Merkez/Yazıbağları) nolu izolatın patojenisite çalışması sonucu bitki kök ve kök boğazlarında oluşan belirtiler	55
Şekil 4.24. Kloratlı (%1,5) besiyerinde klorata dayanıklı ince ve transparan sektör gelişimi (a,b)	56
Şekil 4.25. Kloratsız FMM ortamda gelişen nit mutant kolonisi	57
Şekil 4.26. Nit mutantların farklı azot kaynakları kullanımına göre fenotipik olarak gruplandırılması. <i>nit1</i> (a), <i>nit3</i> (b), NitM (c)	58
Şekil 4.27. FOL izolatlarından elde edilen klorata dayanıklı sektör sayısı, nit mutant sayısı ve nit mutantların % bulunma oranı	59
Şekil 4.28. FOL izolatlarından elde edilen <i>nit</i> mutantların iller düzeyinde fenotiplerine göre dağılımı	59
Şekil 4.29. FOL izolatlarından elde edilen toplam <i>nit</i> mutantların fenotiplerine göre dağılımı	60
Şekil 4.30. FORL izolatlarından elde edilen klorata dayanıklı sektör sayısı, <i>nit</i> mutant sayısı ve nit mutantların % bulunma oranı	61
Şekil 4.31. FORL izolatlarından elde edilen <i>nit</i> mutantların iller düzeyinde fenotiplerine göre dağılımı	61
Şekil 4.32. FORL izolatlarından elde edilen toplam <i>nit</i> mutantların fenotiplerine göre dağılımı	62

TABLÖLAR DİZİNİ

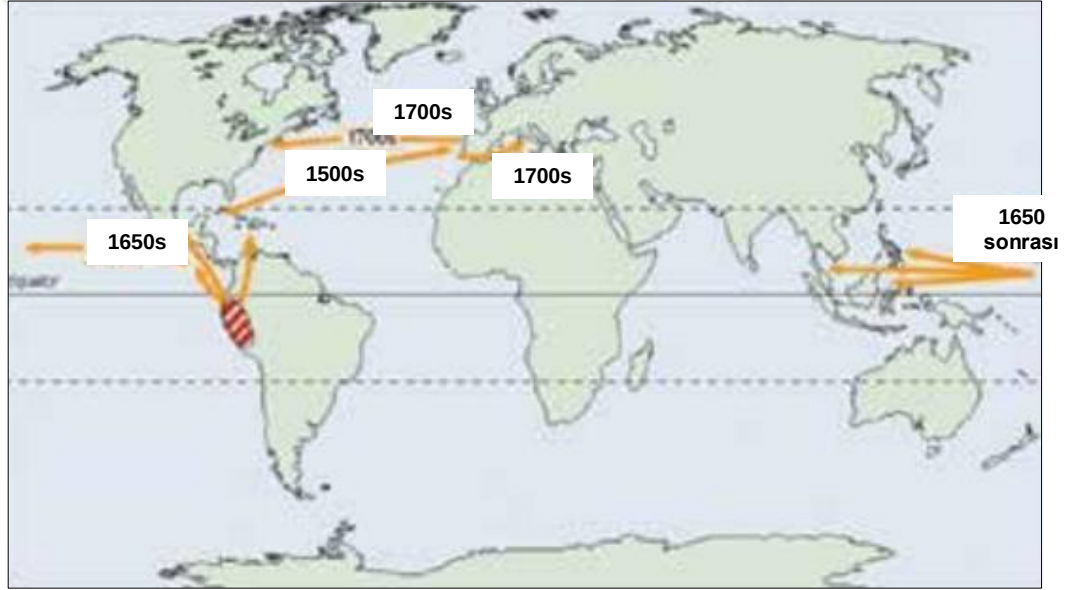
Tablo 1.1. Dünyada 2021 yılı domates üretim verileri.....	2
Tablo 1.2. Türkiye’de son on yıl içerisinde domates üretim verileri	3
Tablo 1.3. Türkiye’de 2022 yılı içinde en fazla domates üretimi yapan ilk 20 il ile survey alanına ait illerin üretim miktarı (ton), ekim alanı (da) ve verim (ton/da) değerleri	4
Tablo 3.1. <i>F. oxysporum</i> , FORL ve FOL ırklarının ayrımı çalışmalarında kullanılan primerler, baz dizileri ve beklenen bant büyüklükleri	21
Tablo 3.2. Domateste kök çürüklüğü ve solgunluk hastalıklarının araştırılması amacıyla survey yapılan il, ilçe, belde ve köyler	21
Tablo 3.3. 2015-2016 yıllarında hastalıklı bitki örneği alınan iller, ekim alanları (Anonim, 2016), incelenen alan (da) ve tarla ya da örtü altı (sera) alanı sayıları ile illerden alınan hastalıklı bitki örnek sayıları	23
Tablo 3.4. Survey çalışmalarında tarla büyüklüğüne göre incelenen bitki sayıları	24
Tablo 3.5. FOL ve FORL’un yaygınlık ve şiddetinin belirlenmesinde kullanılan skalalar	24
Tablo 3.6. <i>Fusarium oxysporum</i> , FORL ve FOL’un ırklarının belirlenmesinde kullanılan primer çiftleri ve bu primerler ile incelenen etmenlerin tanımlanmasında kullanılan kriterler	30
Tablo 3.7. Nitrojen kaynaklarının kullanımına dayalı mutant sınıflandırılması	31
Tablo 4.1. Survey yapılan ilçe ve beldelerde domateste solgunluk hastalığının hastalık oranı ve hastalık şiddeti (%)	32
Tablo 4.2. Survey yapılan ilçe ve beldelerde domateste kök ve kök boğazı çürüklüğünün hastalık oranı ve hastalık şiddeti (%)	33
Tablo 4.3. Moleküler olarak tanımlanan izolatların il ve ilçelere göre dağılımı	37
Tablo 4.4. Samsun FORL izolatlarının patojenisite sonuçları, kök ve gövde uzunlukları ile kök ve gövde kuru ve yaş ağırlıkları	42
Tablo 4.5. Samsun FOL izolatlarının patojenisite sonuçları ve kök ve gövde uzunlukları ile kök ve gövde kuru ve yaş ağırlıkları	45
Tablo 4.6. Tokat FORL izolatlarının patojenisite sonuçları ve kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde kuru ve yaş ağırlıkları.....	47
Tablo 4.7. Tokat FOL izolatlarının patojenisite sonuçları ve kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde kuru ve yaş ağırlıkları	49
Tablo 4.8. Amasya FORL izolatlarının patojenisite sonuçları ve kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde kuru ve yaş ağırlıkları	50
Tablo 4.9. Amasya FOL izolatlarının patojenisite sonuçları kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde kuru ve yaş ağırlıkları	51
Tablo 4.10. Çorum FORL izolatlarının patojenisite sonuçları ve kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde kuru ve yaş ağırlıkları	52
Tablo 4.11. Ordu FORL izolatlarının patojenisite sonuçları ve bitkilerin kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde, kuru ve yaş ağırlıkları	53
Tablo 4.12. Ordu FOL izolatının patojenisite sonuçları ve kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde, kuru ve yaş ağırlıkları.....	54

Tablo 4.13. Nitrojen kaynaklarının kullanımına dayalı mutant sınıflandırılması.....	57
Tablo 4.14. FOL etmenine ait <i>nit</i> mutantlar ve sınıflandırılması	58
Tablo 4.15. FORL etmenine ait <i>nit</i> mutantlar ve sınıflandırılması	60



1.GİRİŞ

Sistematik olarak Tubuflora (Personata) takımının *Solanaceae* familyasının *Lycopersicon* cinsinden olan domates (*Lycopersicon esculentum* Mill) ülkemizde ekonomik olarak yetiştiriciliği yapılan en önemli sebze türüdür. Anavatanı Orta ve Güney Amerika'dır (Şeniz, 1992). Domatesin ismi Aztek dilinden 'xitomate' veya 'zitotomate' kelimelerinden geliştirilmiş olup XVI. yüzyılda Avrupa'ya, XVIII. yüzyılda buradan Kuzey Amerika'ya getirildiği, daha sonra ise tüm dünyaya yayıldığı kabul edilmektedir (Gould, 1983; Anonymous, 2016) (Şekil 1.1). Avrupa'da iki yüz yıldan daha uzun süredir tüketilen domatesin, ülkemize Adana bölgesinden giriş yaptığı ve yüz yılı aşkın bir süredir tüm Anadolu'ya yayılarak tarımının yapıldığı bilinmektedir (Şeniz, 1992).



Şekil 1.1. Domatesin dünyada dağılış yolları (Sönmez, 2016)

Domatesin çok geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. Nitekim, üretim ve tüketim miktarları, insan beslenmesindeki önemli yeri, gıda sanayinde konserve, salça, turşu gibi birçok ürüne dönüştürülebilmesinden dolayı önemli sebzelerin başında gelmektedir.

Domates meyvesinin %93-95'i su olup %5-7 oranında da inorganik bileşikler, organik asitler (sitrik asit ve malik asit), alkolde çözünemeyen katı maddeler (proteinler, selüloz, pektin, polisakkaritler), karotenoidler ve lipitler bulunmaktadır (Petro-Turza, 1987). Domates, insan için gerekli temel besin maddeleri yönünden zengin olmasa da; yüksek oranda potasyum, organik asitler, A ve C vitaminleri

bakımından önemli bir kaynak oluşturmaktadır (Moreno et al., 2008). Ayrıca, kalori ve yağ oranı düşük olup kolesterol içermeyen iyi bir besin lif kaynağıdır (Kabelka et al., 2004). Diğer taraftan; domatesin içinde bulunan karotenoidler (β -karoten ve likopen) ise, A vitamini eksikliği sonucu ortaya çıkan hastalıkların, kalp rahatsızlıklarının ve kanserin önlenmesinde önemli bir role sahiptir. Ayrıca, antioksidan özellikleri sayesinde kanseri önlemede de etkili olduğu bildirilmiştir (Ötleş ve Atlı, 1997).

2021 yılına ait dünyadaki domates üretim verileri incelendiğinde; ekim alanına göre Çin'in 1.144.821 ha ile 1. sırada yer aldığı ve Türkiye'nin ise 165.204 ha ekim alanı ile dördüncü sırada bulunduğu görülmektedir. Üretim bakımından ise, Çin yine 67.636.724 ton ile ilk sırada bulunurken, Türkiye 13.095.258 ton ile üçüncü sırada yer almaktadır. Verim yönünden yapılan karşılaştırmada ise, 95.90 ton/ha ile ABD birinci durumda görülürken, Türkiye'deki verim ancak 79.27 ton/ha olup Türkiye üçüncü sırada bulunmaktadır (Anonymous, 2021) (Tablo 1.1).

Tablo 1.1. Dünyada 2021 yılı domates üretim verileri (Anonymous, 2021)

Ülke adı	Üretim (ton)	Ekim alanı (ha)	Verim (ton/ha)
Çin	67.636.724	1.144.821	59.08
Hindistan	21.181.000	845.000	25.07
Türkiye	13.095.258	165.204	79.27
ABD	10.475.265	109.226	95.90
İtalya	6.644.790	102.060	65.11
Mısır	6.245.787	150.109	41.61
İspanya	4.754.380	56.110	84.73
Meksika	4.149.240	90.306	45.95
Brezilya	3.679.160	51.907	70.88
Nijerya	3.575.968	844.633	4.23
DÜNYA	189.333.955	5.167.388	36.64

Türkiye'de son 10 yılda üretilen domatesin üretim verileri değerlendirildiğinde; birim alandan elde edilen ortalama verim ve üretim miktarı değerleri her yıl artış göstermektedir. Buna karşın, ekim alanının ise bu süreç içerisinde azalış göstermesi (yaklaşık 305.000 da) dikkat çekmiştir (Anonim, 2022) (Tablo 1.2).

Tablo 1.2. Türkiye’de son on yıl içerisinde domates üretim verileri (Anonim, 2022)

Yıllar	Üretim miktarı (ton)	Ekim alanı (da)	Verim (ton/da)
2013	11.820.000	1.892.022	6.25
2014	11.850.000	1.830.290	6.47
2015	12.615.000	1.871.637	6.74
2016	12.600.000	1.806.873	6.97
2017	12.750.000	1.774.741	7.18
2018	12.150.000	1.694.837	7.17
2019	12.841.990	1.734.214	7.41
2020	13.204.015	1.744.372	7.57
2021	13.095.258	1.652.035	7.93
2022	13.000.000	1.587.191	8.19

Ülkemiz tarımında sebze üretimi önemli bir yere sahiptir. Sebze ürünleri üretim miktarı 2021 yılında bir önceki yıla göre %2 oranında artarak yaklaşık 32 milyon ton olmuştur. Meyvesi için yetiştirilen sebzelerin üretimi ise %1 oranında artmıştır. Ülkemizde domates üretiminin meyvesi için yetiştirilen sebzeler arasındaki oranı, yaklaşık 13.1 milyon ton ile %41.2 olmuştur (Anonim, 2022).

Türkiye’de 2022 yılı içerisinde toplam 1.587.191 da alana domates ekimi yapılmış olup toplam 13.000.000 ton domates üretimi gerçekleştirilmiştir (Tablo 1.3). Tablo 1.3. incelendiğinde; 2.548.601 ton üretim, 170.939 da ekim alanı ve 14.91 ton/da verim ile Antalya ilk sırada yer almıştır. Orta Karadeniz Bölgesi’nde ise 2022 yılında en fazla domates ekim alanına sahip il Tokat (29.971 da) olurken, bu ili sırasıyla Çorum (18.136 da), Samsun (16.526 da), Amasya (12.749 da) ve Ordu (673 da) izlemiştir. Üretim miktarları bakımından 224.984 ton ile Tokat ilk sırada bulunurken; bu ili Amasya (122.411 ton), Samsun (101.400 ton), Çorum (66.679 ton) ve Ordu (2.550 ton) illeri takip etmiştir. Bahsedilen bu illerdeki dekara verimin ise 3.68-9.60 ton olduğu görülmektedir (Anonim, 2022) (Tablo 1.3).

Tablo 1.3. Türkiye’de 2022 yılı içinde en fazla domates üretimi yapan ilk 20 il ile survey alanına ait illerin üretim miktarı (ton), ekim alanı (da) ve verim (ton/da) değerleri (Anonim, 2022)

Üretim miktarına göre sıralama	İl adı	Üretim miktarı (ton)	Ekim alanı (da)	Verim (ton/da)
1	Antalya	2.548.601	170.939	14.91
2	Bursa	1.430.773	161.193	8.88
3	Manisa	985.066	115.793	8.51
4	İzmir	855.050	100.560	8.50
5	Mersin	854.465	73.964	11.55
6	Konya	849.970	109.057	7.79
7	Çanakkale	611.926	76.204	8.03
8	Muğla	552.871	45.141	12.25
9	Balıkesir	511.666	56.835	9.00
10	Burdur	252.093	19.509	12.92
11	Şanlıurfa	240.688	43.151	5.58
12	Niğde	225.334	26.761	8.42
13	Tokat*	224.984	29.971	7.51
14	Bitlis	213.361	26.650	8.00
15	Karaman	137.791	21.417	6.43
16	Afyonkarahisar	129.539	9.142	14.17
17	Ankara	129.283	30.183	4.28
18	Adana	124.979	22.341	5.59
19	Amasya*	122.411	12.749	9.60
20	Denizli	114.479	23.269	4.91
25	Samsun*	101.400	16.526	6.14
31	Çorum*	66.679	18.136	3.68
72	Ordu*	2.550	673	3.79
Türkiye Toplam		13.000.000	1.587.191	8.19

*Bu çalışmada incelenen illeri ifade etmektedir.

Dünyada ve Türkiye’de en çok üretimi yapılan sebze türü olan domatesin üretiminde, hastalıklar önemli bir problem oluşturmaktadır (Jones et al., 1991; Agrios, 2005). Günümüzde domates bitkisinde yaklaşık 200 farklı hastalık etmeni tespit edilmiş olup, domates üretimini fungus, bakteri, virüs ve viroid gibi biyotik etmenler tehdit etmektedir (Jones et al., 1991).

Fide döneminde birçok farklı sebze çeşidi çökerten (damping-off) etmenleri nedeniyle kök ve kök çürüklüğü hastalıklarına yakalanmaktadır. Bu hastalık çimlenen tohumların toprak yüzeyine çıkmasından önce başlayarak, domates bitkilerinin ilk çiçeklenme dönemine kadar görülmektedir. En büyük hasar, fideliklerde ve tarlaya şaşırtılan fidelerin erken dönemlerinde oluşmaktadır. Hastalığa yakalanan fideler ilk önce solmakta, daha sonra ise kök boğazından devrilerek çökmektedirler. Bu nedenle bu hastalık çökerten olarak isimlendirilmiştir. Fidelerde hastalıklı dokular toprakaltı ve kökboğazı çevresindedir. Çökerten hastalığına *Fusarium* türleri neden olduğu gibi *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Alternaria*, *Sclerotinia*, *Botrytis* türleri de neden olmaktadır (Aybak, 2015).

Toprak kökenli bitki hastalıklarına neden olan fungal patojenler arasında *Fusarium* cinsi fungusların önemi oldukça fazladır. Dünyada Antartika kıtası hariç tüm kıtalarda tropikal ve subtropikal alanlarda bu fungusun varlığına rastlanmıştır. *Fusarium* cinsi funguslar birçok türe ait bitkide patojenik olabildiği gibi bazıları da saprofitik özellik göstermektedirler. Patojenik olanlar bitkilerin çeşitli organlarında meydana getirdikleri enfeksiyonlar sonucu kök, gövde ve meyve çürüklüklerine ve yapraklarda solgunluk belirtilerine yol açarak önemli derecede ürün kayıplarına hatta bitkilerde ölümlere neden olmaktadır (Singleton et al. 1992). *Fusarium* türleri içinde domateste en yaygın görülen ve en bilinen hastalık etmeni *Fusarium oxysporum*'dur. Eşeysiz üreme şekline sahip olan *F. oxysporum*, konukçuya göre spesiyal formlara ayrılmıştır. Bazı *F. oxysporum* alt türleri ise patojenik ırklar oluşturmuştur. *F. oxysporum*'un domateste hastalığa neden olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (FORL) olmak üzere iki alt türü bulunmaktadır. FOL *Fusarium* solgunluğuna, FORL ise *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olmaktadır (Gordon and Martyn, 1997; Attitalla et al., 2004; Bogale et al., 2007; Agrios 2005; Altınok vd., 2023).

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici*'nin sebep olduğu solgunluk etmeni ciddi verim kayıplarına yol açmakta ve özellikle sera gibi kapalı alanlarda duyarlı çeşitlerle zararı da her geçen yıl daha çok artmaktadır (Sherf and Machab, 1986; Yücel, 1989). Bu etmen kök bölgesindeki vasküler sistemi etkilemekte, su taşınımını engelleyerek bitkilerde hızlı ve ani ölümlere sebep olmaktadır. Hasta olan bitkilerin önce yaprakları solmakta, sonra kurumalar meydana gelmekte ve ardından ise bitki ölümü gerçekleşmektedir (Malhotra and Vashistha, 1993; McGrath et al., 1987). Baskın ırk özelleşmiş direnç genlerine sahip farklı domates çeşitlerinde FOL'un oluşturduğu duyarlılığa göre ayrılmış üç farklı ırkı (ırk 1, ırk 2 ve ırk 3) bilinmektedir (Bohn and Tucker, 1939; Alexander and Tucker, 1945; Volin and Jones, 1982; Grattidge and O'Brien, 1982). Günümüzde, dayanıklı çeşitlerin kullanımı hastalıklardan korunmak için en iyi yöntem olarak kabul edilmektedir. Dayanıklılık, ırka spesifik olarak bir baskın gen ya da birçok baskın gen tarafından oluşmaktadır. FOL ırk 2'ye karşı dayanıklılık sağlayan *I-2* geni, domatesin 11. kromozomunda bulunmakta olup, *Solanum pimpinellifolium*'dan elde edilmiştir. *I-1* ve *I-3* genleri ise, domatesin 7. kromozomunda bulunmakta ve ırk 1 ve ırk 3'e karşı dayanıklılık göstermektedir (Stall and Walter, 1965). Gelecek yetiştirme sezonuna en uygun

çeşidi belirlemek için o alanda önceden görülen patojenlerin ırklarının tanımlanması faydalı olacaktır. Nitekim; *Fusarium* türleri morfolojik özelliklerine göre seçici ortamlarda teşhis edilebilmesine karşın; *F. oxysporum*'un alt türleri ve ırkları morfolojik olarak tanımlanamamaktadır (Hirano and Arie, 2006).

Fusarium oxysporum'un genetik çeşitliliği Vejetatif Uyumluluk Grupları (Vegetative Compatibility Group; VCG) ile ortaya konulmaktadır. Bir fungus türünün veya ırkının aralarındaki genetik ilişki bu yöntem ile belirlenebilmektedir. Kullanılan bu metot ilk olarak 1980'li yıllarda bulunmuştur (Puhalla, 1985). Böylece vejetatif uyum izolatlarına 4-5 sayıdan oluşan VCG kodu verilmiş, ilk üç sayı konukçuya spesifik olup, son sayı ise spesiyal forma ait olacak şekilde eklenmiştir (Kistler et al., 1998).

VCG tanımlama stratejisi, *nit*-mutantların (nitrat kullanılmayan mutantlar), spontan klorat-dirençli sektörler olarak izolasyonu ve ardından bunların çeşitli nitrojen kaynakları içeren ortamlarda büyümelerine dayalı olarak farklılaştırılması (tanımlanması) şeklindedir. Mutantlar, uygun bir besleyici ortamda, genellikle tek nitrojen kaynağı olarak nitrat (NO₃) içeren bir minimal ortamda (MM) eşleştirilip ve daha sonra vejetatif olarak uyumlu suşlar kolayca tanımlanabilmektedir. Yukarıda belirtilen görüşlere dayanarak, başta *F. oxysporum* türleri olmak üzere çeşitli Askomisetlerin vejetatif uyumluluğu üzerine çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir (Leslie and Summerell, 2006).

Orta Karadeniz Bölgesi'nde *F. oxysporum*'un gerek FOL ırklarının belirlenmesi, gerekse FOL ve FORL'un moleküler olarak tespitine yönelik daha önce yürütülmüş bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında; Orta Karadeniz Bölgesi'nde yer alan Samsun, Amasya, Tokat, Çorum ve Ordu illeri domates üretim alanlarında FOL ve FORL etmenlerinin yaygınlık durumunun saptanması, moleküler yöntemlerle bu iki alt türün ayırımının yapılması, FOL'un ırklarının belirlenmesi, patojeniteleri ve *nit* mutantlarının ortaya konulması amaçlanmıştır. Böylece, bu bölgede FOL'un ırklarının tespiti sonucunda bu ırklara dayanıklı çeşitlerin kullanılmasına katkı sunulacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Toprak kaynaklı bitki hastalık etmenlerinin birçoğu, önemli bahçe ve tarla bitkilerinde kök ve kök boğazı çürüklüğü, çökerten, fide yanıklığı ve solgunluk gibi ciddi ekonomik kayıplara yol açan kök hastalıklarına neden olmaktadır (Yücel, 1989).

Domateste toprak kökenli patojenlerden bazıları domates mildiyösü (*Phytophthora infestans*), erken yaprak yanıklığı (*Alternaria solani*), külleme (*Leveillula taurica*), antraknoz (*Colletotrichum phomides*), kurşuni küf (*Botrytis cinerea*), solgunluk (*Fusarium* spp.), yaprak lekesi (*Septoria lycopersici*) gibi hastalıklara neden olan fungal etmenlerdir (Blancard, 2005).

2.1. *Fusarium* Cinsinin Tanımı ve Sistematikteki Yeri

Topraktan bulaşan funguslar arasında bulunan *Fusarium* cinsi dünyada ve ülkemizde yaygın olarak bulunmaktadır. *Fusarium* cinsi içerisinde yer alan çoğu tür doğada yüksek saprofitik potansiyele sahipken diğerleri ise önemli toprak kaynaklı patojen olarak bilinmektedir (Larkin and Fravel, 1998; Patil et al., 2011; Dilmaç vd., 2020). *Fusarium* türleri;

Bölüm: ASCOMYCOTA

Sınıf: Sordariomycetes

Takım: Hypocreales

Familiya: Nectriaceae

Cins: *Fusarium* içerisinde yer almaktadır.

Bitki patojenleri içerisinde en çok çalışılan funguslardan olan *Fusarium* cinsinin (Summerell et al., 2011) tür ve konukçu sayısı oldukça yüksek olup, bu cinsin üyeleri toprakta, havada ve bitki atıklarında bulunabilmektedir. Saprofitik olarak ölü bitkilerin çeşitli aksamalarında bulunan *Fusarium* türleri, patojenik olarak da oldukça geniş bir konukçu sayısına sahiptir (Summerell et al., 2003).

Fusarium cinsinin çok sayıda türü bulunmaktadır. *Fusarium* spp.'nin patojenik türleri bitkilerde vasküler solgunluğa ve kök -kök boğazı çürüklüğüne neden olup, tek bir konukçuda ve bazen de belirli bir çeşitte konukçuya özelleşme göstermektedirler.

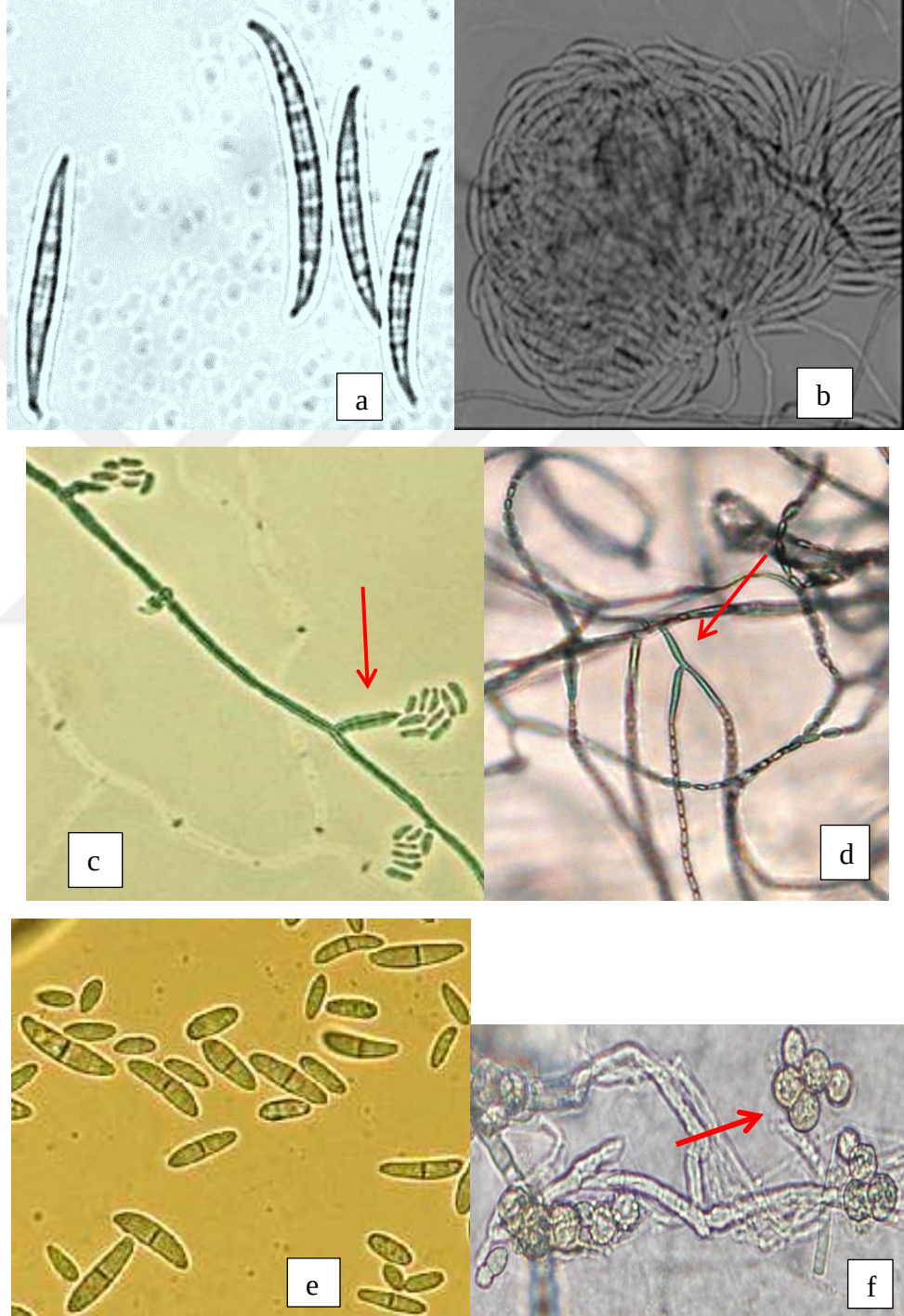
Endofit olan bazı *Fusarium* türleri bitkinin kök dokusuna girerek penetrasyonu gerçekleştirmektedir. Fakat non-patojen türler vasküler dokulara zarar vermemekte ve hastalık oluşturmamaktadırlar. Non-patojen *Fusarium* türlerinin, muz (Gerlach et al., 1999) fesleğen (Fravel and Larkin, 2002), karanfil (Garibaldi et al., 1986), hıyar (Mandeel and Baker, 1991), siklamen (Minuto et al., 1995), keten (Alabouvette et al., 1993), glayöl (Magie, 1980), kavun (Rouxel et al., 1979), domates (Lemanceau and Alabouvette, 1991; Larkin and Fravel, 1998; Patil et al., 2011), ıspanak (Katsube et al., 1994), çilek (Tezuka and Makino, 1991) ve karpuz (Larkin et al., 1996; Raghunandan et al., 2014) dahil olmak üzere birçok bitkide *Fusarium* solgunluğuna karşı kullanıldığı bildirilmiştir (Dilmaç vd., 2020).

Fusarium enfeksiyonu, ilgili *Fusarium* türüne ve konukçu bitkiye bağlı olarak, tohum çimlenmesinden olgun bitkisel dokulara kadar tüm bitki gelişim aşamalarında ortaya çıkabilir. Çeşitli *Fusarium* türleri aynı bitkide bir arada bulunarak karmaşık etiyolojiye sahip hastalıklara neden olabilir ve ikincil metabolitler, mikotoksinler üretebilir (Logrieco et al., 2007). *Fusarium* türlerinin çoğunun spesifik mikotoksin profilleri olduğundan, enfeksiyonun her aşamasında bitkilerin maruz kaldığı potansiyel toksikolojik riskin tahmin edilmesi, bu metabolitlerin oluşmasını engellemek için gereklidir. Mikotoksijenik *Fusarium* türlerinin hastalık belirtisi oluşturmadığında varlığının anlaşılması ve tanılanması hala en kritik konudur. Aslında, *Fusarium* cinsinin, çeşitli taksonomi sistemleri nedeniyle sürekli değişen, şu ana kadar bilinen 80'in üzerinde türün varlığıyla karakterize edildiği bildirilmiştir (Leslie and Summerell, 2006).

2.2. *Fusarium* Türlerinin Morfolojik Özellikleri ve Morfolojik Teşhisleri

Fusarium türlerinin makrokonidileri orak biçimli, çok bölmeli bir yapıdadır (Şekil 1a), mikrokonidi bir veya iki hücreli olup fialitlerden gelişir. Bazı türlerde kalın duvarlı klamidospore bulunabilir (Leslie ve Summerell, 2006). Ayırt edici muz şeklindeki makrokonidisi olan eşeysiz sporların oluşumu, türün tanımının *Fusarium* cinsine yerleştirilmesi için gereken ana özellik olarak kabul edilir ve sporodokyum adı verilen özelleşmiş yapılarda üretilir (Moretti, 2009). Sporodokyum'da makrokonidiler, havai miselyumda ve çok sayıda dallanmış veya tek konidioforlar üzerinde yer alırlar (Şekil 2.1.b) (Hawksworth et al., 1983).

Teşhiste kullanılan diğer yapılar, hem monofialitler hem de polifialitler üzerinde kümeler veya zincirler halinde havai miselyumunda üretilen ve şekil ve boyut olarak değişebilen mikrokonidilerdir (Şekil 2.1.c,d). Son olarak, yüksek lipid içerikli kalın duvarlara sahip kötü koşullara dayanıklı klamidosporlar, hifin ortasında veya tepesinde oluşturulabilir (Şekil 2.1.f) (Sen ve Asan, 2009).



