

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



ŞEKER PANCARINDA YAPRAK LEKESİ ETMENİ
CERCOSPORA BETICOLA'NIN SAMSUN İLİNDE ALTERNATİF
KONUKÇULARI VE İZOLATLARININ MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONUNUN BELİRLENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Çağla YAZICI

Danışman
Prof. Dr. Berna TUNALI

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından, PYO. ZRT.1904.22.013 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Çağla YAZICI tarafından, Prof. Dr. Berna TUNALI danışmanlığında hazırlanan “ŞEKER PANCARINDA YAPRAK LEKESİ ETMENİ *CERCOSPORA BETICOLA*’NIN SAMSUN İLİNDE ALTERNATİF KONUKÇULARI VE İZOLATLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONUNUN BELİRLENMESİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 07.12.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Unvanı Adı Soyadı	Üniversitesi	Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Berna TUNALI	Ondokuz Mayıs Üniversitesi	☒ Kabul
	Bitki Koruma Ana Bilim Dalı		☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ	Ondokuz Mayıs Üniversitesi	☒ Kabul
	Bitki Koruma Ana Bilim Dalı		☐ Ret
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Fatih ÖLMEZ	Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi	☒ Kabul
	Bitki Koruma Ana Bilim Dalı		☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans 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 ☐

Hayır ☒

07/07/2023

Çağla YAZICI

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: ŞEKER PANCARINDA YAPRAK LEKESİ ETMENİ *CERCOSPORA BETICOLA*’NIN SAMSUN İLİNDE ALTERNATİF KONUKÇULARI VE İZOLATLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONUNUN BELİRLENMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 06/07/2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 4

Tek kaynak oranı : % 1 çıkmıştır.

07 /07/2023

Prof. Dr. Berna TUNALI

ÖZET

ŞEKER PANCARINDA YAPRAK LEKESİ ETMENİ *CERCOSPORA BETICOLA*'NIN SAMSUN İLİNDE ALTERNATİF KONUKÇULARI VE İZOLATLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONUNUN BELİRLENMESİ

Çağla YAZICI

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Yüksek Lisans, Haziran/2023

Danışman: Prof. Dr. Berna TUNALI

Şeker pancarında en önemli hastalık sorunlarının başında, *Cercospora beticola* Sacc, yaprak lekesi hastalığı gelmektedir. Şeker pancarında *Cercospora* yaprak lekesi hastalığı olarak bilinen bu hastalık en tahripkâr hastalıklarından biri olup, yüksek oranda verim ve kalite kayıplarına neden olur. Dünyada şeker pancarı ekimi yapılan alanların 1/3'ü bu hastalıktan etkilenmektedir.

Yaptığımız çalışmada Samsun ili ve bu ile bağlı ilçe ve köylerde yetiştirilen, *Cercospora beticola*'nın akraba konukçusu olan kültür bitkilerinden (şeker pancarı, kırmızı pancar, hayvan pancarı, pazı, ıspanak vb.) *Cercospora* yaprak lekesi hastalığı belirtisi gösteren yapraklardan örnekler alınmıştır. Hastalıklı yaprak parçalarının nemli hücreye alınmasından sonra gelişen kolonilerden bir parça alınıp PDA ortamına ekilerek etmenin izolasyonu yapılmıştır.

Bu çalışmanın temel amacı; şeker pancarında *Cercospora* yaprak lekesi hastalığına neden olan *Cercospora beticola* hastalık etmeninin akraba konukçusu olan kültür bitkilerini belirleyerek hastalık etmeninin yayılmasında diğer konukçuların rolünü belirlemektir. Etmenin hem şeker pancarından hem de diğer bitkilerden elde edilen izolatlarıyla patojenite denemesi yapılarak şeker pancarı ve diğer konukçularındaki reaksiyonu belirlenecektir. Ayrıca izolatların moleküler teşhisleri de yapılarak farklı *Cercospora* türlerinin olup olmadığı belirlenecek ve farklı bitkilerden elde edilen *C. beticola* izolatlarının tür içi polimorfizmi ortaya konulacaktır.

Anahtar Sözcükler: Şeker pancarı, *Cercospora beticola*, Akraba konukçu, Morfoloji, Polimorfizm

ABSTRACT

DETERMINATION OF ALTERNATIVE HOSTS AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF ISOLATES OF *CERCOSPORA BETICOLA*, THE CAUSAL AGENT OF LEAF SPOT IN SUGAR BEET IN SAMSUN PROVINCE

Çağla YAZICI

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Plant Protection

Master, June/2023

Supervisor: Prof. Dr. Berna TUNALI

One of the most important disease problems in sugar beet is *Cercospora beticola* Sacc, leaf spot disease. This disease, known as Cercospora leaf spot disease in sugar beet, is one of the most destructive diseases and causes high yield and quality losses. In the world, 1/3 of the sugar beet cultivated areas are affected by this disease.

In our study, samples were taken from leaves showing symptoms of Cercospora leaf spot disease from cultivated plants (red beet, animal beet, chard, spinach, etc.) which are related hosts of sugar beet grown in Samsun province and its districts and villages. After placing the diseased leaf pieces in a moist cell, a piece of the developing colonies was taken and cultivated in PDA medium and the isolation of the pathogen was carried out.

The main objective of this study was to determine the role of other hosts in the spread of *Cercospora beticola* by identifying related hosts of sugar beet. Pathogenicity trials will be carried out with isolates of the agent obtained from both sugar beet and other plants to determine its reaction in sugar beet and other hosts. Molecular identification of the isolates will also be carried out to determine whether there are different *Cercospora* species and the intraspecific polymorphism of *C. beticola* isolates obtained from different plants will be revealed.

Keywords: Sugar beet, *Cercospora beticola*, Relative host, Morphology, polymorphism

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	6
2.1. Hastalık Etmeni ve Biyolojisi	6
2.2. <i>Cercospora beticola</i> 'nın Diğer Konukçuları	10
2.3. <i>Cercospora beticola</i> 'nın Yayılışı ve Konukçu-Patojen İlişkisi	11
2.4. <i>Cercospora beticola</i> ile Yapılan Moleküler Çalışmalar	14
2.5. <i>Cercospora beticola</i> ile Mücadele	14
3. MATERYAL VE METOD	16
3.1. Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması	16
3.2. İzolatların Gelişmesini Sağlayan Besi Ortamının Hazırlanması	17
3.3. Hastalıklı Bitki Örneklerinden İzolasyon Çalışmaları	17
3.4. İzole Edilen <i>Cercospora</i> İzolatlarının Saklanması	18
3.5. Şeker Pancarı Bitkisinin Yetiştirilmesi ve Patojenite Testleri	19
3.6. <i>Cercospora beticola</i> izolatlarından DNA Ekstrasyonu	21
3.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Çalışması	22
3.8. ITS-1 ve ITS-4 Bölgesinin Kısmi Gen Dizilemesi	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1. Patojenite Denemeleri	31
4.1.1. Hastalık Şiddetinin Değerlendirilmesi	32
4.2. DNA Ekstrasyonu ve PCR Çalışmalarına Ait Bulgular	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Şeker pancarı yaprak ve yumruları	1
Şekil 1.2. Dünya’da şeker pancarı yapılan ülkeler.....	2
Şekil 1.3. Cercospora yaprak lekesi etmeninin; a-başlangıçta oluşturduğu lekeler b-ilerleyen dönemde yapraktaki kurumalar ve c-yaprağın tamamen kuruyup ölmesi	4
Şekil 2.1. A ve B <i>Cercospora beticola</i> ’nın konidiofor ve konidilerinin stereo mikroskoptan görünümü, C, D ışık mikroskobundaki görünümü	7
Şekil 2.2. <i>Cercospora beticola</i> ’nın yaşam döngüsü.....	9
Şekil 3.1. Işık mikroskobu altında görülen tipik <i>Cercospora</i> konidi ve konidiofor gelişimi.....	18
Şekil 3.2. İklim odasında yetiştirilen inokulasyona hazır şeker pancarı bitkileri.....	19
Şekil 3.3. İnokulasyon sonrası polietilen torbalar içerisine alınan bitkiler	20
Şekil 3.4. Polimeraz zincir reaksiyonu: Reaksiyon karışımının hazırlanması (a), PCR ürünlerinin agaroz jeldeki kuyucuklara yüklenmesi (b), Agaroz jelde PCR ürünlerinin görünümü (c), PCR ürünlerinin elektroforezde koşturulması (d).....	23
Şekil 4.1. Şeker pancarı (A), pazı (B) ve kırmızı pancar (C) tarlasında <i>Cercospora beticola</i> ’nın oluşturduğu belirtiler ve hastalığın genel durumu	25
Şekil 4.2. <i>Cercospora beticola</i> etmeninin neden olduğu belirtiler: a. Şeker pancarı, b. Pazı, c. Ispanak, d. Kırmızı pancar, e. Lekelerin yakından görüntüsü.....	26
Şekil 4.3. PDA ve SBLEA besi ortamlarında <i>Cercospora beticola</i> gelişimi.....	27
Şekil 4.4. <i>Chenopodium album</i> ’ dan elde edilen <i>Cercospora beticola</i> etmeninin PDA ortamında gelişimi (a), ışık mikroskobunda görülen spor yapısı (b).....	28
Şekil 4.5. Farklı ortamların spor konsantrasyonu üzerine etkisi (sırasıyla, 14 °C ışıksız SBLEA ortamı, 25 °C ışıklı PDA ortamı, 14 °C ışıklı SBLEA ortamı).....	30
Şekil 4.6. Farklı konukçulardan ve farklı lokasyonlardan alınan izolatlardan elde edilen spor miktarları.....	31
Şekil 4.7. Spor konsantrasyonlarının şeker pancarı bitkisine püskürtülmesi.....	31
Şekil 4.8. <i>Cercospora beticola</i> ’nın konidi ve konidiofor yapıları	32
Şekil 4.9. Patojenite testi sonucunda <i>Cercospora</i> yaprak lekesi hastalığı belirtilerinin değerlendirilmesinde kullanılan 0-10 skalasına göre 1,3,5,7,9 skala değeri alan şeker pancarı bitkilerinin görünümü.....	33
Şekil 4.10. Farklı bölgelerden ve farklı kültür bitkilerinden elde edilen izolatların şeker pancarında oluşturduğu belirtiler: a. Ispanaktan, b. Pazıdan, c. Kırmızı pancardan, d. Şeker pancarından.....	34
Şekil 4.11. Aynı izolatin uygulandığı soldaki Smart Briga çeşidinin ve sağdaki Libellule çeşidinin gösterdiği hastalık reaksiyonları.....	35
Şekil 4.12. Farklı bölgelerden elde edilen kırmızı pancar izolatlarının Smart Briga çeşitinde meydana getirdiği belirtiler.....	36
Şekil 4.13. PCR’ da ITS1-4 primeri ile amplifike edilen ürünlerin elektroforezde görüntülenmesi. 1: Alanlı-Pazı, 2: İkizpınar-Ş. pancarı, 3: Koşu 2-K. pancar, 4: Yenikaracalı-Pazı, 5: Koşu 1-K. pancar, 6: Meskenler- Ş. pancarı, 7: Alanlı-Ispanak, M: Markör, N: Kontrol.....	40

Şekil 4.14.Ispanak bitkilerinden izole edilen fungusun mikroskoptan konidi görüntüsü.....	40
Şekil 4.15.Ispanak bitkisinden izole edilen fungus kültüründe görülen <i>Colletotrichum</i> spp. sporları.....	41



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Dünyada en fazla şeker pancarı üretimi yapılan 10 ülke ve ekim alanları, üretim miktarları ve dünya üretimindeki payı (FAO, 2022)	2
Tablo 3.1. Samsun ilinden şeker pancarı yaprak örneği toplanan ilçe ve köyler	16
Tablo 3.2. Samsun ve Amasya illerindeki şeker pancarı arazilerinden toplanan lekeli yabancı otlar.....	17
Tablo 3.3. Kullanılan şeker pancarı çeşitleri, kullanılan izolatların numaraları, izolatların elde edildiği bölge ve bitkiler.....	21
Tablo 4.1. Seçilen bazı izolatlardan elde edilen kolonilerden, farklı ortam ve sıcaklıklarda saptanan spor sayıları.....	29
Tablo 4.2. İzolatların patojenitesi değerlendirilirken kullanılan değer skalası.....	33
Tablo 4.3. Libellule çeşidine ait yüzde hastalık şiddeti analiz sonuçları.....	37
Tablo 4.4. Smart Briga çeşidine ait yüzde hastalık şiddeti analiz sonuçları.....	38
Tablo 4.5. Libellule ve Smart Briga çeşitlerine ait T-Testi sonuçları.....	39
Tablo 4.6. Pazı, kırmızı pancar, şeker pancarı ve ıspanaktan elde edilen izolatların ITS ¼ sekans analizi sonuçları.....	42

1. GİRİŞ

Şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) orijini Orta Avrupa olan, Amaranthaceae familyasına ait iki yıllık, yüksek verimli ve önemli bir bitkidir (Altınok, 2012). Şeker, yüzyıllardan beri insanlar için önemli bir gıda maddesi olmuştur ve 18. yüzyılın sonuna kadar sadece şeker kamışından üretilmiştir. Şeker pancarı tarımı ve şeker pancarından şeker üretimi ise 19. yüzyılda başlamıştır. (Tosun, 2017)

Şeker pancarı, gövdesinden, kök bölgesinden ve yapraklarından yararlanılan bir bitkidir. (İncekara, 1974) (Şekil 1.1).



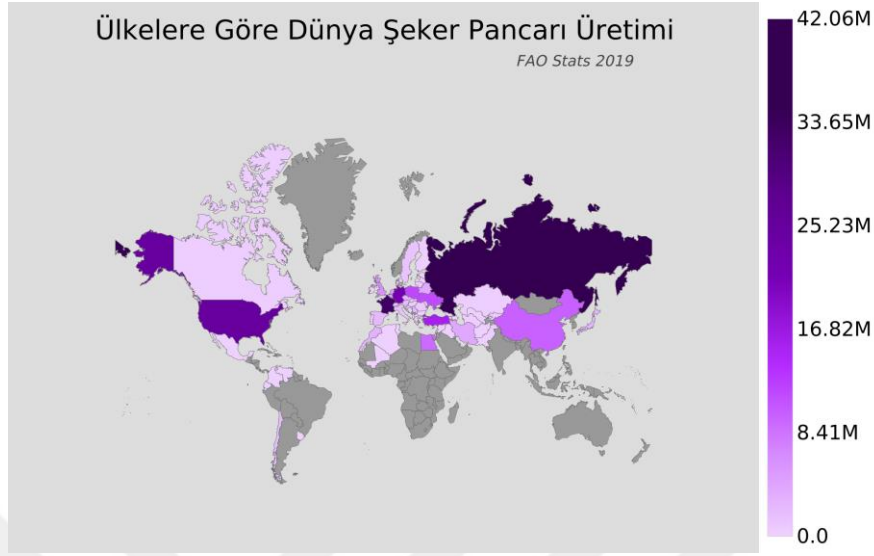
Şekil 1.1. Şeker pancarı yaprak ve yumruları

Bu bitkiden elde edilen sakkaroz, dünyadaki önemli besin kaynakları arasında yer almaktadır (Altınok, 2012). İçeriğindeki şeker miktarı ile yüksek enerji kaynağı olması ve saf besin kaynağı olması sebebi ile de önem taşımaktadır (Oral, 1979). Şeker pancarından şeker elde edilmesi sırasında oluşan melas, önemli bir biyoetanol hammaddesidir. Şeker çıkarıldıktan sonra arta kalan posa ve şeker pancarının hasadı sırasında ortaya çıkan yaprak artıkları da değerli bir hayvan yemidir (Onurbaş ve ark., 2011). Beslenmenin temel maddesi olmasının yanı sıra, tarımsal üretime katkısı, elde edilen yan ürünler, ve istihdama katkısı nedeniyle şeker pancarı, tüm dünyada önemli bir ürün olmuştur (Akbay, 2003; Erdinç, 2017).

Şeker pancarı dünyada olduğu gibi ülkemiz de de endüstri bitkileri arasında yer alan en önemli bitkilerden biridir. Ülkemizde şeker pancarı üretimi, 1926 yılında Uşak ve Alpullu Şeker Fabrikalarının yapılmasıyla başlamıştır.

Türkiye’de şeker, tamamen şeker pancarından üretilmektedir ve yıllık yaklaşık 2.5 milyon ton üretimi ile Rusya, ABD, Fransa ve Almanya’nın ardından 5. sırada

yerini almaktadır (Şekil 1.2). Yaklaşık 400 bin çiftçi ailesi, yıllara göre 350-500 bin hektar arasında değişen ekim alanında şeker pancarı yetiştirmektedir. (Eştürk, 2018).



Şekil 1.2. Dünya’da şeker pancarı yapılan ülkeler

FAO (2022) verilerine göre, dünyada şeker pancarı üretim alanı 4.634.319 hektar olup, toplam üretim miktarı 264.006.000 tondur (Tablo 1.1). Türkiye’nin dünya pancar şekeri üretimindeki payı ise yaklaşık 23.000.000 ton üretim miktarı ile %8,7 dir (Anonymous, 2022).

Tablo 1.1. Dünyada en fazla şeker pancarı üretimi yapılan 10 ülke ve ekim alanları, üretim miktarları ve dünya üretimindeki payı (FAO, 2022)

Ülkeler	Ekilen Alan (ha)	Üretim Miktarı (milyon ton)	Dünya Üretim Payı (%)
Rusya Fed.	916.647	33,9	12,8
Fransa	420.890	26,2	9,9
Almanya	386.000	28,6	10,8
ABD	462.280	30,5	11,5
Türkiye	336.348	23,0	8,7
Polonya	245.920	14,2	5,4
Mısır	263.543	13,0	4,9
Çin	195.246	11,6	4,4
Ukrayna	220.000	9,15	3,5
Diğer	1.187.445	62,7	28,1
Toplam	4.634.319	264,6	100,0

Ülkemizde şeker pancarı üretiminin en fazla yapıldığı bölge İç Anadolu Bölgesi olup sırasıyla Orta Karadeniz, Marmara, Doğu Anadolu ve İç Ege çevresi onu takip etmektedir. Yağışın fazla olduğu bölgelerden hoşlanmadığı için Karadeniz

kıyılarında, aşırı sıcak ve kurak olan Güney Doğu Anadolu'da ve yüksek gelir getiren ürünler yetiştirildiğinden Ege ve Akdeniz Kıyılarında ekim alanı kısıtlıdır.