Şekil 2.1. *Fusarium* türlerine ait fungal yapılar a) Makro konidi b) sporodokyum c-d) fyalit yapıları e) mikrokonidi f) klamidospor

Mikro ve makro-konidi hücrelerinin özelliklerine ek olarak yukarıda belirtilen yapıların farklı şekillerine ve yokluğuna veya varlığına bağlı olarak, araştırmacılar farklı *Fusarium* türlerini ayırt edebilirler. Makroronidilerinin farklı şekilleri en önemli morfolojik farklılığı belirleyen özelliğidir. Tüm taksonomistler, bir türün karakterizasyonu ve tanımlanması hedefine ulaşmak için doğru adımlar olarak, tek spor izolasyonundan elde edilen, uygun besiyerinde optimum koşullar altında yetiştirilen kültürlerin kullanılmasını önermektedir (Liu, 2009).

2.3. *Fusarium* Türlerinin Moleküler Teşhisleri

Fusarium taksonomisinde devrim niteliğinde olduğuna inanılan DNA tabanlı yöntemlerin artan kullanımı, *Fusarium* cinsinde gerçek çeşitliliğin önce bilinenden daha fazla olduğunu kanıtlamıştır (O'Donnell, 2000). Son zamanlarda önerilen moleküler filogenetik analiz, *Fusarium* cinsinin taksonomisini incelemek için birçok araştırmacı tarafından uygulanmıştır (Watanabe et al., 2011). Son zamanlarda DNA dizileme ve türe özgü PCR gibi moleküler analizler de yapılmaktadır. *Fusarium* sp.'de, protein çeviri mekanizmasının önemli bir bölümünü kodlayan çeviri uzatma faktörü 1- α (TEF) geni, tek bir işaretleyici olarak tercih edilen işaret haline gelmiştir (Geiser et al., 2004). Bunun nedeni, kalmodulin, β -tubulin ve histon gibi protein kodlayan genlerin intron açısından zengin kısımlarıyla karşılaştırıldığında bile, yakından ilişkili türler arasında yüksek düzeyde sekans polimorfizmi ile *Fusarium* sp.de tek kopya olarak TEF geninin sürekli olarak ortaya çıkmasıdır. (Rahjoo et al., 2008).

2.4. *Fusarium oxysporum*'un Genel Özellikleri

Fusarium oxysporum Schlecht. Emend. Synder & Hansen geniş bir konukçu aralığına sahiptir. Bu etmenin bazı özelleşmiş formları konukçuya özgüdür. *F. oxysporum* çoğunlukla toprakta saprofitik olarak yaşamasına rağmen, bazıları bitkilerde solgunluk veya kök çürüklüğü hastalıklarına neden olmaktadır. Bazı topraklarda çoğunlukla patojen olmayan türler, patojen türlerin neden olduğu hastalıkları baskılayıcı bir özelliğe sahiptir. Bu nedenle patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatları birçok yönden biyolojik mücadelede yer alabilmektedir. Etki mekanizmaları türe bağlı olarak değişmektedir. *F. oxysporum*'un Ascomycetes ile akrabalığı olan eşeyli devresi olmayan ya da bilinmeyen bir tür olduğu yaygın olan bir kanıdır. *F. oxysporum* kültürde üç tip eşeysiz spor oluşturmaktadır. Bunlar mikro konidi, makro konidi ve

klamidosporlardır. Klamidosporların görevi, toprakta kötü koşullara dayanıklı olarak uzun süre yaşamını devam ettirmektir.

F. oxysporum çok geniş bir konukçu dizine sahip olup vasküler solgunluk ve kök, kök boğazı çürüklüğü hastalıklarına neden olmaktadır. *F. oxysporum* 'un ekonomik olarak önemli 100'den fazla konukçusu bulunduğu bildirilmiştir (Kistler et al., 1998).

F. oxysporum'un birçok alt türü bulunmaktadır. *Fusarium* türlerinin tür ve alt tür populasyonlarının davranışları incelendiğinde, toprakta ve havada bulunabildikleri ek olarak hava yoluyla da yayılabildikleri görülmektedir. Birçok *Fusarium* türünün telemorfik evrelerinin bilinmemesi nedeniyle; *Fusarium* taksonomisi, makrokonidi boyutu, mikrokonidilerin ve klamidosporların mevcut olup olmaması, koloni rengi ve konidiyofor yapısı gibi özellikler göz önüne alınarak belirlenmektedir (Çolak, 2011).

Dünyada ve Türkiye'de en çok üretimi yapılan sebze türü olan domatesin üretiminde, hastalıklar önemli bir problem oluşturmaktadır (Agrios, 2005; Jones et al., 1991). *F. oxysporum* farklı Solanaceae bitkilerinde solgunluğa neden olurken, domateste solgunluğa neden olan *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*'nin yanı sıra, patlıcanda *F. oxysporum* f. sp. *melongenae*, biberde ise *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* da solgunluğa neden olmaktadır (Miller et al., 1996; Kabaş, 2008). *Fusarium* türleri içerisinde domateste en fazla görülen ve zararlı olan tür *F. oxysporum*'dur. *F. oxysporum*'un domateste patojen olan *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) ve *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (FORL) olarak iki farklı spesiyal formu mevcuttur. FOL etmeni *Fusarium* solgunluğuna, FORL ise *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğüne yol açmaktadır (Attitalla et al., 2004).

F. oxysporum'un neden olduğu vasküler enfeksiyonun bitkide ortaya çıkması ve ilerlemesi karmaşık bir olgudur ve enfeksiyon sürecinde yer alan sıralı adımlar aşağıdaki gibidir: (1) kökün konukçu-patojen sinyalleri yoluyla tanınması, (2) kök tüylerinin yüzeyine bağlanma ve hif yayılımı, (3) kök korteksine ve vasküler dokuya yerleşme ve ksilem damarlarında farklılaşma, (4) sonuç olarak toksinlerin ve virülanslık faktörlerinin devreye girmesi, damarların kolonizasyonu, hastalık gelişimine ve konukçu bitkinin karakteristik olarak solmasına yol açmak olarak bildirilmiştir

Fusarium oxysporum üç farklı tipte (mikrokonidi, makrokonidi ve klamidospor) spor oluşturmaktadır. Kök ve kök çürüklüğü etmeni FORL'nin yayılması ve yaşamına devam etmesinde özellikle iki spor tipi önemli rol oynamaktadır.

Bunlardan mikrokonidi tipi ölü dokularda üremekte olup, özellikle sterilizasyon yapılan sera gibi kapalı alanlardaki topraklarda hava akımı ile başka yerlere bulaşmaktadır. Klamidosporlar ise sahip oldukları kalın duvarlar sayesinde etmenin toprakta uzun süre yaşamını devam ettirmesine olanak sağlamaktadır (Ozbay and Newman, 2004). *F. oxysporum* etmeni patates dekstroz agar (PDA) gibi katı besi ortamlarında çoğaltılabilir. İlk olarak, oluşan havai miselyumlar beyaz renkte görülmekte, daha sonrasında *F. oxysporum*'un ırkına ya da alt türüne göre mor renkten koyu pembeye değişen renge dönüşebilirler. Eğer sporlar çok yoğun oluşmuşsa kültür rengi krem ya da turuncu da olabilmektedir (Gonsalves et al., 1993; Kabaş, 2008).

2.5. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* W.C. Snyder & H.N. Hansen ve Irkları

Domateste *Fusarium solgunluğu* etmeni FOL, kök ve kök boğazı çürüklüğü etmeni FORL olarak bilinmektedir. Bu iki patojen morfolojik olarak birbirinden ayırt edilememektedir. Her iki etmenin konukçusu da domates olmasına rağmen farklı belirtiler oluşturmaktadır (Attitalla et al., 2004; Kabaş, 2008).

FOL ilk olarak 1895 yılında tanımlanmış ve dünyanın 32 ülkesinde yayılım göstermiştir. Hastalığın dünyada bilinen 3 ırkı mevcuttur. Irk 1 en yaygın ırk olup, dünyada pek çok ülkede rapor edilmiştir. Irk 2 ilk olarak 1940 yılında ABD'nin Ohio eyaletinde rapor edilmiş ancak 1961 yılında ABD'de Florida eyaletinde bulunana kadar çok yayılmamıştır. Daha sonra, Avustralya, Meksika, İsrail, Fas, Hollanda ve Irak'ta görülmüştür. Irk 3'ün ise ilk olarak 1966 yılında Brezilya'da belirlendiği daha sonrasında Avustralya, ABD'nin Florida ve Kaliforniya eyaletlerinde ortaya çıktığı bildirilmiştir (Wong, 2003; Kabaş, 2008).

Meksika'da 2005 yılında domates yetiştirilen alanlarında ekonomik kayıplara neden olan solgunluk hastalığı etmeni FOL tespit edilmiştir. Meksika'dan elde edilen izolatların ırk-2 ve ırk-3 olduğu belirlenmiş olup, ülke için ilk kayıt olduğu bildirilmiştir (Pena, 2005).

Fusarium solgunluğu çevresel etkilere, konukçu bitkinin yaşına, patojen popülasyonunun virülensliğine ve yoğunluğuna bağlı olarak erken dönemde çökertenle başlayıp geç döneme kadar devam edebilmektedir (Martyn et al., 1991). Bitkinin stresli olduğu dönemlerde ve meyve olum zamanlarında solgunluk belirtileri daha fazla görülmektedir (Martyn, 1996; Erincik, 2015).

Solgunluk etmeni FOL'un hastalık oluşturmasında hava sıcaklığı önemli bir faktördür. Etmenin optimum gelişebildiği toprak ve hava sıcaklığı 28°C'dir. Hastalığın gelişimi aşırı sıcak ($\geq 34^{\circ}\text{C}$) ya da soğuk (17-20°C) toprak sıcaklıklarında yavaşlayabilmektedir. Bu hastalık, hassas domates bitkilerinin ksilem yapısına yerleşmekte ve böylece ksilem sistemine zarar vermektedir. Bundan dolayı sonrasında bitkide sararma, solma, kuruma ve ölüm meydana gelmektedir (Katan et al., 1997; Wong, 2003; Kabaş, 2008).

2.6. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* Jarvis & Shoemaker

FORL ilk olarak 1969 yılında Japonya'da, daha sonra ise Kaliforniya (1971)'da tespit edilmiştir. FORL etmeninin oluşturduğu kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığının domatesin en tahripkar hastalıklarından biri olduğu bildirilmektedir (Szczuchura et al., 2013). FORL etmeninin neden olduğu *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı ölkemizdeki ilk olarak, Can vd. (2004) tarafından belirlenmiştir.

Çolak (2011) tarafından Adana'da yapılan sürvey çalışmasında *F. oxysporum*'un neden olduğu FORL ve FOL hastalıklarının hastalık çıkışı ve şiddeti sırasıyla % 35.1, % 18.8 ve % 43.3, % 20.4 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada farklı bölgelerden elde edilen toplam 87 *F. oxysporum* izolatının yapılan PCR sonucunda %60'ı FORL (*F. oxysporum* f. sp. *radicis- lycopersici*) ve %40'ı ise FOL (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) olarak teşhis edilmiştir.

Domateste kök ve kök çürüklüğüne neden olan FORL etmeni Florida (ABD)'nin domates yetiştirilen asitli ve kumlu topraklarında yaygın olarak tespit edilmiştir. Daha sonra ise Kanada, Meksika ve birçok Avrupa ölkesinde görölmüştür. Önemli ekonomik kayıplara neden olan bu etmen özellikle topraksız tarımın yapıldığı, besin solüsyonunun re-sirküle edildiği NFT (Nutrient Film Technique), kaya yünü gibi ortamlarda daha fazla zarara neden olmaktadır. Oluşan verim kaybı %15-65 arasında değişmektedir (Rowe et al., 1977; Jarvis et al., 1981; Ozbay and Newman, 2004; Roberts et al., 2000).

FOL ve FORL'un bitkilerde oluşturduğu simptomlar birbirinden farklılık göstermektedir. FOL'un neden olduğu *Fusarium* solgunluğunun tipik simptomu, solgun bitkilerde üst gövde boyunca ksilemde renk değişiminin görölmesidir. Diğer taraftan FORL, kök boğazında bazen turuncu veya kahverengi simptomlar ile birlikte

şişkinlikler, daha alt kısımlarda kök çürüklüğü ve iç kısımda çürüme meydana getirmektedir. Oluşan bu lezyon yukarıya doğru 10-15 cm ilerlemekte ve bazen fungal sporulasyon görünür halde bulunmaktadır (Katan et al., 1997; Can et al., 2004).

2.7. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* ve *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ile Mücadele

Bu etmenlerin neden olduğu hastalıklarla mücadelede çok farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları; hastalıktan ari fide kullanımı, kültürel önlemler, kimyasal mücadele ve solarizasyon, biyolojik mücadele ve dayanıklı çeşit kullanımı gibi yöntemlerdir.

a) Hastalıktan ari fide kullanılması: Yetiştiricilik yapılırken ilk aşamada dikkat edilmesi gereken bir önlemdir. Ayrıca yetiştiricilik sırasında kültürel işlemlere de dikkat edilmeli, hastalık etmeni bulaşmış bitkiden sağlıklı bitkiye geçiş engellenmelidir (Kabaş, 2008).

b) Kimyasal mücadele ve solarizasyon: Bu hastalıklarla mücadelede etkisi çok güçlü bir kimyasal bulunmamaktadır. Bunun yanında toprak sterilizasyonunda metil bromit iyi bir kontrol sağlamasına rağmen, bu kimyasal çevreye olan etkilerinden dolayı yasaklanmıştır. Bu nedenle bu mücadele şeklinden vazgeçilmiştir (Omar et al., 2006; Kabaş, 2008). Solarizasyon uygulamasının başarısı ise toprak nemi, toprak sıcaklığı, güneş ışınlarının şiddeti ve süresi gibi faktörlere bağlı olup, yaz aylarının sıcak geçtiği bölgelerde uygulanabilmektedir (Yücel, 1989; Kabaş, 2008).

c) Biyolojik kontrol sistemi: Biyolojik mücadele çalışmalarında özellikle *Trichoderma* türleri etkin olarak kullanılmaktadır. Özellikle FORL'nin oluşturduğu hastalıklara karşı başarılı sonuçlar alınmıştır. Yapılan bir çalışmada *Trichoderma harzianum*'un %12 oranında kök hastalıklarını azalttığı bildirilmiştir (Datnoff and Pernezny, 2001; Kabaş, 2008).

d) Dayanıklı çeşit kullanımı: En etkili yöntemlerden biri de dayanıklı çeşit kullanımıdır. Japonya'da 'IRB-301-30' ve 'IRB-301-31' adlı ıslah hatları elde edilmiştir. Bu ıslah hatlarından 'IRB-301-31' kullanılarak, pembe meyveli 'Ohio CR6' çeşidi geliştirilmiştir. Yapılan ıslah çalışmaları ile dayanıklılık yeni çeşitlere aktarılmıştır (Yamakawa and Nagata, 1975; Scott and Farley, 1981).

Ayrıca anaçların kullanımı da mücadele açısından önemli bir yere sahiptir. ‘Beaufort F1’ ve ‘He-Man F1’ anaçları ile yapılan çalışmada, dayanıklı anaç kullanımının verim ve kaliteyi arttırdığı, hastalıklarla mücadelede etkin rol oynadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca Hibar vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada Tunus’ta domates yetiştirilen alanlarda %90 bitki ölümüne neden olan FORL hastalığı ile mücadele yöntemlerinin sınırlı olması nedeniyle acil önlemlere ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (Hibar et al., 2006).

Domateste *Fusarium* solgunluğu hastalığı ile mücadele etmek amacıyla *Trichoderma* spp., *Gliocladium virens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia cepacia*, *Fusarium* spp. izolatlarının non-patojen ırklarının da yer aldığı birçok fungal ve bakteriyel antagonistlerin etkinlikleri birçok çalışmada araştırılmıştır. Antagonistlerin birçoğunun *Fusarium* solgunluğunu azaltma potansiyeline sahip olduğu ancak non-patojen *Fusarium* izolatları kadar etkili ve sürdürülebilir bir etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir. Nonpatojen *F. oxysporum* ve *F. solani* izolatlarının ise oldukça etkili antagonistler olduğu ve hastalığın gelişimini önemli derecede azalttığı (% 50-80) belirlenmiştir (Larkin and Fravel, 1998). Farklı agroklimatik bölgelerden elde edilen nonpatojen *Fusarium* spp.’nin başarılı sonuçlarının yer aldığı birçok çalışma bulunmaktadır (Schneider, 1984; Paulitz et al., 1987; Larkin et al., 1993, Raghunandan et al., 2014). *F. oxysporum* ve *F. solani* türlerinin toprakta bulunan diğer *Fusarium* türlerine göre daha fazla engelleme etkisinin olduğu ve ayrıca bu nonpatojen *F. oxysporum*’un etkili biyokontrol izolatlarının sağlıklı bitkilerden izole edildiği ifade edilmiştir (Ogawa and Komada, 1984; Postma and Rattink, 1992). Non-patojen *Fusarium* türlerinin etki mekanizmaları arasında besin ve yer açısından rekabet ve uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR) bulunmaktadır (Patil et al., 2011; Dilmaç vd., 2020).

2.8. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ve *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*’nin Moleküler Ayırımı ve Irkların Belirlenmesi

Fusarium cinsi oldukça heterojen ve fazla türe sahip bir fungus cinsidir. Morfolojik ve biyokimyasal kriterlere göre türlerin teşhisi zor ve karmaşıktır. 28S rDNA ve ITS bölgesinin RFLP analizleriyle tür seviyesinde birkaç *F. oxysporum* izolatı ayırt edilmiştir (Edel et al., 1995). Son yıllarda *F. avenaceum*, *F. culmorum* ve *F. graminearum* türlerini ayırt edebilmek için ITS bölgesinin dizi varyasyonlarından yararlanılmıştır. *F. culmorum* ve *F. graminearum*’da ITS bölgesi türe özgü primerler

elde etmeye olanak sağlayacak derecede polimorfik iken *F. culmorum* ve *F. graminearum*'u *F. avenaceum*'dan ayırt etmek için ITS1 ve ITS2 bölgelerindeki dizi varyasyonunun yeterli olmadığı belirlenmiştir (Schilling et al., 1996; Kılıçoğlu, 2009).

Fusarium türlerin tanımlanmasında ayrıca serolojik bir yöntem olan ELISA testi ve DNA molekülleri arasındaki dizilim farklarının ortaya konduğu RFLP yöntemi de kullanılmaktadır (Summerel et al, 2001; Kabaş, 2008). Nohutta sararma ve solgunluğa neden olan *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in 8 ırkı için spesifik primerler geliştirilmiş ve bu primerler kullanılarak çeşitli bölgelerden toplanan ırkların ayrımı yapılmıştır (Gasco and Diaez, 2003; Kabaş, 2008).

Dünyada ilk olarak 1895 yılında *Fusarium* solgunluğu hastalığına yol açan FOL İngiltere'de tespit edilmiştir (Sherf and McNab, 1986). Domateste enfeksiyon oluşturan FOL domatese özgü bir spesiyal formdur (Jones et al., 1991). Bu spesiyal formun domatesi enfekte eden üç ayrı fizyolojik ırkı (1, 2, 3) bulunmaktadır. Piyasada bulunan bazı domates çeşitlerinin FOL etmeninin 1, 2 ve 3 ırklarına karşı dayanıklı olduğu belirlenmiştir (Takahashi et al., 2005; Momol et al., 2005; Çolak, 2011.). Ülkemizde ilk defa Can et al., (2003) tarafından yapılan çalışmada Adana bölgesinde FOL VCG 0030 tespit edilmiştir. Çolak (2011) tarafından Doğu Akdeniz bölgesinde yapılan doktora çalışmasında ise FOL etmenine ait 3 ırk da tespit edilmiştir.

2.9. Nit Mutant Eldesi ile İlgili Çalışmalar

Nit mutantlar, vejetatif uyumluluğun tespit edilmesi ve bir fungusun alt türlerinin aynı veya farklı Vejetatif Uyumluluk Grupları (VCG) gruplandırılmasının belirlenmesi açısından mükemmel genetik belirteçler olarak kabul edilmektedir. VCG kullanarak alt türlerin sadece aynı olup olmadığını belirleme olanağı bulunmaktadır. Ancak yapılan analizlerde bu alt türlerin akrabalık derecesini belirleme yeteneği, sınırlayıcı bir faktör olarak kalmaktadır. VCG'ler, bir popülasyonda belirli bir alt türün varlığının saptanması için kullanıldıklarında başarılı olmaktadır (Krnjaja et al., 2013).

VCG tanımlama stratejisi, *nit*-mutantların (nitrat kullanılmayan mutantlar), spontan klorat-dirençli sektörler olarak izolasyonu ve ardından bunların çeşitli nitrojen kaynakları içeren ortamlarda büyümelerine dayalı olarak tanımlanmasıdır.

Mutantlar, uygun bir besi ortamında, genellikle tek nitrojen kaynağı olarak nitrat (NO_3) içeren bir minimal ortamda (MM) eşleştirilebilirler ve daha sonra vejetatif olarak uyumlu izolatlar kolayca tanımlanabilir. Başta *F. oxysporum* alt türleri olmak üzere çeşitli askomisetlerin vejetatif uyumluluğu üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Leslie and Summerell, 2006; Krnjaja, 2013).

FOL ve FORL izolatlarının farklılıklarını belirlemek amacıyla 3 farklı teknik kullanılmıştır. İzozim DNA, mitokondrial DNA RFLP ve osmotik methodlar gibi yöntemler kullanılarak fungal pigmentler belirlenmiştir. Sonuç olarak mitokondrial DNA RFLP tekniğinin, FOL ve FORL izolatları arasındaki farklılığı belirlemede etkili yöntem olduğu bulunmuştur (Attitalla et al., 2004). Farklı ülkelerden (İngiltere, Hollanda, Fransa ve Belçika) 37 FORL izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlarla yapılan çalışmada 4 farklı VCG (vejetatif uyum grubu) belirlenmiştir. Bu VCG'ler 0090, 0091, 0094 ve 0097'dir. VCG 0094, İngiltere, Hollanda ve Belçika'da dominant iken Fransa dominant değildir. (Katan and Katan, 1999). İtalya'da 5 farklı bölgeden toplanan FORL izolatları ile yapılan çalışmada 5 farklı VCG bulunmuştur. 65 izolatin VCG 0090, 99 izolatin VCG 0091, 23 izolatin VCG 0092, 2 izolatin VCG 0093 ve 2 izolatin da VCG 0096 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca İtalya'da bulunan FORL'in populasyon yapısının İsrail'deki populasyon yapısı ile benzer olduğu bildirilmiştir (Primo et al, 2001; Kabaş, 2008).

Ülkemizde Adana ve Mersin illerinde yapılan bir çalışmada ise domates örneklerinde FORL etmeni tespit edilmiştir. Elde edilen FORL izolatlarının VCG 0090 II ve VCG 0091 I olduğu belirlenmiştir. VCG 0090 II ve VCG 0091 I'e ait 11 izolat yerel domates çeşidine (Urfa) kök daldırma metoduna göre inoküle edilmiş ve $24\pm 2^\circ\text{C}$ (12 saat foto periyot)'de büyümeye bırakılarak enfeksiyonlu bitkilerden re izolasyon yapılmıştır (Can ve ark., 2003).

Fusarium oxysporum ile ilgili populasyon çalışmalarında izolatların fizyolojik ırklarının yanı sıra VCG'leri de belirlenmektedir. Puhalla (1985), *F. oxysporum*' u alt gruplara ayırmada VCG'lerini alternatif bir kriter olarak izolatların karakterizasyonunda kullanmıştır. Correll (1991), Fernandez vd., (1994) VCG'leri belirlenerek yapılan karakterizasyonların *Fusarium* izolatlarının sınıflandırılmasında kullanılan yöntemlerden biri olduğunu belirtmişlerdir. *Fusarium oxysporum*'un genetik çeşitliliğini ortaya koymada yararlı bir yöntem haline gelen VCG testleri (Zhou and Everts, 2007) populasyonun patojen olmayan kısmının

karakterizasyonuna da imkan sağlamaktadır (Correll, 1991). VCG ile ilgili yapılan çalışmalar bu etmenin patolojisi, populasyon biyolojisi ve ırk ilişkilerini anlama açısından önemli katkılar sağlamıştır (Correll, 1991; Leslie, 1993; Kistler, 1997; Erincik, 2015).

Fusarium oxysporum'un izolatları arasında vejetatif uyumluluğu belirlemek için nitrat kullanmayan (*nit*) mutantlardan faydalanılmaktadır (Puhalla, 1985; Puhalla and Spieth, 1985). Bu mutantlar farklı azot kaynaklarını kullanabilme durumlarına göre *nit1*, *nit3* ve NitM olarak 3 farklı fenotipe ayrılmaktadır (Correll et al., 1987). Eğer iki izolatın *nit* mutantları minimal ortamda eşleştirildiğinde anastomosis oluşması sonucu yabancı tipte gelişme gösteren heterekaryon oluşumu varsa, bu durum izolatların aynı VCG'a ait olduklarını göstermektedir (Gordon and Martyn, 1997; Katan, 1999; Erincik, 2015).

Puhalla (1985), 1980'lerin ortalarında ilk olarak *F. oxysporum*'a ait 21 izolatı vejetatif uyum açısından veya heterokaryon oluşturma yetenekleri yönünden sınıflandırmıştır. Çalışmada, heterokaryon oluşumu nitrata indirgeyemeyen iki mutantın (*nit* mutant) eşleştirilerek birbirine temas ettiği bölgelerde yoğun misel gelişimi şeklinde tanımlanmıştır. Bu 21 izolatın her birinden genetik olarak farklı iki mutant elde edilmiş olup bunların minimal ortam üzerinde tüm kombinasyonlarda eşleştirmeleri sonucu toplam 16 VCG tespit edilmiştir. Puhalla, bu çalışmanın sonucunda VCG ve alt türler arasında bazı korelasyonların bulunabileceğini, ayrıca VCG'lerin *F. oxysporum* patotiplerini ayırmada hızlı ve kolay bir yöntem olabileceğini belirtmiştir (Puhalla, 1985; Erincik, 2015).

Kistler vd. (1998)'de *F. oxysporum*'un 30'dan fazla alt tür içindeki genetik çeşitliliği ortaya koymak üzere yaptığı çalışmada 125'in üzerinde VCG saptandığını bildirmişlerdir.

Fungal hastalık etmenlerinin teşhisinde ELISA ve PCR gibi birçok yöntem kolay uygulanabilir ve güvenilir olduğundan dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunların içinde daha çok PCR yöntemi tercih edilmektedir (Edel et al., 1995; Summerel et al., 2001). Gelişen teknoloji ile birlikte çağımızda bir fungus türünün veya ırkının genetik yakınlığını belirlemek için; vejetatif uyum grubu (VCG), restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP), rastgele arttırılmış polimorfik DNA (RAPD) gibi bir çok analiz yardımıyla hızlı ve güvenilir sonuçlar alınabilmektedir (Katan, 1997; Nelson et al., 1997; Çolak, 2011).

Vejetatif uyum grupları, çeşitli bitki patojenlerinin ve bitki patojeni olmayan fungal etmenlerin alt gruplarının genetik çeşitliliğini belirlemek için kullanılan etkili bir yöntemdir. Eğer izolatlar vejetatif olarak birbiri ile uyumlu olursa bunlar aynı VCG içerisine dâhil edilmektedir (Genç, 2012).

Toprak kökenli patojen fungusların coğrafi bölge içi ve bölgeler arası popülasyonlarında genetik çeşitliliği belirlemede yararlı olan ve patojenin ırklarla ilişkisini ortaya koymak için önerilen yöntemlerden birisi, Vejetatif Uyumluluk Grubu (VCG) çalışmalarıdır. Bir *F. oxysporum* popülasyonunda VCG analizi aynı konukçu türlerindeki patojen olmayan ve patojen olanları birbirinden ayırmak (Appel and Gordon, 1994; Gordon and Okamoto, 1992; Katan and Katan, 1988), ırkları ayırmak (Bosland and Williams, 1987; Larkin et al., 1990), ve popülasyondaki genetik homojenitenin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (Elias and Schneider, 1991; Jacobson and Gordon, 1988; Ploetz and Correll, 1988). Bu çalışmalar temel olarak, kloratlı ortamda nitrati kullanamayan (*nit*) mutantların oluşturulması, mutantların eşleştirilmesi ve anastomosis oluşumu şeklinde yürütülmektedir. Puhalla (1985) tarafından tanımlandığı gibi, nitrat kullanmayan (*nit*) mutantları, *F. oxysporum* izolatları arasında vejetatif uyumluluğu dolaylı olarak analiz etmek için kullanılabilir. *nit1*, *nit3* ve NitM olarak adlandırılan fenotipler, farklı azot kaynaklarını kullanabilme yeteneklerine göre tanımlanabilmektedir (Correll et al., 1987). Eğer iki farklı izolata ait *nit* mutantlar, minimal ortamda eşleştirildiğinde yabani tipte bir heterokaryon oluşumu ortaya çıkıyorsa bu izolatlar aynı vejetatif uyum grubu (VCG) içerisinde incelenirler. Bir VCG içinde yer alan izolatlar, genellikle aynı alt türe ait olurlar. Buna karşılık bir alt tür, bir veya birden fazla VCG içerebilir (Bentley et al., 1995; Gordon and Martyn, 1997; Katan, 1996; Puhalla and Hummel, 1983; Tok, 2010).

Uzgan (2019) tarafından yapılan çalışmada belirlenen 20 hastalıklı bölgenin 3'ünde alt mutant grubu saptanmamıştır; geriye kalan 17 bölgede ise 6 adet *nit1* mutanı, 6 adet NitM mutanı ve 5 adet *nit3* mutanı elde edilmiştir. *nit1* alt mutanı saptanan hiçbir bölgede *nit3* veya NitM alt mutanı saptanmadığı gibi bunun tersi de geçerli olmuştur. Toplamda 36 adet *crn* mutanı elde edilmiştir ve tüm izolatlar hesaba katıldığında %60'ını *crn* mutanı oluşturmaktadır.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Fungus İzolatları

Orta Karadeniz Bölgesi'nde yer alan Samsun, Tokat, Amasya, Çorum ve Ordu illeri domates üretim alanlarından (örtü altı ve açık alan) elde edilen FOL ve FORL izolatları bu çalışmanın ana materyalini oluşturmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan fungal izolatların domates bitkilerinden temin edildiği iller

3.1.2. Domates Tohumu

Patojenisite denemelerinde FOL ve FORL'a hassas H2274 domates çeşidi kullanılmıştır. Bu çeşidin tohumları Çoker Tohum firmasından temin edilmiştir.

3.1.3. Referans İzolatlar

Bu çalışmada referans olarak kullanılan *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (FORL-CR ve FORL AC-7) ile *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL-2 J2) izolatları Doç. Dr. Ayşegül ÇOLAK ATEŞ (Biyolojik Mücadele Araştırma Enstitüsü, Adana)'ten temin edilmiştir.

3.1.4. Primerler

Çalışmada, *F. oxysporum*'un alt türlerini ve ırklarını tespit etmek için Tablo 3.1'de verilen primer çiftleri kullanılmıştır (Hirano and Arie, 2006). Bu primerler Sentegen firması (Ankara) tarafından sentezlenmiştir.

Tablo 3.1. *F. oxysporum*, FORL ve FOL ırklarının ayırımı çalışmalarında kullanılan primerler, baz dizileri ve beklenen bant büyüklükleri (Hirano and Arie, 2006)

Primer	Nükleotit dizilimi (5'→3')	Hedeflenen tür ve ırklar	Beklenen bant büyüklüğü (bp)
uni-f	ATCATCTTGTGCCAACTTCAG	<i>F. oxysporum</i>	670-672
uni-r	GTTTGTGATCTTTGAGTTGCCA		
sprl-f	GATGGTGGAAACGGTATGACC	FORL	947
sprl-r	CCATCACACAAGAACACAGGA		
sp13-f	GTCAGTCCATTGGCTCTCTC	FOL izolatları	445
sp13-r	TCCTTGACACCATCACAGAG		
sp23-f	CCTCTTGTCTTTGTCTCACGA	FOL izolatları	518
sp23-r	GCAACAGGTCGTGGGGAAAA		

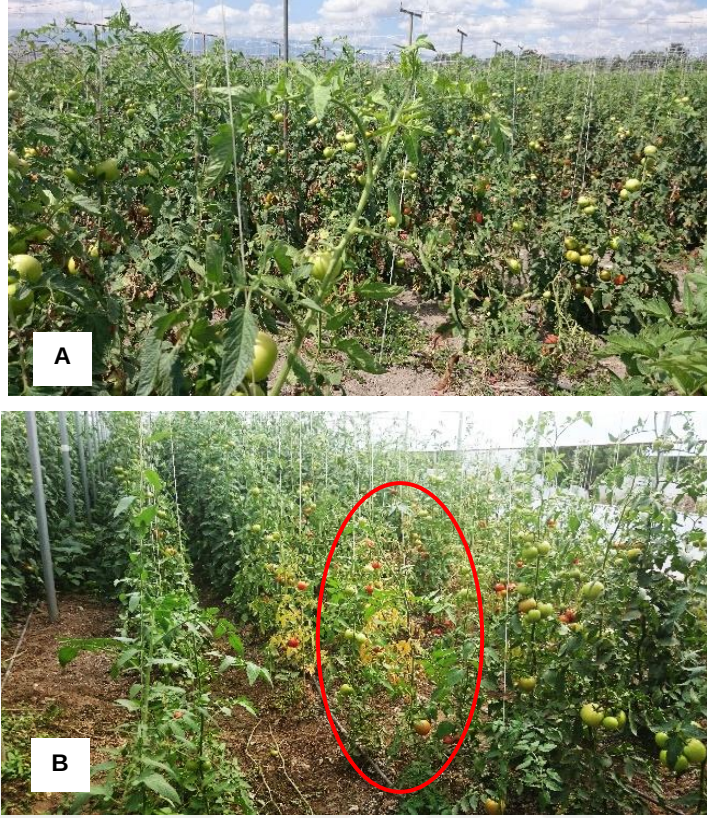
3.2. Yöntem

3.2.1. Sürvey Çalışmaları

Sürvey çalışmaları, 2015-2016 yıllarında Haziran-Eylül ayları arasında Samsun, Tokat, Amasya, Çorum ve Ordu illerinin (Şekil 3.1) farklı ilçelerine ait belde ve köylerde; açıkta ve örtü altında domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.2; Şekil 3.2).

Tablo 3.2. Domateste kök çürüklüğü ve solgunluk hastalıklarının araştırılması amacıyla sürvey yapılan il, ilçe, belde ve köyler

İl	İlçe	Belde/Köy	İl	İlçe	Belde/Köy
Samsun	Çarşamba	Bölmeçayır	Tokat	Pazar	Üzümlören
		Damlataş			Beyobası
		Turgutlu			Merkez
		Ahubaba			Dereçaylı
		Yenikaracalı		Turhal	Şenyurt
	Bafra	Karabahçe			Kalaycık
		Karpuzlu			Necip
		Karınca			Dökmetepe
		Koşuköyü			Kat
		Kalaycılı		Merkez	Emirsehit
	Terme	Ağılar			Büyükyıldız
		Yeşilyazı			Güryıldız
		Altınova			Yeşilyurt
		Şeyhören		Niksar	Şahinli
		Balıklar			Yolkonak
Amasya	Merkez	Sakarlı		Erbaa	Evyaba
		Taşpınar			Yukarıçandır
		Gündoğdu			Çevresu
		Sütözü			Tosunlar
		Söğütlü	Çorum	Merkez	Ovasaray
	Taşova	Dadıköy			Uğrak
		Karaköprü			Altınbaş
		Büyükkızılca		Ordu	Ayazlı
		Yazıbağları			Oluklu
		Belmebük			Düğünlük
		Mülkbükü			Sahilköy
		Umutlu			
	Taşova			Ünye	



Şekil 3.2. Sürvey yapılan açık alan (Tokat-Erbaa) (A) ve örtü altı (Amasya-Taşova) üretim alanlarına (B) ait domates bitkilerinin genel görünüşleri

Sürvey çalışmalarının yapıldığı her ilde incelenen alan (da) ve tarla/örtü altı sayısı, ildeki domates üretim alanına göre belirlenmiştir. Buna göre, sürvey alanına dahil beş ilde (Samsun, Amasya, Tokat, Çorum ve Ordu) 823 da domates üretim alanında, 163 farklı lokasyonda (açık ve örtü altı) incelemeler yürütülerek, hastalık belirtisi gösteren toplam 268 adet bitki örneği laboratuvara getirilmiştir (Tablo 3.3). Örneklemelerde farklı ekolojiiyi temsil edecek alanların seçilmesine özen gösterilmiştir. Bu alanlarda; solgunluk ile kök ve kök boğazı çürüklüğü şeklinde belirtiler sergileyen domates bitkilerinden örnekleme yapılmıştır (Şekil 3.3).

Tablo 3.3. 2015-2016 yıllarında hastalıklı bitki örneği alınan iller, ekim alanları (Anonim, 2016), incelenen alan (da) ve tarla ya da örtü altı (sera) alanı sayıları ile illerden alınan hastalıklı bitki örnek sayıları

İl	Ekim alanı (da) (açık alan+örtü altı)	Toplam incelenen alan (da)	Toplam incelenen açık ve örtü altı alanı sayısı	Alınan hastalıklı bitki örnek sayısı
Samsun	27.885	203	66	84
Tokat	70.768	397	51	97
Amasya	12.698	114	27	36
Çorum	7.051	95	12	23
Ordu	341	14	7	28
Toplam	118.743	823	163	268



Şekil 3.3. Sürvey çalışmalarında örnekleme yapılan hastalıklı domates bitkileri. Samsun/Çarşamba/Damlataş köyü'nden örnekleme yapılan solgunluk belirtisi gösteren domates bitkisi (A) ile kök çürüklüğü belirtisine sahip domates bitkisinin (Samsun/Çarşamba/Damlataş köyü) (B) görünümü

Hastalıklı bitki örneği alımından bağımsız olarak, hastalığın yaygınlığı ve şiddetini belirlemek amacıyla ise; sürvey yapılan alanlar incelenerek bitkiler hastalık yönünden değerlendirilmiştir. Her tarlada/serada köşegenler doğrultusunda yürünerek Tablo 3.4'de belirtilen örnekleme yöntemine göre bitkiler incelenmiştir (Altınok, 2006).

Tablo 3.4. Sürvey çalışmalarında tarla büyüklüğüne göre incelenen bitki sayıları

SERA (Altınok, 2006)		TARLA (Altınok, 2006)	
Alan (da)	İncelenen bitki sayısı	Alan (da)	İncelenen bitki sayısı
≥ 0.5	3 ayrı noktadan, her noktadan 10'ar bitki	1-5	5 ayrı noktadan, her noktadan 10'ar bitki
0.5-1	5 ayrı noktadan, her noktadan 10'ar bitki	5-10	8 ayrı noktadan, her noktadan 10'ar bitki
1-5	8 ayrı noktadan, her noktadan 10'ar bitki	10-20	10 ayrı noktadan, her noktadan 10'ar bitki
5-10	10 ayrı noktadan, her noktadan 10'ar bitki	20-50	15 ayrı noktadan, her noktadan 10'ar bitki
10 <	15 ayrı noktadan, her noktadan 10'ar bitki	50 <	20 ayrı noktadan, her noktadan 10'ar bitki

FOL etmeninin tespit etmek amacıyla; domates bitkilerinin tek tarafında yapraklarda sararma, solma ve gövde de ise iletim demeti halkalarında kararma şeklinde belirtiler göz önüne alınmıştır. FORL etmeni için ise; kök ve kök boğazı bölgesinde çürüme ve/veya 30 cm'e kadar gövdede siyah-kahverengi renk oluşumu ile bitkinin tamamında gözlenen genel solgunluk şeklinde belirtiler dikkate alınmıştır (Sherf and Machab, 1986; Roberts et al., 2001).

Yürütülen sürvey çalışmalarında; solgunluk, sararma gibi semptom gösteren bitkiler için 0-4 skalası (Altınok, 2006); kök-kök boğazı çürüklüğü şeklinde semptom gösterenler için ise farklı bir 0-4 skalası (Chandler and Santelman, 1968) kullanılarak, bu hastalıkların yaygınlıkları ve şiddetleri belirlenmiştir (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. FOL ve FORL'un yaygınlık ve şiddetinin belirlenmesinde kullanılan skalalar

FOL skala (Altınok, 2006)		FORL skala (Chandler and Santelman, 1968)	
Skala değeri	Semptom	Skala değeri	Semptom
0	Gözle görülebilir hastalık semptomu yok	0	Fidede herhangi bir semptom yok
1	Solgunluk başlangıcı, alt yapraklarda ince damarlarda renk açılması	1	Fidenin toprak yüzeyi ile birleştiği yerde renk açılması ve küçük lezyonların oluşumu
2	Bitkinin yarısında solgunluk, gelişme geriliği, kloroz ve nekroz	2	Gövdede daha büyük lezyonların varlığı
3	Genel solgunluk, yapraklarda kuruma, dökülme ve uçlardan geriye doğru ölüm	3	Gövdeyi saran geniş lezyonlar sonucu ortaya çıkan konkav bir görünüm
4	Kuruma ve ölüm	4	Bitki ölümü

Köy, ilçe ve il düzeyinde hastalığın yaygınlık oranı (%) arazi büyüklüğü dikkate alınarak tartılı ortalama yöntemine göre hesaplanmıştır (Aktaş, 2001).

$$\text{Hastalık oranı} = \frac{\sum (\text{Arazi büyüklüğü} \times \% \text{ Hastalık oranı})}{\text{Toplam arazi büyüklüğü}} \quad (3.1)$$

Toplam arazi büyüklüğü

Hastalık şiddeti ise skala değerleri ve bitki sayıları kullanılarak aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (Townsend and Heuberger, 1943).

$$\text{Hastalık şiddeti} = \frac{\sum (\text{Skala değeri} \times \text{Bitki sayısı})}{\text{Toplam bitki sayısı} \times \text{En yüksek skala değeri}} \times 100 \quad (3.2)$$

Toplam bitki sayısı X En yüksek skala değeri

3.2.2. Patojen İzolasyonu

Sürvey alanlarından getirilen solgunluk, sararma ve kök-kök boğazı çürüklüğü tarzında simptom sergileyen domates bitkilerinin; kök ve gövde kısımları incelenerek, hastalıklı ve sağlıklı dokuları içerecek şekilde kesitler alınarak, bu kesitler musluk suyunda iyice yıkanmıştır. Takiben, alınan bu örneklerden izolasyon işleminin yapılması amacıyla; kesilen parçalar 3-4 dk %1'lik sodyum hipoklorit (NaOCI) solüsyonunda, ardından da steril saf suda bekletilerek yüzeysel dezenfeksiyon işlemi tamamlanmıştır (Şekil 3.4). Daha sonra, örnekler kurutma kağıdına alınarak kurutulmuş, ve sonrasında içerisinde patates dekstroza agar (PDA) besiy ortamı bulunan Petri kutularına ekilerek 24°C'de bir hafta süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Katan et al., 1991).



Şekil 3.4. Hastalıklı domates bitki örneklerinin kök ve kökboğazından kesit alım işlemi (A ve B)

Bir haftalık inkübasyon periyodunun ardından; Petri kutularında gelişen *F. oxysporum* (Şekil 3.5) izolatlarının ışık mikroskobu altında morfolojik olarak teşhisleri Leslie ve Summerell (2006)'den yararlanılarak yapılmıştır. Ardından, *F. oxysporum* izolatlarına ait tek sporların elde edilmesi için PDA da geliştirilen fungus kültürlerinden (Şekil 3.5) bir parça alınıp steril destile su bulunan ependorf tüplerine aktarılmış ve vortex'te çalkalanmak suretiyle içerisinden 300µl si alınarak %2 lik su agarına yayılmış ve 45 derece açı ile 16 saat oda sıcaklığında tutulmuştur. Çimlenen makrokonidilerden birer adet stereomikroskop yardımıyla alınarak PDA ortamında yedi gün süreyle geliştirilmiştir Sonrasında ise her bir izolat %15'lik gliserol içeren

ependorf tüplere aktarılmış ve bu şekilde -80°C'derin dondurucuda muhafaza edilmiştir (El Komy et al., 2015).



Şekil 3.5. PDA besi ortamında geliştirilen ve *F. oxysporum* olarak teşhis edilen bir izolat

3.2.3. Patojenisite Çalışmaları

Patojenisite testi için FOL ve FORL için hassas olarak bilinen H2274 domates çeşidi kullanılmıştır. Steril torf üzerine ekilen tohumlar yaklaşık 14 gün sonra, ilk gerçek yapraklar oluştuğunda bitkiler topraktan arındırılarak kökler hafifçe tıraşlanmış ve hazırlanan spor süspansiyonunda (1×10^6 spor/mL) 10 dk süre ile bekletilmiştir. Daha sonra, inokule edilen fideler içerisinde steril dere kumu-toprak-perlit-torf (1:2:1:2) karışımı içeren 15x15 cm boyutundaki saksılara şaşırtılmıştır. Bitkiler 24-28°C arasında 14 saat aydınlık/10 saat karanlık koşullarda yaklaşık üç hafta süre ile yetiştirilmiştir (Altınok, 2006). Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre; beş tekerrürlü ve iki tekrarlamalı olacak şekilde yürütülmüştür. Üç haftalık yetiştirme periyodu tamamlandığında; bitkiler FOL için Altınok (2006)'un belirttiği 0-4 skalası; FORL için ise Chandler ve Santelman (1968)'in bildirdikleri 0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir (Tablo 3.5).

3.2.4. Fungusların Gelişim Parametrelerinin Ölçümü ve İstatistiksel Analizler

Yürütülen patojenisite çalışmaları sonrası, hasat edilen bitkiler; kök uzunluğu, gövde uzunluğu, kök yaş ağırlığı, gövde yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve gövde kuru ağırlığı yönünden değerlendirilmiştir. Bu amaçla; bitkilerde 0-4 skalalarına göre (Tablo 3.5) hastalık şiddetleri belirlendikten sonra, bu bitkilerin kök ve gövde

uzunlukları cetvel yardımı ile ölçülmüş, ağırlıkları ise hassas terazi kullanılarak belirlenmiştir. Kuru ağırlıklarının belirlenmesi amacıyla ise, bitkiler 70°C'de 48 saat boyunca etüvde kurutulmuştur. Hastalık oluşumu ile bu parametreler arasındaki ilişkileri ortaya koymak amacıyla da istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir.

Sürvey çalışmalarından elde edilen *Fusarium* izolatlarının patojenisite test verileri SPSS 17.0 paket programı ile tesadüf parselleri deneme desenine göre istatistiksel olarak analiz edilmiştir. İzolatlara ait skala değerleri ile bitki gelişim parametreleri arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. Varyans analizi sonucunda istatistiksel olarak önemli farklılık gösteren ortalama değerler Duncan çoklu karşılaştırma (post-hoc) testi ile gruplandırılmıştır (Yurtsever, 1984).

3.2.5. Moleküler Çalışmalar

3.2.5.1. DNA İzolasyonu

Fusarium oxysporum izolatları bir hafta süre ile PDA besi ortamında geliştirildikten sonra, bir mantar delici ile 5 mm çapında fungal diskler kesilip, 100 ml patates dekstrozu sıvı (PDB) besi ortamı içeren erlenlerde 120 rpm'de oda sıcaklığında yaklaşık bir hafta inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre dolduğunda; gelişen miseller toplanarak sıvı azot yardımıyla ezilmiştir. Elde edilen misellerden total genomik DNA izolasyonu aşağıdaki işlem basamakları uygulanarak yürütülmüştür (Ellis et al., 2005).

(1) Toz haldeki miseller 1.5 ml'lik Eppendorf tüplere, tüplerin yaklaşık ¼'ü dolacak şekilde yerleştirilmiştir.

(2) Bu tüplere 700 µl DNA ekstraksiyon solüsyonu I (200 mM Tris-HCl, 250 mM NaCl, 25 mM EDTA) aktararak solüsyonun miseller ile homojen bir şekilde karışması sağlanmıştır.

(3) Bu tüpler 2000 rpm'de 2 dk santrifüj edilmiştir.

(4) Daha sonra, tüpün üst kısmındaki supernatant ayrı bir tüp içinde bekletilen DNA ekstraksiyon solüsyonu II (%5 SDS) içeren yeni tüplere aktarılmıştır.

(5) Ardından, bu tüpler 65°C'de bir saat inkübe edildikten sonra 3500 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.

(6) Üstte toplanan süpernatant, etanol içeren yeni bir tüpe aktararak yavaşça karıştırılmış, daha sonra 2000 rpm’de 10 dk santrifüj edilip etanol boşaltılarak, tüpün dibindeki pelet kurumaya bırakılmıştır.

(7) Kuruyan pelet içerisindeki DNA, ultra saf su içinde çözündürülerek +4°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.5.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Çalışmaları

Bu çalışmada; *F. oxysporum*’un alt türlerini ve FOL’un ırklarını tespit etmek için Hirano ve Arie (2006)’nin belirttikleri Tablo 3.1’de verilen primerler kullanılmıştır. PCR reaksiyonu; 1.25 µl dNTP, 5 µl PCR buffer, 2 µl MgCl₂, 0.2 µl Taq DNA polimeraz, 9.55 distile su, her bir primerden 2 µl (son konsantrasyon: 10 µM) ve 5 µl genomik DNA olmak üzere toplam 25 µl toplam hacimden oluşturulmuştur. Reaksiyon karışımını içeren PCR tüpleri, Thermocycler (Bio-Rad T100)’a yerleştirilerek cihaz programlanmıştır. Amplifikasyonlar Thermocycler’da, aşağıdaki basamaklardan oluşturulmuştur:

1. 94°C’de 5 dk, 1 döngü; hedef DNA kalıbının denatürasyonu,
2. 94°C’de 1 dk, 1 döngü; çift iplikli nükleik asitteki zincirlerin birbirlerinden ayrılması (denatürasyon),
3. 61°C’de 1 dk, 1 döngü; primerin hedeflenen nükleik asitte spesifik bölgelere bağlanması (annealing),
4. 72°C’de 2 dk, 1 döngü; spesifik bölgelere bağlanan primerlerin 5' → 3' ve 3' → 5' yönünde uzamasının sağlanması (extension)
5. 94°C’de 1 dk, 61°C’de 1 dk, 72°C’de 2 dk, toplam 45 döngü; DNA Taq polimeraz enzimi, dNTP’leri kullanarak çoğalma (amplifikasyon) işlemini gerçekleştirecek ve 2., 3. ve 4.ncü basamaktaki işlemler 45 kez tekrarlanacak şekilde programlanmıştır.
6. 72°C’de 10 dk, 1 döngü; amplifikasyon sonucunda çoğalan nükleik asit ipliklerinde tanımlanmayan bazı bölgelerin tanımlanması amacıyla uygulanmıştır.

3.2.5.3. Agaroz Jel Elektroferez

PCR işlemi tamamlandıktan sonra; DNA fragmentlerinin analizi için agaroz jel elektroferez işlemi aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

(1) Erlen içerisinde 2 g (%2) agaroz tartılarak konulmuş ve üzerine 100 ml 1X TBE tampon ilave edilmiştir. Hazırlanan agaroz karışımına, karışım jel tankına dökülmeden önce ethidium bromid (0.5 µg/ml) eklenmiştir.

(2) Agaroz jel tankı hazırlanarak tarak takılmış ve agaroz karışımı jel tankına dökülmüştür. Jel tamamen donduktan sonra tarak çıkarılarak elektroforez tankına yerleştirilmiştir.

(3) Elektroforez tankına yerleştirilen jelin üzeri 1-2 mm kaplanıncaya kadar 1X TBE buffer eklenmiştir.

(4) Hazırlanan 25 µl PCR ürününden alınan 10 µl ile 2 µl 6 X yükleme tamponu (Loading Dye) toplam karışım 12 µl olarak şekilde jeldeki kuyucuklara mikropipet ile yerleştirilmiştir.

(5) PCR ürünleri yerleştirildikten sonra jelin en sol ve en sağ çukuruna 6 µl markör (1kb DNA Ladder) konulmuştur.

(6) Jel tankı güç kaynağına bağlanıp 90 V elektrik akımı verilerek yaklaşık 40-60 dk koşturulmuştur.

(7) Elektroforez işlemi bittikten sonra, jeldeki PCR fragmentlerinin analizi jel görüntüleme cihazı (Biorad) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve jelde oluşan bantların görüntüleri fotoğraflanmıştır.

Bu çalışmada, Tablo 3.6 incelendiğinde görüldüğü gibi; öncelikle domates üretim alanlarından elde edilen tüm izolatlar üniversal primer çifti (uni) kullanılarak, türünün *F. oxysporum* olup olmadıkları incelenmiştir. Böylelikle; elektroforez sonrası, 670-672 bp'de DNA fragmenti oluşumu saptanan örneklerde *F. oxysporum* tür bazında moleküler olarak ta teyit edilmiştir. Ardından, *F. oxysporum* olarak belirlenen izolatların tamamı üç farklı primer çiftinin (spr1, sp13 ve sp23) kullanımı ile PCR sonrası analiz edilmiş ve sadece spr1 primer çifti ile 947 bp büyüklükte bant oluşumu tespit edilen izolatlar FORL olarak kayıt edilmiştir. Diğer taraftan; FOL ırklarının birbirinden ayrımları da iki farklı primer çiftinin (sp13 ve sp23) kullanımı ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre; sadece sp13 primerleri ile bant oluşumu (443 bp) gözlenen örnekler FOL ırk-1, sadece sp23 primerleri ile bant oluşturanlar (518 bp) FOL ırk-2, hem sp13, hem de sp23 primer çifti ile beklenen büyüklüklerde bant oluşumu tespit edilen örnekler ise FOL ırk-3 olarak teşhis edilmiştir (Tablo 3.6).

Tablo 3.6. *Fusarium oxysporum*, FORL ve FOL'un ırklarının belirlenmesinde kullanılan primer çiftleri ve bu primerler ile incelenen etmenlerin tanılamasında kullanılan kriterler (Hirano and Arie, 2006)

Funguslar	Primer Setleri			
	uni	sp1	sp13	sp23
FORL	+	+	-	-
FOL ırk-1	+	-	+	-
FOL ırk-2	+	-	-	+
FOL ırk-3	+	-	+	+

3.2.6. Nit Mutantların Elde Edilmesi

Fusarium oxysporum'a ait tek spor izolatları PDA besiyerinde 3-4 gün süre ile geliştirilmiştir. Bu izolatların nitratı kullanamayan (*nit*) mutantlarını elde etmek amacıyla mutajenik olmayan potasyum klorat içeren seçici ortam hazırlanmıştır. Hazırlanan potasyum klorat (%1.5 KClO₃) ve L-asparajin (1.6 g/L) içeren *Fusarium* Minimal Media (FMMC) ve PDAC (PDA + %1.5 KClO₃) ortamları 9 cm çapındaki Petri kutularına dökülmüş ve izolatlara ait dört adet küçük misel parçaları eşit uzaklıklar ile bu Petri kutularına yerleştirilmiştir. Petri kutuları 26±2°C'de 7-10 gün süre ile inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda Petri kutularında havai miselyum olmadan hızlı gelişen transparan ve ince kolonilerin gelişmesi beklenmiştir. İnkübasyon sonunda bazı kolonilerin uç kısımlarında hızlı gelişen, transparan ve ince miseller (sektör)'den alınan agar parçaları NaNO₃ (sodyum nitrat) içeren kloratsız FMM besiyerine aktarılmıştır. Ardından, 26±2°C'de 3-5 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreci sonunda havai misel gelişimi olmadan ince ve şeffaf gelişim gösteren izolatlar *nit* mutant olduğu belirlenmiştir (Puhalla, 1985; Correll et al., 1987). Havai miselyum şeklinde gelişim gösterenler ise, yabani tip (yoğun miselyal gelişim gösteren sektörler) olarak değerlendirilmiş olup bundan sonraki çalışmalarda kullanılmamıştır.

3.2.6.1. Nit Mutantların Fenotiplerinin Belirlenmesi

Çalışma sonucunda belirlenen her bir *nit* mutant, üç ayrı besi yerindeki gelişimlerine göre üç ayrı fenotipe ayrılmıştır. Bu amaçla her bir *nit* mutanttan alınan küçük miseliyal parçalar, nitrat (2 g/L NaNO₃), nitrit (0.5 g/L NaNO₂) ve hipoksantin (0.2 g/L C₅H₄N₄O) içeren FMM ortamlarına aktarılmıştır. 26±2°C'de 7-10 gün süren inkübasyondan sonra, gelişen mutantlar koloni morfolojilerine göre *nit1*, *nit3* veya

Nit M olarak fenotipik açıdan karakterize edilmiştir. Nitrat içeren ortamda mutant gelişim (transparan ve ince) gösterenler *nit 1*; nitrat ve nitrit içeren ortamda mutant gelişim gösterenler *nit 3*; nitrat ve hipoksantin içeren ortamlarda mutant gelişenler ise NitM olarak belirlenmiştir (Correll et al., 1987) (Tablo 3.7).

Tablo 3.7. Nitrojen kaynaklarının kullanımına dayalı mutant sınıflandırılması (Correll et al., 1987)

Mutant	NaNO ₃	NaNO ₂	Hypoxanthine
<i>nit1</i>	MT*	WT**	WT
<i>nit3</i>	MT	MT	WT
Nit M	MT	WT	MT

*MT: mutant tip (gri renk ile belirtilmiştir), **WT: yabani tip

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Orta Karadeniz Bölgesinde Domates Ekim Alanlarında Oluşan Solgunluk ile Kök ve Kök Boğazı Çürüklüğü Hastalıklarının Durumu

Orta Karadeniz Bölgesinde yer alan Samsun, Tokat, Amasya, Çorum ve Ordu illerinde domates üretim alanlarında (örtü altı ve açık alan) 2015-2016 yılları arasında yapılan survey sonucunda iller ve ilçeler seviyesinde solgunluk ile kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalıklarının oranı ve şiddeti belirlenmiştir.

Tablo 4.1. Survey yapılan ilçe ve beldelerde domateste solgunluk hastalığının hastalık oranı ve hastalık şiddeti (%)

İL	İLÇE	Hastalık oranı (%)	Hastalık şiddeti (%)
Samsun	Çarşamba	3.08	1
	Bafra	0	0
	Terme	0	0
	<i>SAMSUN-Ağırlıklı Ortalama</i>	1.6	0.53
Tokat	Merkez	1	0.75
	Turhal	2.8	1.5
	Pazar	0	0
	Erbaa	0	0
	Niksar	0	0
	<i>TOKAT-Ağırlıklı Ortalama</i>	0.1	0.6
Amasya	Merkez	4.4	2.5
	Taşova	8.3	2.25
	<i>AMASYA-Ağırlıklı Ortalama</i>	4.9	2.5
Çorum	Merkez	0	0
	<i>ÇORUM- Ağırlıklı Ortalama</i>	0	0
Ordu	Fatsa	14	4.17
	Ünye	0	0
	<i>ORDU- Ağırlıklı Ortalama</i>	11	3.3

Survey sonucunda solgunluk hastalığının en fazla görüldüğü yer % 11 oranı ile Ordu ili iken, hastalık şiddeti en fazla % 3.3 ile yine Ordu ili olarak belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.2. Sürvey yapılan ilçe ve beldelerde domatesteki kök ve kök boğazı çürüklüğünün hastalık oranı ve hastalık şiddeti (%)

İL	İLÇE	Hastalık oranı (%)	Hastalık şiddeti (%)
Samsun	Çarşamba	31.56	15.8
	Bafra	31	11.5
	Terme	19.6	6.8
	<i>SAMSUN-Ağırlıklı Ortalama</i>	29.6	13
Tokat	Merkez	35.3	16.5
	Turhal	43	35
	Pazar	15.6	3.25
	Erbaa	16.15	9.8
	Niksar	6.65	8
	<i>TOKAT-Ağırlıklı Ortalama</i>	25.2	16.7
Amasya	Merkez	50	17.62
	Taşova	66.7	30.8
	<i>AMASYA-Ağırlıklı Ortalama</i>	52.3	19.4
Çorum	Merkez	5	4.16
	<i>ÇORUM- Ağırlıklı Ortalama</i>	5	4.16
Ordu	Fatsa	33.3	16.6
	Ünye	100	25
	<i>ORDU- Ağırlıklı Ortalama</i>	47.6	18.4

Kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığının yaygınlığı yönüyle Amasya ili % 52.3 ile ilk sırada yer alırken en yüksek hastalık şiddeti de % 19.4 ile yine Amasya ilinde belirlenmiştir (Tablo 4.2).

4.1.2. Elde Edilen İzolatların Tanımlanması

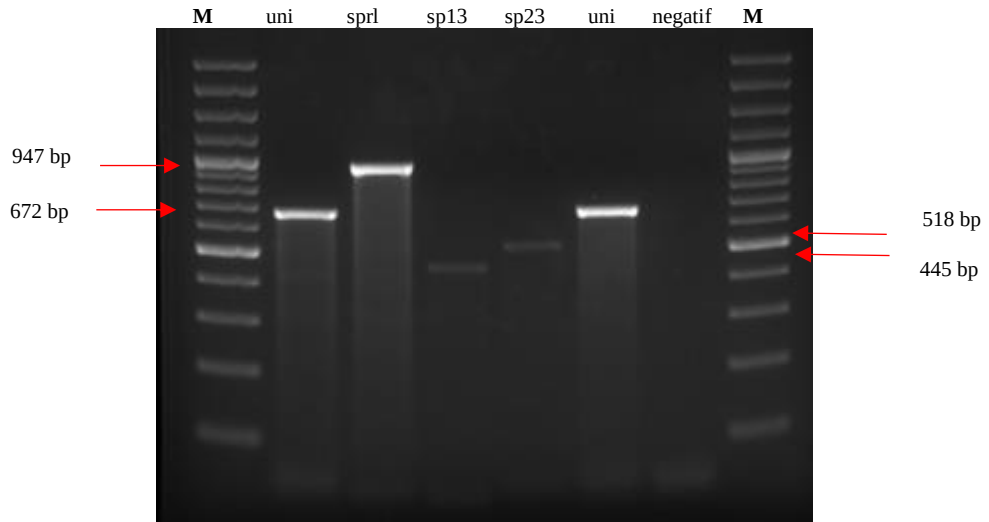
2015-2016 yıllarında kök-kök boğazı çürüklüğü simptomsu gösteren 268 adet domates bitkisinden yapılan izolasyonlar sonucunda toplam 182 *Fusarium* sp. izolatu elde edilmiştir. Bu 182 *Fusarium* sp. izolatu arasından 157 *F. oxysporum* izolatu, ışık mikroskobu altında mikrokonidi, makrokonidi, klamidospore ve fialit yapıları incelenerek ve petrideki görünimleri de kayıt altına alınarak morfolojik teşhisleri yapılmıştır (Leslie and Summerell, 2006; Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *F. oxysporum* olarak teşhis edilen 15-60-TS1 izolatu

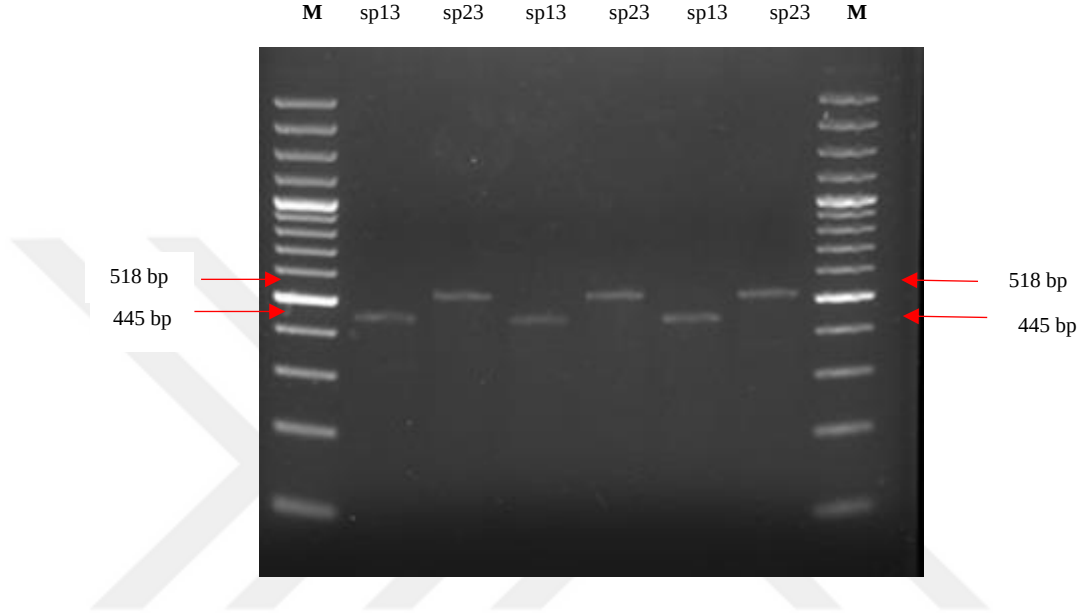
4.1.3. *Fusarium oxysporum* İzolatlarının Moleküler Tanımlanması

Sürvey yapılan alanlarda solgunluk, sararma ve kök-kök boğazı çürüklüğü belirtileri gösteren domates bitkilerinden yapılan izolasyon işlemi sonucunda morfolojik olarak *F. oxysporum* olduğu düşünülen izolatlar çalışmada yer verilmiştir. Bu izolatların FORL veya FOL olduklarını ayrıca FOL'un hangi ırkına ait olduğunu tespit etmek için, Hirano ve Arie (2006) tarafından geliştirilen primerler kullanılmıştır. Bu amaçla uni (FOL ve FORL), sp13 (FOL 1 ve FOL 3 ırklarını), sp23 (FOL 2 ve FOL 3 ırklarını) ve spr1 (FORL) olmak üzere 4 farklı primer seti kullanılmıştır. Kullanılan primerler Sentegen/Türkiye firmasından temin edilmiştir. Böylece morfolojik olarak belirlenemeyen alt tür ve ırklar, moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilebilmiştir.