Şekerin verim ve kalitesini etkileyen birçok faktör vardır. Bu faktörlerin en başında iklim faktörü gelmektedir. Son zamanlarda iklim değişikliğinden dolayı şeker pancarında görülen hastalık ve zararlıların popülasyonların da önemli bir artış gözlemlenmiştir. Ülkemizde özellikle son yıllarda şeker pancarında görülen hastalık oranlarındaki artış, şeker pancarının verim ve kalitesini olumsuz yönde etkilemiştir. Türkiye'de ve dünyada şeker pancarı ekim alanlarında görülen ve ekonomik öneme sahip hastalıkların başında *Cercospora beticola* Sacc.'nın oluşturduğu şeker pancarı yaprak lekesi hastalığı gelmektedir (Brewbaker et al., 1950; Farus et al., 1962; Schlosser, 1971; Smith and Ruppel, 1973; Skylakasis, 1974; Tunalı vd., 2014).

Cercospora yaprak lekesi, *Cercospora beticola* Sacc. (Sınıf: Ascomycotina Takım: Dothideales Familya: Mycosphaerellaceae) etmeninin neden olduğu hastalık şeker pancarının en önemli yaprak hastalığıdır ve yüksek verim ve kalite kayıplarına sebep olur (Khan et al., 2009; Holtschulte, 2000). Hastalık etmeni ilk olarak Saccardo (1876) tarafından tanımlanmıştır (Weiland and Koch 2004). Yirminci asrın başında, yapılan çalışmalarda şeker pancarında yaprak lekesine sebep olan fungusu değişik isimler verilmiştir ki tanım olarak bunların çoğu *C. beticola*'ya uymaktadır (Chupp, 1953).

Etmen Dünya'da Afrika kıtasında, Doğu Hindistanda, Avrupa kıtasında, Orta Asya'da, Kuzey Amerika'da, Güney Amerika'da bulunmakta ise de en yaygın ve en tahripkar olarak Bulgaristan, Türkiye, İtalya, Yunanistan ve Yugoslavya'da görülmektedir. (Kirk, 1982). Ülkemizde hastalığın Karadeniz ve Marmara bölgelerinde çok yaygın olduğu, Samsun, Adapazarı, Amasya, Bursa, Balıkesir, Tokat ve Kastamonu illerine bağlı şeker fabrikalarının bulunduğu alanlarda hemen hemen her yıl, Çorum ve Burdur illerinde şeker fabrikaları ekim alanlarında ise daha az sıklıkla görüldüğü bildirilmiştir (Kaya, 2015). *C. beticola* önceki yıllarda ülkemizde özellikle nemli sahil kuşaklarında çok yaygın olarak görülürken, son on yılda Orta Anadolu Bölgesi şeker pancarı ekim alanlarında da yaygınlığı artmış ve hastalık şiddeti ve zararı da bu duruma paralel olarak artış göstermiştir (Tunalı vd., 2014).

Hastalığın şiddeti, ülkeye ve bölgeye göre değişim göstermekle birlikte, şeker pancarının kök verimini %26, şeker oranını %13, arıtılmış şeker oranını %18 ve şeker verimini %55'e varan oranlarda düşürmektedir. Ayrıca, pancarın içeriğinde bulunması istenmeyen, pancardan şeker alımını olumsuz yönde etkileyen potasyumu %6, sodyumu %25 ve alfa amino azotu %40 oranlarında arttırmaktadır (Kaya 2015). Bu hastalığa karşı yeterli mücadele yapılmadığı zaman dayanıklı çeşitlerde bile pancar kök veriminde hastalık şiddetine bağlı olarak %1-26, şeker veriminde %6-35 oranda azalmaya neden olduğu belirlenmiştir (Özgür,2003).

Cercospora yaprak lekesi hastalığının en yaygın belirtisi, şeker pancarının dış yapraklarında görülmeye başlayan yuvarlağa yakın, ortası gri-açık kahverengi, dış çevresi koyu kahverengi-kırmızı belirgin bir dış kenarla kuşatılmış, 2-5 mm çapında küçük lekeler şeklindedir (Anonymous, 2020). Kısa süre içerisinde bu lekeler büyüüp birleşerek, yaprağı tamamen kaplamakta ve kuruyarak ölmesine sebep olmaktadır (Şekil 1.3). Hastalık şiddeti arttığında bitkiler yapraklarını tamamen kaybedebilmekte ve takiben yeni yapraklar oluşturmakta, oluşan yeni yapraklar da hastalığa yakalanmakta ve kuruyup ölmektedir. (Giannopolitis, 1978; Rossi, 1998).



Şekil 1.3. *Cercospora* yaprak lekesi etmeninin; a-başlangıçta oluşturduğu lekeler b- ilerleyen dönemde yapraktaki kurumalar ve c-yaprağın tamamen kuruyup ölmesi (Anonymous 2023)

Cercospora yaprak lekesi lezyonları yaprakların %3'ünden fazlasında yayılım gösterdiği takdirde, bu kök ağırlığında, şeker veriminde ve işleme sırasında artan safsızlıklarda belirgin bir azalmaya neden olur (Windels et al., 1998).

Yaptığımız bu tez çalışmasının amacı Samsun il ve ilçelerine gidilerek *Cercospora* belirtisi gösteren şeker pancarı, kırmızı pancar, hayvan pancarı, pazı, ıspanak ve bazı yabancı otlar elde ederek *C. beticola*'nın yöredeki alternatif

konukçularını belirlemektir. Tüm farklı konukçulardan elde edilen izolatlar ile patojenite çalışması yapılarak şeker pancarında yapabilecekleri hastalığın şiddeti ortaya konulmak istenmiştir. Ayrıca elde edilen izolatlar arasında genetik varyasyonu belirlemek de hedeflenmiştir. Bunun içinde universal ITS 1, ITS4 gen primerleriyle PCR analizi yapılarak kısmi gen dizileme analizi yaptırma yoluna gidilmiştir.



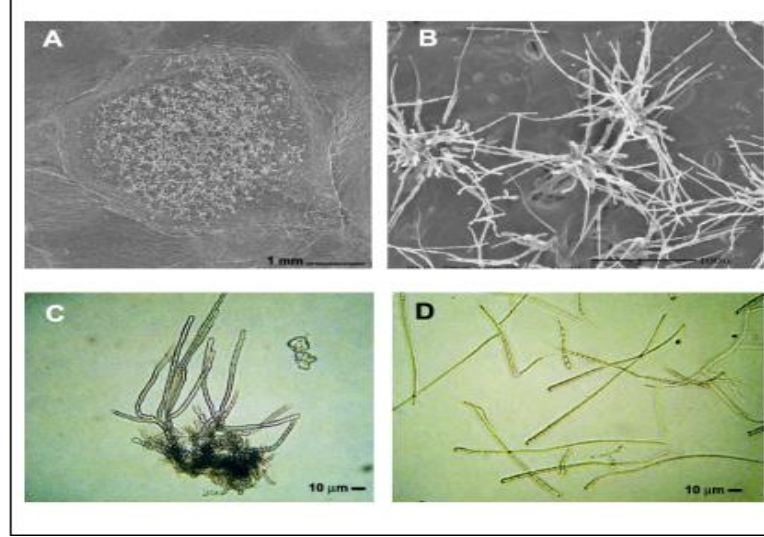
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1. Hastalık Etmeni ve Biyolojisi

Cercospora beticola'nın taksonomideki yeri aşağıdaki gibidir.

Alem	: Fungi
Bölüm	: Ascomycota
Sınıf	: Dothideomycetes
Takım	: Capnodiales
Familiya	: Mycosphaerellaceae
Cins	: <i>Cercospora</i>
Tür	: <i>C. beticola</i>

Cercospora beticola eşeyli devresi tam olarak bilinmemesine rağmen heterotallik bir fungus olup Ascomycetes sınıfında olduğu kabul edilmiştir. Zira Avrupa'da eşit sıklıkla iki farklı eşleşme tipi keşfedilmiştir (Groenewald et al., 2006; 2008). ABD, Kuzey Dakota'da şeker pancarı ekim alanlarında yapılan populasyon genetiği çalışmaları fungusun potansiyel bir eşeyli devresi olduğunu ortaya koymuştur (Bolton et al., 2012). Ancak Orta Doğu ülkelerinde ve ABD'nin değişik eyaletlerinde yapılan bazı çalışmalarda ise eşeyli devresine ait bir delil elde edilmediği belirtilmiştir (Bakhshi et al., 2011). Bu fungus 200 µm uzunluğa kadar olan, şeffaf, uca doğru daralan tipte, çok bölmeli, 2.5-4.0 µm genişliğinde konidiler oluşturmaktadır. Konidioforlar seyrek bölmeli, dallanmasız ve açık kahverengi renktedir. Hastalık etmeni besi ortamlarında koyu gri renkte ve tozlumsu yapıda koloniler oluşturmaktadır (Özeren, 2009).



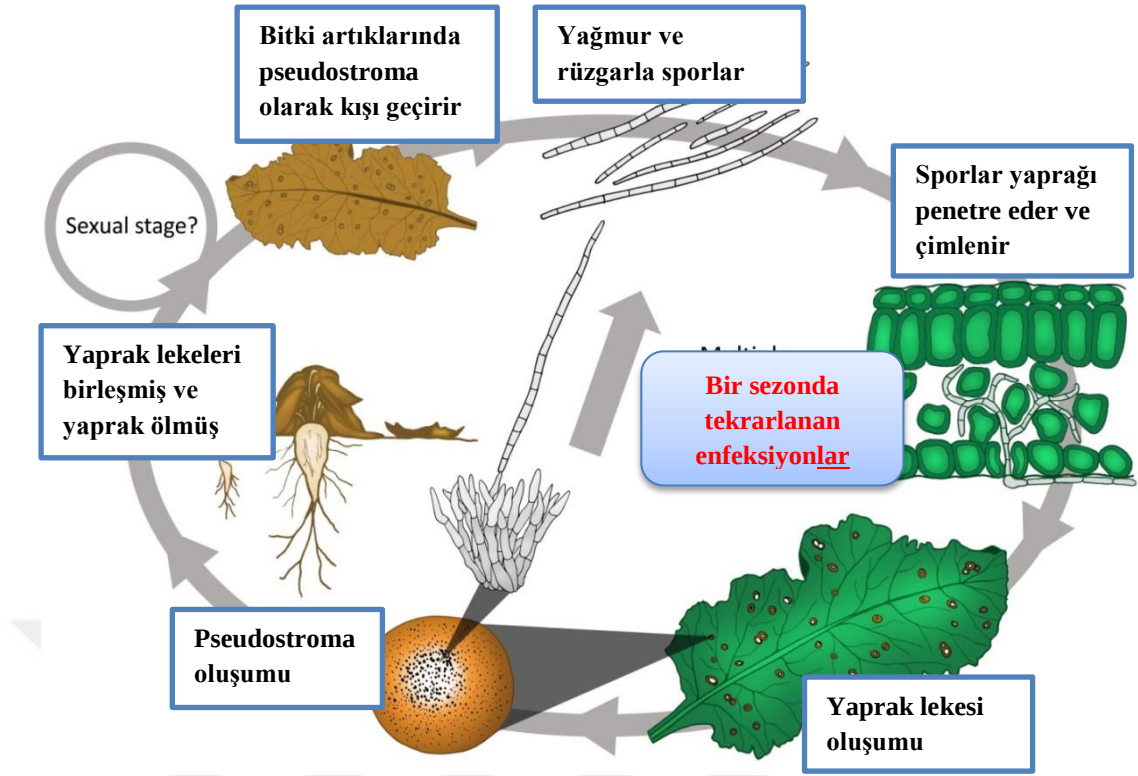
Şekil 2.1. A ve B *Cercospora beticola*'nın konidiofor ve konidilerinin stereo mikroskoptan görünümü, C, D ışık mikroskobundaki görünümü (Weiland and Koch, 2004)

Cercospora beticola fungusunun konidi ve konidioforları hifler arasında dağınık veya toplu bir şekilde bulunurlar (Pelczar and Ried, 1958; Bessey, 1961; Alexopoulos, 1964; Raper, 1966). McKay and Pool (1918), enfekteli yaprak dokusu üzerinde yaptıkları çalışmalarda, etmenin konidioforlarının 2-4x50-400 µm boyutlarında ve 27 septalı olduğunu belirtmişlerdir. Carels et al., (1990) ise yaptıkları bir çalışmada konidioforların boyutlarını inokulasyondan sonraki 20. gün sonunda 5x58-200 µm olarak ölçmüşlerdir. Göktürk ve Döken (2000) tarafından etmenin konidi boyutları iki farklı besi ortamında incelenmiş, PDA besi ortamında 3-4x45-160 µm ve SBLEA besi ortamında 3-4x47-157 µm olarak ölçülmüştür. Bir başka çalışmada etmenin konidileri PDA ortamında 4-6x30-105 µm boyutlarında, 6-10 septalı, kahverengi renkte, dallanma göstermeyen, düz veya hafif kıvrımlı olup tek tek konidioforlar üzerinde oluşmaktadır (Kirk 1954).

C. beticola 15-35 °C arasındaki sıcaklarda gelişme gösterebilen, spor oluşturabilmesi için yüksek nem isteyen bir fungustur (Özeren, 2009). Hastalığın çıkışı ve gelişmesi, üretim yılının iklim faktörleri ile bağlantılı olup, gündüz sıcaklığının 27-32 °C aralığında, gece sıcaklığının ise 15-17 °C aralığında olması ve her gün en az 15-18 saat %60'ın üzerinde nemli ortamda bulunması enfeksiyonun başlaması ve yayılım göstermesi için yeterli olmaktadır (Pool and McKay, 1916). Khan et al., (2009) ise, etmenin konidilerinin çimlenmesi için 15-23 °C arasındaki sıcaklıkların ideal olduğunu ve bu konidilerin rüzgâr, su damlası, akarsu ve böcekler gibi çevresel faktörler ile yayılarak epideminin oluşumunda önemli rol oynadıklarını

alışmalarında belirtmişlerdir. Whitney and Duffus (1991)'a göre, 15  C'nin altındaki sıcaklıklarda herhangi bir enfeksiyon meydana gelirse bunun sebebi yağmur sıçraması ve rüzgar ile yayılan spor dağılımıdır. İlk alışmalar, spor dağılımında yağmur sıçramasının ana faktör olduğuna dair kanıtlar gösterirken (Carlson, 1967), Khan et al., (2008) tarafından yapılan alışmalar, *C. beticola* inokulumu için ana dağılım faktörünün rüzgar olduğunu öne sürmüştür çünkü plastik kafeslerdeki veya üstü örtülü bitkilere kıyasla açıktaki bitkilerde daha yüksek hastalık Şiddeti gözlenmiştir. Konidilerin canlılıklarını koruyarak kat edebilecekleri mesafe bildirilmemiştir ancak genetik çalışmalar uzun menzilli dağılımın gerekleştikine dair kanıtlar sağlamıştır (Groenewald ve ark., 2008; Vaghefi ve ark., 2017; Knight ve ark., 2018).

İlk enfeksiyonlar esas olarak pseudostromata ve hücreler arası hifsel büyüme oluşturan konidiler tarafından toprağa yakın yaşı yapraklarda meydana gelir (Harveson, 2013; Rangel, Anahtar and Ebert, 2020). Tipik olarak enfeksiyondan 7 gün sonra yaprak lekeleri ortaya çıkar (Rangel et al., 2020). Bu yaprak lekeleri hemen hemen dairesel, kahverengi kırmızı sınırları olan, ortaları kl grisi renkte, bu tonun altında koyu kahve-siyah stroma içeren 0.5–6 mm çapta lekeler Şeklindedir (zeren, 2009). Hasat zamanı yaklaştık bu lekeler, orta yapraklar ve yaprak saplarının üzerinde de uzunlamasına olarak gözlenir (Giannopolitis, 1978). Hastalık ilerledik lekeler birleştirek tüm yaprağın kurumasına yol açmaktadır (zeren, 2009). Kuruyan yapraklar çok geçmeden çökmekte ancak ta kısmına bağlı kalmaktadır (Whitney and Duffus, 1991).



Şekil 2.2. *Cercospora beticola*'nın yaşam döngüsü (Rangel et al., 2020)

Khan et al., (2008), yaptıkları bir sera çalışmasında, *C. beticola*'nın birincil enfeksiyon bölgesini belirlemek için çalışmışlardır. Sağlıklı şeker pancarı bitkilerinin yaprak, kök ve gövdelerine *C. beticola* sporlarını inokule etmişlerdir. *Cercospora* yaprak lekesi semptomlarını, yalnızca yaprağa aşılanmış bitkilerde gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Buda yaprağın *C. beticola* için birincil enfeksiyon bölgesi olduğunu göstermiştir.

Hastalık Yunanistan şeker pancarı ekim alanlarında, üretim yılının sürekli yağış, sıcaklık ve yüksek nem oranlarına da bağlı olarak Haziran ayı başlarında görülebilmektedir (Giannopolitis, 1978). Wolf and Verreet (2005), Güney Almanya'da yaptıkları çalışmalarında ise salgın başlangıcının Temmuz başı ile Eylül ortası arasında değiştiğini ortaya koymuştur.

C. beticola kışı tarlada kurumuş bitki artıklarında pseudostroma olarak geçirir ve 1-2 yıl hayatta kalabilir (Khan and Khan 2010; Rangel et al., 2020; Solel and Minz, 1920). Pool and McKay (1916), McKay and Pool (1918), yaptıkları çalışmalarda *C. beticola*'nın konidilerinin tarla koşullarında genellikle kısa bir süre yaşadığını, ancak kurumuş bitki artıklarında tüm kışı geçirebildiğini, toprakta ve tohum üzerinde konidi formunda 2-3 yıl canlılığını koruduğunu belirtmişlerdir.

Hastalık etmeninin yaşam döngüsü Şekil 2.2’ de görülmektedir ve araştırmacılarca fungusun eşeyli devresinin yaşam döngüsünde ki yeri soru işareti olarak kalmıştır (Rangel et al., 2020).

Hudec, Mihok, Tothova and Bokor (2022), yaptıkları çalışmalarda *C. beticola*’nın farklı ortamlarda gelişimini incelemişlerdir. Buna göre fungusun havai miselyumunun renginin zeytin yeşilinden beyaz toz görünümlü griye, buruşuk dokulu gri renge ve siyah renge kadar değiştiği görülmüştür. Forsyth et al., (1963) ise, ortam özelliğine ve bilinmeyen diğer faktörlere bağlı olarak fungusun farklı sayıda sporlanma gösterdiğini belirtmişlerdir. Calpouzios and Stalknecht (1965, 1966) yaptıkları denemede sporlanmanın en fazla 15 °C’de, en az 30 °C’de olduğunu, optimum koşullarda sporlanmanın 6-12 saatte başladığını ve sürekli 30 derecede tutulan fungusun 64 saat sonra sporlarının ölmeye başladığını ve ışığın sporlanma üzerinde indirekt etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Ahmetjan and Halz (1973), sporlanmanın optimum 25 °C’de ve %95 nem içeren ortamda olduğunu bildirmişlerdir. Hudec et al., (2022) ise, en yüksek sporlanma oranının 25 °C sıcaklıkta TE (domates özütü agarı) yetiştirme ortamında görüldüğünü, bunu sırasıyla SBLEA (şeker pancarı yaprağı özütü agarı) ve PDA (patates dekstrozu agar) besi ortamının takip ettiğini ve en hızlı gelişimin 30 °C’de PDA besi ortamında görüldüğünü belirtmişlerdir. Göktürk (1993), PDA ve SBLEA besi ortamlarında geliştirilen izolatlar arasında morfolojik olarak farklılık olmadığını bildirmiştir.

2.2. *Cercospora beticola*’nın Diğer Konukçuları

C. beticola’nın konukçu aralığı üzerine yapılan temel çalışmalar (McKay and Pool 1918; Vestal 1933), *C. beticola*’nın moleküler karakterizasyonundan önce gerçekleştirilmiştir (Groenewald et al., 2005, 2006). Geleneksel olarak, *Cercospora* türlerini tanımlamak için morfolojik özellikler ve konukçu aralığı kullanılmıştır (Chupp, 1954). Bunun en iyi örneklerinden biri olan *C. apii* kompleksi içindeki morfolojik ayrışmalar, çoklu gen lokuslarının DNA dizisi kullanılarak elde edilen tanımlayıcı veriler ile hem türün taksonomisi hemde teşhisinde belirleyici olmuştur (Cai et al., 2011; Crous et al., 2015; Bakhshi et al., 2015). Bu nedenle *Cercospora* türlerinin teşhisinde DNA dizileri elde edilmeden yapılan teşhislerin belirsiz olduğu, özellikle *C. beticola* izolatlarının teşhisinde bu yöntemin tercih edilmesinin konukçu dağılımı ile ilişkisinin tespitinde önemli olduğu bildirilmiştir (Knight, Vaghefi, Kikkert, and Pethybridge, 2019).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, şeker pancarı ve sofralık pancarda *Cercospora* yaprak lekesine neden olan *C. beticola*'nın geniş bir potansiyel alternatif konukçu yelpazesine sahip olduğunu bildirmiştir. Bu konukçuların tarlada inokulum kaynağı olarak rolü belirsizdir ve DNA tabanlı patojen tanımlamasının ortaya çıkmasından bu zamana kadar sınırlı bir araştırmaya konu olmuştur (Knight et al. 2019)

New York'ta 2016 yılında yapılan bir survey sonucunda, *C. beticola* için potansiyel alternatif konukçular arasında şeker pancarı, kırmızı pancarı, hayvan pancarı, pazı (Mckay ve Poll 1918; Vestal 1933), aspir (Lartey et al., 2005), marul (Hotezni Houessou et al., 2011) ve ıspanak (Vestal, 1933) gibi kültür bitkilerinin yer aldığı bildirilmiştir (Knight et al., 2019). Türkiye'de de pazılarda *Cercospora* yaprak lekesi etmeni *C. beticola*'nın bulunduğu rapor edilmiştir (Soylu vd., 2003). Weiland ve Koch, (2004) ise, *C. beticola*'nın *Beta* cinsi türleri ve *Spinacea* sp., *Atriplex* sp. ve *Amaranthus* cinslerinin üyeleri de dahil olmak üzere *Chenopodiaceae*'de ki bazı türleri enfekte ettiğini bildirmişlerdir .

2.3. *Cercospora beticola*'nın Yayılışı ve Konukçu-Patojen İlişkisi

Geniş bir coğrafi kökene sahip *C. beticola* izolatlarının morfolojisindeki değişiklik birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur. Ancak son araştırmalar aynı noktadan elde edilen *C. beticola* izolatlarının bile morfolojik farklılık gösterebileceğini ortaya koymuştur (Moretti et al., 2006). Morfolojik sınıflandırma ile genetik çeşitlilikten kaynaklanan sınıflandırmanın incelenmesi, iki sınıflandırma arasında bir uyum olmadığını göstermektedir. Önceki raporlar, *C. beticola* izolatlarının morfolojik değişkenliğinin coğrafi dağılımlar arasında farklılık gösterdiğini ve aynı noktada bile morfolojinin önemli ölçüde farklı olduğunu ortaya koymuştur (Ruppel, 1972; Moretti et al., 2004).

C. beticola direnci tipik olarak en az dört tanımlanabilir kantitatif özellik lokusu (QTL) tarafından yönetilmektedir (Smith and Gaskill, 1970; Nilson et al., 1999; Setiawan et al., 2000; Taguchi et al., 2011). Direnç QTL'lerinin hassas bir şekilde haritalanması, ıslah programlarında *C. beticola* direncini aşılama için markör destekli seçime (MAS) yardımcı olduğu bildirilmiştir (Taguchi et al., 2011). Haritalama ne kadar hassas olursa, fungus direnci ile olumsuz özellikler arasındaki potansiyel bağlantıyı kırma şansı o kadar yüksek olduğu belirtilmekte, altta yatan gen

ürünlerinin de tanımlanabilir ve dirençle ilişkili alelleri belirlemek için moleküler belirteçler olarak kullanılabildiği değerlendirilmektedir (Hunger et al., 2003).

Etmenin sıklıkla genetik değişiklik göstermesinden dolayı, şeker pancarı çeşitleri *Cercospora* yaprak lekesi hastalığına karşı, mutlak bir dayanıklılık gösterememektedir (Ruppel, 1972). Avrupa ve Amerika'nın doğal populasyonlarında yapılan çalışmalar sonucu oldukça fazla genetik varyasyonun olduğu görülmüştür (Große-Herrenthey, 2001; Weiland and Halloin, 2001). Ülkemizde yapılan bir çalışma ile de bu sonuçlara benzer sonuçlar elde edilmiştir. Turgay vd., (2010) yaptığı bu çalışmada, şeker pancarı üretiminin yoğun olduğu Alpulu, Adapazarı, Amasya, Çarşamba, Niksar, Kastamonu ve Susurluk ekim alanlarında, *C. beticola*'nın patotiplerinin belirlenmesi için temin edilen 100 adet *Cercospora* izolatu üzerinden patojenite çalışması yapmışlardır. Patotiplerin belirlenmesi için her biri farklı dayanıklılık genlerine sahip, beş şeker pancarı çeşidi kullanılmıştır. Çeşit reaksiyonları, çeşitlerin izolatlarla aşılmasından 15 gün sonra 1-9 skala ölçeğine göre hastalık şiddetinin ölçülmesiyle belirlenmiştir. Beş test çeşidinin reaksiyonları sonucunda fungusun 15 patotipi tespit edilmiştir. Patojenite sonuçları dendrogram ile karşılaştırıldığında elde edilen patotiplerin herhangi bir farklı grup altında toplanmadığı görülmüştür. Bu sonuçlar, moleküler tekniklerin *C. beticola* patotipleri arasında ayırım yapmakta etkili olmadığını ve bir patojen yüksek genetik çeşitliliğe sahipse, patotiplerinin moleküler tekniklerle kolay bir şekilde ayırt edilemeyeceğini ortaya koymuştur.

Oldukça yakın bir geçmişten sonra şeker pancarı çeşitlerinde *C. beticola* direncinin geliştirilmesi, genetikçiler ve ıslahçılar tarafından ortak bir hedef haline gelmiştir. Yabani deniz pancarının, *B. vulgaris* subsp. *maritima*, uzun zamandır *C. beticola* direnç genlerinin kaynağı olduğu belirlenmiştir (Rossi, 1995).

Bilinen bir eşey formu olmamasına rağmen eşit sıklıkta iki alternatif çiftleşme tipi genin, Avrupa'nın bazı bölgelerinde (MAT1-1-1 ve MAT1-2-1) keşfedilmesi nedeniyle *C. beticola* heterotalik, askomiset olarak kabul edilir. Popülasyon genetiği çalışmaları da Kuzey Dakota'daki şeker pancarı üretim alanlarında eşeyli devresinin olabileceğini göstermiştir. Buna karşın, ABD'nin diğer bölgelerinde veya Orta Doğu'da eşeyli üremeye dair hiçbir kanıt bulunmamaktadır (Vaghefi et al., 2019).

Cercospora beticola, şeker pancarında (*Beta vulgaris*) *Cercospora* yaprak lekesi hastalığına neden olan hemibiotrofik bir fungustur. Kolonizasyonun ilk semptomsuz biyotrofik aşamasından sonra, fungusun nekrotrofik bir yaşam tarzına geçmesiyle konak yapraklarda nekrotik lezyonlar ortaya çıkar. *C. beticola*'nın yaşam döngüsünü tamamlaması için nekrotik bitki dokusuna ihtiyaç duyduğu bildirilmektedir (Weltmeier ve ark., 2011), Fitotoksik ikincil metabolit serkosporinin birkaç *Cercospora* türü için fungal virülansı kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, serkosporin üretimi ve ardından reaktif oksijen türlerinin serkosporin tarafından başlatılan oluşumu ışığa bağlı olduğundan, bu toksin tarafından hücre ölümünün uyarılması yalnızca ışık döneminde tam olarak sağlandığı bildirilmektedir. Ancak aynı çalışmada, *C. beticola*'nın enfeksiyon sırasında efektör protein CbNip1 salgıladığını ve ışık yokluğunda 48 saat içinde şeker pancarı yapraklarına infiltrasyonda nekroza neden olma yeteneğine sahip olduğu yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır (Ebert et al.,2020).

Türkiye’de 2011 yılı Temmuz-Eylül aylarında pancar üretiminin yapıldığı 11 il ve ilçelerinde *Cercospora* hastalığının yaygınlığının belirlenmesi amacıyla survey çalışması yapılmıştır. Toplam 391 tarlada survey yapılmış, 193 tarlada *C. beticola* yaprak lekesi etmeninin varlığı saptanmıştır. Hastalığın en fazla görüldüğü il, %82.4 oran ile Yozgat ili olmuş, bunu sırasıyla Kırşehir (%75) ve Kastamonu (%72.7) illeri takip etmiştir. Ayrıca, elde edilen *Cercospora* izolatları içerisinde 66’sı ile patojenite çalışmaları yapılmıştır. Yürütülen bu çalışma sonucunda, patojenite testi için kullanılan izolatların 15 tanesinin virülensinin çok yüksek olduğu belirlenmiştir. Virülensi yüksek olan izolatlar içerisinde seçilen iki *C. beticola* izolatu çeşit reaksiyonu çalışmalarında kullanılmıştır. Denemede kullanılan çeşitlerden cv. Turbata ve cv. Serenada her iki *Cercospora* izolata karşı dayanıklılık gösterirken, cv. Kassandra her iki izolata karşı da hassas reaksiyon göstermiştir (Tunalı vd., 2018)

Yine 2011 yılında Tunalı vd., (2016) yaptığı bir survey çalışmasında, hastalığın daha önceleri yaygın görülmeyen Orta Anadolu bölgesinde ki illerde de yaygınlaştığı ve inceleme yapılan 10 ilin incelenen tarlalarında hastalığın yaygınlığının ortalama % 59.1 olduğunu saptamışlardır. Aynı çalışmada 2013 yılında yaptıkları ikinci arazi surveyinde ise hastalığın daha önce görülmeyen karasal iklimin hüküm sürdüğü illerde dahil hemen her alanda giderek daha fazla yayıldığı bildirilmiştir.

2.4. *Cercospora beticola* ile Yapılan Moleküler Çalışmalar

Fas'ta yapılan bir çalışmada *C. beticola*'nın moleküler tanımlamasının, spesifik primerler (AGCACAGTATCATGATTGGTATGG; ve CACTGATCCAGACGGAGTACCTG) ile 42 saflaştırılmış izolat için gerçekleştirildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) ve Minisatellite veya Microsatellite bölge DNA'sının (DAMD) Direkt Amplifikasyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak aynı pancar üretim bölgesinden gelen izolatlar için bile kullanılan primere bağlı olarak yüksek bant çeşitliliği olduğu ve izolatların, yüksek bir morfolojik ve moleküler farklılık gösterdiği belirlenmiştir (El-Houssni, 2021).

Amerika'dan Avrupa'ya şeker pancarının gitmesiyle *C. beticola*'nın şeker pancarı ve diğer konukçulara yayıldığı New York' da etmen bir grup oluştururken, ikinci grubun Kanada, Avrasya, Şili, Hawaii, kuzey Dakota ve Michigan ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu bölgeler arasındaki gen akışı çıkarımları, bir kümenin kaynağının muhtemelen Avrasya'da olduğunu, diğer kümenin kaynağının ise bilinmediğini göstermektedir. Bu durumda *C. beticola*'nın çok uzak mesafelere dağılabildiği hipotezi doğrulanmaktadır (Knight et al., 2019).

2.5. *Cercospora beticola* ile Mücadele

Şeker pancarında *Cercospora* yaprak lekesi hastalığı ile mücadelede fungusit kullanımı ve dayanıklı çeşit yetiştirilmesi en çok ele alınan mücadele yöntemleridir. Ancak bu patojenin bilinen genetik değişkenliği nedeniyle çeşitlerin dayanıklılığı çok çabuk kırılmakta, kullanılan fungusitlere karşı da çok çabuk dayanıklılık oluşmaktadır (Özgür 2003). Bununla birlikte hastalık entegre mücadele yöntemi uygulanarak kontrol altına alınabilmektedir. Münavebe ve dayanıklı çeşit yetiştiriciliği ile birlikte kimyasal mücadele de uygulandığında, ürün hastalıktan büyük oranda korunabilmektedir (Brent, 1995; Meriggi et al., 2000; Schaufele ve Wevers, 1996, Smith and Campbell, 1996; Wiedemann and Merdinoglu, 1991). Öte yandan son yıllarda, *C. beticola* popülasyona karşı uygulanan fungusitlere karşı dayanıklılığın ortaya çıkması nedeniyle yapılan çalışmalar da artış göstermiştir (Ioannidis and Karaoglanidis, 2000; Tümbek vd., 2011; Trkulja et al., 2015).

Nikou et al., (2009) tarafından, *C. beticola* izolatları, Kuzey Yunanistan'da triazollerle yoğun bir şekilde ilaçlanan şeker pancarı tarlalarından izole edilmiştir.

Direnç faktörleri 18 ila 25 ve 65 ila 115 arasında değişen iki dirençli fenotip tanımlanmıştır. Epoksikonazole dirençli izolatlar triazol flutriafole daha az duyarlı bulunmuş ancak benzimidazol benomil ve karboksamid boscalid'e duyarlı bulunmuştur. Yüksek dirençli fenotiplerdeki dayanıklılığın mutasyonları ile hiçbir uygunluk ilişkilendirilmemiş ve fungusit içermeyen ortamda *C. beticola*' da ilk kez dört nesil sonra C-14 alfa-demetilaz geninin (CYP51) izole edildiği bildirilmiştir. Çoğu izolat direnç seviyelerini korumuştur. Sadece yüksek dirençli izolatlarda gözlenen nötr bir mutasyonun, PCR-RFLP moleküler direnç tanısının geliştirilmesine izin verdiği bildirilmiştir.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması

Bu çalışmada 2022-2023 yılları arasında Samsun ilinde şeker pancarı, pazı, kırmızı pancar ve ıspanak üretiminin yapıldığı Bafra, Çarşamba, 19 Mayıs ve Atakum ilçeleri ile bu ilçelere bağlı köylerinde arazi sürveyleri gerçekleştirilmiştir. Samsun ilinde hastalıklı kültür bitkisi ve yabancı ot örneklerinin toplandığı bölgeler Tablo 3.1’de verilmiştir. Samsun ilinde sürvey yapılan arazilerden toplanan yabancı otlardan hastalık elde edilemediği için, Amasya ilinin Suluova ve Merzifon ilçelerinden de yabancı ot örnekleri toplanmıştır (Tablo 3.2). Bitki örneklerinin toplanması esnasında tarlaların köşegenleri boyunca tarla büyüklüğüne göre 10-15 adımda bir bitkiler incelenmiş, hastalığın tipik lekeleri bulunan yapraklar tarla başına her örnek için 3-5’er adet olacak biçimde plastik torbaya konarak etiketlenmiştir. Sürveylerde aynı bölgede birbirinden uzak noktalar tercih edilmiştir. Arazi çalışmalarında toplanan bitki örnekleri +4 °C’de saklanmış ve birkaç gün içinde bitki örneklerinden izolasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.1. Samsun ilinden şeker pancarı yaprak örneği toplanan ilçe ve köyler

İlçe	Köy
Bafra	İkizpınar
	Örencik
	Kahramandere
	Koşu
	Meskenler
	Sarıköy
Çarşamba	Bakırpınar
	Çatak
	Yukarıkarabahçe
	Bölmeçayırı
Atakum	Yenikaracalı
	İncesu
	Taflan
19 Mayıs	Alanlı
	Yukarıengiz
	Yeşilyurt

Tablo 3.2. Samsun ve Amasya illerindeki şeker pancarı arazilerinden toplanan lekeli yabancı otlar

<i>Convolvulus arvensis</i>	Tarla sarmaşığı
<i>Chenopodium album</i>	Kazayağı
<i>Amaranthus retroflexus</i>	Tilki kuyruğu
<i>Rumex crispus</i>	Kıvırcık labada
<i>Sonchus oleraceus</i>	Adi eşek marulu
<i>Xanthium strumarium</i>	Domuz pıtırağı
<i>Rubus canescens</i>	Yabani böğürtlen
<i>Persicaria lapathifolia</i>	Tırşon