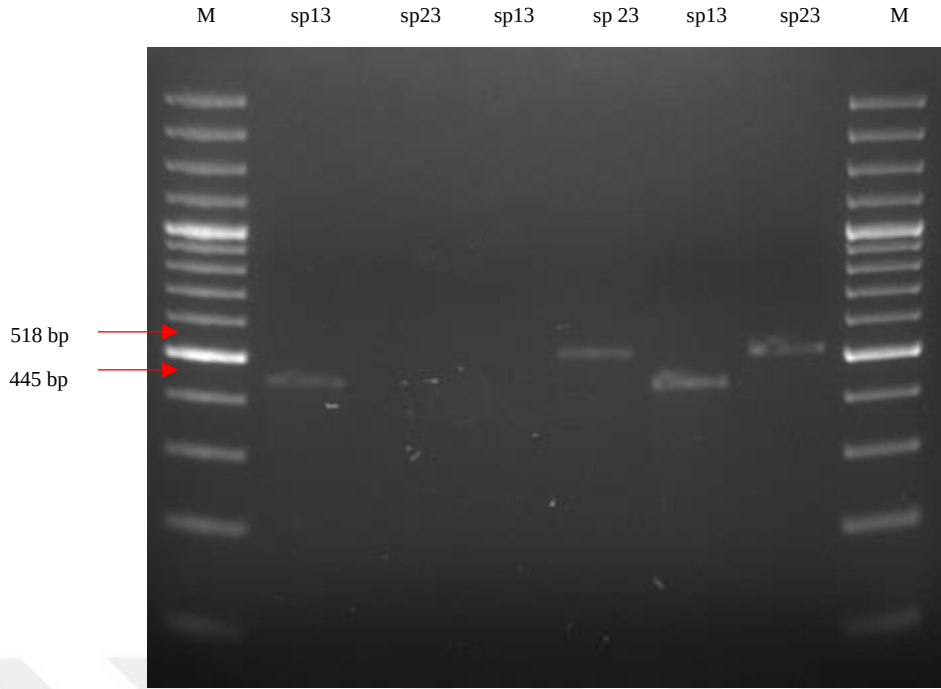
Şekil 4.2. uni primeri (16-55-CT1 izolatu/Çarşamba, Turgutlu), spr1 primeri (16-55-CT1 izolatu/Çarşamba, Turgutlu), sp13 primeri (15-55-CD2 izolatu/Çarşamba, Damlatas), sp23 primeri (15-55-CD2 izolatu, Çarşamba, Damlatas), uni primeri (15-55-BA1 izolatu/Bafra, Ağıllar) (M: 100bp DNA ladder, Bio Basic Inc.)

Şekil 4.2’de görüldüğü gibi 16-55-CT1 izolatının, kullanılan primerlerden uni (672 bp) ve sprl (947 bp)’te bant oluşturduğu gözlenmiş ve FORL olduğuna karar verilmiştir. FOL’un 15-55-CD2 izolatı sp13 (445 bp) ve sp23 (518 bp)’te bant oluşturduğundan FOL’un 3 nolu ırkı olduğu anlaşılmıştır. 15-55-BA1 izolatı ise uni (672 bp)’te bant oluşturduğundan dolayı *F. oxysporum* olarak belirlenmiştir.



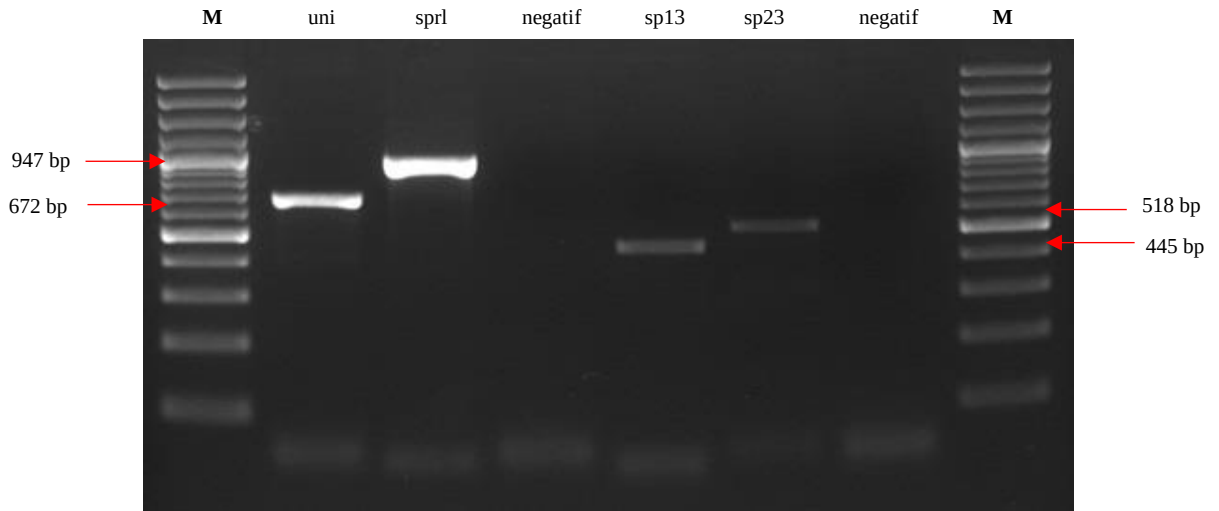
Şekil 4.3. Soldan sağa 16-05-MB2 (Merkez, Büyükkızılca) izolatı, 15-60-NY3 (Niksar, Yolkonak) izolatı ve 16-55-BKar1 (Bafra, Karıncak) izolatının sp13’te 445 bp’de ve sp23 te 518 bp’de oluşturdukları bantlar (M: 100bp DNA ladder, Bio Basic Inc.)

Şekil 4.3’de görüldüğü gibi 16-05-MB2, 15-60-NY3, 16-55-BKar1 izolatları sp13 (445 bp) ve sp23 (518 bp)’te bant oluşturduğu için FOL-3 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.4. FOL-1 (15-60-ET3/Erbaa-Tosunlar izolatu), FOL-2 (16-60-TN2/Turhal-Necip izolatu), FOL-3 (15-05-TM1/Taşova-Mülkbükü izolatu) ırklarının spesifik primerler ile belirlenmesi

Şekil 4.4'te görüldüğü gibi 15-60-ET3 izolatu, sp13 (445bp) ile bant oluştururken, sp23 (518 bp)'te bant oluşturmamış ve FOL-1 olarak, 16-60-TN2 izolatu ise sp13 (445bp) de bant oluşturmazken, sp23 (518 bp)'te bant oluşturmuş ve FOL-2 olarak, 15-05-TM1 izolatu ise her iki primer ile bant oluşturduğundan FOL-3 olarak tanımlanmıştır.



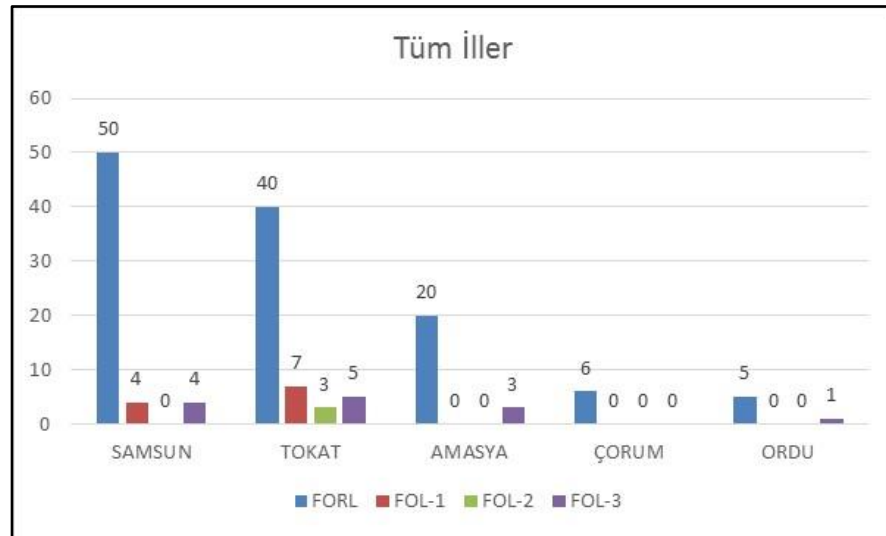
Şekil 4.5. 15-55-BA1 (Bafra, Ağıllar) izolatu (uni ve sprl primeri), 15-05-TM1 (Taşova, Mülkbükü) izolatu (sp13 ve sp23 primeri)'nin teşhisi (M: 100bp DNA ladder, Bio Basic Inc.)

Şekil 4.5'de 15-55-BA1 izolatu uni ve sprl primerleri ile bant oluşturduğundan FORL olarak tanımlanmıştır. 15-05-TM1 izolatu ise sp13 ve sp23 primerleri ile bant oluşturduğundan FOL-3 ırkı olarak belirlenmiştir.

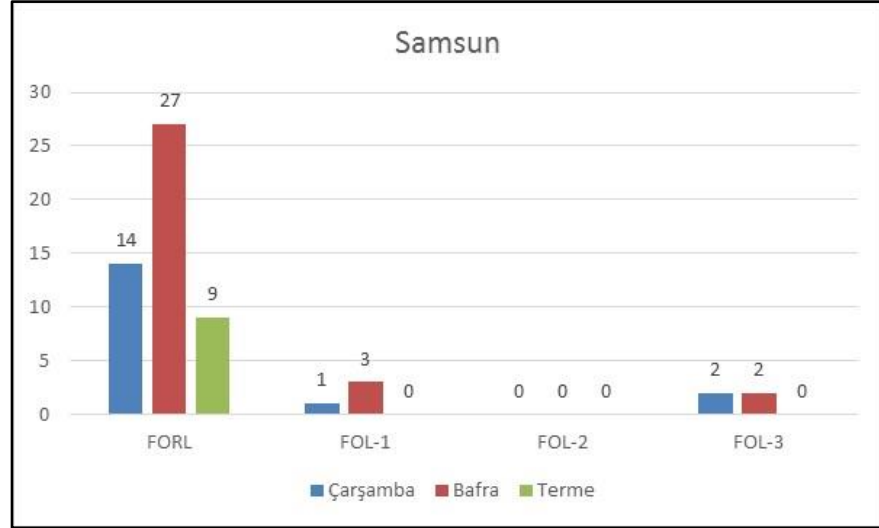
Tablo 4.3. Moleküler olarak tanımlanan izolatların il ve ilçelere göre dağılımı

İL	İLÇE	FORL	FOL-1	FOL-2	FOL-3
SAMSUN	Çarşamba	14	1	-	2
	Bafra	27	3	-	2
	Terme	9	-	-	-
	Toplam	50	4	-	4
TOKAT	Merkez	15	1	2	1
	Turhal	14	-	1	2
	Pazar	4	2	-	-
	Erbaa	5	3	-	-
	Niksar	2	1	-	2
	Toplam	40	7	3	5
AMASYA	Merkez	12	-	-	2
	Taşova	8	-	-	1
	Toplam	20	-	-	3
ÇORUM	Merkez	6	-	-	-
	Toplam	6	-	-	-
ORDU	Fatsa	2	-	-	1
	Ünye	3	-	-	-
	Toplam	5	-	-	1
Genel Toplam		121	11	3	13

Sürvey yapılan alanlardan alınan hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyonlarda FORL izolatı en fazla Samsun ilinden elde edilirken bunu Tokat, Amasya, Çorum ve Ordu illeri izlenmektedir. Üç farklı ırkı bulunan FOL izolatlarında ise FOL-1, Tokat ve Samsun illerinden alınan domates bitki örneklerinden izole edilirken, FOL-2 sadece Tokat ilinden, FOL-3 ise Tokat, Samsun, Amasya ve Ordu illerinden alınan domates bitki örneklerinden izole edilmiştir (Tablo 4.3; Şekil 4.6).

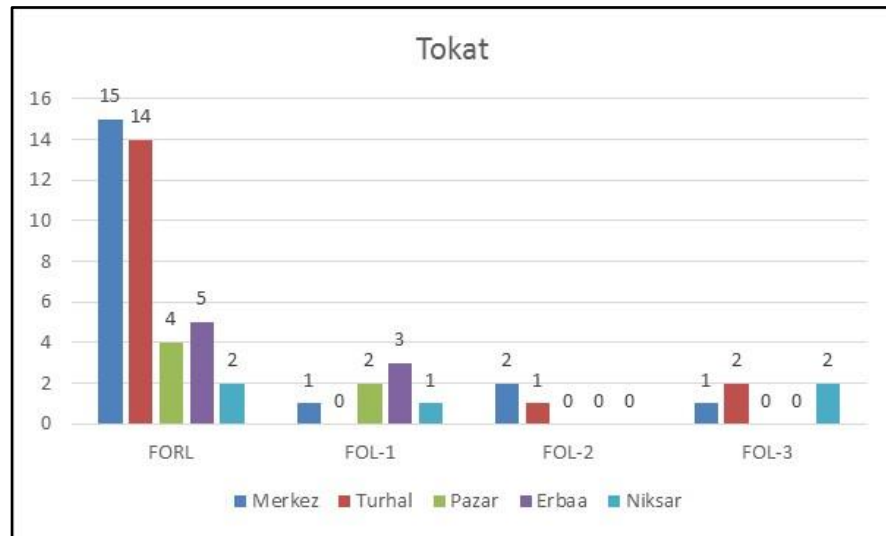


Şekil 4.6. Elde edilen izolatların illere göre dağılımı



Şekil 4.7. Samsun ilinden elde edilen izolatların ilçelere göre dağılımı

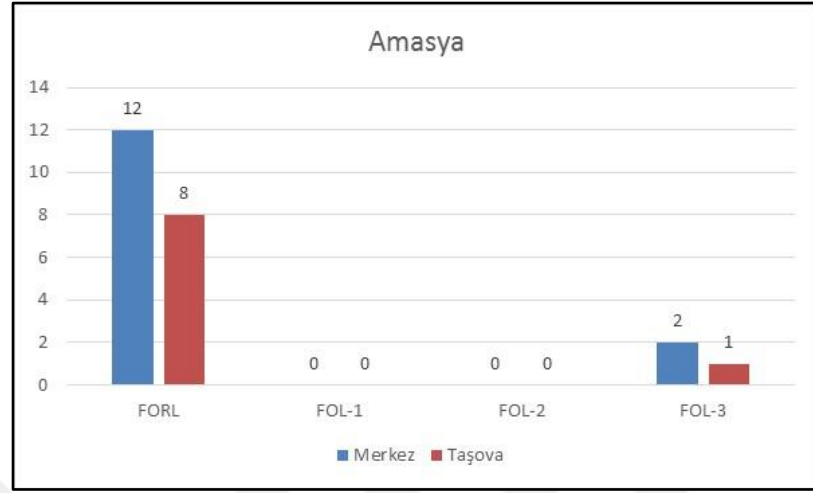
Samsun ilinden yapılan izolasyonlarda en fazla izole edilen fungus FORL olmuştur. FOL-1 ve FOL-3 ise aynı oranda elde edilmiştir. FORL en fazla Bafra ilçesinden elde edilirken bunu Çarşamba ve Terme izlemiştir. FOL-1 ise yine en fazla Bafra ilçesinde görülürken Çarşamba'dan 1 izolat elde edilmiş, Terme'den ise hiçbir FOL-1 izolatı elde edilememiştir. FOL-3 ise Çarşamba ve Bafra'da aynı oranda bulunmuş olup, Terme'de tespit edilememiştir. FOL-2 ise Samsun'da bulunamamıştır (Tablo 4.3; Şekil 4.7).



Şekil 4.8. Tokat ilinden elde edilen izolatların ilçelere göre dağılımı

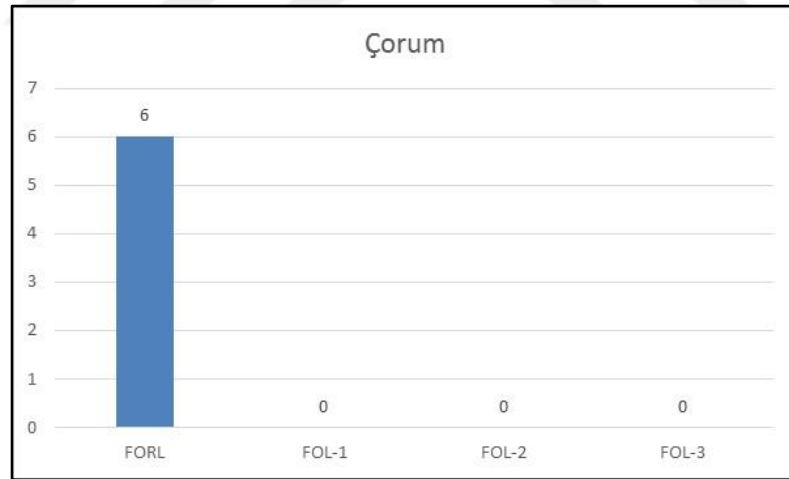
Tokat ilinde FORL ve tüm FOL ırkları tespit edilmiştir. En fazla izole edilen fungus FORL olup, bunu sırasıyla FOL-1, FOL-3 ve FOL-2 izlemektedir. FORL en

fazla Merkez ilçesinden, FOL-1 Erbaa'dan, FOL-3 Turhal ve Niksar'dan, FOL-2 ise Merkez'den elde edilmiştir (Tablo 4.3; Şekil 4.8).



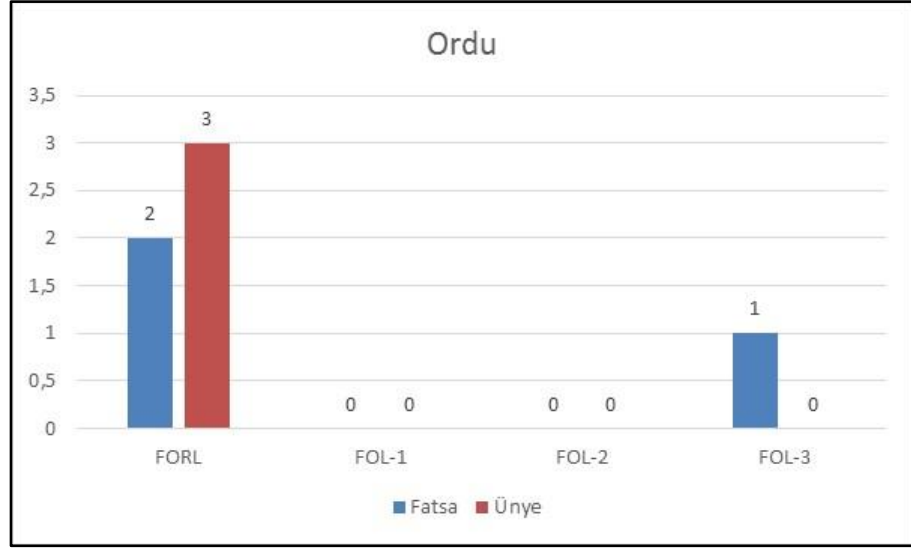
Şekil 4.9. Amasya ilinden elde edilen izolatların ilçelere göre dağılımı

Amasya ilinde FORL ve FOL-3 izolatları tespit edilmiş olup, FOL-1 ve FOL-3 izolatları izole edilememiştir. FORL ve FOL-3 izolatları en fazla Merkez ilçesinde bulunmuştur (Tablo 4.3; Şekil 4.9).



Şekil 4.10. Çorum ilinden elde edilen izolatların dağılımı

Çorum ilinde sadece Merkez ilçesinde yapılan surveylerde FORL tespit edilmiş olup, FOL fungusu izole edilememiştir (Tablo 4.3; Şekil 4.10).



Şekil 4.11. Ordu ilinden elde edilen izolatların ilçelere göre dağılımı

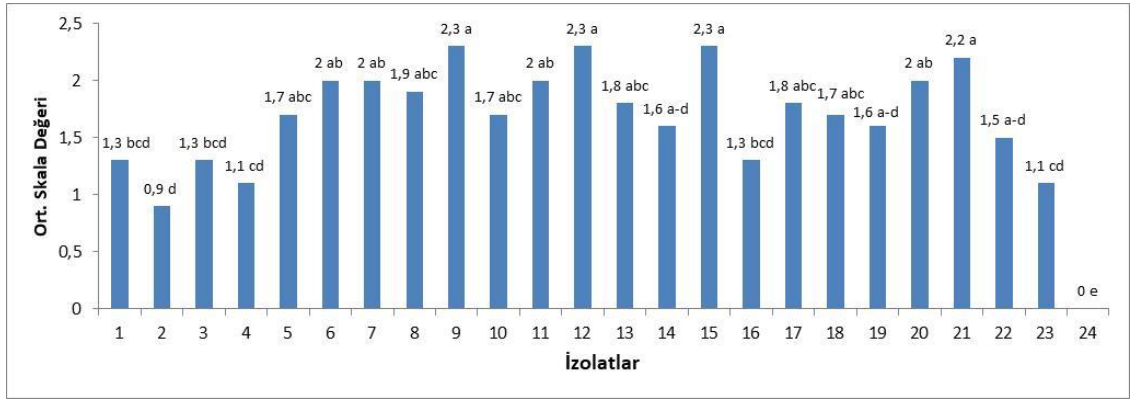
Ordu ilinde yapılan izolasyonlarda en fazla FORL ardından ise FOL-3 fungusu elde edilmiştir. FOL-1 ve FOL-2 tespit edilememiştir. FORL en fazla Ünye ilçesinden izole edilirken, FOL-3 ise sadece Fatsa ilçesinden elde edilmiştir (Tablo 4.3; Şekil 4.11).

4.1.4. Patojenisite Çalışmaları

İzolatların domates bitkisinde patojen olup olmadığını belirlemek amacıyla Gale et al., (2003) tarafından önerilen patojenisite testi modifiye edilerek kullanılmıştır. Bitkiler FOL için 0-4 skalası (Altınok, 2006) ve FORL için farklı bir 0-4 skalasına (Chandler and Santelman, 1968) göre değerlendirilmiştir.

4.1.4.1. Patojenisite Sonuçlarının İstatistiksel Analizleri

Samsun FORL izolatlarının hastalık şiddetine ait ortalama skala değerleri istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli farklılıklar göstermektedir (Şekil 4.12). En yüksek hastalık şiddeti gösteren izolatlar 9 (16-55-BKos1/Bafra-Koşuköyü), 12 (15-55-BA1/Bafra-Ağıllar), 15 (15-55-BB1/Bafra-Balıklar) ve 21 (16-55-TG2/Terme-Gündoğdu) olarak tespit edilmiş olup, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 17, 18, 19, 20 ve 22 de aynı grup içinde yer almaktadır ($P < 0.01$). 1, 3, 4, 16 ve 23 nolu izolatlar ise farklı bir grup oluştururken 2 nolu izolat tek başına bir grup oluşturmuştur. Hiçbir izolat kontrolle aynı gruba dahil olmamıştır (Tablo 4.4).



Şekil 4.12. Samsun'dan alınan örneklerden izole edilen FORL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P < 0.01$)

Diğer taraftan izolatların uygulandığı bitkiler ile kontrol bitkilerinin kök ve gövde uzunluğu ile kuru ve yaş ağırlıkları ölçülmüş, izolatlar arasında bu parametreler yönüyle önemli farklılıklar olduğu ortaya çıkmıştır (Tablo 4.4). En fazla kök uzunluğu 1 nolu izolatin uygulandığı bitkilerde ölçülmüşken bunu sırasıyla, 4, 2, 19 ve 23 nolu izolatların uygulandığı bitkilerde takip etmiştir. FORL'un kök uzunluğunu en fazla etkilediği izolatlar ise sırasıyla 15, 12, 9, 7 ve 6 nolu izolatların uygulandığı bitkiler olmuştur. Gövde uzunluğu incelendiğinde 23, 4, 2, 7 ve 6 nolu izolatların uygulandığı domates bitkileri sırasıyla en uzun gövde uzunluğu olan bitkiler olarak aynı gruba girmiştir. FORL'un gövde uzunluğunu en fazla etkileyen izolatları ise sırasıyla 9, 3, 13, 1 ve 15 olmuştur. Bitkilerin kök ve gövde yaş ağırlıkları da tartılmış ve sonuçta en fazla kök yaş ağırlıklarının sırasıyla 23, 11, 17, 22 ve 14 nolu izolatların uygulandığı bitkilerde olduğu ve bu izolatların aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir. Kök yaş ağırlığı en düşük olan domates bitkisi 3 nolu izolatla muamele edilen bitkiler olurken bunu 10 nolu izolat izlemiştir. Diğer 9, 13 ve 15 nolu üç izolatta aynı gruba girmiş ağırlıklarının da tamamen aynı olduğu belirlenmiştir. Gövde yaş ağırlıkları incelediğinde 1 nolu izolatin uygulandığı bitkilerin diğerlerinden ayrı bir gruba girdiği görülmüştür. Diğer izolatlardan 10 tanesi aynı gruba girerken 3 nolu izolatin en düşük ağırlığa yol açtığı bunu 13 nolu izolatin izlediği saptanmıştır. Kök kuru ağırlığı da ele alınmış ve en ağır olan bitkilerin 20, 3, 23, 1 ve 4 nolu izolatların uygulandığı bitkiler olduğu ve istatistiksel olarak aynı gruba girdiği belirlenmiştir. Diğer taraftan en az ağırlığı olan bitkiler 2, 8, 9 ve 12 nolu izolatların uygulandığı bitkilerdir. Dördü de aynı ağırlıkta bulunmuş, bu izolatları takip eden 5, 10, 15, 16 ve 19 nolu izolatların uygulandığı bitkilerin kök kuru ağırlıklarının da aynı olduğu ve bu dokuz izolatin hepsinin aynı gruba girdiği

görülmüştür. Son olarak ta bitkilerin gövde kuru ağırlıkları ölçülmüş, sırasıyla 22, 23, 20, 17 ve 4 nolu izolatların uygulandığı bitkilerin gövde kuru ağırlığının en fazla olduğu ve aynı gruba girdiği, bunun aksine 6, 7, 13, 12 ve 9 nolu izolatların ise sırasıyla en düşük ağırlık oluşturdukları ve aynı grupta yer aldıkları ortaya konulmuştur. Kontrol bitkilerinin gerek kök ve gövde uzunluğu gerekse kök ve gövde kuru ağırlığı ile yaş ağırlıkları yönüyle hastalık etmeni FORL'un bulaştırıldığı bitkilerden istatistiksel olarak tamamen farklı bir grupta yer aldığı belirlenmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Samsun FORL izolatlarının patojenisite sonuçları, kök ve gövde uzunlukları ile kök ve gövde kuru ve yaş ağırlıkları

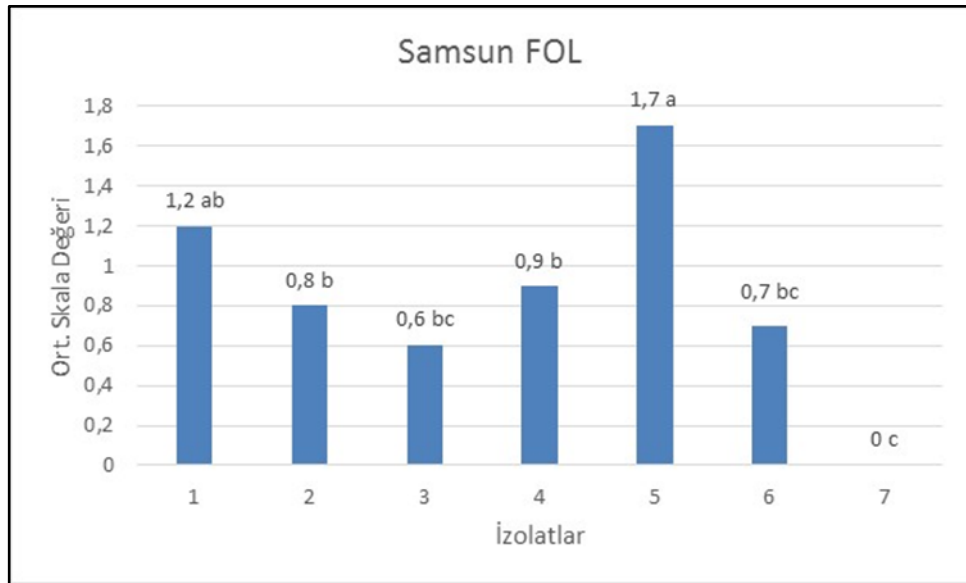
İzolat no	İzolat kodu	Skala değeri	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)	Kök yaş ağırlığı(g)	Gövde yaş ağırlığı(g)	Kök kuru ağırlığı(g)	Gövde kuru ağırlığı(g)
1	15-55-CB1	1,30 bcd*	12,29 b	14,00 e-h	0,30 ef	4,70 b	0,05 bcd	0,31 bcd
2	16-55-CD4	0,90 d	12,15 b	19,10 bcd	0,12 h	2,80 cde	0,01 k	0,29 cde
3	15-55-CT1	1,30 bcd	10,83 b-d	11,85 gh	0,08 h	0,82 j	0,06 bc	0,17 fgh
4	16-55-CT1	1,1 cd	12,19 b	20,00 bc	0,35 de	2,80 cde	0,05 cde	0,30 cde
5	15-55-CA1	1,73 abc	9,42 b-f	18,00 b-e	0,23 fg	3,10 cd	0,02 jk	0,37 bc
6	15-55-BKar1	2,00 ab	8,75 c-f	19,04 bcd	0,25 fg	2,85 cde	0,04 d-h	0,12 h
7	16-55-BKar3	2,00 ab	8,18 def	19,05 bcd	0,25 fg	2,85 cde	0,04 c-f	0,12 h
8	15-55-BKos1	1,90 abc	9,64 b-f	15,11 d-g	0,12 h	1,70 ghi	0,01 k	0,19 fgh
9	16-55-BKos1	2,30 a	7,66 ef	10,44 h	0,11 h	1,50 hi	0,01 k	0,17 fgh
10	15-55-BKal1	1,70 abc	8,14 def	17,12 b-f	0,10 h	1,80 ghi	0,02 jk	0,20 e-h
11	16-55-BKal1	2,00 ab	11,05 b-c	19,00 bcd	0,44 bc	3,20 cd	0,03 e-i	0,32 bcd
12	15-55-BA1	2,30 a	7,13 f	15,05 d-g	0,13 h	1,90 f-i	0,03 g-j	0,16 fgh
13	16-55-BA1	1,80 abc	8,87 c-f	13,17 fgh	0,11 h	1,30 ij	0,01 k	0,15 gh
14	16-55-BY1	1,60 a-d	10,16 b-e	15,00 d-g	0,38 b-e	2,84 cde	0,04 c-g	0,24 d-g
15	15-55-BB1	2,30 a	7,10 f	14,05 e-h	0,11 h	2,10 fgh	0,02 h-k	0,26 d-f
16	16-55-BB2	1,30 bcd	11,07 b-c	18,83 bcd	0,22 fg	2,00 f-i	0,02 h-k	0,21 e-h
17	15-55-TT1	1,80 abc	10,13 b-e	17,37 b-f	0,42 bcd	2,90 cde	0,04 c-g	0,37 bc

Tablo 4.4. (Devam)

İzolot no	İzolot kodu	Skala değeri	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)	Kök yaş ağırlığı(g)	Gövde yaş ağırlığı(g)	Kök kuru ağırlığı(g)	Gövde kuru ağırlığı(g)
18	16-55-TT1	1,70 abc	11,10 b-c	16,84 b-f	0,17 gh	1,95 f-i	0,03 e-i	0,25 d-f
19	15-55-TG1	1,60 a-d	12,09 b	14,79 d-g	0,25 fg	2,25 efg	0,02 ijk	0,26 d-f
20	16-55-TG1	2,00 ab	11,05 b-c	15,00 d-g	0,23 fg	2,06 fgh	0,06 b	0,40 b
21	16-55-TG2	2,20 a	9,42 b-f	16,25 c-f	0,37 cde	2,51 def	0,04 c-g	0,33 bcd
22	15-55-TS1	1,50 a-d	10,65 b-d	18,03 b-e	0,41 bcd	3,20 cd	0,03 f-i	0,42 b
23	16-55-TS1	1,10 cd	12,07 b	21,02 b	0,46 b	3,44 c	0,05 bc	0,41 b
24	Kontrol	0 e	17,90 a	26,15 a	0,80 a	8,46 a	0,14 a	1,05 a

*Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen her bir değer istatistikî olarak birbirinden farklıdır (P<0.01).