3.2. İzolatların Gelişmesini Sağlayan Besi Ortamının Hazırlanması

Bu çalışmada izolatların gelişimi için patates dekstroza agar (PDA) ve şeker pancarı yaprak ekstraktı agar (SBLEA) besi ortamı kullanılmıştır. PDA besi ortamının hazırlığında önerilen 39 gr Patates Dekstroza Agar (Merck), 1000 ml saf su içinde çözdürülmüş ve otoklav şişesinde 121 °C’de 20 dakika boyunca otoklavda steril edilmiştir. SBLEA besi ortamı için ise 300 gr şeker pancarı yaprağı 1 litre saf su ile kaynatıldıktan sonra süzgeç yardımıyla süzölmüş ve içerisine 12 gr agar eklenmiştir. Suyu azalan ortam 1 litreye tamamlanarak 121 °C’de 20 dakika boyunca otoklavda steril edilmiştir. Steril edilmiş ortamların sıcaklığı 50 °C’nin altına düştüğünde içerisine oxytetracycline (0,1 g/l) antibiyotiğı eklenerek 9 cm çapındaki steril plastik Petri kaplarına yaklaşık 20 ml olacak şekilde steril kabinde dökölmüş ve soğumaya bırakılmış, soğuduktan sonra izolasyon çalışmalarına kadar +4 °C buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.3. Hastalıklı Bitki Örneklerinden İzolasyon Çalışmaları

Hastalık belirtisi gösteren yaprak örnekleri, üzerinde bulunan derin ve geniş lezyonlu alanla birlikte sağlıklı kısmı da içeren 0,5 cm uzunlukta kesilerek % 2’lik NaOCl içerisinde üç dakika yüzeysel dezenfeksiyona tabi tutulmuştur. Bu parçalar 2 seri steril saf sudan geçirilerek NaOCl kalıntısı uzaklaştırılmış ve dokulardaki fazla suyun giderilmesi amacıyla steril kurutma kağıtları arasında kurumaya bırakılmıştır. Kurutma kağıdındaki lezyonlu parçalar, içerisinde 2’şer adet nemli kurutma kağıdı bulunan dokuz cm’lik Petri’lere 4-5 parça olacak şekilde steril pens yardımıyla yerleştirilmiştir. Petriler 25 °C sıcaklıkta, gün ışığı ve yakın ultraviyole ışık altında 24-48 saat süreyle inkübe edilmiştir. Gelişen konidiler x10’luk büyütmede ışık mikroskobu altında incelenip, tipik *Cercospora* konidi gelişmesi gösterenler belirlenerek işaretlenmiş ve içerisinde PDA ortamı bulunan 6 cm’lik Petri kaplarına steril kürdan yardımıyla alınmıştır. Işık mikroskobu altında görölen konidiler Şekil

3.1' de verilmiştir. İzolasyonlarda bulaşma riskine karşı konidiler iki tekerrürlü olarak Petri'lere aktarılmıştır. Buna rağmen bulaşan örnekler olmuş, bu örnekler temiz bir gelişme gösterene kadar izolasyon çalışması devam ettirilmiştir.



Şekil 3.1. Işık mikroskobu altında görülen tipik *Cercospora* konidi ve konidiofor gelişimi

3.4. İzole Edilen *Cercospora* İzolatlarının Saklanması

Hastalıklı bitki örneklerinden elde edilen *Cercospora* izolatları, kısa süreli saklanması için PDA ortamında +4 °C'de buzdolabında, uzun süreli saklanması için -80 °C'de derin dondurucuda tutulmuştur. Bunun için 25 °C sıcaklıkta, floresan ışık altında ve PDA ortamında 6-7 gün gelişmesi tamamlanan izolatlardan, 3 mm çapında steril mantar delici ile agar diskleri oluşturulmuş ve bu diskler steril cryo-viallere aktararak etiketlenmiş ve -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Spor verimini kontrol etmek amacıyla -80 °C'de saklanan izolatlar PDA besi ortamına ekilmiş ve 25 °C floresan ışık altında 7-8 gün gelişen kolonilerden preparat yapılarak mikroskopta incelendiğinde inokulasyon için yeterli spor olmadığı görülmüştür. Spor verimini teşfik etmek amacıyla üç farklı yöntem kullanılmıştır.

Birinci yöntemde kolonilere steril bir bistüri ile çizikler atılarak tekrar gelişmeye bırakılmıştır. 2-3 gün sonra koloniler ışık mikroskobu altında incelenmiştir.

İkinci bir yöntem olarak, izolatlar SBLEA besi ortamına ekilerek 14 °C sıcaklıkta ve ışıksız ortamda gelişmeye bırakılmıştır. Gelişme sonunda koloniler ışık mikroskobunda incelenmiş ve Thoma lamı ile spor miktarı sayılarak kaydedilmiştir.

Üçüncü bir yöntem olarak SBLEA besi ortamında gelişen kolonilerden steril bistüri yardımıyla agar parçası alınarak tekrar SBLEA besi ortamına yaymak suretiyle aktarılmıştır. 14-15 °C sıcaklık ve 15 saat floresan gün ışığı altında inkübe edilen petriler incelenmiştir. Thoma lamı ile spor miktarı sayılarak kaydedilmiştir. Üç yöntem de karşılaştırılarak çalışmalar en iyi spor veren yöntemle devam ettirilmiştir.

3.5. Şeker Pancarı Bitkisinin Yetiştirilmesi ve Patojenite Testleri

Bu çalışmada Ankara Şeker Pancarı Enstitüsü'nden temin edilen, *Cercospora* spp.'ye hassas bir şeker pancarı çeşidi olarak bilinen Smart Briga çeşidi ve *Cercospora* spp.'ye dayanıklı olduğu bilinen Libellula çeşidi kullanılmıştır. Yüzeysel dezenfeksiyon aşamasında tohumlar önce %2'lik NaOCI içerisinde 3 dk bekletildikten sonra steril saf su bulunan kaplara alınmıştır. Tohumlar 2 seri steril saf sudan geçirildikten sonra steril kurutma kağıtları arasında kurumaya bırakılmıştır. Dezenfeksiyon işlemi tamamlanan tohumlar, çimlenmesi için içerisinde ince bir tabaka halinde steril kum ve steril su bulunan küvetlere yerleştirilmiştir. Üzeri streç film yardımıyla kapatılarak 25 °C sıcaklık ve floresan ışık altında 7 gün süreyle çimlenmeye bırakılmıştır. Uygun sıcaklık ve floresan ışık altında 7 gün sonunda çimlenmesini tamamlayan şeker pancarı tohumları, içerisinde steril toprak-kum-perlit (1v:1v:1v) karışımı bulunan 9 cm çaplı plastik saksılara pens yardımıyla şaşırtılmıştır. Daha önceden hazırlanmış olan bu saksılardaki toprak karışımı, sterilizatörde 165 °C'de 2,5 saat olmak üzere iki kez steril edilmiştir. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre her bir saksıda 3 tohum olacak şekilde, her bir izolat ve kontrol için 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Şeker pancarı fideleri 5 yapraklı döneme geldiğinde her saksıda 2 fide olacak şekilde seyreltme yapılmıştır ve patojenite çalışmalarına kadar düzenli olarak sulanmıştır.



Şekil 3.2. İklim odasında yetiştirilen inokulasyona hazır şeker pancarı bitkileri

SBLEA besi ortamında gelişme süresi tamamlanan *C. beticola* kültürlerinin üzerine yaklaşık 10'ar ml steril saf su konularak bir fırça yardımı ile fungus agar yüzeyinden kazınarak alınmış ve bir süspansiyon hazırlanmıştır. Bu süspansiyon bir tülbent yardımıyla süzülerek misel ve agar parçalarının süspansiyondan arındırılması sağlanmıştır. İçerisine %0,05 oranında Tween 20 damlatılmıştır. Spor süspansiyonları Thoma lamı ile sayılarak 5×10^4 yoğunluğunda süspansiyonlar elde edilmiştir.

Hazırlanan süspansiyonlar, her bir izolat için 3 tekerrürlü olarak bitkilere tamamen ıslatılacak şekilde püskürtülmüştür. Kontrol grubundaki bitkilere ise sadece steril saf su püskürtülmüştür. İnokulasyon yapıldıktan sonra bitkiler 23 °C' de 14 saat günışığı/10 saat karanlık şartlarda nem çemberine alınmıştır. Bunun için saksılara ıslak polietilen torbalar geçirilerek 48 saat nem çemberinde tutulmuş, 48 saat sonunda nem çemberinden çıkarılarak iklim odasında aynı şartlarda gelişmeye bırakılmıştır. Islak polietilen torbalara alınan saksılar şekil 3.3'de verilmiştir. İnokulasyonu takiben gelişmesi tamamlanan bitkiler, KWS (Kleinwanzlebener Saatzucht, 1970)' nun 0-10 skalası kullanılarak yaprak leke belirtileri yönünden değerlendirilmiştir.



Şekil 3.3. İnokulasyon sonrası polietilen torbalar içerisine alınan bitkiler

Yetiştirilen şeker pancarı bitkileri hazırlanan spor süspansiyonları ile inokule edildikten sonra, her bir saksı bitki çeşidini ve inokule edilen izolat numarasını belirtecek şekilde numaralandırılmıştır. Bu numaralandırma aşağıdaki tabloda

verilmiştir (Tablo 3.3). Elde edilen yabancı ot izolatu patojenite testinden sonra elde edildiğinden bu izolat ile patojenite testi yapılamamıştır.

Tablo 3.3. Kullanılan şeker pancarı çeşitleri, kullanılan izolatların numaraları, İzolatların elde edildiği bölge ve bitkiler

Çeşitler	Konsantrasyon numaraları	İzole edilen bölge ve bitki
	1	Çatak – Şeker pancarı
	2	Alanlı 2 – Şeker pancarı
	3	Örencik – Şeker pancarı
	4	Alanlı 3 – Pazı
	5	Yukarıengiz – Pazı
	6	Yukarıkarabahçe- Pazı
1. Libellule	7	Alanlı – Ispanak
	8	Irmaksırtı - Pazı
2. Smart Briga	9	13-45 – Şeker pancarı
	10	Meskenler – Şeker pancarı
	11	Koşu 2(1) – Kırmızı pancar
	12	Alanlı 1 – Pazı
	13	Koşu 1(3) – Kırmızı pancar
	14	Bölmeçayırı – Pazı
	15	Koşu 3 – Kırmızı pancar
	16	Koşu 2(2) – Kırmızı pancar
	17	Taflan – Pazı
	18	Bakırpınar – Şeker pancarı
	19	İkizpınar – Şeker pancarı
	20	Kahramandere – Şeker pancarı
	21	Koşu 1 – Kırmızı pancar
	22	Koşu 2 – Kırmızı pancar
	23	Yenikaracalı – Pazı

3.6. *Cercospora beticola* İzolatlarından DNA Ekstrasyonu

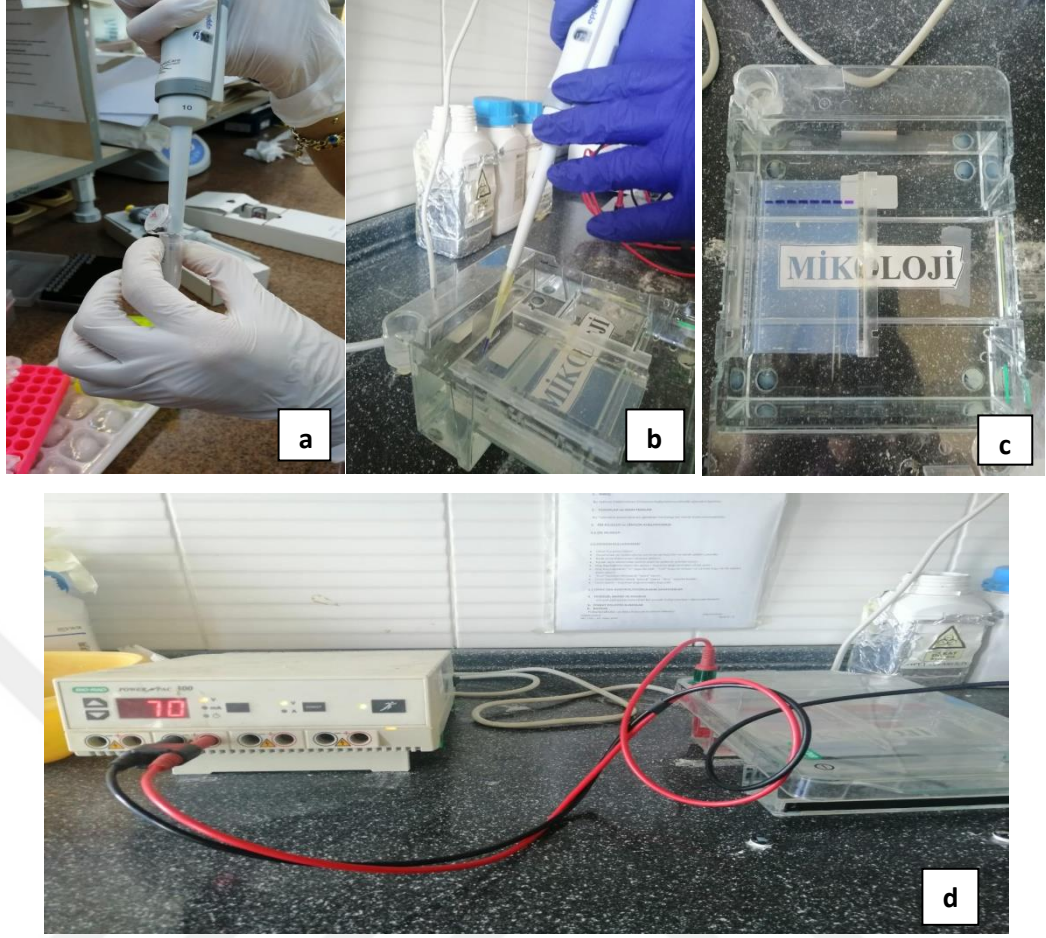
Yapılacak DNA ekstrasyon çalışmaları amacıyla seçilen 7 farklı izolat, PDA besi ortamında 10 gün süre ile gelişmeye bırakılmıştır. Gelişmesi tamamlanan izolatlardan steril mantar delici ile her izolattan ikişer parça olacak şekilde agar disk parçası alınıp, içerisinde patates dekstrozu sıvı (PDB) besi ortamı bulunan erlenmayer içerisine bırakılmıştır. Erlenmayer içerisinde 10 gün süre ile çalkalayıcıda geliştirilen fungus kültürü bir huni ve içine konulan bir tülbent üzerine akıtılarak sıvı kısmının uzaklaşması sağlanmıştır. Üstte kalan fungal kitle ise kurutma kağıtları üzerinde kurumaya bırakılmıştır. Kuruması tamamlanan fungus kültürü pens yardımıyla steril Eppendorf tüplere aktarılmıştır ve bu tüplerin üzerine steril iğne ile delikler açılarak liyofilizatörde kurumaya bırakılmıştır. Tamamen kuruyan misel parçaları liyofilizatörden alınarak yeni Eppendorf tüplere aktarılmıştır ve misel parçaları toz haline gelene kadar ezilmiştir. Toz haline getirilen izolatların üzerine 700 µl buffer I

eklenerek vortekslendikten sonra, 2000 rpm' de 2 dakika santrifüjlenmiştir. Her bir izolatin üst tarafında biriken sıvı kısmından 90 µl alınarak yeni Eppendorf tüplere konulmuştur ve üzerlerine 10 µl buffer II eklenmiştir. İzolatlar vorteksdan geçirildikten sonra 65 °C'de 1 saat etüvde tutulmuştur. Etüvden alınan izolatlar 3500 rpm' de 10 dakika süreyle tekrar santrifüj edilmiştir. Santrifüjden aldığımız tüplerin üst kısmında kalan süpernatant sıvıdan 40 µl alınarak ayrı bir Eppendorf tüpe aktarılmıştır ve üzerine 100 µl etanol eklenerek 2000 rpm' de ve 4 °C'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Ardından tüpün üst kısmında biriken sıvı uzaklaştırılarak bir gün süreyle bekletildikten sonra ultra saf sudan 100 µl eklenerek -20 °C'ye kaldırılmıştır.

3.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Çalışması

PCR reaksiyonları, 1×PCR reaksiyon tamponu, dNTP'den 0.2 mM, 2mM MgCl₂, her bir primerden 0.4 µM, 1.2 ünite *Taq* DNA Polimeraz ve 40 ng izolat DNA'sı içerecek şekilde 50 µl' lik bir reaksiyon karışımında gerçekleştirilmiştir. Genomik DNA'nın ITS lokusunu amplifiye etmek için, White et al., (1990) tarafından belirlenen ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') ve ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') primer çifti kullanılmıştır.

PCR ürünlerine 1x TAE tampon solüsyonunda %1,5'lik agaroz jel içerisinde elektroforetik ayırım uygulanmıştır. 1x TAE tampon solüsyonu ve agaroz karışımı mikrodalgada homojen hale gelene kadar çözdürülmüştür. Homojen çözelti 40 °C'ye kadar soğutularak jel tepsisine dökülmüştür. Hazırlanan agaroz jeldeki kuyucuklara PCR ürünlerinden 10 µl alınarak 2 µl yükleme de boyası eklenerek yüklenmiş ve 60 dk 90 volt elektriksel alanda yürütülmüştür. Markör olarak GeneRuler 100 bp+ DNA ladder kullanılmıştır. Agaroz jel süre sonunda etidyum bromür ile boyanarak PCR ürünlerin varlığı bir jel görüntüleme sisteminde kontrol edilmiştir.



Şekil 3.4. Polimeraz zincir reaksiyonu: Reaksiyon karışımının hazırlanması (a), PCR ürünlerinin agaroz jeldeki kuyucuklara yüklenmesi (b), Agaroz jelde PCR ürünlerinin görünümü (c), PCR ürünlerinin elektroforezde koşturulması (d).

3.8. ITS-1 ve ITS-4 bölgesinin kısmi gen dizilemesi

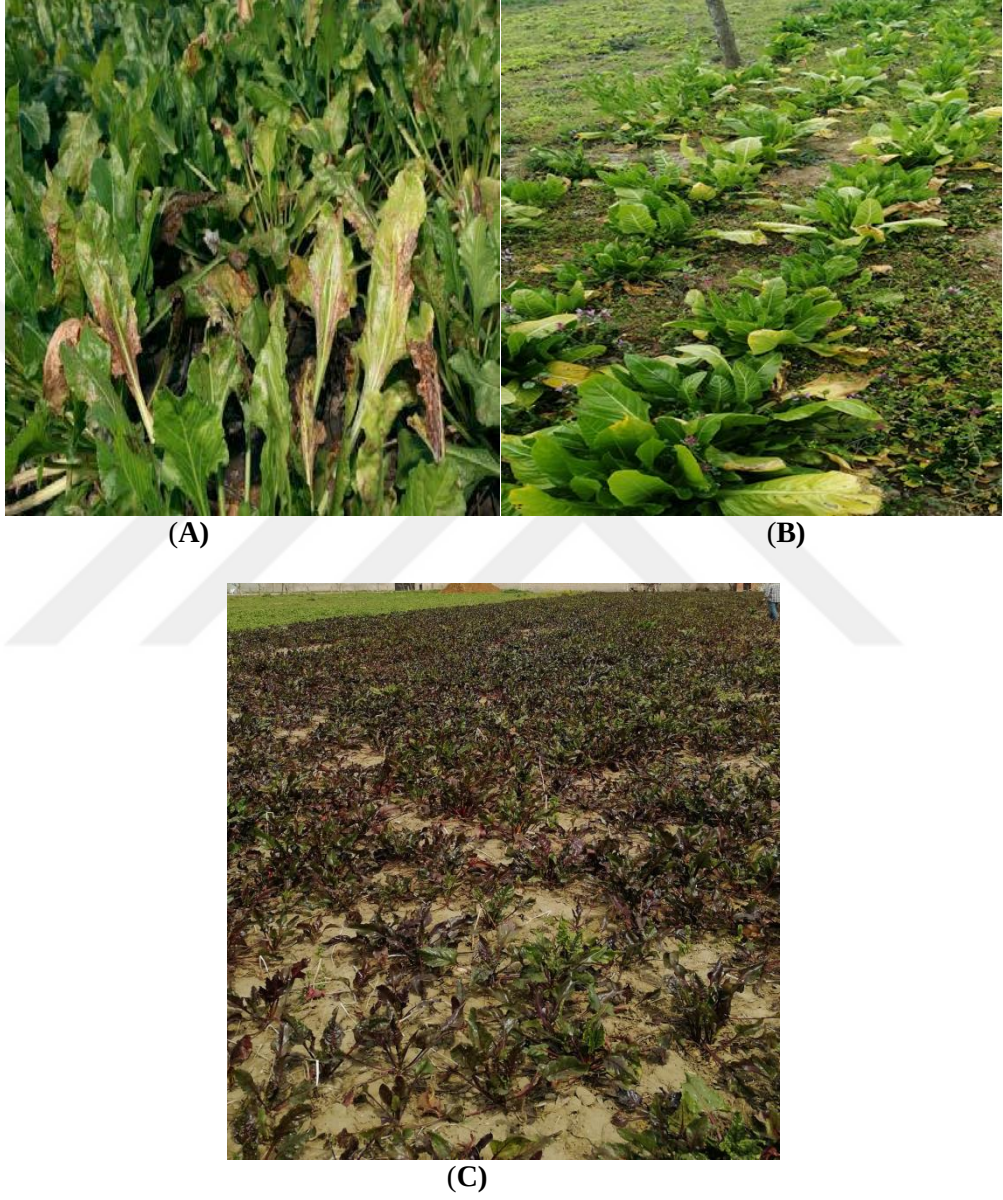
Cercospora beticola izolatları arasındaki genetik farklılıkların ortaya konulması amacıyla, ITS1 ve ITS4 bölgelerini kapsayan kısmının kısmi gen sekansı yapılmıştır. Belirtilen bölgenin ilk olarak ITS1 ve ITS4 primer çiftleri ile (ITS1: 5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3' ve ITS4: 5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') PCR çoğaltımları yapılmıştır. PCR reaksiyonları 50 µl toplam hacimde hazırlanmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinden 10 µl, %1.5 agaroz jel elektroforezis ile görüntülenmiş, görüntülemelerde yaklaşık 400-500 bp'lik bant gösteren izolatlar ITS1 ve ITS4 primer çiftleri için hazırlanan reaksiyon stokları ile gen sekanslama hizmetinin alınacağı firmaya gönderilmiştir. Elde edilen sekanslar, Dnastar (Lasergene, Wisconsin, USA) kullanılarak Clustal metodu ile sıralanıp düzenlenmiş ve GENE BANK veri tabanına göre izolatların belirtilen gen bölgesinin karşılaştırılması ve doğrulanması yapılmıştır. Tüm filogenetik analizler, PAUP 4.0

b10 kullanılarak gerçekleştirilmiş, Unweighted parsimony analizleri, bireysel olarak ağaç bisection-reconnection (TBR) dallanma değiş tokuşlu (branch swapping), 100 ilave tesadüfi sekansla heuristik seçenek kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kalde sabitesi 1000 bootstrap tekrarlamalı olarak değerlendirilmiştir.



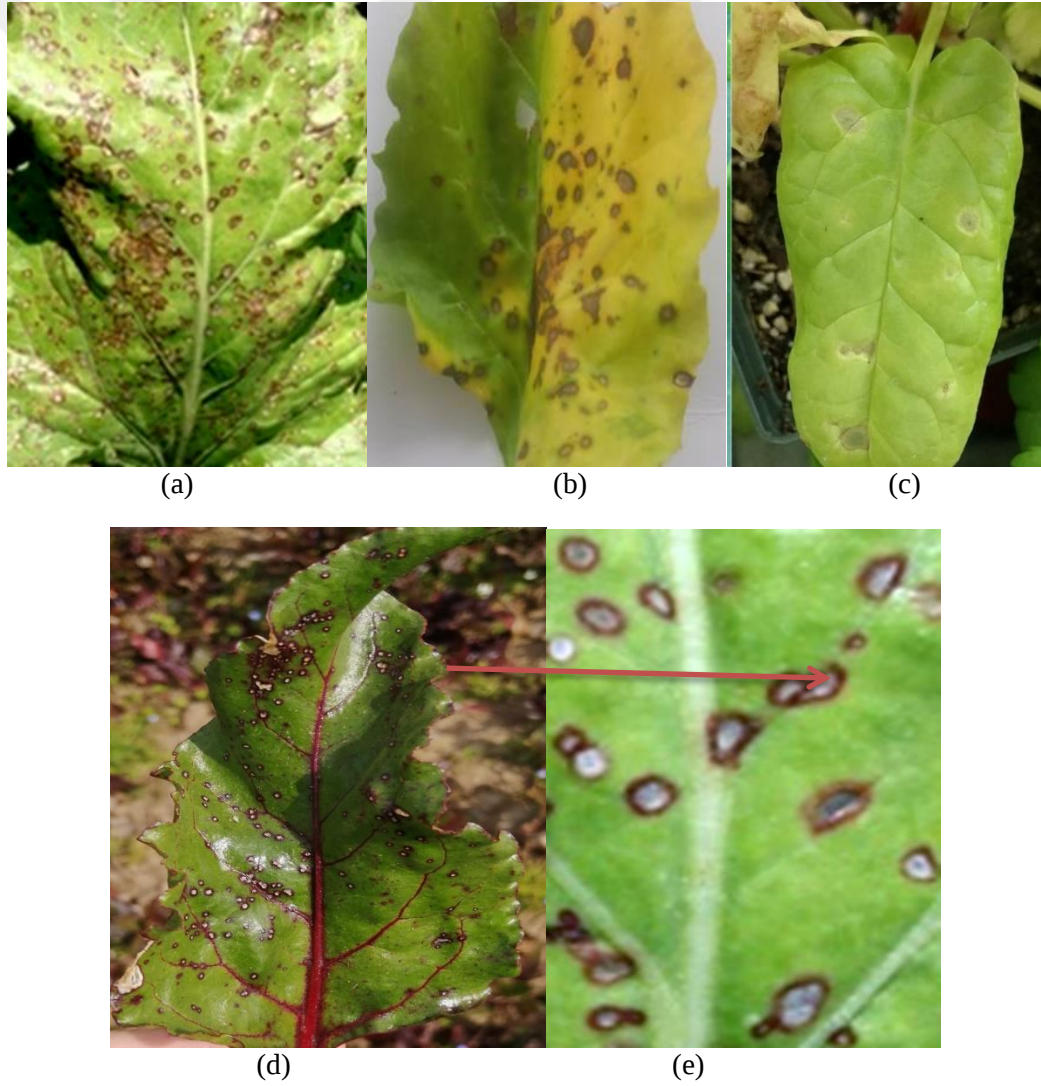
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Şeker pancarında verim ve kalite üzerinde önemli ve olumsuz etkilerinin olduğu görülen *Cercospora* yaprak lekesi etmeninin Samsun ili, ilçe ve köylerinde şeker pancarı ve akraba konukçularında yaygın olarak bulunduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Şeker pancarı (A), pazı (B) ve kırmızı pancar (C) tarlasında *Cercospora beticola*'nın oluşturduğu belirtiler ve hastalığın genel durumu

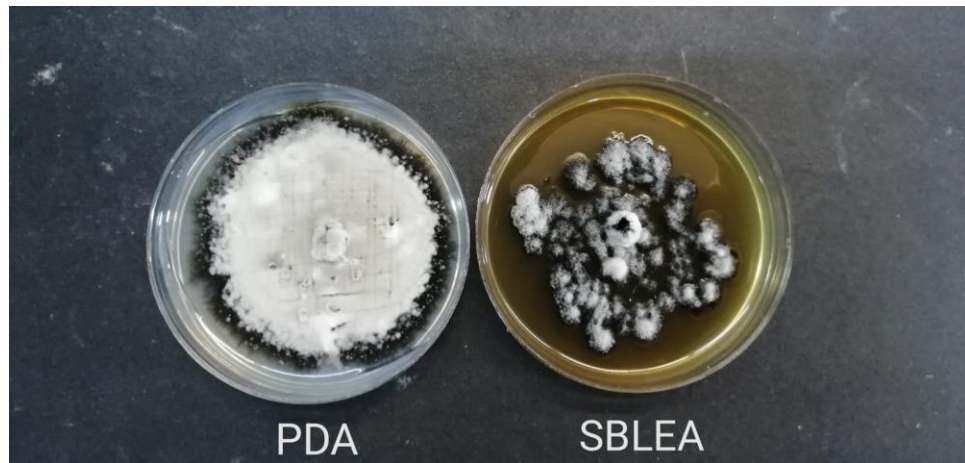
Yaptığımız bu çalışmada, 2022-2023 yılı Nisan-Eylül ayları arasında Samsun iline bağlı ilçe ve köyleri ile Amasya ilinin Merzifon ve Suluova ilçesinde yapılan sürvey çalışmalarında, *C. beticola* hastalık etmeninin akraba konukçusu olan kültür bitkilerinin (şeker pancarı, kırmızı pancar, hayvan pancarı, pazı, ıspanak vb.) bulunduğu arazilerden hastalıklı bitki ve yabancı ot (*Amaranthus* spp., *Convolvulus arvensis*, *Chenopodium album*, *Xanthium strumarium*, *Sonchus oleraceus*, *Rumex* spp., vb.) örnekleri toplanmıştır (Şekil 4.2). Hastalık etmeni, Samsun ilinin sürvey yapılan arazilerinde oldukça yaygın olarak görülmüştür. Hastalık etmeni gezilen tarlalardaki akraba yabancı otlardan sadece *Chenopodium album* (Sirken)' dan elde edilmiştir. Benzer belirti gösteren diğer yabancı ot örneklerinde ise çoğunlukla *Alternaria* spp. ve *Colletotrichum* spp. gelişimi görülmüştür.



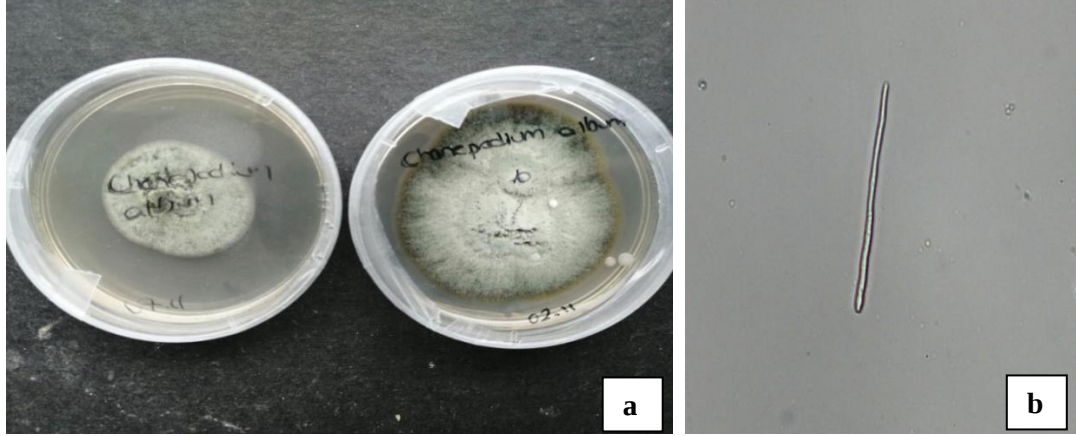
Şekil 4.2. *Cercospora beticola* hastalık etmeninin neden olduğu belirtiler: a. Şeker pancarı, b. Pazı, c. Ispanak, d. Kırmızı pancar, e. Lekelerin yakından görüntüsü

Yapılan srveyler sonucunda, *Cercospora* yaprak lekesi belirtisi gösteren ve konukçusu olduğu düşünülen kültür bitkileri ve yabancı otlardan toplanan enfekteli yapraklardan izolasyon yapılmış ve 23 kültür bitkisi izolatu ve bir yabancı ot izolatu saf olarak elde edilmiştir. İzolasyonlar için inkübasyona alınan yaprak parçaları ikinci günden itibaren incelenmiş ve *Cercospora*'nın pseudostroma üzerinde bulunan tipik konidiofor ve konidiler alınıp 25 °C'de 10 gün boyunca inkübe edilmiştir. Bu dönemde ikinci günden itibaren yoğun *Alternaria* spp. konidiofor ve konidileri yaprakların üzerinde gelişmiş ve izolasyon zorluğu yaratmıştır. Aynı şekilde yapılan çalışmalarda inkübasyonun ilk iki gününde farklı türlerde *Alternaria* kontaminasyonun ortaya çıktığı ve *Cercospora* yaprak lekesi etmeninin yavaş gelişmesinden dolayı üzerinin *Alternaria* spp. tarafından kapatıldığı bildirilmiştir (Weiland and Koch 2004).

İzolasyon sırasında hem PDA hem de SBLEA besi ortamı kullanılmış ve ikisi arasında kültürlerin gelişme şekli açısından farklılık grlmştir. Her iki besi ortamında gelişen kolonilerin grimsi-siyah renkte ve tozlumsu yapıda olduğu ancak PDA ortamında yuvarlağa yakın, SBLEA ortamında parçalı gelişme gösterdiği gözlenmiştir (şekil 4.3). *Chenopodium album*'dan ve farklı kültür bitkilerinden elde edilen kültürlerin arasında da gelişme şekli açısından farklılık görülmemiştir (şekil 4.4). İzolatlar farklı sıcaklık ve ışık koşullarına da konularak aralarındaki gelişme farklılıkları belirlenmiştir.



şekil 4.3. PDA ve SBLEA besi ortamlarında *Cercospora beticola* gelişimi



Şekil 4.4. *Chenopodium album*' dan elde edilen *Cercospora beticola* etmeninin PDA ortamında gelişimi (a), ışık mikroskobunda görülen spor yapısı (b).

İki farklı besi ortamında ve farklı sıcaklıkta yapılan çalışmalar sonucunda istatistiksel olarak üç yöntem arasında da farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Buna göre en iyi sporlanmanın 25 °C sıcaklık ve floresan ışık altında PDA ortamında meydana geldiği belirlenmiştir. Işıksız ortamda ve 14 °C sıcaklıkta gelişen kolonilerin, ışıklı ortamda gelişen kolonilere göre daha az sporlanma oluşturduğu görülmüştür. Ahmetjan and Halz (1973) da yaptıkları çalışmalarda buna benzer sonuçlar elde etmiş, sporlanmanın optimum 25 °C'de ışıklı ortamda oluştuğunu belirtmişlerdir. Bu da ışığın, *Cercospora* sporlarının gelişimi üzerinde olumlu etkisinin olduğunu göstermektedir. Calpouzos and Stalknecht (1965, 1966) ise yaptıkları çalışma sonucunda farklı sonuçlar elde etmiş, sporlanmanın en yüksek 15 °C'de, en az ise 30 °C'de olduğunu, ışığın ise spor gelişimi üzerinde indirekt etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bir araştırmada, ışık rejiminin *C. beticola* sporülasyonunda en belirleyici unsur olduğu istatistiksel olarak belirlenmiştir. SBLEA besiyeri ve 12 saat periyodik ışık ve karanlıkta sporlanma %66,67 iken, PDA besiyeri ve 12 saat ışık kullanıldığında sporlanma %60,42 olarak kaydedilmiş ve PDA'da karanlıkta tutulduğunda sporlanma %6,25 iken, SBLEA besiyeride tamamen karanlıkta sporlanma %20,83 olarak kaydedilmiştir (Housni et al.,2021).

Göktürk ve Döken (2000)'in çalışmaları süresince besi ortamlarından aldığı konidi ve konidiofor örneklerinin ölçülmesi sonucu, PDA ve SBLEA besi ortamlarında konidi boyutlarını sırası ile 2.3-6.5x37-105 µm ve 2.1-6.9x37-107 µm olarak birbirlerine yaklaşık değerde bulmuşlardır. Konidioforların bitki dokusunda 3.5-4.5x60-172 µm olarak ölçüldüğü, PDA besi ortamında 3-4x45-160 µm ve SBLEA besi ortamında 3-4x47-157 µm olduğu belirlenmiştir. Bir başka araştırmacı

ekibi ise konidiofor boyutlarını 5x58-200 µm olarak saptamışlardır (Carels et al., 1990). Yaptığımız çalışmada konidilerin bölme sayıları 3-12 arasında bulunurken, bazı çalışmalarda 2-10 arasında bölmesi olduğu bildirilmektedir (Göktürk ve Döken, 2000; Kirk 1954). Yapılan bir çalışmada ise dört farklı şeker pancarından alınan örneklerde en yüksek bölme sayısının 17 ila 20 arasında değiştiği belirtilmektedir (Rossi et al., 2000).