Samsun FOL izolatlarının hastalık şiddetine ait ortalama skala değerleri istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli farklılıklar göstermektedir (Şekil 4.13). En yüksek hastalık şiddeti gösteren izolat 5 nolu (15-55-BKal3/Bafra-Kalaycılı) izolat olup, 1 nolu (15-55-CD2/Çarşamba-Damlataş) izolat ile aynı grupta yer almaktadır (P<0.01). 2, 3, 4 ve 6 nolu izolatlar ise ayrı bir grup oluştururken, hiçbir izolat kontrol ile aynı grupta bulunmamaktadır (Tablo 4.5).



Şekil 4.13. Samsun'dan alınan örneklerden izole edilen FOL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar (P<0.01)

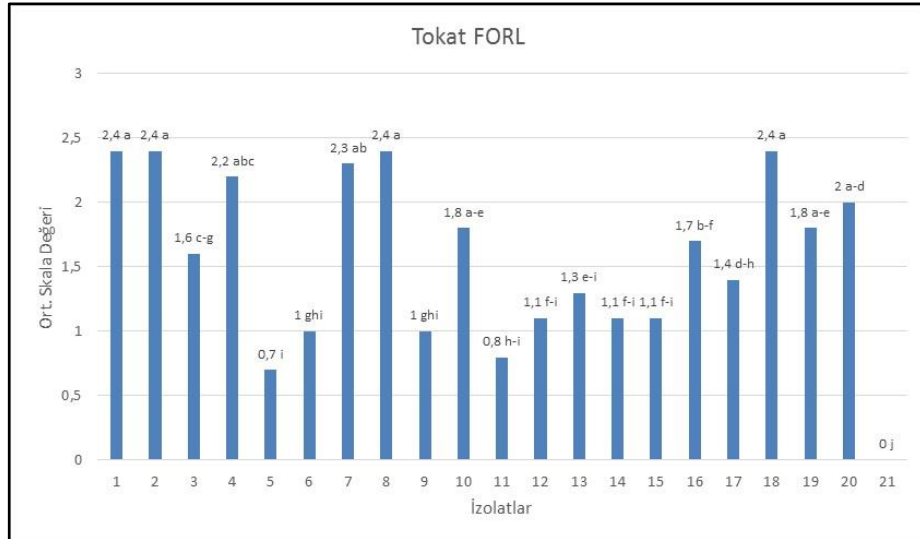
FOL izolatları ile inokule edilen bitkiler ile kontrol bitkilerinin kök ve gövde uzunluğu ile kuru ve yaş ağırlıkları ölçülmüş, izolatlar arasında ve kontrolle bu parametreler açısından önemli farklılıklar bulunmuştur (Tablo 4.5). En fazla kök uzunluğu 6 nolu izolatin uygulandığı bitkilerde ölçülmüşken bunu sırasıyla 3, 4, 2, 1 ve 5 izolatlar izlemiştir. FOL'un kök uzunluğunu en fazla etkilediği izolatlar ise sırasıyla 5, 1 ve 2 nolu izolatlar olup, bu izolatlar istatistiksel olarak aynı grup içinde yer almaktadır. Gövde uzunluğu incelendiğinde 6, 4 ve 3 nolu izolatların uygulandığı domates bitkileri sırasıyla en uzun gövdeli bitkiler olarak aynı gruba girmiştir. FOL'un gövde uzunluğunu en fazla etkileyen izolatlar ise sırasıyla 1, 5 ve 2 olmuştur. Bitkilerin kök ve gövde yaş ağırlıkları da tartılmış ve sonuçta en fazla kök yaş ağırlıklarının sırasıyla 6, 5, 4, 3 ve 2 nolu izolatların uygulandığı bitkilerde olduğu ve bu izolatların hepsinin aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir. Kök yaş ağırlığı en düşük olan domates bitkisi 1 nolu izolatla muamele edilenler olmuştur. Gövde yaş ağırlıkları incelendiğinde bitkilerin gövde yaş ağırlığını en fazla azaltan izolatin 5 nolu izolat olduğu görülmüştür ve tek başına ayrı bir gruba girmiştir. Gövde yaş ağırlığı en fazla olan izolat 1 nolu izolat olurken diğer izolatlar sırasıyla 4, 3, 6, ve 2 olup istatistiksel olarak aynı grup içinde bulunmaktadır. Kök kuru ağırlıkları değerlendirildiğinde ise 3 nolu izolat ile muamele edilen bitkiler içinde en fazla ağırlığa sahipken, diğer izolatların hepsi bitkilerde en daha fazla ağırlık kaybına neden olarak istatistiksel olarak aynı grup içinde yer almışlardır. Son olarak ise bitkilerin gövde kuru ağırlıkları ölçülmüş ve bitkilerin gövde kuru ağırlıklarının tüm izolatlarla muamele edilen bitkilerde istatistiksel olarak aynı grup içinde yer aldığı görülmüştür. Kontrol bitkilerinin gerek kök ve gövde uzunluğu gerekse kök ve gövde kuru ağırlığı ile yaş ağırlıkları yönüyle hastalık etmeni FOL'un bulaştırıldığı bitkilerden istatistiksel olarak tamamen farklı bir grupta yer aldığı belirlenmiştir (Tablo 4.5). Sonuç olarak da kontrolle kıyaslandığında tüm izolatların az veya çok, kök ve gövde uzunlukları ile kök ve gövde kuru ve yaş ağırlıklarını azaltmada etkili olduğu anlaşılmıştır.

Tablo 4.5. Samsun FOL izolatlarının patojenisite sonuçları ve kök ve gövde uzunlukları ile kök ve gövde kuru ve yaş ağırlıkları

İzolat no	İzolat kodu	Skala değeri	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)	Kök yaş ağırlığı(g)	Gövde yaş ağırlığı(g)	Kök kuru ağırlığı(g)	Gövde kuru ağırlığı(g)
1	15-55-CD2	1,20 ab*	8,70 cd	15,03 c	0,17 c	3,80 b	0,04 c	0,36 b
2	16-55-CT1	0,80 b	9,11 cd	16,16 c	0,27 bc	2,70 bc	0,04 c	0,35 b
3	16-55-CT1	0,60 bc	11,23 bc	19,05 bc	0,28 bc	3,14 b	0,07 b	0,42 b
4	16-55-BKar1	0,90 b	11,00 bc	21,00 b	0,30 b	3,40 b	0,04 c	0,37 b
5	15-55-BKal3	1,70 a	6,28 d	15,25 c	0,33 b	1,63 c	0,03 c	0,34 b
6	15-55-BB3	0,70 bc	14,15 b	21,00 b	0,38 b	3,11 b	0,04 c	0,38 b
7	Kontrol	0 c	17,90 a	26,15 a	0,80 a	8,46 a	0,14 a	1,05 a

*Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen her bir değer istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P<0.01).

Tokat ili domates ekim alanlarından elde edilen FORL izolatlarının hastalık şiddetine ait ortalama skala değerleri istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli farklılıklar göstermektedir (Şekil 4.14). En yüksek hastalık şiddeti gösteren izolatlar 1 (15-60-ME1/Merkez-Emirseyit), 2 (16-60-ME1/Merkez-Emirseyit), 8(16-60-TS1/Turhal-Şenyurt) ve 18(15-60-ET1/Erbaa-Tosunlar) olarak tespit edilmiş olup, 4, 7, 10, 19 ve 20 nolu izolatlar aynı grup içinde yer almaktadır. 5 nolu izolat ise en düşük hastalık şiddetine sahip olup, 6, 9, 11, 12, 13, 14, 15 nolu izolatlar ile aynı grupta bulunmaktadır (P<0.01). Hiçbir izolat kontrolle aynı gruba dahil olmamıştır (Tablo 4.6).



Şekil 4.14. Tokat'tan alınan örneklerden izole edilen FORL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar (P<0.01)

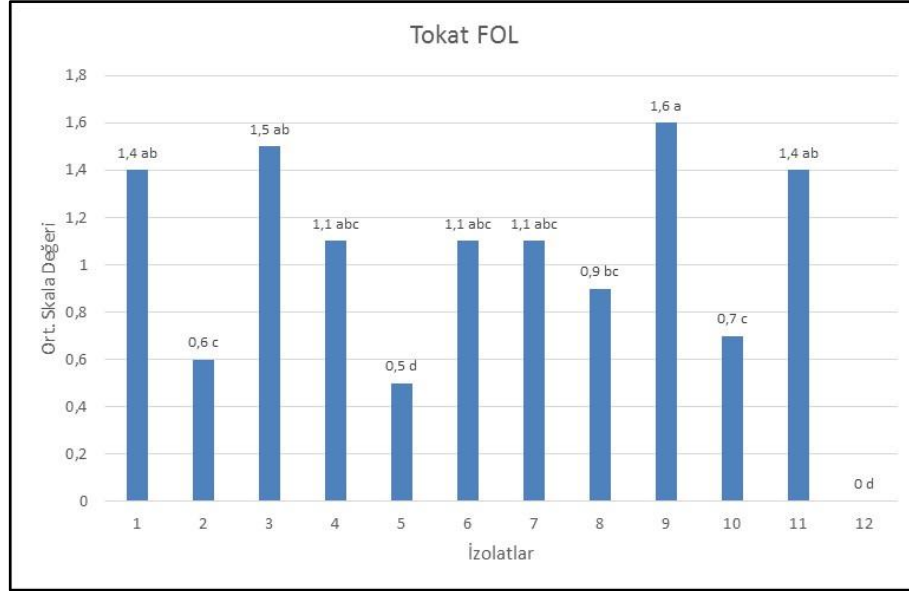
İzolatların uygulandığı bitkiler ile kontrol bitkilerinin kök ve gövde uzunluğu ile kuru ve yaş ağırlıkları ölçülmüş, izolatlar arasında bu parametreler yönüyle önemli farklılıklar olduğu ortaya çıkmıştır (Tablo 4.6). En fazla kök uzunluğu 11 nolu (15-60-TN1) izolatının uygulandığı bitkilerde ölçülmüşken bunu sırasıyla 5, 14, 6 ve 15 nolu izolatlar izlemiş olup bu izolatlar aynı istatistik grup içinde yer almıştır. FORL'nin kök uzunluğunu en fazla etkilediği izolatlar ise sırasıyla 8, 4 ve 2 nolu izolatlar olup, istatistiksel olarak aynı grupta yer almaktadır. Gövde uzunluğu incelendiğinde ise sırasıyla 5, 14, 16, 17 ve 11 nolu izolatların uygulandığı bitkilerde gövde uzunluğu en fazla olmuş ve aynı istatistiksel olarak aynı grubunda yer aldığı görülmüştür. FORL'un gövde uzunluğunu en fazla etkileyen izolatlar ise sırasıyla 2, 4, 8, 18, 3 ve 10 nolu izolatlar olup, istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. Kök yaş ağırlığına bakıldığında ise en fazla kök yaş ağırlığı değerine sahip 19, 14, 17 ve 11 nolu izolatlar olurken, bunlar aynı istatistik grup içine girmektedir. Kök yaş ağırlığını en fazla azaltan izolatlar ise sırasıyla 4, 2, 3, 1,18 dir ve aynı istatistik grup içinde bulunmaktadır. Gövde yaş ağırlığı en fazla bulunan sırasıyla 13, 14, 19, 11, 17, 16, 20 nolu izolatlarının uygulandığı bitkiler olurken, en az bulunan sırasıyla 4, 3, 2, 8, 1,18, 6 nolu izolatlara ait bitkilerdir ve bu değerler aynı istatistik grupta bulunmaktadır. Kök kuru ağırlığı en fazla bulunan sırasıyla 7, 15, 11, 14, 17, 19 nolu izolatların uygulandığı bitkiler olurken, en az bulunan 1, 2, 3, 4, 8, 10, 18 nolu izolatlara ait bitkilerdir ve bu değerler aynı istatistik grupta bulunmaktadır. Gövde kuru ağırlığı en fazla bulunan sırasıyla 17, 16, 13 nolu izolatların uygulandığı bitkiler olurken, en az bulunan sırasıyla 2, 3, 8, 1, 4, 9, 7, 10, 20, 18 nolu izolatlara ait bitkilerdir ve bu değerler aynı istatistik grupta bulunmaktadır. Kontrol bitkilerinin gerek kök ve gövde uzunluğu gerekse kök ve gövde kuru ağırlığı ile yaş ağırlıkları yönüyle hastalık etmeni FORL'un bulaştırıldığı bitkilerden istatistiksel olarak tamamen farklı bir grupta yer aldığı belirlenmiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Tokat FORL izolatlarının patojenisite sonuçları ve kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde kuru ve yaş ağırlıkları

İzolat no	İzolat kodu	Skala değeri	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)	Kök yaş ağırlığı(g)	Gövde yaş ağırlığı(g)	Kök kuru ağırlığı(g)	Gövde kuru ağırlığı(g)
1	15-60-ME1	2,40 a*	9,54 f	17,08 g-j	0,28 jk	3,11 de	0,03 d	0,28 f
2	16-60-ME1	2,40 a	8,09 fgh	14,22 k	0,24 k	3,00 de	0,03 d	0,25 f
3	15-60-MB1	1,60 c-g	11,25 e	16,27 h-k	0,25 k	2,94 de	0,03 d	0,26 f
4	16-60-MB1	2,20 abc	7,63 gh	15,01 jk	0,22 k	2,84 e	0,03 d	0,28 f
5	15-60-MY1	0,70 i	15,10 b	23,07 b	0,45 d-h	3,63 c	0,05 b	0,42 cd
6	16-60-MY1	1,00 ghi	14,05 bc	19,66 d-g	0,41 fgh	3,21 de	0,04 c	0,39 de
7	15-60-TS1	2,30 ab	8,52 fg	17,18 g-j	0,41 fgh	3,32 cd	0,04 bc	0,31 ef
8	16-60-TS1	2,40 a	6,58 h	15,03 jk	0,33 ij	3,04 de	0,03 d	0,27 f
9	15-60-TK1	1,00 ghi	11,24 e	18,90 e-h	0,38 hi	3,66 c	0,04 c	0,29 f
10	16-60-TK1	1,80 a-e	9,19 fg	16,49 h-k	0,33 ij	3,23 d	0,03 d	0,31 ef
11	15-60-TN1	0,80 hi	15,37 b	21,08 b-e	0,49 b-e	4,32 b	0,05 b	0,42 cd
12	16-60-TN1	1,10 f-i	13,32 cd	18,08 f-i	0,48 c-f	3,67 c	0,04 c	0,42 cd
13	15-60-TD1	1,30 e-i	13,06 cd	17,73 f-j	0,46 d-g	4,54 b	0,04 c	0,47 bcd
14	15-60-PU1	1,10 f-i	14,10 bc	22,36 bc	0,54 bc	4,37 b	0,05 b	0,43 cd
15	16-60-PU1	1,10 f-i	13,83 bc	17,14 g-j	0,45 d-h	3,65 c	0,04 c	0,41 cd
16	15-60-EC3	1,70 b-f	12,29 cde	22,06 bcd	0,39 ghi	4,27 b	0,04 c	0,49 bc
17	16-60-EC1	1,40 d-h	13,14 cd	21,23 b-e	0,53 bcd	4,30 b	0,05 b	0,51 b
18	15-60-ET1	2,40 a	11,57 de	15,87 ijk	0,28 jk	3,13 de	0,03 d	0,32 ef
19	15-60-NY1	1,80 a-e	13,13 cd	20,07 c-f	0,56 b	4,35 b	0,05 b	0,42 cd
20	16-60-NY1	2,00 a-d	12,41 cde	18,93 e-h	0,44 e-h	4,27 b	0,04 c	0,31 ef
21	Kontrol	0 j	17,90 a	26,15 a	0,80 a	8,46 a	0,14 a	1,05 a

*Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen her bir değer istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P<0.01).

Tokat FOL izolatlarının hastalık şiddetine ait ortalama skala değerleri istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli farklılıklar göstermektedir (Şekil 4.15). En yüksek hastalık şiddeti gösteren izolat 9 (15-60-ET3/Erbaa-Tosunlar) nolu izolat olup, 1, 3, 4, 6,7, 11 de aynı grup içinde yer almaktadır. 5 nolu izolat ise en düşük hastalık şiddetine sahip olup, kontrolle aynı grupta bulunmaktadır (P<0.01). Diğer izolatlar ise kontrolle aynı gruba dahil olmamıştır (Tablo 4.7).



Şekil 4.15. Tokat'tan alınan örneklerden izole edilen FOL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P < 0.01$)

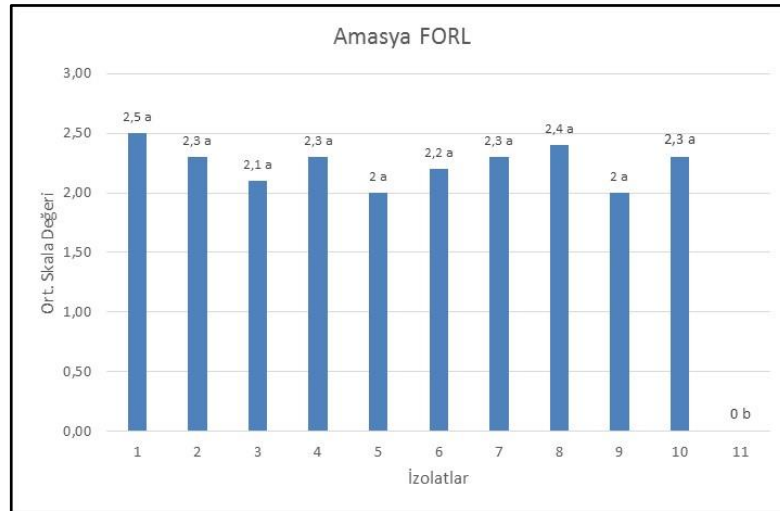
İzolatların uygulandığı bitkiler ile kontrol bitkilerinin kök ve gövde uzunluğu ile kuru ve yaş ağırlıkları ölçülmüş, izolatlar arasında bu parametreler yönüyle önemli farklılıklar olduğu ortaya çıkmıştır (Tablo 4.7). En fazla kök uzunluğu sırasıyla 10, 8, 11, 5 izolatlarının uygulandığı bitkilerde görülürken, en az kök uzunluğu 3 ve 6 nolu izolatların uygulandığı bitkilerde görülmüş olup, bu izolatlar aynı istatistik grubuna girmiştir. Gövde uzunluğu değerlendirildiğinde ise en fazla gövde uzunluğu 10 nolu izolatın uygulandığı bitkilerde görülmüş olup, diğerlerinden farklı bir grupta bulunmaktadır. 3 ve 6 nolu izolatlar ise sırasıyla bitki gövde uzunluğunu azaltarak en fazla etkileyen izolatlar olarak bulunmuştur. Kök yaş ağırlığında ise 10 nolu izolat tek başına ayrı bir grupta bulunarak en fazla, 3 nolu izolat ise yine ayrı bir grupta bulunarak en az kök yaş ağırlığına neden olan izolat olarak tespit edilmiştir. Gövde yaş ağırlığında ise sırasıyla 11 ve 10 nolu izolatlar en fazla gövde yaş ağırlığına neden olurken, 6, 8, 3, 5, 9 nolu izolatlar ise en az gövde yaş ağırlığına neden olarak ayrı bir grupta bulunmuştur. Kök kuru ağırlığının en fazla bulunduğu izolatlar 10, 1, 2, 5, 7, 8, 11 olurken, en az bulunduğu izolatlar ise 6, 3, 4 ve 9 olmuştur. Gövde kuru ağırlığının en fazla bulunduğu izolatlar sırasıyla 8, 5 olurken, en az bulunduğu izolatlar ise 3, 6, 1, 2 olmaktadır. Kontrol bitkilerinin gerek kök ve gövde uzunluğu gerekse kök ve gövde kuru ağırlığı ile yaş ağırlıkları yönüyle hastalık etmeni FORL'un bulaştırıldığı bitkilerden istatistiksel olarak tamamen farklı bir grupta yer aldığı belirlenmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Tokat FOL izolatlarının patojenisite sonuçları ve kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde kuru ve yaş ağırlıkları

İzolat no	İzolat kodu	Skala değeri	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)	Kök yaş ağırlığı (g)	Gövde yaş ağırlığı (g)	Kök kuru ağırlığı (g)	Gövde kuru ağırlığı (g)
1	15-60-ME3	1,40 ab*	11,35 e	19,08 c	0,33 e	3,70 cd	0,04 bcd	0,33 cde
2	16-60-MB3	0,60 c	13,15 cd	19,82 c	0,43 cd	3,84 c	0,04 bcd	0,33 cde
3	16-60-MY3	1,50 ab	7,09 f	11,67 e	0,22 f	3,21 ef	0,03 de	0,24 e
4	15-60-TS1	1,10 abc	12,00 de	15,61 d	0,36 de	3,88 c	0,03 de	0,35 cd
5	15-60-TN2	0,50 d	14,38 bc	19,03 c	0,44 c	3,33 def	0,04 bcd	0,44 bc
6	16-60-TN2	1,10 abc	8,03 f	12,87 e	0,31 e	2,93 f	0,02 e	0,29 de
7	15-60-PU2	1,10 abc	12,48 de	19,30 c	0,46 c	3,60 cde	0,04 bcd	0,39 cd
8	15-60-EC1	0,90 bc	14,88 b	20,02 c	0,48 c	3,09 f	0,04 bcd	0,53 b
9	15-60-ET3	1,60 a	13,19 cd	18,91 c	0,41 cd	3,34 def	0,03 de	0,38 cd
10	15-60-NY2	0,70 c	15,01 b	22,24 b	0,58 b	4,78 b	0,05 b	0,39 cd
11	15-60-NY3	1,40 ab	14,75 b	19,64 c	0,49 c	4,81 b	0,04 bcd	0,40 c
12	Kontrol	0 d	17,90 a	26,15 a	0,80 a	8,46 a	0,14 a	1,05 a

*Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen her bir değer istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P<0.01).

Amasya FORL izolatlarının hastalık şiddetine ait ortalama skala değerleri istatistiksel olarak kontrolden %1 düzeyinde önemli farklılıklar göstererek ayrı bir grup oluşturmuştur (Şekil 4.16). En yüksek hastalık şiddeti gösteren izolat 1 nolu (15-05-MY1/Merkez-Yazıbağları) izolat olup, diğer tüm izolatlarla istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almaktadır (P<0.01).



Şekil 4.16. Amasya'dan alınan örneklerden izole edilen FORL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar (P<0.01)

En fazla kök uzunluğu 9, 1, 3 nolu izolatlarda görülürken, en az kök uzunluğu sırasıyla 7, 4, 8 ve 6 nolu izolatlarda görülmüştür. Gövde uzunluğu ise en fazla sırasıyla 9, 2, 1, 10, 3 ve 5 nolu izolatlarda olurken en az ise 7 ve 6 nolu izolatlarda olmuştur. Kök yaş ağırlığı değerlendirildiğinde ise 2, 10, 6, 1 nolu izolatlarda en fazla kök yaş ağırlığına sahip iken, 4 ve 8 izolatlarda en az kök yaş ağırlığına sahiptir. Gövde yaş ağırlığında ise 1 nolu izolat en fazla ağırlığa sahip olarak diğer izolatlardan ayrı bir grupta yer alırken, 7 nolu izolat ise en az ağırlığa sahip olarak diğer izolatlardan ayrı bir grupta bulunmaktadır. Kök kuru ağırlığı en fazla olan izolatlarda 1, 2, 9 ve 10 olurken, en az olan izolatlarda ise 7, 8, 4, 5 ve 6'dır. Gövde kuru ağırlığı en fazla olan izolatlarda 10, 9, 1, 5, 6 ve 3 nolu izolatlarda olurken, ağırlığı en az olan 7, 8, ve 4'tür. Kontrol bitkilerinin gerek kök ve gövde uzunluğu gerekse kök ve gövde kuru ağırlığı ile yaş ağırlıkları yönüyle hastalık etmeni FORL'un bulaştırıldığı bitkilerden istatistiksel olarak tamamen farklı bir grupta yer aldığı belirlenmiştir (Tablo 4.8).

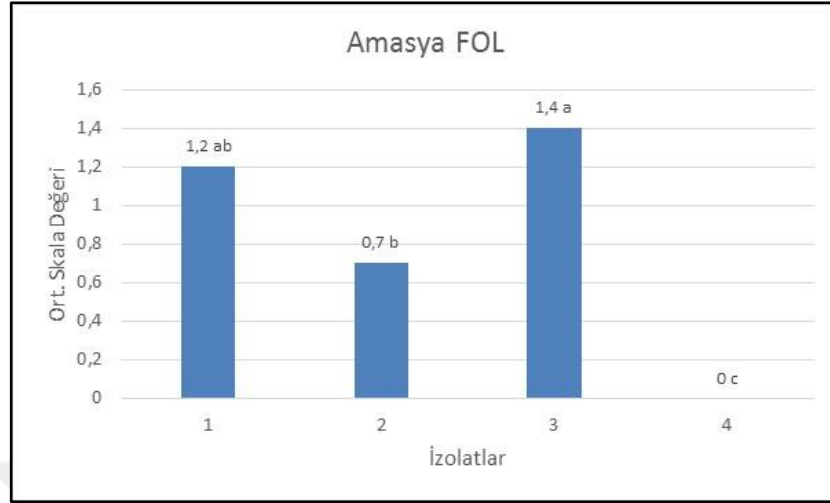
Tablo 4.8. Amasya FORL izolatlarının patojenisite sonuçları ve kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde kuru ve yaş ağırlıkları

İzolat no	İzolat kodu	Skala değeri	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)	Kök yaş ağırlığı(g)	Gövde yaş ağırlığı(g)	Kök kuru ağırlığı(g)	Gövde kuru ağırlığı(g)
1	15-05-MY1	2,50 a*	13,14 bc	16,83 bc	0,29 b	3,46 b	0,05 b	0,37 bc
2	16-05-MY2	2,30 a	11,02 de	17,12 bc	0,34 b	3,06 c	0,05 b	0,29 cd
3	15-05-MD2	2,10 a	13,10 bc	16,51 bc	0,20 c	2,54 d	0,04 c	0,33 bcd
4	15-05-MB2	2,30 a	7,18 f	15,36 cd	0,11 d	1,73 e	0,02 d	0,24 de
5	16-05-MB1	2,00 a	10,35 e	16,49 bc	0,18 c	2,34 d	0,02 d	0,36 bc
6	16-05-MB4	2,20 a	7,87 f	13,85 de	0,31 b	2,31 d	0,02 d	0,34 bc
7	15-05-TM2	2,30 a	6,63 f	12,05 e	0,18 c	1,25 f	0,01 d	0,19 e
8	16-05-TM1	2,40 a	7,30 f	14,74 cd	0,11 d	1,78 e	0,01 d	0,23 de
9	15-05-TU1	2,00 a	14,06 b	17,98 b	0,22 c	2,46 d	0,04 bc	0,39 bc
10	16-05-TU1	2,30 a	12,10 cd	16,80 bc	0,34 b	3,05 c	0,04 bc	0,42 b
11	Kontrol	0 b	17,90 a	26,15 a	0,80 a	8,46 a	0,14 a	1,05 a

* Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen her bir değer istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P<0.01).

Amasya FOL izolatlarının hastalık şiddetine ait ortalama skala değerleri istatistiksel olarak %1 düzeyinde çok önemli farklılık göstermektedir (Şekil 4.17). En yüksek hastalık şiddeti gösteren izolat 3 (15-05-TM1/Taşova-Mülkbükü) nolu izolat

olup, 1 nolu izolat ile aynı istatistik grubunda yer almaktadır. Kontrol diğer izolatlardan ayrı bir grup oluşturmuştur ($P<0.01$)



Şekil 4.17. Amasya'dan alınan örneklerden izole edilen FOL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P<0.01$)

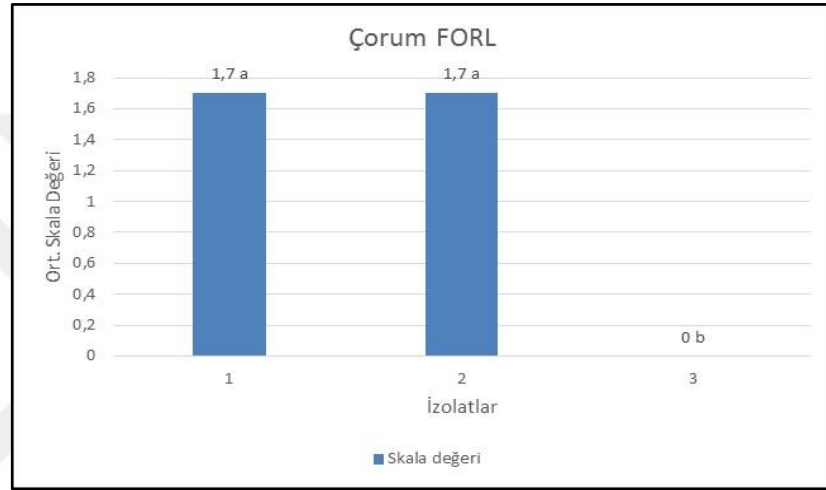
En fazla kök uzunluğu 2 ve 3 nolu izolatlarda görülürken, en az kök uzunluğu 1 nolu izolatta görülmüştür. Gövde uzunluğunda ise en fazla değer 2 nolu izolatta bulunurken, 1 ve 3 nolu izolat en az gövde uzunluğuna sahiptir. Kök yaş ağırlıkları değerlendirildiğinde ise en fazla değer 2 ve 3 izolatlarında bulunurken, en az değer 1 nolu izolatta görülmüştür. Gövde yaş ağırlığında ise tüm izolatlar kontrolden farklı olarak aynı grup içinde yer almaktadır. Kök kuru ağırlığı ve gövde kuru ağırlığında da yine tüm izolatlar kontrolden farklı olarak aynı grup içinde bulunmaktadır (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Amasya FOL izolatlarının patojenisite sonuçları kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde kuru ve yaş ağırlıkları

İzolat no	İzolat kodu	Skala değeri	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)	Kök yaş ağırlığı(g)	Gövde yaş ağırlığı(g)	Kök kuru ağırlığı(g)	Gövde kuru ağırlığı(g)
1	16-05-MB2	1,2 ab*	9,59 c	15,16 c	0,25 c	2,86 b	0,03 b	0,32 b
2	16-05-MB3	0,7 b	11,51 b	17,88 b	0,36 b	3,07 b	0,04 b	0,42 b
3	15-05-TM1	1,4 a	9,81 bc	14,38 c	0,28 bc	2,69 b	0,03 b	0,32 b
4	Kontrol	0 c	17,9 a	26,15 a	0,80 a	8,46 a	0,14 a	1,05 a

*Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen her bir değer istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.01$).