Yaptığımız incelemelerde fungusun PDA besi ortamında alttan koyu kahverengi ve üstten donuk daha açık renkli yuvarlağa yakın bir gelişme gösterdiğini gözlemlenmiştir. Ayrıca konidilerin, ince uzun olduğu, konidi eninin alt ve üst tarafında birbirlerinden farklı boyutlarda olduğu belirlenmiştir. Konidioforların ise uzun, hafif kıvrımlı dallanmayan çok sayıda bölmeli olduğu saptanmıştır (Şekil 3.1). Bir çok araştırmacı da benzer bir şekilde besi ortamında fungusun donuk kahverengi renkte, dallanmayan düz veya hafif kıvrımlı, çok sayıda bölmeli konidioforlar üzerinde oluştuğunu bildirmektedir (McKay and Pool, 1918; Kirk, 1954; Carels et al., 1990; Göktürk ve Döken, 2000).

İzolasyonların yapıldığı ortamlar karşılaştırıldığında ise, Hudec et al., (2022)'nin aksine, PDA besi ortamında SBLEA besi ortamına göre daha yüksek oranda spor gelişimi olduğu saptanmıştır. Seçilen bazı izolatlardan elde edilen kolonilerin, farklı ortam ve sıcaklıklarda görülen spor yoğunlukları Tablo 4.1' de verilmiştir.

Tablo 4.1. Seçilen bazı izolatlardan elde edilen kolonilerden, farklı ortam ve sıcaklıklarda saptanan spor sayıları

Örneğinin alındığı lokasyon ve bitki	14 °C, ışısız SBLEA ortamında (spor/ml)	25 °C, floresan ışıklı PDA ortamında (spor/ml)	14 °C, floresan ışıklı SBLEA ortamında (spor/ml)
Koşu 1- Kırmızı pancar	1,2x10 ⁵	1,2x10 ⁵	5x10 ⁴
Koşu 2- Kırmızı pancar	6x10 ⁴	4x10 ⁵	6x10 ⁴
Yenikaracalı- Pazı	2x10 ⁴	2,2x10 ⁵	6x10 ⁴
Alanlı 2- Pazı	8x10 ⁴	4,6x10 ⁵	1x10 ⁵
İkizpınar 4- Ş. pancarı	1,4x10 ⁵	1,8x10 ⁵	1,2x10 ⁵
Meskenler 3- Ş. pancarı	6x10 ⁴	1,2x10 ⁵	4x10 ⁴
Alanlı 1- Ispanak	5x10 ⁵	6x10 ⁴	4x10 ⁴

Spor yoğunlukları belirlenen izolatlar ile yapılan istatistik sonuçlarına göre, kullanılan üç farklı yöntem ile elde edilen spor yoğunlukları arasındaki farkın önemsiz olduğu, aynı zamanda izolatlar arasında da spor yoğunlukları arasındaki

farkın önemsiz olduğu görülmüştür. Fakat elde edilen toplam veriler göz önünde bulundurulduğunda en iyi sporlanmanın 25 °C ışıklı PDA ortamında, en düşük sporlanmanın ise 14 °C ışıklı SBLEA ortamında olduğu görülmektedir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Farklı ortamların spor konsantrasyonu üzerine etkisi (sırasıyla, 14 °C ısıksız SBLEA ortamı, 25 °C ışıklı PDA ortamı, 14 °C ışıklı SBLEA ortamı)

Farklı izolatların spor yoğunlukları incelendiğinde ise en yüksek sporlanmanın Alanlı köyünden toplanan pazı ve ıspanak izolatlarında olduğu göze çarpmaktadır. İzolatların farklı agresif ırklarının bu tarlalarda bulunabileceği düşünülmektedir. Ayrıca Koşu köyünün farklı arazilerinden elde edilen kırmızı pancar izolatlarının arasında da spor yoğunluğu açısından fark olduğu görülmektedir. Aynı zamanda İkizpınar ve Meskenler köyünden elde edilen şeker pancarı izolatlarında spor yoğunlukları arasında da fark olduğu görülmüştür (Şekil 4.6). Sporulasyonun epidemilerin gelişmesinde önemli rolü olduğu ve diğer patojenlerin aksine şeker pancarı yaprak hastalıklarında, *C. beticola*'nın spor üretiminin kesinlikle yüksek bağıl nem mevcudiyetine bağlı olduğu aynı zamanda da duyarlı bitkilerde, *C. beticola*'nın lezyon başına dirençli genotiplere kıyasla daha fazla konidi ürettiği bildirilmiştir (Oerke et al., 2019).



Şekil 4.6. Farklı konukçulardan ve farklı lokasyonlardan alınan izolatlardan elde edilen spor miktarları

4.1. Patojenite Denemeleri

Besi ortamında gelişmesi tamamlanan izolatlardan Thoma lamı ile spor sayımı yapılarak 5×10^4 spor/ml yoğunluğunda süspansiyonlar hazırlanmıştır. Yapılan saksı denemelerinde bitkilerin 4-5 yapraklı olduğu dönemde (Şekil 4.7) hastalık etmeninin 5×10^4 spor/ml olan süspansiyonu bir mini el pülverizatörü ile bitkilere püskürtülmüştür. 48 saat nem çemberine alınan bitkiler 48 saatin sonunda nem çemberinden çıkarılmış ve iklim odasında tekrar gelişmeye bırakılmıştır.



Şekil 4.7. Spor süspansiyonlarının şeker pancarı bitkisine püskürtülmesi



Şekil 4.8. *Cercospora beticola*'nın konidi ve konidiofor yapıları

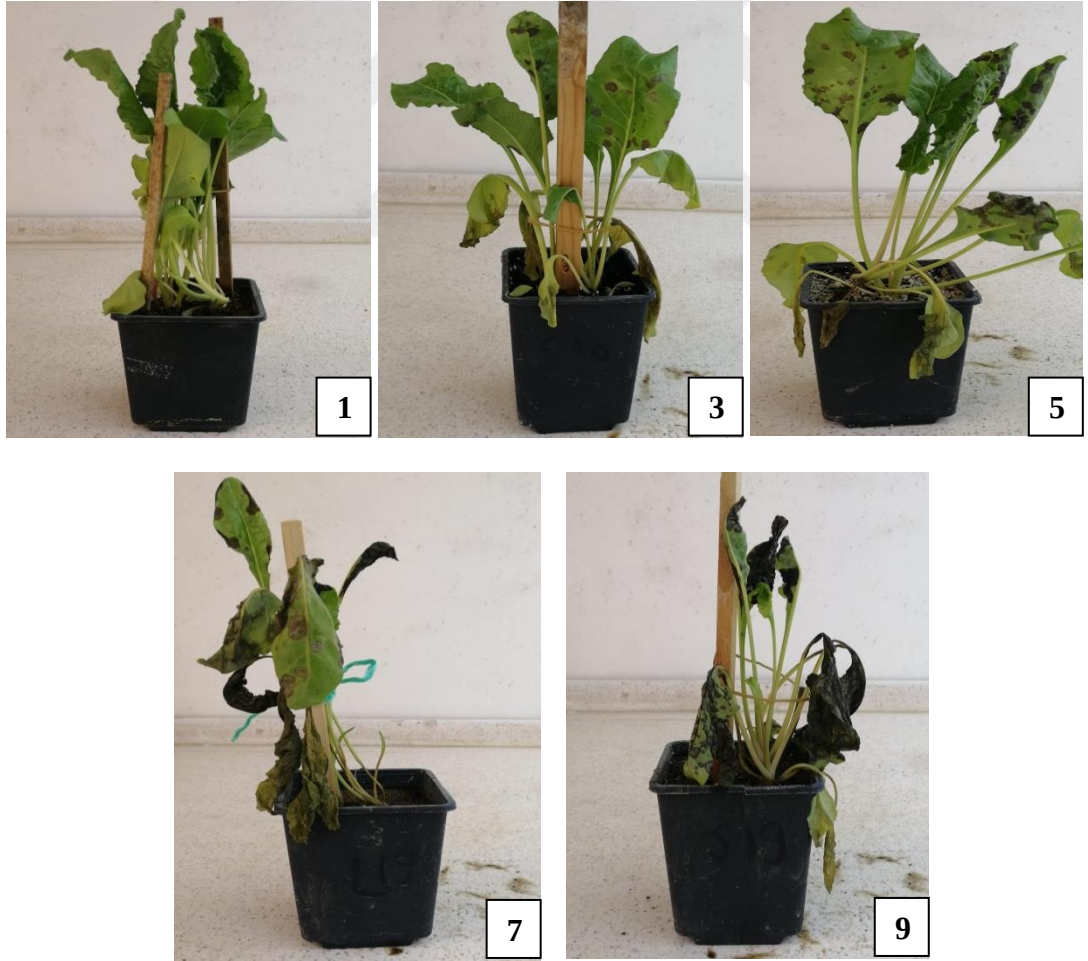
4.1.1. Hastalık Şiddetinin Değerlendirilmesi

İlk belirtiler, inokulasyonu takiben 9. günde görülmeye başlanmıştır. Yapılan ilk incelemede Libellule çeşidine inokule edilen izolatlardan 12 tanesinde belirti görülmüş olup, bunların beş tanesi Çatak, Alanlı, Meskenler ve İkizpınar köylerinden alınan şeker pancarı bitkisinden, dört tanesi Koşu köyünün farklı arazilerinden alınan kırmızı pancar bitkisinden, üç tanesi ise Alanlı ve Yenikaracalı köylerinden alınan pazı bitkisinden elde edilen izolatlar olduğu görülmüştür. Smart Briga çeşidine inokule edilen izolatlardan ise 5 tanesinde belirti görülmüş olup, bunların iki tanesinin Örencik ve Alanlı köylerinden alınan şeker pancarı bitkisinden, iki tanesi Alanlı köyünün farklı arazilerinden alınan pazı bitkisinden, bir tanesi ise Koşu köyünden alınan kırmızı pancar bitkisinden elde edilen izolatlar olduğu görülmüştür. Ispanak bitkisinden elde edilen izolatın ise uygulandığı iki şeker pancarı çeşidinde de 9. günde belirti göstermediği görülmüştür. İnokulasyonu takiben 20. günde her bir izolat için hastalık değerlendirmesi yapılmış ve enfekteli yapraklardaki belirtiler göz önünde bulundurularak, sonuçlar 0-10 skalasına göre değerlendirilmiştir (Tablo 4.2). İnokulasyonun 20. gününde yapılan hastalık değerlendirmesi sonucunda fungusun, bütün bitkilerde belirti gösterdiği ancak lekelerin yoğunluğu ve bitkilerde meydana getirdiği tahrip derecesinde farklılıklar olduğu belirlenmiştir.

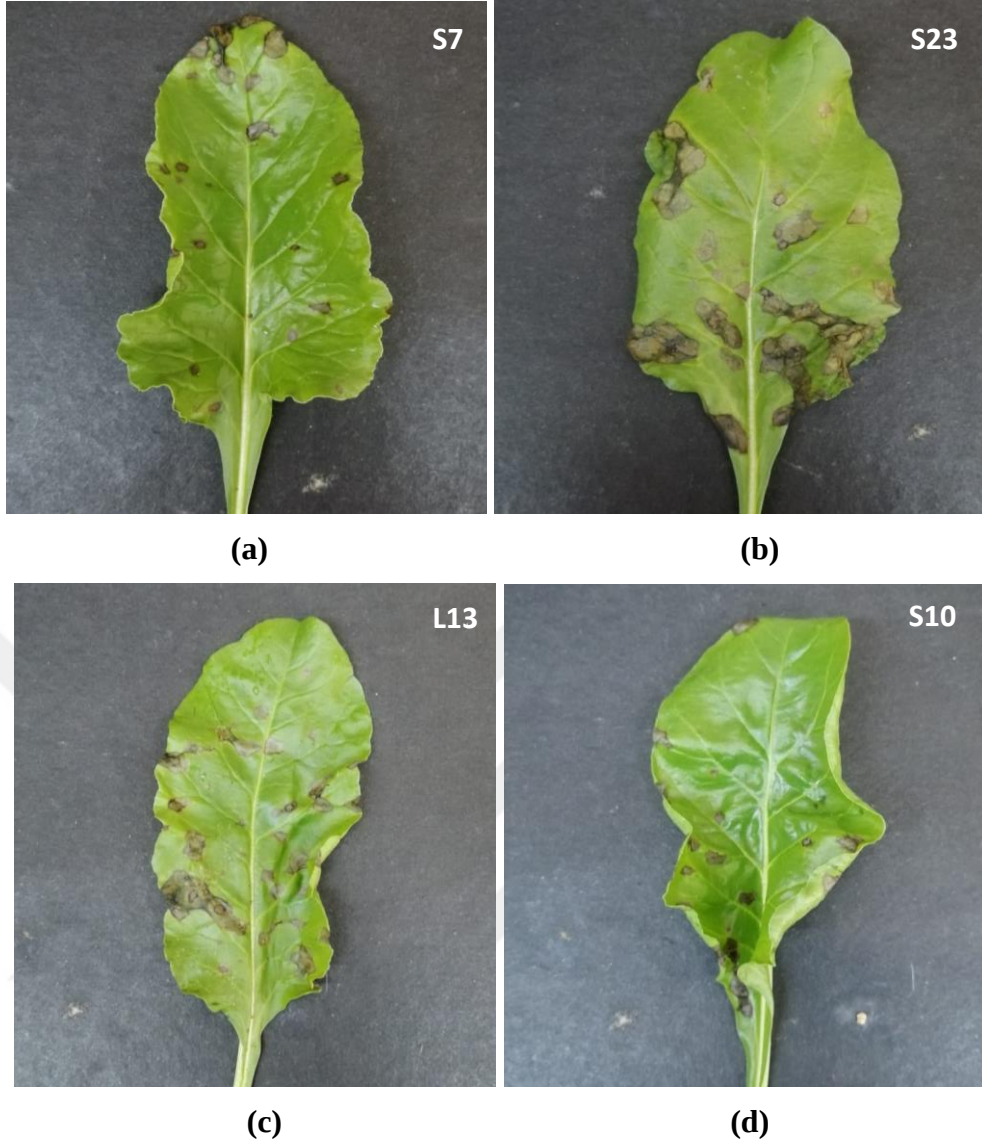
Tablo 4.2. İzolatların patojenitesi değerlendirilirken kullanılan değer skalası (Saatzucht, 1970)

Skala değeri	Değer Aralığı
1	1-5 nokta/yaprak
2	6-12 nokta/yaprak
3	13-25 nokta/yaprak
4	26-50 nokta/yaprak
5	51-75 nokta/yaprak
6	%3 şiddetli simptom
7	%6 şiddetli simptom
8	%12 şiddetli simptom
9	%25 şiddetli simptom
10	%50-%100 şiddetli simptom

Bitkilerdeki simptom durumuna göre yapılan skala değerlendirmesine göre, hastalığın bitkilerde oluşturduğu genel durum Şekil 4.9'da ve farklı kültür bitkilerinden elde edilen izolatların uygulandığı şeker pancarı bitkisindeki simptomlar Şekil 4.10'da verilmiştir.



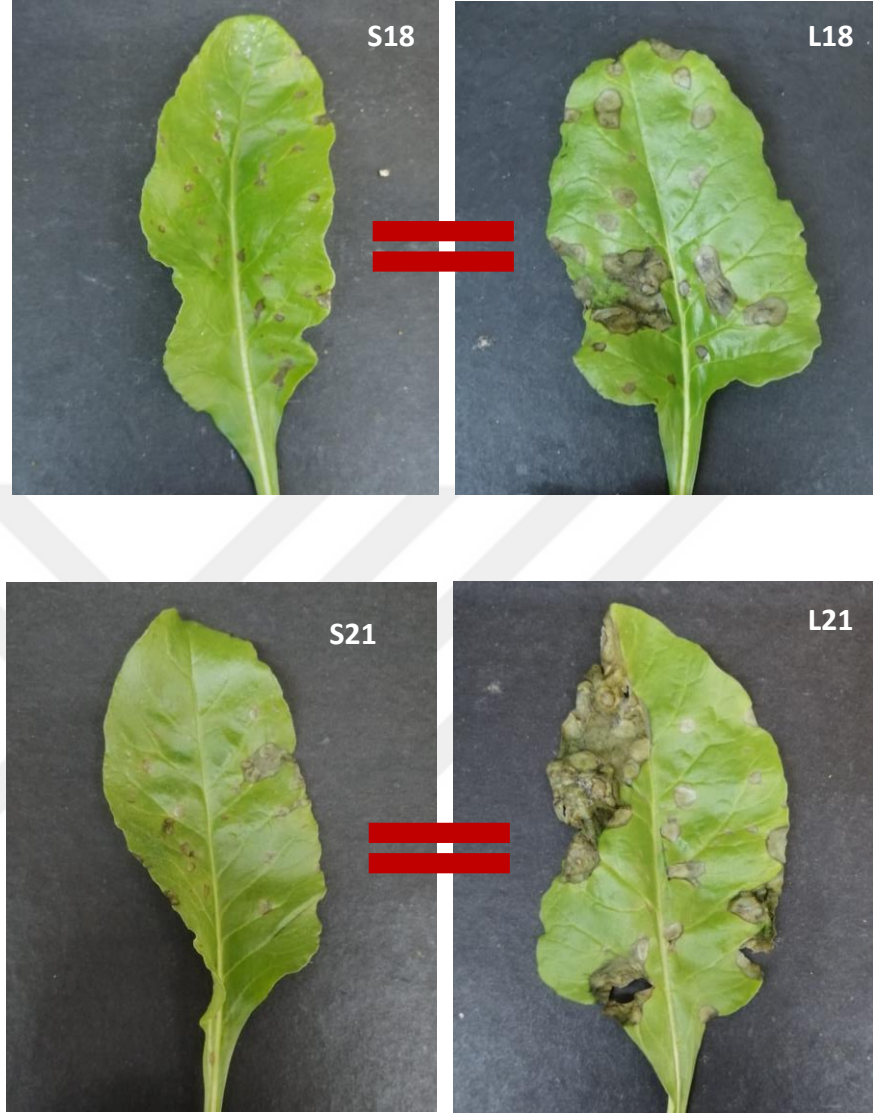
Şekil 4.9. Patojenite testi sonucunda Cercospora yaprak lekesi hastalığı belirtilerinin değerlendirilmesinde kullanılan 0-10 skalasına göre 1,3,5,7,9 skala değeri alan şeker pancarı bitkilerinin görünümü



Şekil 4.10. Farklı bölgelerden ve farklı kültür bitkilerinden elde edilen izolatların şeker pancarında oluşturduğu belirtiler: a. Ispanaktan, b. Pazıdan, c. Kırmızı pancardan, d. Şeker pancarından

Yapılan uygulama sonucunda farklı bölge ve farklı kültür bitkilerinden elde edilen izolatların şeker pancarında oluşturduğu belirtiler arasında morfolojik olarak fark olmadığı görülmüştür. Fakat aynı izolatın farklı çeşitlere uygulanması sonucunda belirtilerin yoğunluğu arasında fark olduğu görülmüştür. Aynı zamanda bazı izolatlar farklı şeker pancarı çeşidine uygulandığında, *Cercospora*'ya dayanıklı olan çeşidin hassas reaksiyon gösterirken, hassas olan çeşidin ise dayanıklı reaksiyon gösterdiği belirlenmiştir. Örneğin, Bakırpınar köyünden toplanan şeker pancarından elde edilen izolatın ve Koşu köyünden toplanan kırmızı pancardan elde edilen izolatın uygulandığı Libellule çeşidinde hassas reaksiyon gösterirken, Smart Briga çeşidinde dayanıklı reaksiyon gösterdiği görülmüştür (Şekil 4.11). Koşu köyünün

farklı arazilerinden toplanan kırmızı pancar bitkisinden elde edilen izolatların ise aynı çeşitte oluşturduğu hastalık şiddeti çok farklı olmuştur (Şekil 4.12).