Çorum FORL izolatlarının hastalık şiddetine ait ortalama skala değerleri istatistiksel olarak %1 düzeyinde çok önemli farklılık göstermektedir (Şekil 4.18). Elde edilen her iki izolat da aynı hastalık şiddetine sahip olup, kontrol grubundan ayrı bir grup oluşturmaktadır ($P<0.01$). Elde edilen iki izolat da kök uzunluğu bakımından farklı gruplara girerken, gövde uzunluğu, kök yaş ağırlığı, gövde yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, gövde kuru ağırlığı değerleri bakımından istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almakta ise de kontrolle ayrı grupta bulunmaktadır (Tablo 4.10).



Şekil 4.18. Çorum'dan alınan örneklerden izole edilen FORL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P<0.01$)

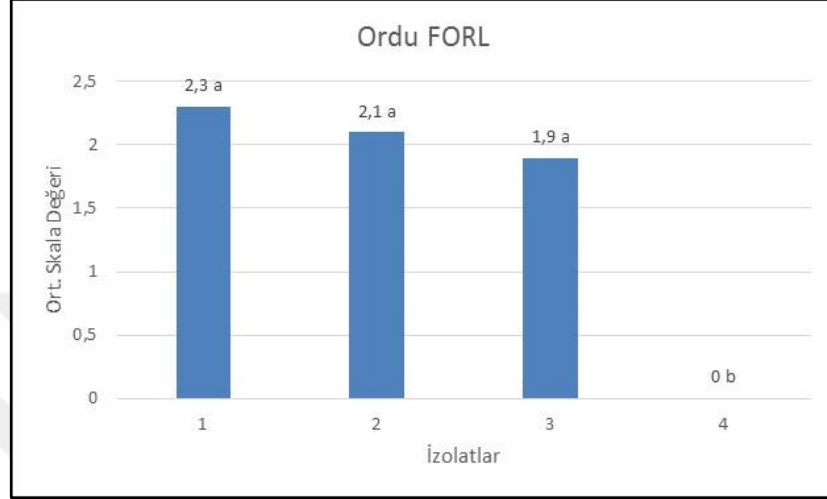
Tablo 4.10. Çorum FORL izolatlarının patojenisite sonuçları ve kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde kuru ve yaş ağırlıkları

İzolat no	İzolat kodu	Skala değeri	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)	Kök yaş ağırlığı(g)	Gövde yaş ağırlığı(g)	Kök kuru ağırlığı(g)	Gövde kuru ağırlığı(g)
1	15-19-MU1	1,70 a*	10,81 c	17,27 b	0,45 b	3,68 b	0,03 b	0,39 b
2	16-19-MU1	1,70 a	13,08 b	19,07 b	0,53 b	3,45 b	0,03 b	0,47 b
3	Kontrol	0 b	17,90 a	26,15 a	0,80 a	8,46 a	0,14 a	1,05 a

*Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen her bir değer istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.01$).

Ordu FORL izolatlarının hastalık şiddetine ait ortalama skala değerleri istatistiksel olarak %1 düzeyinde çok önemli farklılık göstermektedir (Şekil 4.19). Elde edilen 1 nolu (15-52-FA2/Fatsa-Ayazlı) izolatın uygulandığı bitkilerde en yüksek hastalık şiddeti olmakla beraber diğer iki izolat ile muamele edilenlerle aynı

istatistik grupta yer almaktadır. Her üç izolat da kontrol grubundan ayrı bir grup oluşturmaktadır ($P<0.01$). Elde edilen 1 nolu izolat, kök uzunluğu, gövde uzunluğu, kök yaş ağırlığı, gövde yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, gövde kuru ağırlığı bakımından bitkileri daha fazla etkileyerek, tüm parametrelerde diğer izolatlardan daha düşük değerler göstermiş ve ayrı bir istatistik grupta yer almıştır (Tablo 4.11).



Şekil 4.19. Ordu'dan alınan örneklerden izole edilen FORL izolatlarının skala değerlerine ait sonuçlar ($P<0.01$)

Tablo 4.11. Ordu FORL izolatlarının patojenisite sonuçları ve bitkilerin kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde, kuru ve yaş ağırlıkları

İzolat no	İzolat kodu	Skala değeri	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)	Kök yaş ağırlığı(g)	Gövde yaş ağırlığı(g)	Kök kuru ağırlığı(g)	Gövde kuru ağırlığı(g)
1	15-52-FA2	2,30 a*	6,06 c	10,14 c	0,12 c	1,38 c	0,02 c	0,13 c
2	15-52-US1	2,10 a	12,13 b	17,18 b	0,41 b	3,33 b	0,04 b	0,41 b
3	15-52-US2	1,90 a	10,3900 b	19,09 b	0,47 b	3,74 b	0,03 bc	0,37 b
4	Kontrol	0 b	17,90 a	26,15 a	0,80 a	8,46 a	0,14 a	1,05 a

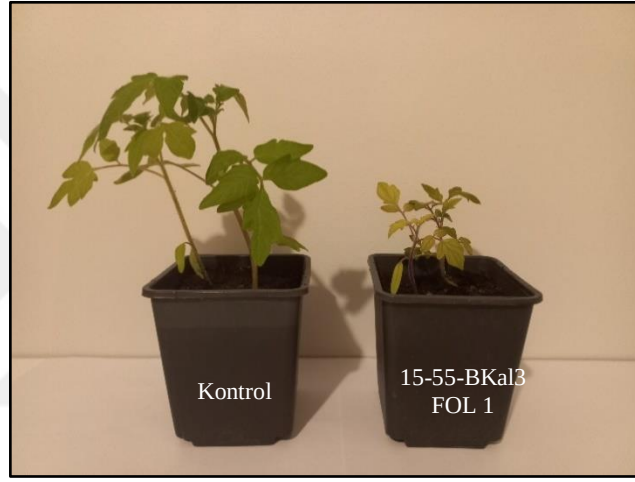
*Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen her bir değer istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0.01$).

Ordu ilinden elde edilen tek FOL izolatı (15-52-FA3/Fatsa-Ayazlı) hastalık oluştururken kontrollerde hastalık belirtisi olmamıştır. Kök uzunluğu, gövde uzunluğu, kök yaş ağırlığı, gövde yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, gövde kuru ağırlığı bakımından da bitkilerde kontrole oranla daha düşük değerler kaydedilmiştir (Tablo 4.12).

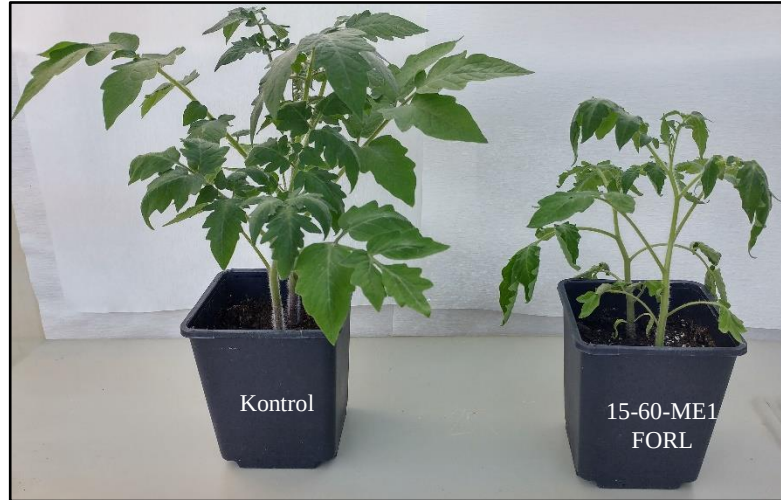
Tablo 4.12. Ordu FOL izolatinın patojenisite sonuçları ve kök, gövde uzunlukları ile kök, gövde, kuru ve yaş ağırlıkları

İzolât no	İzolât kodu	Skala değeri	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)	Kök yaş ağırlığı(g)	Gövde yaş ağırlığı(g)	Kök kuru ağırlığı(g)	Gövde kuru ağırlığı(g)
1	15-52-FA3	1,20	11,03	14,98	0,34	2,46	0,03	0,38
2	Kontrol	0	17,90	26,15	0,80	8,46	0,14	1,05

Kontrol bitkileri ile FOL ve FORL etmenlerinin bulaştırıldığı bitkilerin patojenisite denemesi sonucunda saksılardaki görüntüsü sırasıyla Şekil 4.20 ve Şekil 4.21’de gösterilmiştir.



Şekil 4.20. 15-55-BKal3 FOL 1 (Samsun/Bafra/Kalaycılı) nolu izolatin patojenisite çalışması sonucu bitkinin solgunluk simptomsu göstermesi



Şekil 4.21. 15-60-ME1 FORL (Tokat/Merkez/Emirseyit) nolu izolatin patojenisite çalışması sonucu bitkinin kök ve kök boğazı çürüklüğü nedeniyle oluşan solgunluk simptomsu

FORL'un kök gelişimine etkisi ve kontrol bitkilerinin kök gelişim durumları Şekil 4.22'de gösterilmiştir.



Şekil 4.22. 15-60-ME1 FORL (Tokat/Merkez/Emirseyit) nolu izolatın patojenisite çalışması sonucu bitki kök ve kök boğazlarında oluşan belirtiler

Amasya ilinden domates bitkilerinden izole edilen 15-05-MY1 kodlu FORL izolatının kök ve kök boğazında oluşturduğu belirtiler ve sağlıklı bitkideki kök gelişimi Şekil 4.23'de verilmiştir.



Şekil 4.23. 15-05-MY1 FORL (Amasya/Merkez/Yazıbağları) nolu izolatın patojenisite çalışması sonucu bitki kök ve kök boğazlarında oluşan belirtiler

4.1.5. Nit Mutantlar ve Fenotiplerinin Elde Edilmesi

Domates bitkilerinden elde edilen *F. oxysporum* izolatlarının *nit* mutantlarının ve fenotiplerinin belirlenmesinde Leslie ve Summerell (2006)'nın kullandığı yöntem kullanılmıştır.

İnkübasyon sonunda bazı kolonilerin uç kısımlarında hızlı gelişen, transparan ve ince miseller (sektör)'den alınan agar parçaları NaNO_3 (nitrat) içeren kloratsız FMM besiyerine aktarılmıştır. $26\pm 2^\circ\text{C}$ 'de 3-5 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreci sonunda havai misel gelişimi olmadan ince ve şeffaf gelişim gösteren izolatların *nit* mutant olduğu belirlenmiştir. (Puhalla, 1985; Correll vd., 1987) (Şekil 4.24; Şekil 4.25). Havai miselyum şeklinde gelişim gösterenler ise yabani tip olup bundan sonraki çalışmalarda kullanılmamıştır.



Şekil 4.24. Kloratlı (%1,5) besiyerinde klorata dayanıklı ince ve transparan sektör gelişimi (a,b)



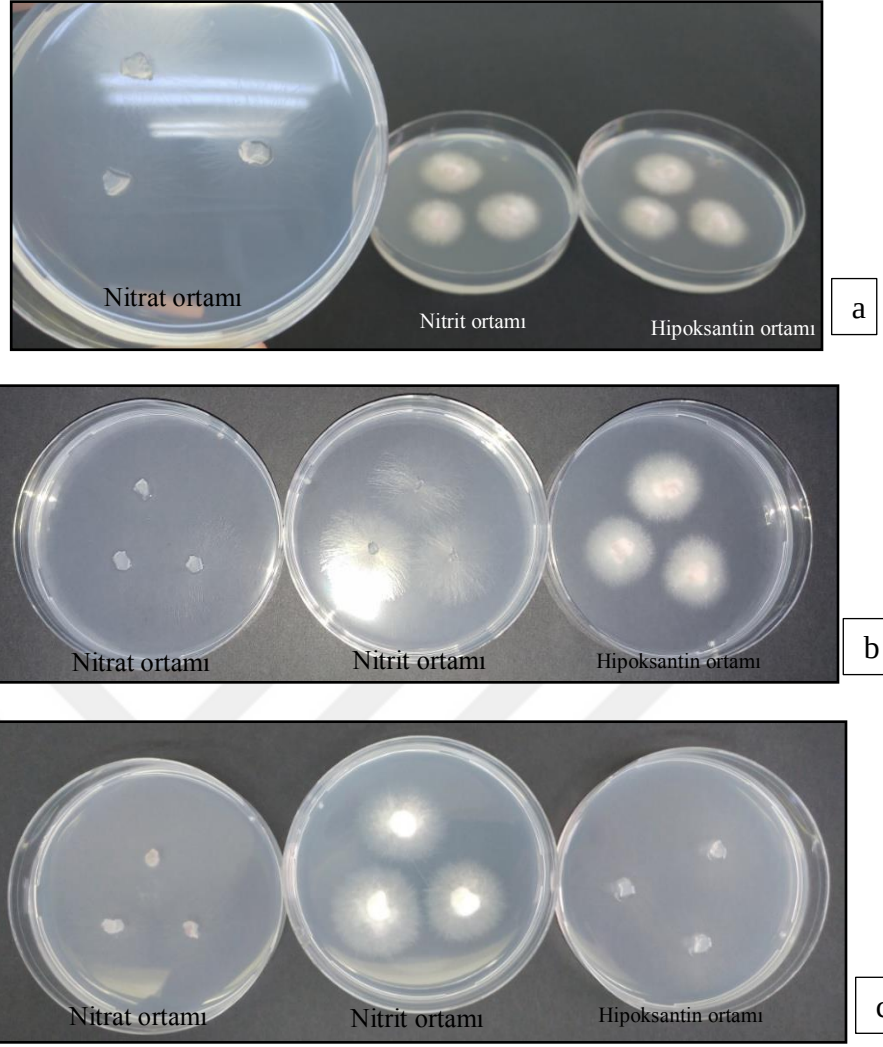
Şekil 4.25. Kloratsız FMM ortamda gelişen *nit* mutant kolonisi

Elde edilen her bir *nit* mutant, üç ayrı besi yerindeki gelişimlerine göre üç farklı fenotipe ayrılmıştır (Tablo 4.12; Şekil 4.26). Bu amaçla her bir *nit* mutanttan alınan küçük miseliyal parçalar, nitrat (2 g/L NaNO_3), nitrit (0,5g/L NaNO_2) ve hipoksantin (0,2 g/L $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$) içeren FMM ortamlarına aktarılmıştır. $26\pm 2^\circ\text{C}$ 'de 7-10 gün süren inkübasyondan sonra gelişen mutantlar koloni morfolojilerine göre *nit1*, *nit3* veya NitM olarak fenotipik açıdan karakterize edilmiştir. Nitrat içeren ortamda mutant gelişim (transparan ve ince) gösterenler *nit1*; nitrat ve nitrit içeren ortamda mutant gelişim gösterenler *nit3*; nitrat ve hipoksantin içeren ortamlarda mutant gelişim gösterenler ise NitM olarak belirlenmiştir. (Correll et al., 1987).

Tablo 4.13. Nitrojen kaynaklarının kullanımına dayalı mutant sınıflandırılması (Correll et al., 1987)

Mutant	NaNO_3 (Nitrat)	NaNO_2 (Nitrit)	Hypoxanthine
<i>nit1</i>	MT*	WT*	WT
<i>nit3</i>	MT	MT	WT
NitM	MT	WT	MT

*(MT: mutant tip, WT: yabani tip)



Şekil 4.26. *Nit* mutantların farklı azot kaynakları kullanımına göre fenotipik olarak gruplandırılması. *nit1* (a), *nit3* (b), NitM (c)

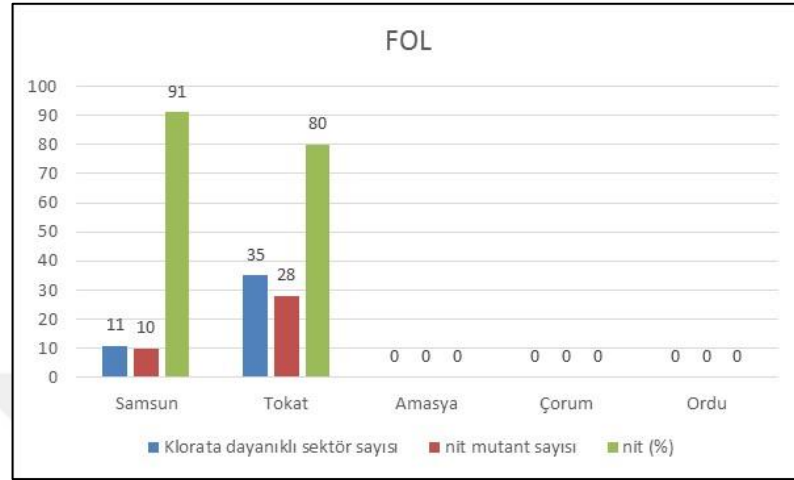
4.1.5.1. FOL İzolatlarından *Nit* Mutantların Eldesi

Sürvey sonucunda 21 FOL izolatu izole edilmiştir. Toplam 21 FOL izolatının 17'sinden 46 klorata dayanıklı sektör elde edilmiştir. Bu klorata dayanıklı sektörlerin 38'si *nit* mutant olarak belirlenmiştir. Bu *nit* mutantların 28'i *nit1*, 1'i *nit3* ve 9'u ise NitM olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. FOL etmenine ait *nit* mutantlar ve sınıflandırılması

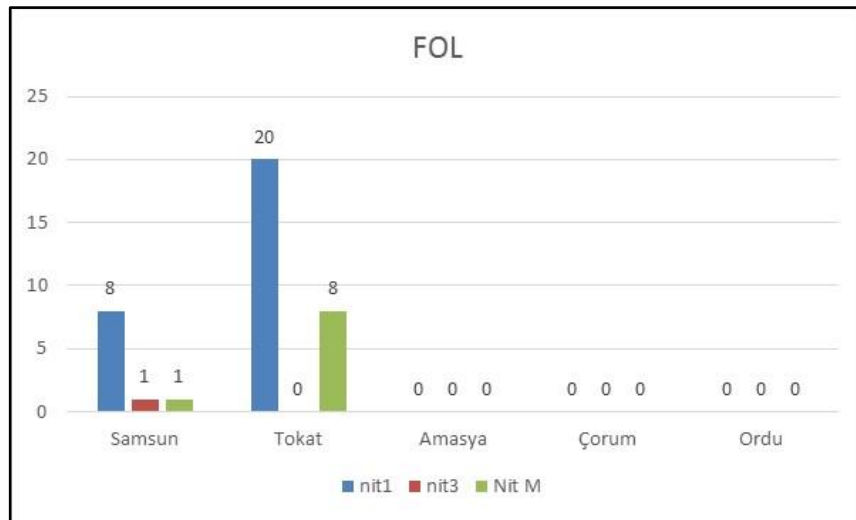
İller	İzolat sayısı	Klorata dayanıklı sektör sayısı	<i>nit</i> mutant sayısı	<i>nit</i> (%)	<i>nit</i> mutant sınıfı		
					<i>nit1</i>	<i>nit3</i>	NitM
Samsun	6	11	10	91	8	1	1
Tokat	11	35	28	80	20	-	8
Amasya	3	-	-	-	-	-	-
Çorum	-	-	-	-	-	-	-
Ordu	1	-	-	-	-	-	-
Toplam	21	46	38	83	28	1	9

Samsun ve Tokat illerinden elde edilen toplam 17 FOL izolatından sırasıyla 10 ve 28 *nit* mutant elde edilmiştir. Klorata dayanıklı sektörlerden *nit* mutant elde edilme oranı Samsun için %91 olurken, Tokat için bu oran %80 olarak bulunmuştur (Tablo 4.14; Şekil 4.27).

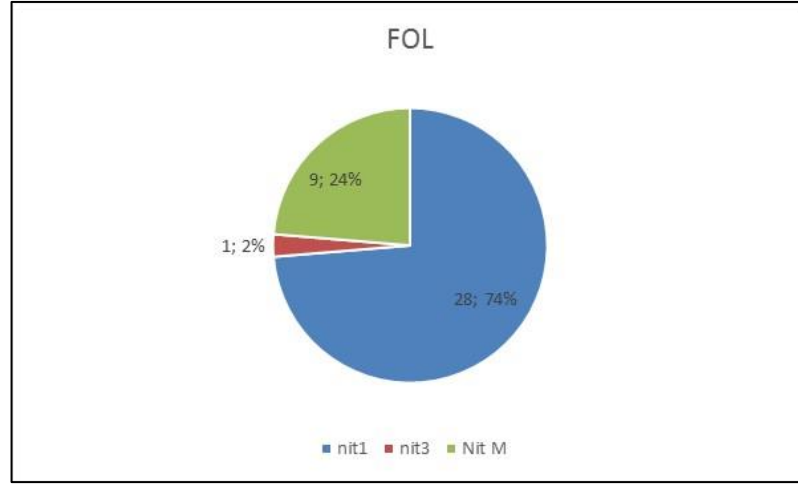


Şekil 4.27. FOL izolatlarından elde edilen klorata dayanıklı sektör sayısı, *nit* mutant sayısı ve *nit* mutantların % bulunma oranı

Samsun ve Tokat illerinden elde edilen *nit* mutantların fenotiplerine göre dağılımları değerlendirildiğinde, Samsun ilinde en fazla *nit1* (8) bulunmuş olup, bunu aynı oranda bulunan *nit3* (1) ve NitM (1) izlemektedir. Tokat'ta ise en fazla *nit1* (20) elde edilmiş olup, bunu NitM (8) izlemektedir. *nit3* ise Tokat'ta bulunamamıştır (Tablo 4.14; Şekil 4.28). Toplamda en fazla bulunan fenotip %74 (28) oranla *nit1* olurken, bunu %24 (9) oranla NitM ve %2 (1) oranla *nit3* takip etmektedir (Şekil 4.29).



Şekil 4.28. FOL izolatlarından elde edilen *nit* mutantların iller düzeyinde fenotiplerine göre dağılımı



Şekil 4.29. FOL izolatlarından elde edilen toplam *nit* mutantların fenotiplerine göre dağılımı

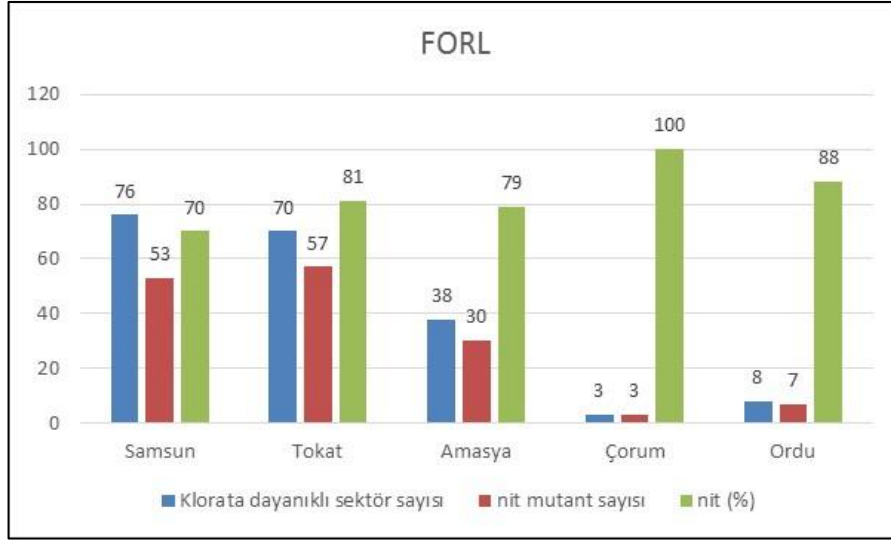
4.1.5.2. FORL İzolatlarından *Nit* Mutantların Eldesi

Sürvey sonucunda 58 FORL izolatu elde edilmiştir. Toplam 58 FORL izolatının 43'ünden 195 klorata dayanıklı sektör bulunmuştur. Bu klorata dayanıklı sektörlerin 150'si *nit* mutant olarak belirlenmiştir. Bu *nit* mutantların 123'ü *nit1*, 5'i *nit3* ve 22'si ise NitM olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. FORL etmenine ait *nit* mutantlar ve sınıflandırılması

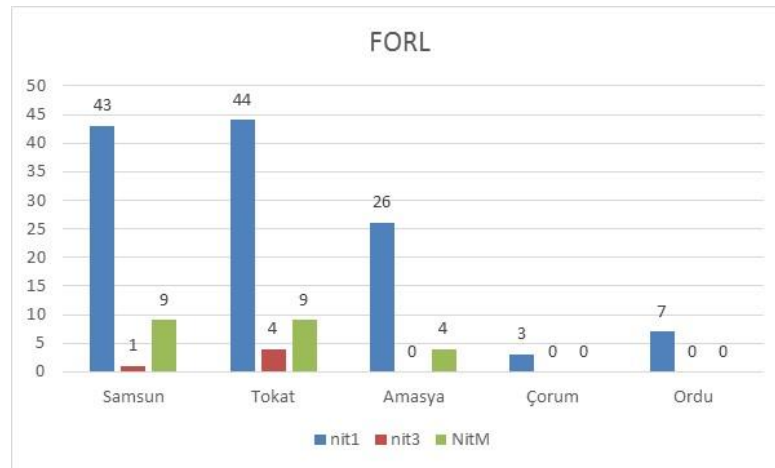
İller	İzolat sayısı	Klorata dayanıklı sektör sayısı	<i>nit</i> mutant sayısı	<i>nit</i> (%)	<i>nit</i> mutant sınıfı		
					<i>nit1</i>	<i>nit3</i>	NitM
Samsun	23	76	53	70	43	1	9
Tokat	20	70	57	81	44	4	9
Amasya	10	38	30	79	26	-	4
Çorum	2	3	3	100	3	-	-
Ordu	3	8	7	88	7	-	-
Toplam	58	195	150	77	123	5	22

FORL izolatları içerisinde en fazla *nit* mutant Tokat (57) ve Samsun (53) illerinden elde edilmiş olup, klorata dayanıklı sektörlerden *nit* mutant elde edilme oranı Tokat için %81 olurken, bu oran Samsun için %70 olarak belirlenmiştir (Tablo 4.15; Şekil 4.30).

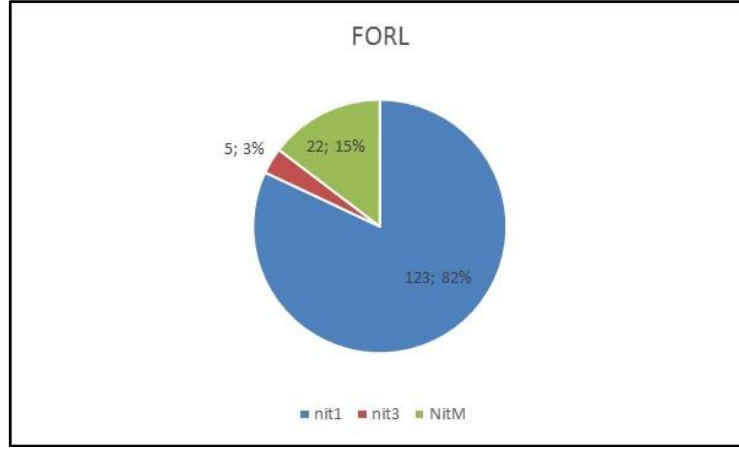


Şekil 4.30. FORL izolatlarından elde edilen klorata dayanıklı sektör sayısı, *nit* mutant sayısı ve *nit* mutantların % bulunma oranı

FORL izolatlarından elde edilen *nit* mutantların fenotiplerine göre dağılımları değerlendirildiğinde, *nit1* en fazla Tokat ilinde (44) bulunmuş olup, bunu sırasıyla Samsun (43), Amasya (26), Ordu (7) ve Çorum (3) izlemektedir (Tablo 4.15; Şekil 4.31). Toplamda en fazla bulunan fenotip %82 (123) oranla *nit1* olurken, bunu %15 (22) oranla NitM ve %3 (5) oranla *nit3* takip etmektedir (Şekil 4.32).



Şekil 4.31. FORL izolatlarından elde edilen *nit* mutantların iller düzeyinde fenotiplerine göre dağılımı



Şekil 4.32. FORL izolatlarından elde edilen toplam *nit* mutantların fenotiplerine göre dağılımı

4.2. Tartışma

Bu çalışmada Orta Karadeniz Bölgesi domates üretim alanlarında bulunan, birbirinden morfolojik olarak ayırt edilemeyen *Fusarium solgunluğu* etmeni *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) ve *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğü etmeni *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL)'nin yaygınlık ve şiddetinin belirlenmesi, moleküler yöntemler kullanılarak FOL (ırk 1, 2, 3) ve FORL izolatlarının birbirinden ayrılması ve patojenisiteleri ve *nit* mutantlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Orta Karadeniz bölgesinde domates yetiştirilen alanlarda hastalığın yaygınlığı ve şiddeti belirlenmiştir. Sürvey sonucunda solgunluk belirtisi gösteren bitkilerin en yaygın görüldüğü yer %11'lik oran ile Ordu ili iken, en yüksek hastalık şiddeti % 3.3 ile yine Ordu ili olmuştur. Kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı belirtileri ise en yaygın olarak %52.3 ile Amasya ili tarla ve sera alanlarında tespit edilirken hastalık şiddeti %19.4 ile en yüksek Amasya ilinde belirlenmiştir. Daha önce bu bölgede Samsun ilinde Erol ve Tunalı (2009) tarafından yapılan bir çalışmada 2005 yılında Tekkeköy ilçesinde domates bitkilerinin %19.8'i kök ve kökboğazı çürüklüğü hastalığı etmenleriyle enfekteli iken Vezirköprü'de %68.5'i enfekteli bulunmuştur. Aynı yıl bitkilerdeki hastalık şiddeti ise Tekkeköy'de %10.3 iken Kavak ilçesi ekim alanlarında % 49.7 olarak belirlenmiştir. Yapılan sürveylerde 2006 yılında Tekkeköy ilçesi domates bitkilerinde kök ve kökboğazı çürüklüğü hastalığıyla bulaşık bitkilerin oranı %17.9 iken en yüksek oran %70.6 ile Kavak ilçesinde belirlenmiştir. Hastalık şiddeti de incelendiğinde Tekkeköy'de %9.9 iken Çarşamba ilçesinde %40.2 olarak

bildirimiştir. Aynı çalışmada 2005 yılında kök ve kök boğazı çürüklüğü ve solgunluk belirtisi gösteren bitkilerden elde edilen 286 izolatın %47.9'unun *F. oxysporum* olduğu 2006 yılında incelenen 487 izolatın ise %52.4'ünün *F. oxysporum* olduğu ortaya konulmuştur. Ülkemizin birçok farklı bölgesinde yapılan çalışmalar (Karahan, 1960; Özalp ve Bağcı, 1968; Delen ve Yıldız, 1982; Karaca ve Öz, 1987; Erper ve Hatat, 1998; Kırbağ ve Turan, 2006) ve dünyanın birçok ülkesinde yapılan çalışmalar (Hartman ve Fletcher, 1991; Marois ve Mitchell, 1981; Marois ve ark., 1981; Jarvis, 1988; Rowe ve Farley, 1977) sebzelerde hastalık yapan en yaygın türün *F. oxysporum* olduğunu ortaya koymuştur. Aydın ili ve ilçelerinde açıkta domates tarımı yapılan alanlarda bitkilerin kök ve kök boğazında sorun olan *Fusarium* spp.'ni saptamak amacıyla 1996-1997 yıllarında survey çalışmalarında hastalık belirtisi gösteren bitkilerden yapılan izolasyonlarda büyük çoğunlukla *Fusarium* türleri (%81.08) elde edilmiştir. Patojen olduğu saptanan *Fusarium* türleri içinde en büyük grubu FOL'un (%48.15) oluşturduğu bildirilmiştir.

Morfolojik olarak solgunluk (FOL) ve kök ve kök boğazı çürüklüğü (FORL) belirtilerinin birbirinden ayırımı yapılabilse de diğer başka hastalıklarla karıştırılabilir. Nitekim hastalık belirtisi gösteren izolatlardan *Rhizoctonia solani*, *Verticillium* sp. gibi funguslar da izolae edilmiştir. Çolak, (2011) tarafından yapılan araştırmada, FORL'ün neden olduğu semptomlar arasında, toprak hattının 25-30 cm yukarısında damar sisteminde çikolata-kahverengi renk değişikliği ile taç ve kök çürüklüğü, korteks ve ksilem de kahverengi çürüklük, bodur ve solmuş bitkiler sayılabilir. Patojene maruz kalan nekrotik alanlar üzerinde patojenin pembemsi sporlaşması gövdedeki lezyonların yoğun olabildiğine dikkat çekmiştir. FOL semptomlarının, genellikle bitkinin sadece bir tarafındaki yaşlı yaprakların sararması şeklinde dikkat çektiğini, gövdenin bir tarafındaki dalların ise sıklıkla diğer taraftakilerden önce sarardığını ve damar sisteminin kahverengileşmesinin, teşhislerde kullanılabilecek hastalığın karakteristik özellikleri olduğunu bildirmiştir.

Yapılan değişik çalışmalarda bu iki etmen domates üretim alanlarında yaygın olarak tespit edilmiştir (Roberts et al., 2001; Szczechura et al., 2013; Yücel ve Çınar 1989; Can et al., 2004; Erol and Tunali 2009; Çolak, 2011; Altınok vd., 2023). Yücel ve Çınar (1989) yaptıkları çalışmada ülkemizde domates alanlarında FOL'u tespit etmişlerdir. Aydın ili ve ilçelerinde açıkta domates tarımı yapılan alanlarda bitkilerin kök ve kök boğazında sorun olan *Fusarium* spp.'ni saptamak amacıyla

1996-1997 yıllarında sürvey çalışmalarında belirti gösteren bitkilerden yapılan izolasyonlarda büyük çoğunlukla *Fusarium* türleri (%81.08) elde edilmiştir. Patojen olduğu saptanan *Fusarium* türleri içinde en büyük grubu FOL'un (%48.15) oluşturduğu bildirilmiştir (Yıldız ve D ken, 2001; Can et al., 2004) Doğu Akdeniz bölgesi domates alanlarında FORL'yi belirlemişlerdir.  olak ve Biçici (2013)'nin çalışmasında Adana'dan 7 Mersin'den 45 tane olmak üzere toplamda 52 FORL izolatu ile Adana'dan 6 ve Mersin'den 29 olmak üzere toplamda 35 FOL izolatu elde edilmiştir. Altınok vd. (2023) tarafından Antalya ve Mersin illerinde yapılan çalışmada ise domates bitkisinden izole edilen toplam 119 *F. oxysporum* izolatından 45 FOL ve 58 FORL izolatu teşhis edilmiştir. Orta Karadeniz bölgesinde yaptığımız çalışmada elde edilen izolatların 121'i FORL izolatu olarak teşhis edilirken 27'si FOL olarak teşhis edilmiştir. Bu bulgular ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar birbirleriyle örtüşmekte ve sonuçlar yıllar içerisinde FORL'un hızlıca yayıldığını göstermektedir.

Yapılan patojenisite denemeleri sonucunda en yüksek hastalık şiddeti indeksi FORL izolatlarında görülürken, en düşük değerler FOL izolatlarında görülmektedir. FORL ve FOL izolatları arasında kendi içinde de hastalık şiddeti yönüyle önemli farklılıklar bulunmuştur. Yaptığımız sürvey çalışmalarında arazide daha çok FORL etmeninin sorun oluşturduğunu, FOL'un oluşturduğu hastalığın daha az yoğunluk oluşturduğu bunun da dayanıklı çeşit ve kimyasal mücadelesi bulunan FOL etmeninin, FORL'a göre mücadelesinin daha kolay olması ve mücadele uygulamalarının yapılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Erol ve Tunalı (2009)'nın yaptığı patojenisite denemelerinde de kontrol ile karşılaştırıldığında bu patojenlerin yüzde hastalık şiddeti en yüksek izolatların FORL izolatları olduğu ve %50'den %82.5'e kadar hastalık şiddetinin oluştuğu hesaplanmıştır.

FORL ve FOL izolatlarının bitkilerde oluşturduğu belirtilere ilişkin parametreler incelendiğinde, izolatların aynı zamanda kök uzunluğu, gövde uzunluğu, kök yaş ağırlığı, gövde yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, gövde kuru ağırlığı değerlerinin istatistiksel olarak farklılık gösterdiği ve tüm uygulamaların kontrol ile istatistiksel olarak farklı gruplarda yer aldığı görülmektedir. Tüm izolatlar, söz konusu parametreleri yönüyle bitkileri olumsuz etkilemiş olup uzunlukları azaltıp, ağırlık değerlerini düşürmüştür. Demirer ve Durak tarafından 2014 yılında  ilek bitkisinde yapılan çalışmada *Fusarium* türleri arasında en yüksek virülenslik

değerine sahip izolatların *F. oxysporum* izolatları olduğu bulunmuştur. *F. oxysporum* ve diğer *Fusarium* türleri (*F. solani*, *F. acuminatum* ve *F. equiseti*) ile yapılan patojenisite çalışmasında kontrol grubuna göre bütün *Fusarium* türleri bitkilerin yaş ve kuru ağırlıklarında azalmaya, kök uzunluklarında da kısalmaya sebep olmuşlardır (Durak ve Demirci, 2014). Ayrıca Çinde yapılan bir çalışmada da *F. oxysporum* ile yapılan bir denemede kontrol grubuna göre patojenlerin bitkilerin kök uzunluğunda ve kuru ağırlıklarında azalma meydana getirdiği belirtilmiştir (Zhao et al., 2009).

Sürvey yapılan alanlardan alınan hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyonlarda FORL izolatu en fazla Samsun ilinden elde edilirken bunu Tokat, Amasya, Çorum ve Ordu izlemektedir. Üç farklı ırkı bulunan FOL izolatlarında ise FOL-1 Tokat ve Samsun illerinden izole edilirken, FOL-2 sadece Tokat ilinden, FOL-3 ise Tokat, Samsun, Amasya ve Ordu illerinden izole edilmiştir. Türkiye'nin Batı Akdeniz bölgesinde üretimin yoğun olduğu seralardan örnekler toplanmış ve elde edilen izolatlar spesifik primerler ile karakterize edilmiştir. *In vivo* koşullarda yapılan patojenite testlerinin yanı sıra, üç ırka (FOL 1, 2, 3) dayalı genotipleme test edilen ISSR ve SRAP işaretleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Moleküler analizler, abiyotik stres ile ilişkili olabilecek genetik çeşitliliği göstermiş, patojen izolatlarının FOL-3, FOL-2 ırkları ve FORL olarak teşhis edildiği bildirilmiştir (Baysal et al., 2009). Yaptığımız 2015 ve 2016 yıllarındaki sürvey çalışmaları sonucu domats bitkilerinden elde edilen izolatlardan FORL ve FOL ırklarının üçü de Orta Karadeniz bölgesinde ortaya çıkmıştır.

Morfolojik olarak birbirinden ayırt edilemeyen *F. oxysporum* alt türlerinin teşhisi bu hastalıklar ile mücadele açısından önemli olmaktadır. Çünkü FOL etmeninin neden olduğu solgunluk ile mücadelede çeşitli yöntemler etkili olurken, FORL etmeninin mücadelesinde etkin bir yöntem bulunmamaktadır. FOL etmeninin oluşturduğu solgunluk hastalığına karşı dayanıklı çeşit kullanımı, toprak fumigasyonu, fungisit uygulamaları ile bu hastalık engellenebilmektedir. Fakat FORL'nin neden olduğu kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığına karşı dayanıklılığa sahip ticari çeşitler piyasada henüz bulunmamaktadır. Bu nedenden dolayı her ikisi de domateste hastalığa neden olan bu etmenlerin birbirinden ayırt edilmesi, bu etmenlerle mücadele açısından büyük önem taşımaktadır. Solgunluk ve kök çürüklüğü hastalıklarına neden olan *Fusarium* türleri ile mücadele daha çok dayanıklı çeşit kullanımı, kültürel yöntemler ve kimyasal mücadele şeklinde

olmaktadır. Etmenlerin saprofitik olarak da yaşayabilme gibi biyolojik olarak sahip olduğu bazı özelliklerden dolayı ve dayanıklı çeşitlerin sınırlı kullanımı gibi nedenlerden dolayı kültürel mücadele tek başına yeterli olmadığı çeşitli araştırmacılarca bildirilmiştir (Landa et al., 2004; Yıldız vd., 2001; Çolak, 2011; Aydın, 2019; Bilici vd., 2021).

Patojenisite çalışmaları sonucunda FORL ve FOL ırk-3 izolatlarının diğer izolatlara göre virülensliklerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sürvey çalışması sırasında da FORL etmeninin neden olduğu semptomlara daha çok rastlanılmıştır. Kuzey Doğu Brezilya’da yapılan bir çalışmada; ırk 3’ün çoğunlukla ılıman iklimli bölgelerde yaygın olarak gözlemlendiği ırk 3’ün tanımlanmasında spesifik primerler ile PCR yapıldığı bildirilmiş, izolasyon için seçilen “Alambra” domates kültüvarı ırk 1 ve ırk 2’ye dirençli ve ırk 3’e duyarlı bulunmuştur. Yapılan çalışmanın sonucunda hastalık yüzdesinin bölgeye göre %10 ile %50 arasında değişkenlik gösterebildiği saptanmıştır (Barboza et al., 2013). Dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalara da bakıldığında FORL etmeninin neden olduğu hastalığın daha yaygın ve tahripkar olduğu görülürken, FOL etmenine daha az sıklıkta rastlanılmakta ve hastalıkla mücadele olanakları bulunmaktadır. Çolak, (2011) tarafından yapılan çalışmada toplam 87 izolattan %60’ı (52 izolat) FORL olarak belirlenirken, %40’ı (35 izolat) FOL olarak tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışmada ise toplam 148 izolatın %82’si (121 izolat) FORL olarak bulunurken, %18’i (27 izolat) FOL olarak belirlenmiştir. Çünkü FOL’a karşı geliştirilmiş dayanıklı çeşit yetiştirme, kimyasal mücadele ve toprak fumigasyonu veya buhar uygulaması ile solgunluk hastalığı bastırılabilir. Oysa FORL’un neden olduğu kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığına dayanıklı ticari olarak kesin kabul edilebilir çeşitler henüz geliştirilmiş değildir (Jones et al., 1991; Ozbay and Newman, 2004; Çolak, 2011).

Fusarium türleri, morfolojik özellikleri dikkate alınıp tanımlanabilse de *F. oxysporum*’daki patojenik *formae speciales*’leri ve ırklarını morfolojik olarak kesin bir şekilde ayırmak mümkün değildir. Günümüzde funguslarda tür ve alt türleri tanımlamak için moleküler markırlar popüler olmuştur. Domateste solgunluğa neden olan *Fusarium oxysporum*’un patojenik tiplerini (form ve ırk) hızlı bir şekilde tanımlamada PCR (Polymerase chain reaction) tekniği kullanılmaktadır. Japonya’da yürütülen bir çalışmada elde edilen FOL ve FORL izolatlarından endo

polygalacturonase (pgl) ve exo polygalacturonase (pgx4) genlerinin kısmi nukleotid dizilimleri karşılaştırılmıştır. Burada ayrıca patojenik tipler arasındaki nukleotid farklılıklarını belirlemek amacıyla spesifik primerler (uni, sp13, sp23 ve sprl) geliştirmiştir. Uni primer seti ile PCR FOL ve FORL'un tüm izolatlarından 670-672 bp fragment çoğaltmıştır. Sp13 primer seti yalnız FOL ırk 1 ve 3 izolatlarından 445 bp bir amplicon elde edilmiştir. Sp23 primer seti ile FOL ırk 2 ve 3 izolatlarından 518 bp bir fragment üretmiştir. Sprl primer seti FORL'un izolatlarından 947-bp bir fragment üretirken, FOL'dan üretmemiştir. Bu primer setleri ile bir amplifikasyon kombinasyonu domateste *F. oxysporum*'un patojenik tiplerini etkin olarak ayırabilmiştir (Hirano and Arie, 2006). Hirano ve Arie (2006) tarafından geliştirilen bu primerler (uni, sp13, sp23 ve sprl) kullanılarak yapılan bu çalışmada elde edilen 148 izolatın % 82'si (121) FORL, % 7'si (11) FOL-1, %2 (3)'si FOL-2 ve %9'u (13) FOL-3 olarak teşhis edilmiştir. Bu çalışma domateste solgunluk ve kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığının moleküler olarak ayırt edilmesi ile ilgili Orta Karadeniz bölgesinde yürütülmüş ilk çalışma olma niteliğindedir.

Antalya ve Mersin illerinde 2023 yılında yapılan çalışmada elde edilen toplam 45 FOL izolatının 20'si ırk-1, 7'si ırk-2 ve 18'si ise ırk-3 olarak tespit edilmiştir. 58 izolat ise FORL olarak belirlenmiştir. Bu izolatların virülenslikleri değerlendirildiğinde FOL izolatlarının %11'i yüksek virulent (YV), %58'si orta virulent (OV) ve %31'i ise düşük virulent (DV) olarak bulunmuştur. FORL izolatlarının ise %28'si yüksek virulent (YV) ve %72'si orta virulent (OV) olarak tespit edilmiştir (Altınok vd., 2023).

Domates solgunluk patojeni FOL, nitratı tek başına kullanma yeteneğine sahiptir. Nitratın varlığı, aerobik ve anaerobik koşullar altında azot kaynağı virülansla ilgili fonksiyonları aktive etmeğe yol açmakta ancak amonyumda bu durum söz konusu değildir. FOL'nin genomu üç paralogu nitrat redüktaz (NR) genleri (*nit1*, *nit2* ve *nit3*)'i kodladığı bildirilmiştir (Gil et al, 2018).

Correll et al. (1987)'ye dayanarak yaptığımız çalışmada nitrat içeren ortamda mutant gelişim (transparan ve ince) gösterenler *nit1*; nitrat ve nitrit içeren ortamda mutant gelişim gösterenler *nit3*; nitrat ve hipoksantin içeren ortamlarda mutant gelişim gösterenler ise NitM olarak belirlenmiştir. Toplam 17 FOL izolatından 46 klorata dayanıklı sektör elde edilmiştir. Bu izolatlardan 38 *nit* mutant olarak belirlenmiştir. Bu nit mutantların 28'i *nit1*, 1'i *nit3* ve 9'u ise NitM olarak tespit

edilmiştir. Diğer taraftan toplam 43 FORL izolatından 195 klorata dayanıklı sektör elde edilmiştir. Bu izolatlardan 150 nit mutant belirlenmiştir. Bu nit mutantların 123'ü nit1, 5'i nit3 ve 22'i ise NitM olarak tespit edilmiştir. Bu araştırmada nit mutant belirleme işleminde FOL ve FORL izolatlarından toplam 188 nit mutant belirlenmiştir. Böylece klorata dayanıklı sektörden nit mutant elde etme oranı FOL için %83 olurken, bu oran FORL için %77 olmuştur. Bu çalışma kapsamında toplam 79 FOL-FORL izolatın 60 tanesinden nit mutant elde edilebilmiştir. Nit mutantların fenotiplerinin belirlenmesi aşamasında ise en fazla bulunan mutant sınıfı FOL için %77 oranla nit1 iken, bunu %24 ile NitM izlemektedir. FORL için ise en fazla bulunan mutant sınıfı yine %82 oranla nit1 olurken, ardından %15 oranla NitM gelmektedir. nit3 ise her iki fungus için de en az elde edilen fenotip grubu olmuştur. Çalışmamızda klorata dayanıklı sektörlerden FOL için %83 oranında, FORL için %77 oranında nit mutant elde edilirken, Puhalla (1985), 16 *F. oxysporum* izolatında yaklaşık %60; Saabale (2013), 39 *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatından %76 oranında nit mutantı elde etmiştir. Benzer şekilde Dervis et al. (2007), 207 *V. dahliae* izolatından %52.1 oranında nit mutantı elde etmiştir. Bu durum bizim çalışmalarımızla paralellik göstermektedir. Fallahi vd. (2014) de, *F. solani* ile yaptığı çalışmada bizim bulgularımıza paralel olarak nit1 mutantının oranının nit3 ve NitM'den daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Nitrat asimilasyonunda ve FOL'nin virülansında nit1, nit2, nit3 ve ntr1 genlerinin rolünü netleştirmek için bir çalışma yürütülmüştür. Kantitatif RT-PCR analizi, tek nitrojen kaynağı olan nitratta büyüme sırasında yalnızca nit1, nit2 ve ntr1'in önemli seviyelerde ifade edildiği bildirilmiştir. Nitrojen kaynağı olarak nitrat, nit1 ve ntr1 proteinlerinin fungus tarafından nitrat asimilasyonuna dahil olduğunu göstermektedir; nit mutantlarının biyokimyasal analizi, Nit1 ve Nit2 enzimlerinin sırasıyla toplam NR aktivitesinin yaklaşık %50 ve %30'una katkıda bulunduğunu göstermiştir. Ek olarak, *F. oxysporum* 4287'den türetilen, NitFG olarak adlandırılan, aerobik ve anaerobik koşullar altında nitratta büyümemeye ve artan transkripsiyonuna rağmen düşük NR aktivitesi seviyeleri gösteren, nit1 ve nit2 genlerinin seviyeleri spontan bir klorata dirençli mutant olarak karakterize edilmiştir. (Gil et al, 2018). Bu araştırmada nit1 ve nit2 nin NR aktivitesinde sırasıyla yaklaşık %50 ve %30 aktivite gösterdiği bildirilse de bizim yaptığımız çalışmada nit2 bildirilmemiştir. Bunun nedeni *Fusarium* sp. de nitrat redüktaz enziminin bir

parçasını oluşturan molibden içeren kofaktörün bir parçasını kodlayan beş lokus (*nit2*, *nit4*, *nit5*, *nit6* ve *nit7*) bulunmaktadır. Bu beş lokusun tamamı aynı fenotipi gösterdiğinden NitM mutantları olarak adlandırılmaktadır. Bu kofaktör ayrıca pürin dehidrojenazının bir parçası olarak da işlev görmektedir. Eğer kofaktörün parçalarından biri değiştirilmişse, nitrat redüktaz veya pürin dehidrojenaz işlevini yerine getirememektedir. NitM mutantları, nitrat veya hipoksantini nitrojen kaynağı olarak kullanamadığından başka azotlu bileşikleri kullanmaktadır (Leslie and Summerell, 2006). Bizde de bu beş lokus birarada NitM mutanı olarak adlandırıldığından *nit2* ayrı olarak çalışmada yer almamaktadır.

Genetik çeşitlilik üzerine yapılan çalışmalar, öncelikle patojenik *F. oxysporum* izolatlarına odaklanmış, patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarına daha az dikkat çekilmiştir. Bao et al., (2002) tarafından çok çeşitli coğrafi konumları temsil eden domates köklerinden *F. oxysporum* izole edilmiş patojenik olmayan ve patojenik olan izolatlar incelenmiştir. Tüm izolatların genetik çeşitliliğinin analizi için AFLP, RAPD, ISSR ve rDNA dizileri gibi moleküler belirteçler kullanılmıştır. Patojenik ve patojenik olmayan izolatlar, ITS sekans analizi ve AFLP'ye dayalı olarak farklı kümelerle ayrılmıştır. Patojenik popülasyon, patojenik olmayan izolatlardan daha az çeşitlilik sergilemiş, çalışmalarda, hem patojenik hem de patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının coğrafi kökeni ve genetik profilleri arasında bir bağlantı olmadığını ortaya konulmuştur. Elias et al. (1991) semptomsuz domates köklerinden izole edilen patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatlarının FOL izolatlarıyla (VCGs 0030 ve 0032) benzerlik göstermediğini bildirmiştir. Diğer taraftan, ABD'nin Kaliforniya eyaletinden gelen üç patojenik olmayan izolat, VCG 0031'e ait patojenik FOL izolatları ile vejetatif olarak uyumlu bulunmuştur. Bu patojenik olmayan *F. oxysporum*, VCG 0031'in patojenik izolatları ile ortak bir IGS haplotipini, kısmi dizileri ve genomik DNA RFLP'lerini paylaşmıştır (Sasaki et al., 2015). Hastalık yapıcı mutasyonların, duyarlı bir konukçunun köklerine veya vasküler sistemine yakın olan patojenik olmayan bir izolatla meydana gelebileceğini araştırmacılar bildirmiştir (Yadeta and Thomma, 2013). Bu izolatın ayrıca çoğalabileceği ve bir salgına yol açabileceği de mümkün görülmektedir. Konukçunun dirençli çeşitleriyle savaşmak için VCG içinde virölansı değiştiren başka mutasyonlar meydana gelebilir ve bunun da yeni ırkların ortaya çıkmasına yol açabileceği belirtilmiştir (Biju et al., 2017). Yaptığımız çalışmada *F. oxysporum*

olarak teşhis edilen 157 izolattan 147 tanesi FORL veya FOL olarak spesifik primerler ile teşhis ediliken 10 izolat *F. oxysporum* olarak belirlenmiştir. Bu izolatlarında virulansı değiştiren mutasyonlarla virulensinin artabileceği yeni ırkların ortaya çıkabileceği bir olasılıktır.



5. SONUÇ

Ülkemizde yaygın olarak tespit edilen FORL ve FOL etmenleri ile yapılan bu çalışmada, bu etmenlerin Orta Karadeniz bölgesindeki yaygınlığı ve hastalık şiddeti, elde edilen etmenlerin FORL veya FOL olarak tanımlanması, FOL'un ırklarının belirlenmesi, patojenisite denemeleri ve nit mutantlarının belirlenmesi çalışmaları yapılmıştır.

Sürvey sonucunda solgunluk hastalığının en yaygın görüldüğü yer %11 oran ile Ordu ili iken, en yüksek hastalık şiddeti yine %3.3 ile Ordu ilinde bulunmuştur. Kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı ise en yaygın olarak %52.3 ile Amasya ilinde tespit edilirken hastalık şiddeti %19.4 ile en yüksek yine Amasya ilinde görülmüştür.

Yapılan patojenisite denemeleri sonucunda en yüksek hastalık şiddeti indeksi FORL izolatlarında görülürken, en düşük değerler FOL izolatlarında görülmüştür. Patojenisite çalışmaları sonucunda FORL ve FOL ırk-3 izolatlarının diğer izolatlara göre virülensliklerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Sürvey çalışması sırasında da FORL etmeninin neden olduğu semptomlara da daha çok rastlanılmıştır.

Spesifik primerler (uni, sp13, sp23 ve sprl) kullanılarak yapılan bu çalışmada elde edilen 148 izolatın % 82'si (121) FORL, % 7'si (11) FOL-1, %2 (3)'si FOL-2 ve %9'u (13) FOL-3 olarak teşhis edilmiştir.

Yapılan bu çalışma ile özellikle mücadeleleri birbirinden farklı olan ve morfolojik olarak birbirinden ayırt edilemeyen FOL ve FORL etmenlerinin moleküler teşhisi yapılarak yaygınlık ve şiddeti belirlenmiştir. Ayrıca Orta Karadeniz bölgesinde FOL'un üç ırkının da mevcut olması önemli bir bulgu olarak düşünülmektedir.

Bu çalışma kapsamında 17 FOL izolatından 38 *nit* mutant, 43 FORL izolatından ise 150 *nit* mutant elde edilmiştir. Nitratın varlığı, aerobik ve anaerobik koşullar altında azot kaynağının virülansla ilgili fonksiyonları aktive etmeğe yol açması yönüyle önemlidir.

Orta Karadeniz Bölgesine bağlı beş ilde solgunluk ile kök ve kökboğazı çürüklüğü yapan etmenlerinin, domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda oldukça yaygın olduğu belirlenmiştir. FOL ve FORL etmenlerinin bitkide verimi olumsuz yönde etkileyerek önemli ürün kayıplarına neden olduğu bilinmektedir. Yapılan

Çalışma ile de hastalık etmenlerinin bitkilerin uzunlukları azaltıp, ağırlık değerlerini dūřurdūęu belirlenmiştir. Toprak patojenleri arasında kök ve kkboğazu rrklęu hastalıklarıyla mücadelenin oldukça zor ve zaman alıcı olmasından dolayı etmenlerin varlığını en aza indirmek için öncelikle yre üreticileri bu konuda bilgilendirilmelidir. Daha sonra bu hastalıklarla mücadele açısından dayanıklı çeşit kullanımı ve münavebe programları yre üreticilerine benimsetilmelidir. Araştırma sırasında inceleme yapılan sera ve tarla alanlarında sulamanın genelde salma sulama şeklinde yapıldığı, çok az alanda damla sulamanın yapıldığı gözlenmiştir. Salma sulamanın yapıldığı sera ve tarla alanlarında hastalık yoğunluğunun daha fazla olduğu tespit edilirken damlama sulama yapılan sera ve tarla alanlarında hastalık yoğunluğunun daha az olduğu gözlenmiştir. Ağır, su tutma kapasitesi yüksek olan topraklarda art arda domates yetiştirilen alanlarda hastalığın daha yoğun ve daha şiddetli olarak ortaya çıktığı gözlenmiştir. Langston ve Eaker (2009)'nın yaptıkları bir çalışmada, özellikle toprakla taşınan patojenlerle mücadelede en az 3-5 yıl münavebe uygulamaları, dayanıklı çeşit kullanımı, sanitasyon, düzenli sulama ve gübreleme, yabancı otların ve bitki artıklarının araziden uzaklaştırılması gibi kültürel metotların, patojenlerin neden olduğu hastalıkları önlenmesi açısından önemli olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle bulaşıklığa rastlanılan yerlerde aşırı sulamadan kaçınılmalı ve toprak patojenlerinin hızla yayılmasını engellemek için sulamanın salma sulama yerine damla sulama şeklinde yapılması sağlanmalıdır. Bunun yanı sıra sıcaklık ve nemin kök ve kkboğazu rrklęu etmenlerinin gelişimi üzerine olumlu etkisi olduğu unutulmamalı ve özellikle seralarda mümkün olduğunca düzenli havalandırma yapıp, sık ekimden kaçınılmalıdır.

Bu alışma lkemizde FORL'un giderek yaygınlığının arttığını ve hastalıkla mücadele konusunda gerekli çalışmaların en kısa zamanda başlamasının büyük fayda sağlayacağını göstermektedir. Ayrıca Orta Karadeniz bölgesinde FOL'un üç ırkının da mevcut olması dayanıklı olan çeşitlerin de sıklıkla incelenerek dayanıklılığın kırılma riskine karşı yeni çeşitlerin de denenmesinin yararlı olacağını göstermektedir.

FORL ile kimyasal mücadelenin etkili olmaması, toprak fumigantlarının oldukça sınırlı olması ve özellikle bu kimyasalların yüksek derecedeki toksik etkilerinden dolayı insan ve evre sağlığında ciddi sorunlar meydana getirmeleri nedeniyle kök ve kkboğazu rrklğu hastalıklarının mücadelesinde alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır (Langston and Eaker, 2009; Srivastava et al.,

2013). Diğer taraftan FOL'un oluşturduğu solgunluk hastalığı ile biyolojik m¼cadele hen¼z pratiğe kimsayal m¼cadele kadar etkili olarak aktarılmamıştır. Bu nedenle FORL ve FOL hastalıklarına karşı m¼cadele y¼ntemleri arasında k¼lt¼rel m¼cadelenin yanı sıra ¼zellikle dayanıklı ¼eřit kullanımı, hem ekonomik olması hem de ¼evreye olumsuz bir etkisinin olmaması nedeniyle b¼y¼k avantaja sahiptir. Bundan dolayı bu hastalıklarla bulaşık olduğu belirlenen alanlarda konukçusu olan sebzeler ekilmemeli ya da dayanıklı ¼eřit kullanımına ¼zen g¼sterilmelidir. Hastalığın yoğun ve şiddetli g¼r¼ld¼đu alanlarda patojen inokulumunun artışına neden olmamak i¼in ana konukçuları olan domatesin yerine konukçusu olmayan bitkiler ekilerek rotasyon yapılmalıdır. Aynı zamanda sera toprağının temizlenmesi amacıyla f¼migasyon ve solarizasyon uygulamasının yapılması hastalıkları azaltacaktır. Bundan sonraki ¼alıřmalarda, etkin bir m¼cadele stratejisi geliştirmek amacıyla, b¼lgede tespit edilen bu etmenlerin yanı sıra faydalı mikroorganizmaların pop¼lasyonunun belirlenmesi ve bu etmenlerle olan ilişkisi g¼z ¼n¼ne alınarak b¼lge geneli i¼in biyolojik m¼cadele ¼alıřmalarının araştırılması yerinde olacaktır. Sonuç olarak, solgunluk ile k¼k ve k¼kbođazı hastalıklarını ¼nlemek i¼in iyi toprak drenajı sağlamak, temiz tohum ve fide kullanmak, tohum ve toprak dezenfeksiyonu yapmak, sık ekimden ve fazla sulamadan ka¼ınmak, dayanıklı ¼eřit yetiştirmek, hastalıklı bitkileri s¼k¼p atmak, gerekirse ekim n¼beti uygulamak gibi tedbirler ¼nerilebilir. Bu ¼alıřmayla, Orta Karadeniz B¼lgesine ait beş ilde domates yetiştiriciliğinin yapıldığı alanların FOL'un ¼¼ ırkının da bulunduğu ve FORL'un yaygın patojen olduğu ortaya konmuştur. Yapılan bu ¼alıřma ile alınan sonuçların b¼lge i¼in faydalı olacağı d¼ř¼ncesindeyiz. FORL ve FOL'un bitkilerin yaşamını, verimini ve kalitesini olumsuz y¼nde etkileyerek ¼reticilerin ve ¼lke ekonomisinin zarar g¼rmesine neden olduğu d¼ř¼n¼ld¼đ¼nde bu sonuçların değerlendirilmesinin ileride yapılacak olan bu y¼ndeki ¼alıřmalar i¼in ¼nemli olduğu d¼ř¼n¼lmektedir.

KAYNAKLAR

- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology*. London: Elsevier Academic Press.
- Aktaş, H. (2001). Önemli Hububat Hastalıkları ve Sürvey Yöntemleri. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı yayınları, 74, Ankara.
- Alabouvette, C., Lemanceau, P. and Steinberg, C. (1993). Recent advances in biological control of fusarium wilts. *Pesticide Sciences*. 37.365-373.
- Alexander L. J. and Tucker C.M. (1945). Physiological specialization in the tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *J. Agric Res*. 70.303–313
- Altınok, H. H. (2006). *Doğu Akdeniz Bölgesi'nde patlıcanda Fusarium solgunluğu hastalığı (Fusarium oxysporum Schlecht. f. sp. melongenae Matuo and Ishigami)'nın yaygınlığı, etmenin moleküler karakterizasyonu ve bitkide hastalığa karşı dayanıklılığın uyarılması*. Doktora tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 141, Adana.
- Altınok, H. H., Canan, C., Demirel, Ö. ve Yüksel G. (2023). Akdeniz İklimindeki Domates Seralarında Fusarium Solgunluk ve Fusarium Kök & Kök Boğazı Çürüklüğü Hastalık Etmenlerinin Moleküler Tanısı ve Virülenslikleri. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*. 9(1).36 -49.
- Anonim (2016). TÜİK. Türkiye İstatistik Kurumu. Bitkisel Üretim İstatistikleri. *Domates*. <https://biruni.tuik.gov.tr>. (Erişim tarihi: 10.02.2023)
- Anonymous (2016). FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *FAOSTAT*. <http://faostat.fao.org> (Erişim tarihi: 10.02.2023)
- Anonim (2022). TÜİK. Türkiye İstatistik Kurumu. Bitkisel Üretim İstatistikleri. *Domates*. <https://biruni.tuik.gov.tr>. (Erişim tarihi: 10.02.2023)
- Anonymous (2021). FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *FAOSTAT*. <http://faostat.fao.org> (Erişim tarihi: 10.02.2023)
- Appel, D.J. and Gordon, T.R. (1994). Local and regional variation in population of *Fusarium oxysporum* from agricultural field soils. *Phytopathology*. 84.786-791.
- Attittalla I. H., Fatehi, J., Levenfors, J. and Brishammar, S. (2004). A Rapid molecular method for differentiating two special forms (*lycopersici* and *radicis-lycopersici*) of *Fusarium oxysporum*. *Mycological Research*. 108 (7). 787-794.
- Aybak, H. Ç. (2015). *Serada ve Açık Alanda Domates Yetiştiriciliği*. İstanbul: Hasad Yayıncılık.
- Aydın, M. H. (2019). Nohut (*Cicer arietinum* L.)'ta Solgunluğa Neden Olan *Fusarium oxysporum*'un Biyolojik Mücadelesi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*. 6(1).65-72.
- Bao, J. R., Fravel, D. R., O'Neill, N. R., Lazarovits, G. and Berkum. P. V. (2002). Genetic analysis of pathogenic and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* from tomato plants. *Canadian Journal of Botany*. 80(3).271-279.
- Bao, J., Fravel, D., Lazarovits, G., Chellemi, D., Berkum, P. V. And O'Neill N. (2001). Population structure of *Fusarium oxysporum* in conventional and organic tomato production in Florida. *American Phytopathological Society Annual Meeting*. Ota Poster Session B.
- Barboza, E. A., Cabral, C. S., Gonçalves, A. M., Reis, A., Fonseca, M. E. N. and Boiteux. L. S. (2013). Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Race 3 Infecting Tomatoes in Northeast Brazil. *Plant Disease*. 97(3).422-422.