Şekil 4.11. Aynı izolatın uygulandığı soldaki Smart Briga çeşidinin ve sağdaki Libellule çeşidinin gösterdiği hastalık reaksiyonları



Şekil 4.12. Farklı bölgelerden elde edilen kırmızı pancar izolatlarının Smart Briga çeşitinde meydana getirdiği belirtiler

İzolatlar ve kullanılan çeşitler arasında görülen bu farklar varyans analizi ve SPSS paket programı ile belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucuna göre patojenite testine tabii tutulan izolatların şeker pancarında oluşturduğu hastalık şiddeti arasındaki farkın hem Libellule çeşidinde (Tablo 4.3) hem de Smart Briga çeşidinde (Tablo 4.4) istatistiksel olarak önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Veriler göz önüne alındığında Libellule çeşidinde tüm izolatlar patojen olarak bulunmuş ve kontrol bitkilerinden ayrı gruplarda yer almıştır. Bu çeşide karşı en zayıf patojenite gösteren izolatların başında L6 izolatı gelmekte bunu takiben ayrı bir grupta yer alan en az hastalık şiddeti oluşturan izolatlar L2, L4, L7 ve L15 izolatları olmuştur. Bu izolatlardan L6 pazıdan izole edilirken yine ıspanaktan, kırmızı pancardan, şeker pancarından ve pazıdan elde edilen birer izolat düşük hastalık şiddeti oluşturmuştur. Diğer taraftan L3, L9, L19 ve L23 nolu izolatlar da en yüksek patojenite reaksiyonu göstermiştir. Bu izolatların üçü şeker pancarından biri de pazıdan elde edilmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Libellule çeşidine ait yüzde hastalık şiddeti analiz sonuçları

İzolat Kodu	%Hastalık şiddeti
L1	67.77 abcdef
L2	39.99 gh
L3	79.99 abc
L4	33.33 gh
L5	45.55 efg
L6	14.44 hı
L7	31.10 gh
L8	52.22 cdefg
L9	78.88 abc
L10	77.77 abcd
L11	77.44 abcde
L12	47.77 defg
L13	66.66 abcdef
L14	77.77 abcd
L15	39.99 fgh
L16	55.55 bcdefg
L17	68.88 abcdef
L18	65.55 abcdef
L19	87.77 a
L20	57.77 abcdefg
L21	76.66 abcd
L22	59.99 abcdefg
L23	83.33 ab
Kontrol	0 ı

Smart Briga çeşidindeki patojenite sonuçları ele alındığında ise kontrol bitkileri tamamen ayrı bir grupta yer almıştır. Ancak S7, S15 ve S18 tamamen ayrı bir grupta yer almış ve patojenitesi düşük düzeyde bulunmuştur. Buna karşılık S3, S13, S19 ve S22 en yüksek hastalık şiddeti oluşturan izolatlar olurken, diğer izolatlar ile aynı grupta yer almıştır.

Konukçu bitkiler ele alındığında ise en zayıf patojenlerden birinin ıspanaktan diğerinin kırmızı pancardan bir diğerinin de şeker pancarından elde edildiği görülmektedir. Bu çeşitte hastalık şiddeti en yüksek olanların ise ikisinin kırmızı pancar ikisinin de şeker pancarından izole edildiği görülmektedir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Smart Briga çeşidine ait yüzde hastalık şiddeti analiz sonuçları

İzolat Kodu	%Hastalık şiddeti
S1	81.11 ab
S2	65.55 abcd
S3	88.88 a
S4	81.11 ab
S5	77.77 ab
S6	57.77 bcd
S7	40.00 de
S8	66.66 abc
S9	77.77 ab
S10	73.33 abc
S11	74.44 abc
S12	74.44 abc
S13	86.66 a
S14	64.44 abcd
S15	26.66 e
S16	64.44 abcd
S17	74.44 abc
S18	48.88 cde
S19	86.66 a
S20	64.44 abcd
S21	64.44 abcd
S22	85.55 a
S23	67.77 abc
Kontrol	0 f

Sonuçlar ele alındığında ıspanaktan elde edilen patojenin zayıf patojen olarak her iki çeşitte de düşük hastalık şiddeti meydana getirdiği, 3 ve 19 nolu izolatların her iki çeşitte de kuvvetli patojen olarak yüksek hastalık şiddeti oluşturduğu, kırmızı pancardan izole edilen 15 nolu izolatın da ıspanak izolatıyla birlikte her iki çeşitte de oluşturduğu hastalık şiddeti düşük bulunmuştur.

Elde edilen izolatların farklı çeşitlerin üzerine uygulanması sonucu oluşan belirtilerin yoğunluğu arasındaki fark istatistiksel olarak incelenmiş ve kullanılan izolatlardan 5 ve 6 nolu izolatlar için çeşit farklılığı çok önemli iken, 4 ve 12 nolu izolatlar için önemli, 1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 ve 23 nolu izolatlar için ise önemsiz olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Libellule ve Smart Briga çeşitlerine ait T-Testi sonuçları

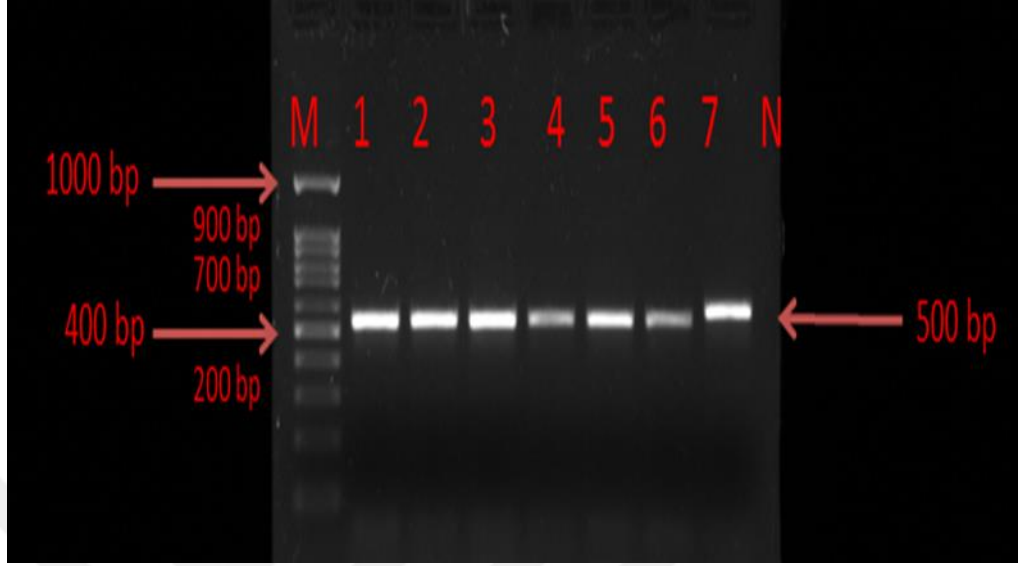
İzolot No	Hastalık Şiddeti (%)		T-Test	
	cv. Libellule	cv. Smart Briga		
1	67.8	81.1	t(4)=-2.353, p=0.078	-
2	39.9	65.5	t(4)=-1.491, p=0.210	-
3	79.9	88.8	t(4)=-0.702, p=0.522	-
4	33.3	81.1	t(4)=-3.170, p=0.034	*
5	45.5	77.7	t(4)=-4.230, p=0.013	**
6	14.4	57.7	t(4)=-4.361, p=0.012	**
7	31.1	40	t(4)=0.590, p=0.587	-
8	52.2	66.6	t(4)=-1.167, p=0.308	-
9	78.8	77.7	t(4)=0.104, p=0.922	-
10	77.7	73.3	t(4)=0.434, p=0.687	-
11	74.4	74.4	t(4)=0.000, p=1.000	-
12	47.7	74.4	t(4)=-5.006, p=0.007	*
13	66.6	86.6	t(4)=-2.167, p=0.096	-
14	77.7	64.4	t(4)=0.819, p=0.459	-
15	39.9	26.6	t(4)=0.654, p=0.549	-
16	55.5	64.4	t(4)=-0.508, p=0.638	-
17	68.8	74.4	t(4)=-1.043, p=0.356	-
18	65.5	48.8	t(4)=1.515, p=0.204	-
19	87.7	86.6	t(4)=0.093, p=0.930	-
20	57.7	64.4	t(4)=-0.875, p=0.431	-
21	76.6	64.4	t(4)=2.523, p=0.065	-
22	59.9	85.5	t(4)=-1.801, p=0.146	-
23	83.3	67.7	t(4)=1.341, p=0.251	-
Kontrol	0	0	Her iki grubun standart sapması 0 olduğundan t hesaplanamaz.	

* p≤0.05 önemli, ** p≤0.01 çok önemli, - p≥0.05 önemsiz

4.2. DNA Ekstrasyonu ve PCR Çalışmalarına Ait Bulgular

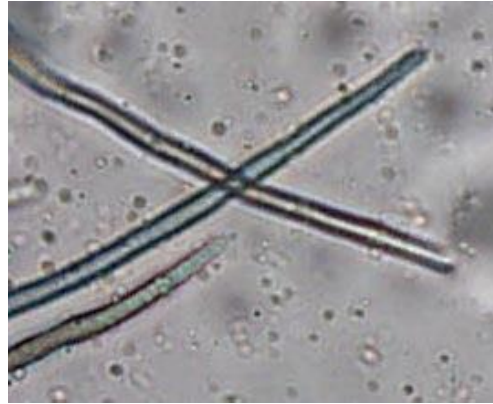
Cercospora izolatlarından iki tanesi şeker pancarından, iki tanesi kırmızı pancardan, iki tanesi pazıdan ve bir tanesi ıspanaktan elde edilen örnekler olmak üzere toplamda 7 adet örnek için DNA ekstrasyon çalışmaları bitirilmiş ve örneklerin ITS1-4 primerleriyle PCR çalışmaları yapılmış, elde edilen ürün sekans analizine gönderilmek üzere hazırlanmıştır. *Cercospora* izolatlarına ait DNA miktarları nano spektrofotometre ile ölçülmüş ve 13.1 ile 84.1 ng/μl arasında değişkenlik göstermiştir. DNA örneklerinin büyüklüklerini belirlemek için GeneRuler 100 bp+ DNA ladder kullanılmıştır. Agaroz jel süre sonunda etidyum bromür ile boyanarak ürünlerin varlığı jel görüntüleme sistemi ile belirlenmiştir (Şekil 4.13). İzolatların

genomik DNA' sını ITS1-4 primer çifti kullanılarak elde edilen ITS genine ait 6 örnekte ortalama 400 bp büyüklüğünde, bir örnekte ise 500 bp büyüklüğünde veriler elde edilmiştir.



Şekil 4.13. PCR' da ITS1-4 primeri ile amplifike edilen ürünlerin elektroforezde görüntülenmesi.
1: Alanlı-Pazı, 2: İkizpınar-Ş. pancarı, 3: Koşu 2-K. pancar, 4: Yenikaracalı-Pazı, 5: Koşu 1-K. pancar, 6: Meskenler-Ş. pancarı, 7: Alanlı-Ispanak, M: Markör, N:Kontrol

Hazırlanan yedi adet izolat sekans analizine gönderilmiştir. Sekans analizlerinden elde edilen sonuçlar ele alındığında iki adet şeker pancarından, iki adet pazı ve iki adet kırmızı pancardan elde edilen izolatın *Cercospora beticola* olduğu belirlenmiştir. Ancak ıspanaktan izole edilen izolat sekans analizinde *C. beticola* olarak belirlenmemiştir. Yapılan çalışmada ıspanaktan izole edilen izolat mikroskopik olarak gözlemlendiğinde sporların *C. beticola* sporlarıyla çok benzer olduğu görülmüştür (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Ispanak bitkilerinden izole edilen fungusun mikroskoptan konidi görüntüsü

Diğer taraftan sekans analizine gönderilen örnek incelendiğinde örneğin *Colletotrichum* sp. ile karışık olduğu ve her iki fungusun bir arada olduğu düşünülmüştür. Nitekim sekans sonuçları incelendiğinde tür teşhisinin *C. spinaciae* olarak ortaya çıktığı anlaşılmaktadır (Tablo 4.6). Yapılan mikroskopik incelemede fungus kültüründe tipik *Colletotrichum* sporları da gözlenmiştir (Şekil 4.15). Ispanakta patojen olarak *C. beticola* ile birlikte *C. spinaciae*'nin de olduğu düşünülmektedir. Yapılan literatür incelemesinde ıspanakta *C. spinaciae*'nin aynı zamanda şeker pancarında da hastalık yaptığı belirlenmiştir. Konidioforların hiyalin ile soluk kahverengi, basit ile 2-bölmeli, genellikle dallanmış, 10-25 µm uzunluğunda, konidiyojen hücreler enteroblastik, klavat ile silindirik, 5,5-15 × 2,5-5 µm, açıklık 1-1,5 µm çapında, konidiler hiyalin, düzgün duvarlı, bölmesiz, kıvrımlı, her iki tarafı yuvarlak tepeye doğru kademeli olarak sivrilen ve yuvarlak veya kesik tabanlı olup (15,5-)19-24(-25) × (2,5-)3-3,5 µm, ortalama $21,6 \pm 3 \times 3,2 \pm 0,3$ µm olduğu bildirilmektedir (Damm et al., 2009).



Şekil 4.15. Ispanak bitkisinden izole edilen fungus kültüründe görülen *Colletotrichum* spp. sporları

Tablo 4.6. Pazi, kırmızı pancar, şeker pancarı ve ıspanaktan elde edilen izolatların ITS ¼ sekans analizi sonuçları

İzolat	Hedef	Primers	Nükleotid	NCBI*			
No	Gen Lokusu**	Çifti	Uzunluğu (bp)	Teşhis Edilen Fungus	Accession No.	Max. Query	Max. Iden.
12- Pazi, Alanlı 2	ITS1-5.8S-ITS2	ITS1/4	487	<i>Cercospora beticola</i>	MK210534	100%	99.18%
19- Ş. pancarı, İkizpınar	ITS1-5.8S-ITS2	ITS1/4	517	<i>Cercospora beticola</i>	MH424448	99%	99.81%
22- K. pancar, Koşu 2	ITS1-5.8S-ITS2	ITS1/4	518	<i>Cercospora beticola</i>	MH424448	100%	99.81%
23- Pazi, Yenikaracalı	ITS1-5.8S-ITS2	ITS1/4	483	<i>Cercospora beticola</i>	MW581280	100%	100%
21- K. pancar, Koşu 1	ITS1-5.8S-ITS2	ITS1/4	522	<i>Cercospora beticola</i>	MH424448	100%	99.81%
10- Ş. panc., Meskenler	ITS1-5.8S-ITS2	ITS1/4	518	<i>Cercospora beticola</i>	NR121315	100%	99.81%
7- Ispanak, Alanlı 1	ITS1-5.8S-ITS2	ITS1/4	554	<i>Colletotrichum spinaciae</i>	AJ301973	99%	99.82%
* National Center for Biotechnology Information; ** Internal Transcribed Spacer Region							

Şeker pancarının ılık ve nemli yetiştirme bölgelerinde *Cercospora* yaprak lekesinden çok etkilendiği ve bu bölgelerde şeker pancarı üretim alanlarının %30'undan daha fazlasını kapsadığı bildirilmektedir. Böyle alanlardaki üreticiler ürünlerini korumak için hastalığa orta ve yüksek genetik dayanıklılık gösteren çeşitlere yer vermek ve fungusit uygulamaktadır. Böyle önlemler alınmadığı takdirde şeker pancarı tarlalarındaki bitkiler *C. beticola* epidemileri sonucu ürün kaybının yüksek olacağı hatta ürünün tamamen kaybedilebileceği bildirilmektedir (Holtschulte 2000).

Şeker pancarında *Cercospora* yaprak lekesi hastalığı ile mücadelede fungusit kullanımı ve dayanıklı çeşit yetiştirilmesi en çok ele alınan savaşım yöntemleridir. Ancak bu patojenin çok yaygın olarak görülen genetik değişkenliği nedeniyle çeşitlerin dayanıklılığının çok çabuk kırılmakta olduğu, kullanılan ilaçlara karşı da çok çabuk dayanıklılık oluştuğu bildirilmektedir (Özgür 2003).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Şeker pancarında *Cercospora* yaprak lekesi, ülkemizin çoğu pancar ekim alanlarında görülen önemli bir hastalıktır. Bu hastalıktan dolayı kaybın %36 civarlarında olduğu tahmin edilmektedir.