- Baysal, O., Siragusa, M., İkten, H., Polat, I., Gumrukcu, E., Yigit, F., Carimi, F. and Teixeira da Silva, J. A. (2009). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races and their genetic discrimination by molecular markers in West Mediterranean region of Turkey. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 74.68–75.
- Bentley, S., Pegg, K. G., and Dale, J. L. (1995). Genetic variation among a worldwide collection of isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analyzed by RAPDPCR fingerprinting. *Mycol.Res.* 11.1378-1384.
- Biju, V. C., Fokkens, L., Houterman, P. M., Rep, M. and Cornelissen B. J. C. (2017). Multiple evolutionary trajectories have led to the emergence of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Appl. Environ. Microbiol.* 8.2548-2616.
- Bilici, S., Demir, S. ve Boyno, G. (2021). Uçucu Yağ ve Arbusküler Mikorhizal Fungus'un Domates Kök ve Kök Boğazı Çürüklüğü (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* Jarvis & Shoemaker) Hastalığına Etkileri. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 11(2).857-868.
- Bogale M., Wingfield, B. D., Wingfield, M. J. and Steenkamp, E. T. (2007). Species-specific primers for *Fusarium redolens* and PCR-RFLP technique to distinguish among three clades of *Fusarium oxysporum*. *FEMS Microbiol Lett.* 271.27-32.
- Blancard, D. (2005). *Domates Hastalıkları Gözlem Teşhis Mücadele*. (Çeviri: Abak, K. ve Sarı, N.). Hasad Yayıncılık, İstanbul.
- Bohn, G.W. and Tucker, C. M. (1939). Immunity to *Fusarium* wilt of tomato. *Science* 89.603–604.
- Bosland, P.W. and Williams, P. H. (1987). An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility, and geographic origin. *Can.J.Bot.* 65.2067-2073.
- Can, C., Elekcioglu, H., Yücel S. ve Özasan, M. (2003). Seralarda domates *Fusarium* solgunluğuna neden olan türlerin tanısı, hastalık oluşumunda nematodlar ile ilişkileri ve mücadele olanaklarının belirlenmesi. *Tübitak Sonuç Raporu*. Proje No: TARP-2371.
- Can, C., Yucel S., Korolev, N. and Katan, T. (2004). First report of *Fusarium* crown and root rot of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in Turkey. *Plant Pathology*. 53(6).814 -814.
- Chandler, J. M. and Santelman, P. W. (1968). Interaction of four herbicides with *Rhizoctonia solani* on seedling cotton. *Plant Pathology*. 841.53-6.
- Correll J. C., Klittich, C. J. R. and Leslie, J. F. (1987). Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* 77:1640-1646.
- Correll, J. C. (1991). The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*. 81.1061-1064.
- Çolak, A. (2011). *Doğu Akdeniz Bölgesi örtü altı domates yetiştiriciliğinde Fusarium oxysporum* speşyal form ve ırklarının yaygınlığı, moleküler yöntemlerle ayrımı ile kök ve kök boğazı çürüklüğü (*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis & Shoemaker) hastalığının entegre yönetimi. Doktora tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim dalı, 176, Adana.
- Datnoff, L. E. and Pernezny, K. L. (2001). *Paenibacillus macerans* and *Trichoderma harzianum* enhance transplant growth and suppress *Fusarium* crown and root rot in Florida tomato production. *Caribbean Division Meeting Abstracts*. La Habana, Cuba.Publication No. P- 2002-0025-CRA.

- Delen, N. and Yıldız, M., (1982). Fungicide resistance of some fungal pathogens isolated from greenhouses in Turkey. *J. Turk. Pytopath.* 11(1-2).33-40.
- Dervis, S., Erten, L., Soylu, S., Tok, F. M., Kurt, S., Yıldız, M. and Soylu E. M. (2007). Vegetative compatibility groups in *Verticillium dahliae* isolates from olive in western Turkey. *European Journal of Plant Pathology.* 119.437–447.
- Dilmaç, M., Dinler, H. ve Kaki, B. (2020). Nonpatojen *Fusarium* spp.'lerinin Nohutta *Fusarium* Solgunluğuna Karşı *in vitro* Koşullarda Antagonist Etkilerinin Belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi.* 7(3).775–792.
- Durak E. D. ve Demirci E. (2014). Erzurum İlinde Çilek Bitkilerinden İzole Edilen *Fusarium* Türlerinin Patojeniteleri. *Bitki Koruma Bülteni.* 54(3).247-253.
- Edel V., Steinberg, C., Avelange I., Laguerre G. and Alabouvette C. (1995). Comparison of three molecular methods for the characterization of *Fusarium oxysporum* strains. *Phytopathology.* 85.579-585.
- Elias, K.S. and Schneider, R.W. (1991). Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology.* 81:159-161.
- Elias, K. S., Schneider, R. W. and Lear, M. M. (1991). Analysis of vegetative compatibility groups in nonpathogenic populations of *Fusarium oxysporum* isolated from symptomless tomato roots. *Can. J. Bot.* 69.2089-2094.
- Ellis, M. H., Rebetzke, R. H., Azanza, F., Richards, R. A. and Spielmeyer, W. (2005). Molecular mapping of gibberellin-responsive dwarfing genes in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics.* 111.423-430.
- El Komy, M. H., Saleh, A. A., Eranthodi, A. and Molan, Y. Y. (2015). Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato *Fusarium* wilt. *Plant Pathology Journal.* 31(1).50-60.
- Erincik, B. G. (2015). *Aydın ilinde karpuz Fusarium solgunluğu hastalığının yaygınlık ve yoğunluğu, etmeni Fusarium oxysporum f. sp. niveum (Fon) 'un ırkları, vejetatif uyum grupları ve bazı karpuz çeşitlerinin etmene karşı reaksiyonları.* Doktora tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, 113, Aydın.
- Erol, F. Y. and Tunalı, B. (2009). Determination root and crown rot diseases in tomato growing area of Samsun province. *Acta Horticulturae.* 808: 65-69.
- Erper, İ. ve Hatat, G. (1998). Samsun ili sebze seralarında kök çürüklüğü ve solgunluk hastalığının yayılışının, yoğunluğunun ve hastalığa neden olan etmenlerin belirlenmesi. Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 21-25 Eylül 1998, Ankara, 283-287.
- Fernandez, D., Assigbese, K., Dubois, M. P. and Geiger J. P. (1994). Molecular Characterization of Races and Vegetative Compatibility Groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. *Applied Environmental Microbiology.* 60(11).4039-4046.
- Fravel, D. R. ve Larkin, R. P. (2002). Reduction of *Fusarium* wilt of hydroponically-grow basil by *Fusarium oxysporum* strain CS-20. *Crop Protection.* 21(7).539-543.
- Garibaldi, A., Brunatti, F. and Gullino, M. L. (1986). Suppression of *Fusarium* wilt of carnation by competitive nonpathogenic strains of *Fusaria*. *Medical Fac Landbouw Rijksuniv Gent.* 51(2).633-638.
- Gasco, M. M. and Díaz, R. M. (2003). Development of a specific polymerase chain reaction-based assay for the identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and its pathogenic races 0, 1A, 5, and 6. *Phytopathology.* 93(2).200-209.

- Geiser, D. M., Jiménez-Gasco, M. M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T. J., Zhang, N., Kuldau G. A. and O'donnell K. (2004). FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA Sequence Database for Identifying Fusarium. *European Journal of Plant Pathology*. 110.473–479.
- Genç, T. (2012). *Erzurum ve Erzincan illerinde çilek bitkilerinden izole edilen Verticillium dahliae Kleb.'nın vejetatif uyum grupları, patojenisitesi ve biyolojik mücadelesi*. Doktora tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, 128, Erzurum.
- Gerlach, K. S., Bentley, S., Moore, N. Y., Aitken, E. A. B. and Pegg, K. G. (1999). Investigation of non-pathogenic strains of *Fusarium oxysporum* for suppression of Fusarium wilt of banana in Australia. 28. In: Alabouvette C, ed. Second International Fusarium Workshop. Dijon, France:INRA-CMSE, 54.
- Gil, L. G., Almiron, J. C., Carrillo, P. L. R. Medina, C. N. O. Ruiz, G. B. Rodriguez, P. R. Escobosa, A. R. C., Corona, F. G. and Roncero. M. I. (2018). Nitrate assimilation pathway (NAP): role of structural (*nit*) and transporter (*ntr1*) genes in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* growth and pathogenicity. *Current Genetics*. 64.493–507.
- Grattidge, R. and O'Brien, R. G. (1982). Occurrence of a third race of Fusarium wilt of tomatoes in. Queensland. *Plant Disease*.66.165-166.
- Gonsalves, A. K. and Ferreira S. A. (1993). *Fusarium oxysporum*. Crop Knowledge Master.
- Gordon, T. R. and Okamoto, D. (1992). Population structure and the relationships between pathogenic and nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*. 82.73-77.
- Gordon, T. R. and Martyn, R. D. (1997). The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology*. 35.111-128.
- Gould, W. A. (1983). Tomato Production, Processing and Quality Evaluation. Avi., Pub. Co., Westport, CO., 445.
- Hartman, J. R. and Fletcher, J. T. (1991). Fusarium crown and root rot of tomatoes in the UK. *Plant Pathology*. 40.85-92.
- Hawksworth, D. L., Sutton, B. C. and Ainsworth, G. C. (1983). *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 7th edition. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- Hibar, K., Remadi, M., Khiareddine, H. and Mahjoub, M. (2006). Control of fusarium crown and root rot of tomato, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*, by grafting onto resistant rootstocks. *Plant Pathology Journal*. 5(2).161-165.
- Hirano Y. and Arie T. (2006). PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum* ff. sp. *lycopersici* and *radicis-lycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *J. Gen Plant Pathology*. 72.273–283.
- Jacobson, D. J. and Gordon, T. R. (1988). Vegetative compatibility and self incompatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Phytopathology*. 78.668-672.
- Jarvis, W. R. and Thorpe, H. J. (1981). Control of Fusarium foot and root rot by soil amendment with lettuce residues. *Can. J. Plant Pathol*. 3.159-162.
- Jarvis W. R. (1988). Fusarium crown and root rot of tomatoes. *Phytoprotection*. 69.49-64.
- Jones, J. B., Jones, J. P., Stall, R. E. and Zitter, T. A. (1991). Compendium of Tomato Diseases. *American Phytopathological Society*. St. Paul, MN. 14-15.
- Kabaş, A. (2008). *Domateste Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici'ye karşı dayanıklılık için moleküler işaretleyicilerin belirlenmesi*. Doktora tezi. Ege üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 123, İzmir.

- Kabelka, E., Yang, W. and Francis, D. M. (2004). Improved tomato fruit color within an inbred backcross line derived from *Lycopersicon esculentum* and *L. hirsutum* involves the interaction of loci. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 129(2).250-257.
- Karaca, İ. ve Öz, S. (1987). Ege bölgesinde sebze türlerinden izole edilen *Fusarium* türleri üzerinde taksonomik araştırmalar. *Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi*. 11(2).362-371.
- Karahan, O. (1960). Çukurova bölgesi solgunluk hastalığı amilinin (*Fusarium*) türleri zarar dereceleri ve bu hastalığa mukavim domates varyetelerinin tespiti üzerine çalışmalar. Ankara Ziraî Mücadele Enstitü Müdürlüğü, No:13, 68 s.
- Katan, T. (1996). Vegetative-compatibility groups in populations of *Fusarium oxysporum* in Israel. *Phytoparasitica*. 24.2.
- Katan, T. (1997). Vegetative compatibility in populations of *Verticillium*- an Overview. (E.J.Tjamos, R.C.Rowe, J.B. Hale and D.r. Farvel, eds). *Advances in Verticillium Research and Diseases management*. APS Pres. St. Paul, Mnn., p:69-86.
- Katan, T., Shlevin, E., and Katan, J. (1997). Sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on stem surfaces of tomato plants, and aerial dissemination of inoculum. *Phytopathology*. 87.712-719.
- Katan, T. (1999). Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytoparasitica*. 27(1).51-64.
- Katan, T. and Katan, J. (1988). Vegetative compatibility grouping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* from tissue and the rhizosphere of cotton plants. *Phytopathology*. 78.852-855.
- Katan, T., Zamir, D., Sarfati, M. and Katan J. (1991). Vegetative compatibility groups and subgroups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. *Phytopathology*. 81.255–262.
- Katan T. and Katan J. (1999). Vegetative compatibility grouping in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* from the UK, the Netherlands, Belgium and France. *Plant pathology*. 48(4).541-549.
- Katsube, K., Akasaka, Y. and Nakatani, F. (1994). Biocontrol of *Fusarium* wilt of spinach by using nonpathogenic *Fusarium oxysporum*, 2: Investigation of inoculation methods. *Annual Report of the Society of Plant Protection of North Japan*. 445.72-75.
- Kılıçoğlu, Ç. M. (2009). *Karadeniz sahil şeridinde fasulye bitkisi ve rizosfer bölgesinden izole edilen multinükleat Rhizoctonia spp.'nin genetik çeşitliliğinin belirlenmesi*. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 126s.
- Kırbağ, S. ve Turan, N. (2006). Malatya’da yetiştirilen bazı sebzelerde kök ve kökboğazı çürüklüğüne neden olan fungal etmenler. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*. 18(2).159-164.
- Kistler, H. C. (1997). Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*. 87.474-479.
- Kistler, H. C., Alabouvette, C., Baayen, R. P., Bently, S., Brayford, D., Coddington, A., Correl, J., Daboussi, M. J., Elias, K., Fernandez, D., Gordon, T. R., Katan, T., Kim, H. G., Leslie, J. F., Martyn, R. D., Migheli, Q., Moore, N. Y., O'Donnell, K., Ploetz, R. C., Rutherford, M. A., Summerell, B., Waalwijk, C. and Woo, S. (1988). Systematic numbering of vegetative compatibility groups in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*. 88(1).30-32.

- Krnjaja, V., Lević, J., Stanković, S. and Vasić, T. (2013). The use of vegetative compatibility tests for identification of biodiversity of phytopathogenic fungi. *Pestic. Phytomed.* 28(3),157–165.
- Landa, B. B., Navas-Cortés J. A. and Jiménez-Díaz R. M. (2004). Influence of temperature on plant–rhizobacteria interactions related to biocontrol potential for suppression of fusarium wilt of chickpea. *Plant Pathology.* 53.341–352.
- Langston, D. and Eaker, T. (2009). Disease control in the home vegetable garden. Cooperative Extension Service/The University of Georgia College of Agricultural and Environmental Sciences, Circular. 862:1-4
- Larkin, R. P., Hopkins, D. L., and Martin, F. N. (1990). Vegetative compatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and its relationship to virulence, aggressiveness, and race. *Can.J.Microbiol.* 36.352-358.
- Larkin, R. P., Hopkins, D. L. and Martin, F. N. (1993). Ecology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in soils suppressive and conducive to Fusarium wilt of watermelon. *Phytopathology.* 83.1105- 1116.
- Larkin, R. P., Hopkins, D. L. and Martin, F. N. (1996). Suppression of fusarium wilt of watermelon by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other microorganisms recovered from a disease suppressive soil. *Phytopathology.* 86.812-819.
- Liu, D. (2009). *Molecular Detection of Foodborns Pathogens*. CRC Press LLC, 905.
- Robert P. Larkin and Deborah R. Fravel. (1998). Efficacy of Various Fungal and Bacterial Biocontrol Organisms for Control of Fusarium Wilt of Tomato. *Plant Disease.* 82(9),1022-1028.
- Lemanceau, P. and Alabouvette, C. (1991). Biological control of fusarium diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. *Crop Protection.* 10.279-286.
- Leslie, J. F. (1993). Fungal vegetative compatibility. *The Annual Review of Phytopathology.* 31.127-50.
- Leslie, J. F. and Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Iowa: Blackwell Publishing.
- Logrieco, A., Moretti, A., Perrone, G. and Mulè G. (2007). Biodiversity of complexes of mycotoxigenic fungal species associated with Fusarium ear rot of maize and Aspergillus rot of grape. *International Journal of Food Microbiology.* 119, Issues 1–2, 20 October 2007, Pages 11-16.
- Mandeel, Q. and Baker, R. (1991). Mechanisms involved in biological control of Fusarium wilt of cucumber with strains of nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology.* 81.462-469.
- Magie, R. O. (1980). Fusarium disease of gladioli controlled by inoculation of corms with non-pathogenic Fusaria. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society.* 93.172-175.
- Malhotra, S. K. and Vashistha, R.N. (1993). Genetics of Resistance to Fusarium Wilt Race 1 in Current Tomato (*Lycopersicon pimpinellifolium*). *Indian J. Agric. Sci.* 63.246-347.
- Marois, J. J. and Mitchell, D. J. (1981). Effects of fumigation and fungal antagonists on the relationships of inoculum density to infection incidence and disease severity in Fusarium crown and root rot of tomato. *Phytopathology.* 71.167-170.
- Marois, J. J., Mitchell, D. J. and Sonoda, R. M., (1981). Biological control of Fusarium crown rot of tomato under field condition. *Phytopathology.* 71.1257-1260.

- Martyn, R. D., Biles, C.L. and Dillard, E.A. (1991). Induced resistance to *Fusarium* wilt of watermelon under simulated field conditions. *Plant Dis.* 75:874-877.
- Martyn, R. D. (1996). *Fusarium* wilt of watermelon. In: Compendium of Cucurbit Diseases. (Zitter, T.A., Hopkins, D. L., and Thomas C.E., Eds.). *The American Phytopathological Society*. pp. 13-14. St. Paul, MN.
- McGrath, D. J., Gillespie D. and Vawdrey, L. (1987). Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* races 2 and 3 in *Lycopersicon pennellii*. *Aust. J. Agric. Res.* 38:729-733.
- Miller, A.S., Rowe, C.R. and Riedel, M.R. (1996). *Fusarium* and *Verticillium* wilts of tomato, potato, pepper and eggplant. The Ohio State University Extension Plant Pathology, HGY-3122-96. 2021 Cofey Road. Columbus, OH.
- Minuto, A., Migheli, Q. and Garibaldi, A. (1995). Evaluation of antagonistic strains of *Fusarium* spp. in the biological and integrated control of *Fusarium* wilt of cyclamen. *Crop Protection*. 14:221-226.
- Momol, T., Ji, P., Pernezny, K., McGovern, R. and Olson, S. (2005). Three Soilborne Tomato Diseases Caused by *Ralstonia* and *Fusarium* Species and their Field Diagnostics. *University of Florida IFAS Extension*. 205.
- Moreno, C., S., Ancos, B., Plaza, L., Martinez, P., E., and Cano, M., P. (2008). Nutritional characterization of tomato juices. In: *Tomato and Tomato Products Nutritional, Medicinal and Therapeutic Properties*. Predy, V.R. Watson, R.R. (eds), Science Publisher, 664, USA.
- Moretti, A. (2009). Taxonomy of *Fusarium* genus: A continuous fight between lumpers and splitters. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*. 117(117).
- Nelson, A. M., Elias K. S., Arévalo E. G., Darlington L, C. and Bailey, B. A. (1997). Genetic Characterization by RAPD Analysis of Isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. associated with an Emerging Epidemic in Peru. *Phytopathology*. 87:1220-1225
- O'Donnell, K. (2000). Molecular Phylogeny of the *Nectria haematococca-Fusarium solani* Species Complex. *Mycologia*. 92(5):919-938.
- Ogawa, K. and Komada, H. (1984). Biological control of *Fusarium* wilt of sweet potato by nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. *Japanese Journal of Phytopathology*. 50:1-9.
- Omar, I., O'Neill, T. M. and Rossall, S. (2006). Biological control of fusarium crown and root rot of tomato with antagonistic bacteria and integrated control when combined with the fungicide carbendazim. *Plant Pathology*. 55:92-99.
- Ozbay, N. and Newman, S. E. (2004). *Fusarium* crown and root rot of tomato and control methods. *Plant Pathology Journal*. 3(1). 9-18.
- Ötleş, S. ve Atılı, Y. (1997). Karotenoidlerin insan sağlığı açısından önemi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*. 3(1). 249-254.
- Özalp, M. O., ve Bağcı, M., (1968). Domates solgunluk hastalığı (fusariose)'na mukavim çeşit tespiti üzerine araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*. 8(4):238-255.
- Patil, S., Sriram, S. and Savitha M. J. (2011). Evaluation of non-pathogenic *Fusarium* for antagonistic activity against *Fusarium* wilt of tomato. *Journal of Biological Control*. 25(2):118-123.
- Paulitz, T. C., Park, C. S. and Baker, R. (1987). Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber with non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Microbiology*. 33(5):349-353.
- Pena, R. J. H. (2005). *Fusarium* wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in Baja California Sur, Mexico. *Plant Disease*. 12:1360.

- Petro-Turza, M. (1987). Flavor of Tomato and Tomato Products. *Food Review International*. 2(3).309-351.
- Ploetz, R. C. and Correll, J. C. (1988). Vegetative compatibility among races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Plant Disease*. 72.325-328.
- Postma, J. and Rattink, H. (1992). Biological control of Fusarium wilt of carnation with a nonpathogenic isolate of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Botany*. 70. 1199-1205.
- Primo, P. D., Cartia, G. and Katan T. (2001). Vegetative compatibility and heterokaryon stability in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* from Italy. *Plant Pathology*. 50.371-382.
- Puhalla, J. E. and Hummel, M. (1983). Vegetative compatibility groups within *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*. 73.1305-1308.
- Puhalla, J. E. (1985). Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative incompatibility. *Canadian Journal of Botany*. 63.179-183.
- Puhalla, J. E. and Spieth, P. T. (1985). A comparison of heterokaryosis and vegetative incompatibility among varieties of *Gibberella jujikuroi* (*Fusarium moniliforme*). *Experimental Mycology*. 9.39--47.
- Raghubandan, B. L., Naik, L.K and Shivaprakash, M. K. (2014). Studies on non-pathogenic *Fusarium* spp. for their biocontrol activity against Fusarium wilt pathogen of watermelon under in vitro. *Mysore Journal of Agricultural Sciences*. 48(1):16-23.
- Rahjoo, V., Zad, J., Javan-Nikkhah, M., Mirzadi Gohari, A., Okhovvat, S. M., Bihamta, M. R., Razzaghian J. and Klemsdal. S. S. (2008). Morphological and molecular identification of *Fusarium* isolated from maize ears in Iran. *Journal of Plant Pathology*. 90(3).463-468.
- Roberts P. D., McGovern, R. J. and Datnoff, L. E. (2001). Fusarium crown and root rot of tomato in Florida. University of Florida, IFAS Extension PP-52.
- Rouxel, F., Alabouvette, C. and Louvet, J. (1979). Recherches sur la resistance des sols aux maladies. IV – Mise en evidence du role des *Fusarium* autochtones dans la resistance dun sol ala Fusariose vasculaire du Melon. *Annales de Phytopathologie*. 11.199-207.
- Rowe, R. C. and Farley, J. D. (1977). New greenhouse tomato disease can be controlled. *Ohio Disease Reporter*. 62:41–43.
- Rowe, R. C., Farley, J. D. and Coplin, D. L. (1977). Airborne spore dispersal and recolonization of steamed soil by *Fusarium oxysporum* in tomato greenhouses. *Phytopathol*. 67.1513-1517.
- Sasaki, K., Nakahara, K., Tanaka, S., Shigyo, M. and Ito, S. I. (2015). Genetic and pathogenic variability of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepa* isolated from onion and Welsh onion in Japan. *Phytopathology*. 105.525-532.
- Schilling, A. G., Möller, E. M. and Geiger, H. H. (1996). Polymerase chain reaction-based assays for species-specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* and *F. avenaceum*. *Mol Plant Pathol*. 86.515-22.
- Schneider, R. W. (1984). Effects of nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum* on celery root infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* and a novel use of the line weaver-burk double reciprocal plt technique. *Phytopathology*. 74.646-653.
- Scott, J. W., and Farley, D. J. (1981). Evaluation of fusarium crown and root rot resistant greenhouse tomatoes. *Ohio agric. Res. Dev. Cent. Res. Circ*, 264:16-17.

- Sen, B. and Asan A. (2009). Fungal flora in indoor and outdoor air of different residential houses in Tekirdag City (Turkey): seasonal distribution and relationship with climatic factors. *Environmental Monitoring and Assessment*. 151.209-219.
- Sherf A. and Machab A. A. (1986). Fusarium wilt- *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hansen. *Vegetable Diseases and Their Control*, Second Ed., 614-621.
- Singleton, L. L., Mihail, J. D. and Rush, C. M. (1992). *Methods for Research on Society*, St. Paul, Mn. 100p.
- Srivastava, S., Kumar, R. and Kumar, Shrivastava, S. (2013). Plant diseases that limit the kinds of plants in an area. *Lambert Academic publishing*.110.
- Summerell, B. A., Leslie, J. F., Backhouse, D., Bryden, W. L. and Burgess, L. W. (2001). *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Pres, St. Paul, Minnesota, p: 1-192.
- Summerell, B. A., Salleh, B. and Leslie, J. F. (2003). A Utilitarian Approach to Fusarium Identification. *Plant Disease*. 87(2).
- Summerell, B. A., Leslie, J. F., Liew, E. C. Y., Laurence, M. H., Bullock, S., Petrovic, T., Bentley, A. R., Howard, C. G., Peterson, S. A., Walsh J. L. and Lester L. W. (2011). *Fusarium* species associated with plants in Australia. *Fungal Diversity*.46:1–27.
- Stall, R. E. and Walter, J. W. (1965). Selection and inheritance of resistance in tomato to isolates of races 1 and 2 of the fusarium wilt organism. *Phytopathology*. 55.1213-1215.
- Şeniz, V. (1992). Domates, Biber ve Patlıcan Yetiştiriciliği. Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı, 174, İstanbul.
- Szczeczura, W., Staniaszek, M. and Habdas, H. (2013). *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*-the cause of fusarium crown and root rot in tomato cultivation. *Journal of Plant Protection Research*. 53(2).172-176.
- Takahashi, H., Shimizu, A., Arie, T., Rosmalawati, S., Fukushima, S., Kikuchi, M., Hikichi, Y., Kanda, A., Takahashi, A., Kiba, A., Ohnishi, K., Ichinose, Y., Taguchi, F., Yasuda, C., Kodama, M., Egusa, M., Masuta, C., Sawada, H., Shibata, D., Hori K. and Watanabe, Y. (2005). Catalog of Micro-Tom tomato responses to common fungal, bacterial, and viral pathogens. *Journal of General Plant Pathology*. 71.8–22.
- Tezuka, N. and Makino, T. (1991). Biological control of Fusarium wilt of strawberry by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolated from strawberry. *Annals of Phytopathology Society of Japan*. 57.506–511.
- Tok., M. F. (2010). *Kavun ve hıyar patojeni Fusarium oxysporum izolatlarının patojenisite, ırk, vejetatif uyum grubu ve AFL teknikleriyle karakterizasyonu ve dağılımları*. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, 118, Hatay.
- Townsend, G. K. and Heuberger, J. W. (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Dis. Rep.* 27.340–343.
- Uzgan T., (2019). *Domates bitkisinde patojen olan Fusarium oxysporum f. sp lycopersici strainlerinin moleküler tanısı ve patojenite genlerinin araştırılması*. Yüksek lisans tezi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 76, İzmir.
- Volin R. B. and Jones J. P. (1982) A new race of Fusarium wilt of tomato in Florida and sources of resistance. *Proc Fl State Hortic Soc.* 95.268–270.

- Watanabe, M., Yonezawa, T., Lee K., Kumagai S., Sugita-Konishi, Y., Goto K. and Hara-Kudo Y. (2011). Molecular phylogeny of the higher and lower taxonomy of the *Fusarium* genus and differences in the evolutionary histories of multiple genes. *BMC Evolutionary Biology*. 2011.11:322.
- Wong, M. Y. (2003). *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder and H.N.Hans. PP728 Soilborne Plant Pathogen Class Project.
- Yadeta, K. A. and Thomma, J. B. P. H. (2013). The xylem as battleground for plant hosts and vascular wilt pathogens. *Front. Plant Sci.* 4(97).1-12.
- Yamakawa, K. and Nagata, N. (1975). Three tomato lines obtained by the use of chronic gamma radiation with combined resistance to TMV and *Fusarium* race J-3. *Techinal News, Inst. Rad. Breed.* 16.pp2
- Yıldız, A. ve Döken, T. (2001). Aydın ili Domates Ekim Alanlarında Saptanan *Fusarium* spp. ve Bazı Domates Çeşitlerinin Bu Etmenlere Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi Üzerinde Çalışmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi 3-8 Eylül, Trakya Üniversitesi Rektörlüğü Yayınları No: 45:364-371.
- Yurtsever, N. (1984). Deneysel İstatistik Metotları. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Genel Yayın No: 121, Teknik Yayın No: 56, Ankara.
- Yücel, S. (1989). Domates *Fusarium* Solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Synd. and Hans) Karşı Biyolojik Kontrolde Antagonistlerin Ve Toprak Solarizasyon Uygulamasının Karşılıklı Etkileşimlerinden Yararlanma Olanakları Üzerinde Araştırmalar. Adana Zirai mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Araştırma Yayınları Serisi Yayın No: 64, Ankara.
- Yücel, S. ve Çınar, A. (1989). Domates *Fusarium* Solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *lycopersici*) Karşı Biyolojik Kontrolde Antagonistlerin ve Toprak Solarizasyon Uygulamasının Etkileri. *Doğa Bilim Dergisi*. 13 (36). 1372-1393.
- Zhou X. G. and Everts, K. L. (2007). Characterization of a Regional Population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* by Race, Cross Pathogenicity, and Vegetative Compatibility. *The American Phytopathological Society*. 97.(4) 61-469.
- Zhao, X., Zhen, W., Qi, Y. Liu X. and Yin B. (2009). Coordinated effects of root autotoxic substances and *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *fragariae* on the growth and replant disease of strawberry. *Frontiers of Agriculture in China*. 3.34-39.

EKLER

Ek 1.

Nit Mutantların Fenotiplerinin Belirlenmesinde Kullanılan FMM Besiyeri

Fusarium Minimal Media (FMM)

20 ml FMM (X50)

200 µl iz elementler

30 g sakkaroz

20 g Agar

Belirtilen bu maddeler 1000 ml steril saf su ilave edilerek çözölmüş ve besi yeri hazırlanmıştır.

FMM 50X Stok Solösyonu

40 g NaNO₃ (sodyum nitrat)

20 g KH₂PO₄ (potasyum fosfat)

10 g MgSO₄.7H₂O (magnezyum sülfat)

10 g KCl (potasyum klorür)

Belirtilen bu maddeler 400 ml steril saf su ilave edilerek çözölmüş ve stok solösyon hazırlanmıştır.

FMM İz Elementler Stok Solösyonu

5 g sitrik asit

5 g ZnSO₄.7H₂O (çinko sülfat)

4.75 g FeSO₄.7H₂O (demir sülfat)

1 g Fe(NH₄).SO₄.6H₂O (amonyum demir sülfat)

250 mg CuSO₄.5H₂O (bakır sülfat)

50 mg MnSO₄.H₂O (mangan sülfat)

50 mg H₃BO₃ (borik asit)

50 mg Na₂MoO₄.2H₂O (sodyum molibdat)

Belirtilen bu maddeler 95 ml steril saf su ilave edilerek çözölmüş ve stok solösyon hazırlanmıştır (Puhalla, 1985).