Toplanan örneklerden yapılan izolasyon çalışmalarında hastalık etmeninin sadece şeker pancarında değil, konukçusu olduğu kırmızı pancar, pazı, ıspanak ve bazı yabancı otlarda da gelişme gösterdiği belirlenmiştir. Bunlar içerisinde *C. beticola* hastalık etmeni belirlenen yabancı ot türü *Chenopodium album* olmuştur. Ayrıca *Rumex crispus*, *Amaranthus retroflexus* ve *Convolvulus arvensis*'de de morfolojik olarak belirtiler benzemesine karşın fungus izole edilememiştir. Bu bitkilerde yine yaprak lekesine neden olan *Alternaria* spp., *Ascochyta* spp. ve *Colletotrichum* spp. gibi funguslar izole edilmiştir. Hastalıklı bitki artıkları olarak toprağa karışan kültür bitkilerindeki enfekteli yapraklar ile enfekteli tohum ve üretim alanındaki yabancı otlar (özellikle kırmızı pancar ve pazı gibi *Beta* türleri, yabancı *Beta* spp., *Spinacia oleracea* (Ispanak), *Amaranthus retroflexus* (Horoz ibiği), *Atriplex* sp. (Kara pazı), *Chenopodium album* (Sirken), *Rumex crispus* (Kıvırcık labada), *Lactuca seriola* (Yabancı marul), *Taraxacum officinale* (Kara hindiba), *Malva parviflora* (Ebegümeçi), *Convolvulus arvensis* (Tarla sarmaşığı), *Plantago* sp. (Sinir otu), *Polygonum convolvulus* (Sarmaşık çoban değneği) ve *Proboscidea louisianica* (şeytan pençesi) 'nın önemli inokulum kaynakları olduğu araştırmacılarca belirlenmiştir (Vestal, 1933; Jacobsen et al. 2000; Vereijssen et al., 2003; Kaya, 2015; Knight et al., 2019). Etmenin konidilerinin bulaşık yapraklardan sağlıklı yapraklara taşınmasında şiddetli yağmurlardan kaynaklanan su sıçramasının etkisinin de büyük önem taşıdığı bildirilmiştir (Vereijssen et al., 2003).

Farklı kültür bitkilerinden izole edilen *Cercospora* hastalık etmenine dayanıklı ve hassas olduğu bilinen iki farklı şeker pancarı çeşidi üzerinde patojenite çalışmaları yapılmış ve sonlanmıştır. Bu patojenite çalışması sonucunda etmenin genetik çeşitliliğinin oldukça fazla olması sebebi ile, hem aynı izolatin farklı çeşitlerde oluşturduğu belirtiler arasında, hem de aynı çeşitte farklı izolatların oluşturdukları belirtiler arasında farklılıkların olduğu görülmüştür. Bu sebeple izolatların genetik yapılarındaki farklılığın belirlenebilmesi için moleküler karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır ve hazırlanan 7 örnek sekans analizine gönderilmiştir. Ispanaktan elde

edilen fungusun saf olmadığı ve sekans sonucu *C. spinaciae* ile %99 eşleştiği anlaşıldığından bundan sonra fungus saflaştırılarak şeker pancarı ve ıspanakta patojenitesinin yapılmasının uygun olacağı düşünülmektedir. Ayrıca bu tez döneminde yetiştirilemeyen *C. album*'dan alınan morfolojik olarak *C. beticola* olduğu teşhis edilen ve yine ıspanaktan alınan patojenite denemesinde kullanılan ve morfolojik olarak *C. beticola* olarak tanımlanan izolatın sekans analiz sonucu moleküler olarak da teşhisinin yapılması araştırma sonuçların daha geçerli ve faydalı olması açısından önemli olacaktır düşüncesindeyiz.

Aynı zamanda bazı izolatların hastalığa dayanıklı Libellule çeşidinde hassas reaksiyon gösterirken, Smart Briga çeşidinin ise aynı izolata karşı daha dayanıklı reaksiyon gösterdiği belirlenmiştir. Nitekim Cercospora yaprak lekesi hastalığına karşı en etkili mücadele yöntemlerinden biri dayanıklı çeşit kullanılması iken, bu hastalığa karşı tam bir dayanıklılığın olmadığı, bunun sebebinin ise patojenin çok sık genetik çeşitliliğe uğramasından kaynaklandığı belirtilmektedir (Ruppel, 1972, Rossi and Battilani, 1987). Bununla birlikte, zaman içerisinde dayanıklı çeşitlerin de hassas reaksiyon gösterebileceği belirtilmektedir (Ruppel, 1972; Özgür, 2003). Ayrıca bu hastalığın sadece kültür bitkilerinde değil yetiştirme alanlarında bulunan yabancı otlarda da görülmesi sebebiyle, hastalıkla mücadelede yabancı ot savaşı da önem taşımaktadır.

Gerek klasik yöntemlerle, gerekse moleküler yöntemlerle Cercospora yaprak lekesi hastalığı etmeninin patotiplerinin ortaya konması kolay olmamaktadır. Bu fungusun çok fazla genetik çeşitlilik gösterdiği birçok araştırmacı tarafından da ortaya konmuştur. Dayanıklı çeşitleri kullanmak da bu nedenle her zaman etkili olmamaktadır.

Bu çalışma ile fungusun akraba kültür bitkilerinde hastalık oluşturduğu, yabancı otlardan *Chenophodium album*'un da *C. beticola* yaprak lekesine neden olduğu, izolatlar arasında hastalık yapma yetenekleri yönünden farklılıklar bulunduğu ortaya konulmuştur. Farklı bölgelerden hastalık belirtisi gösteren farklı yabancı otlar elde edilebilirse ülkemizde ki mevcut olan farklı konukçular da ortaya konulabilir. Akraba bitkilerinden örneğin *Beta patula*, *Beta macrocarpa*, *Beta vulgaris* sub sp. *maritima*, *Patellifolia procumbens* gibi bitkilerden elde edilen fungusun muhtemelen farklı genetik özellik taşıyan izolatları elde edilebilir kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Ahmadjan, V. ve Halz, M.E. (1973). *The linhens*. New York, London: Academic Press.
- Akbay, A. Ö. (2003). Türkiye’de şeker üretiminin ekonomik ve sosyal karlılığının değerlendirilmesi. Ankara
- Alexopoulos, C.J. (1964). *Introductory mycology*. Newyork, London; Sydney: John Wiley and Sons, Inc.
- Altınok, H.H. (2012). Kayseri ili pancar ekim alanlarında *Cercospora* yaprak leke hastalığının yaygınlığı ve şiddetinin belirlenmesi. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*. 29. 33-45.
- Anonymous, (2022). <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> (Erişim tarihi: 15.03.2023).
- Anonymous, (2023). <https://agrovisio.com.tr/blog/?p=214> (Erişim tarihi: 03.07.2023).
- Bakhshi, M., Arzanlou, M. ve Babai-Ahari, A.U. (2011). Distribution of mating type alleles in Iranian populations of *Cercospora beticola*, the causal agent of Cercospora leaf spot disease of sugar beet. *Phytopathol. Mediterr.* 50. 101–109
- Bakhshi, M., Arzanlou, M., Babai-agari, A., Groenewald, J.Z. ve Crous, P.W. (2015). Is morphology in *Cercospora* a reliable reflection of generic affinity? *Phytotaxa*. 213. 22-34.
- Bessey, E.A. (1961). *Morphology and taxonomy of fungi*. New York: Hafner Punlishing Company.
- Bolton, M.D. vd. (2012). Evaluation of the potential for sexual reproduction in field populations of *Cercospora beticola* from USA. *Fungal Biol.* 116. 511–521.
- Brent, J. K. (1995). *Fungicide resistance in crop pathogens: How it can be managed*. Brussels: FRAC Monograph.
- Brewbaker, H.E., Bush. H.I ve Wood, R.R. (1950). A quarter century of progress in sugar beet improvement by the great western sugar company. *Proc. Am. Soc. Sugar Beet Technol.* 6.202-207.
- Cai, L., Giraud, T., Zhang, N., Begerow, D., Cai, G. ve Shivas, R.G. (2011). The evolution of species concepts and species recognition criteria in plant pathogenic fungi. *Fungal Diversity* 50. 121-133.
- Calpouzos, L. ve Stalknecht. G.F. (1966). Phototropism by conidiophores of *Cercospora beticola*. *Phytopathology*. 56. 702-704.
- Calpouzos, L. ve Stalknecht. G.F. (1965). Sporulation of *Cercospora beticola* affected by an interaction between light and temperature. *Phytopathology*, 55. 1370-1371.
- Carels, N., Dekegel, D., Vanheule, G. ve Lepoivre, P. (1990). Symptomatological and morphological Study of resistance of wild beet species of the patellares section to *C. beticola*. *Phytopathology*. 130. 317-330.
- Carlson, L. (1967) Relation of weather factors to dispersal of conidia of *Cercospora beticola* (Sacc). *Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists*, 14, 319.
- Chupp, C. (1954). *A monograph of the fungus genus Cercospora*. New York: Charles Chupp, Ithaca.
- Chupp, C. (1953). *A monograph of the fungus genus Cercospora*. NY: Ithaca.
- Crous, P.W., Hawksworth, D.L. ve Wingfield, M.J. (2015). Identifying and naming plant-pathogenic fungi: Past, present, and future. *Annu. Rev. Phytopathol.* 53.247-267.

- Damm, U., Woudenberg, J.H.C., Cannon, P.F. and Crous, P.W. (2009). *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. *Fungal Diversity* 39. 45-87.
- Ebert, MK., Lorena I. Rangel, LI., Spanner, RE., Taliadoros, D., Wang, X., Friesen, TL., Jonge, R., Neubauer, JD., Secor, GA., Thomma BPHJ., Stukenbrock, EH., Bolton, MD, (2020). Identification and characterization of *Cercospora beticola* necrosis-inducing effector CbNip1, *Mol Plant Pathol.* 2021;22:301–316.
- El-Kazzaz, M.K. (1977). Cercospora leaf spot disease of chard in Egypt. *Egyptian Journal of Phytopathology.* 9. 81-82.
- Erdoğan, Z. (2017). Türkiye’de şeker sanayinin gelişimi ve şeker sanayinde izlenen politikalar. *Anadolu Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi.* 17 (3). 9-26.
- Eştürk, Ö. (2018). Türkiye’de şeker sektörünün önemi ve geleceği üzerine bir değerlendirme. *Anadolu İktisat ve İşletme Dergisi.* 2 (1). 67-81.
- FAO (2022). *Food and Agriculture Organization of the United Nations statistics division.* <http://faostat.fao.org> (Erişim tarihi: 15.03.2023).
- Farus, D.E., Ogden, D.B., Daxtotor, C.W. ve Helmerich, R.H. (1962). Chemical control of *Cercospora* leaf spot in sugar beets. *J. Am. Soc. Sugar Beet Technol.* 12. 43-52.
- Forsyth, F.R., Unwin, C.H. ve Jursic, F. (1963). Culturel and pathogenic studies of an isolate of *Cercospora beticola* Sacc. *J. Amer. Soc. Sugar Beet Technol.* 12. 485-491.
- Giannopolitis, C.N. (1978). Lesions on sugar beet roots caused by *Cercospora beticola*. *Plant Disease Reporter.* 62. 424-427.
- Giannopolitis, C. (1978). Occurrence of strains of *Cercospora beticola* resistant to triphenyltin fungicides in Greece. *Plant Disease Report.* 62. 205–208.
- Göktürk, T. ve Döken, M.T. (2000). Enfekteli şeker pancarı yapraklarından izole edilen *Cercospora beticola* Sacc.’nın morfolojik özellikleri ve besi ortamındaki gelişiminin belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni.* 40 (1-2). 49-59.
- Große-Herrenthey, U. (2001). *Molekulare Analyse der genetischen Variabilität von Cercospora beticola Sacc., dem Erreger der Cercospora-Blattfleckenkrankheit bei Zuckerrüben, und Untersuchungen zur Resistenz von Beta vulgaris sp. maritima gegen C. beticola unter Anwendung unterschiedlicher Resistenzsysteme.* Dissertation, Universität Kiel, Schriftenreihe des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.
- Groenewald, M, (2007). Molecular characterization of *Cercospora beticola* and its relatives. PHD thesis Wageningen University, The Netherland. ISBN:90-8504-599-1
- Groenewald, M., Groenewald, J.Z, Braun, U. ve Crous, P.W. (2006). Host range of *Cercospora apii* and *C. beticola* and description of *C. apiicola*, a novel species from celery. *Mycologia.* 98. 275-285.
- Groenewald, M., Groenewald, J.Z. ve Crous, P.W. (2005). Distinct species exist within the *Cercospora apii* morphotype. *Phytopathology.* 95. 951-959.
- Groenewald, M., Groenewald, J.Z., Harrington, T.C., Abeln, E.C. ve Crous, P.W. (2006). Mating type gene analysis in apparently asexual *Cercospora* species is suggestive of cryptic sex. *Fung. Genet. Biol.* 43. 813–825.
- Groenewald, M., Linde, C.C., Groenewald, J.Z. ve Crous, P.W. (2008). Indirect evidence for sexual reproduction in *Cercospora beticola* populations from sugar beet. *Plant Pathol.* 57. 25–32
- Harveson, R.M. (2013). *Şeker pancarının Cercospora yaprak lekesi.* NebGuide.

- Holtschulte, B. (2000). *Cercospora beticola*-worldwide distribution and incidence. Asher M.J.C, Holtschulte B, Molard M.R., Rosso F., Steinrücken G., Beckers R. (ed.). *Cercospora beticola* Sacc. *Biology, Agronomic Influence and Control Measures in Sugar Beet 2000, Advances in Sugar Beet Research*. Belgium Brussels: International Institute for Beet Research.
- Hotegni Houessou, J.H., Beed, F., Sikirou, R. ve Ezin, V. (2011). First report of *Cercospora beticola* on lettuce (*Lactuca sativa*) in Benin. *New Dis. Rep.* 23.16.
- Housni ZE., Tahirib,A., Radouaneb,N., Ezrari, S.,and Ouijja, A, (2021). Morphological and genetic diversity of *Cercospora beticola* Sacc isolates in Morocco, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 54; 1143–1158
- Hudec, K., Mihok, M., Tothova, M. ve Bokor, P. (2022). Diversity and fungicidal resistance of *Cercospora beticola*. *Slovak Agricultural University, Institute of Agronomical Sciences, Slovak Republic*. 2022 (2). 148–156.
- İncekara, İ. (1974). *Sistemik bitki hastalıkları*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Ioannidis, P.M. ve Karaoglanidis, G.S. (2000). Resistance of *Cercospora beticola* Sacc. To fungicides. *Advance Sugar Beet Res. IIRB*. 2. 123–147.
- Jacobsen, B.J., Collins, D., Zidack, N., Eckhoff, J. ve Bergman, J. (2000). Management of *Cercospora* leaf spot in Western North Dakota and Eastern Montana. *Sugar Beet Res Ext. Rep.* 30.
- Kaya, R. (2015). Şeker pancarında *Cercospora* yaprak lekesi hastalığı ve mücadelesi. *Tohumcular Birliği Dergisi*. 21. 31-35.
- Knight, N.L. , Vaghefi, N. , Hansen, Z.R. , Kikkert, J.R. and Pethybridge, S.J. (2018) Temporal genetic differentiation of *Cercospora beticola* populations in New York table beet fields. *Plant Disease*, 102, 2074–2082.
- Knight, N.L, Vaghefi, N., Kikkert, J.R. ve Pethybridge, S.J., (2019). Alternative Hosts of *Cercospora beticola* in Field Surveys and Inoculation Trials. *Plant Disease*. 103. 1983-1990.
- Knight, N.L, Vaghefi, N., Kikkert, J.R.Bolton M.,Secor GA., Rivera VV.,Hanson LE.,Nelson SC.,Pethybridge SJ, (2019b). Genetic Diversity and Structure in regional *Cercospora beticola* population from *Beta vulgaris* f.sp. *vulgaris* suggest two clusters of separate origin. *Phytopathology*, 109:1280-1292.
- Khan, J., del Rio, L.E., Nelson, R., Rivera-Varas, V., Secor, G.A. ve Khan M.F.R. (2008). Survival, dispersal, and primary infection site for *Cercospora beticola* in sugar beet. *Plant Disease*. 92. 741-745.
- Khan, J., Qi, A. ve Khan, M.F.R. (2009). Fluctuations in number of *Cercospora beticola* conidia in relationship to environment and disease severity in sugar beet. *Phytopathology*. 99. 796-801.
- Kirk, P.M. (1954). *Monograph of the fungus genus Cercospora beticola*. New York: Privalety Published.
- Kirk, P.M. (1982). Monograph of the fungus genus *Cercospora*. *Plant Pathology*. 55. 1254.
- Lartey, R., Caesar-TonThat, T., Caesar, A., Shelver, W., Sol, N. ve Bergman, J. (2005). Safflower: A new host of *Cercospora beticola*. *Plant Disease* 89. 797-801.
- Mckay, M.B ve Pool, V.M. (1918). Field studies of *Cercospora beticola*. *Phytopathology*. 119-136.
- Meriggi, P., Rosso, F., Ioannidis, P.M. ve Ayala, G.J. (2000). Fungicide treatments against *Cercospora* leaf spot in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Cercospora beticola* Sacc. biology, agronomic influence and control measures in sugar beet. M.J.C. Asher, B.

- Holtshulte, M. Richard-Molard, F. Rosso, G. Steinrücken, R. Beckers (ed.). *Advances in Sugar Beet Research IIRB*.
- Moretti M, Saracchi M, Farina G. (2004). Morphological, physiological and genetic diversity within a small population of *Cercospora beticola* Sacc. *Annul Microbiology*, 54(2):129–150
- Moretti, M. vd (2006). Analysis of genotypic diversity in *Cercospora beticola* Sacc. field isolates. *Annals of Microbiology*. 56 (3). 215–221.
- Nikou, D., Malandrakis, A., Konstantakaki, M., Vontas, J., Markoglou, A., Ziogas ,B. (2009). Molecular characterization and detection of overexpressed C-14 alpha-demethylase-based DMI resistance in *Cercospora beticola* field isolates. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 95, 18–27.
- Oerke, EC., Leucker, M., and Steiner, U. (2019). Sensory assessment of *Cercospora beticola* sporulation for phenotyping the partial disease resistance of sugar beet genotypes. *Plant Methods*, 15: 133, <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0521-x>
- Onurbaş, A., Turker, U., Atasoy, Z. ve Koçtürk, D. (2011). *Tarımsal kökenli yenilenebilir enerjiler-biyoyakıtlar*. Ankara: Nobel Yayınevi.
- Oral, E. (1979). *Nışasta ve şekerli bitki yetiştiriciliği tekniği*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Özeren, P., (2009). *Şeker pancarı yaprak lekesi etmeni Cercospora beticola'nın biyolojik savaşı*. Basılmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Ankara.
- Özgür O.E. (2003). *Sugar beet diseases in Turkey*. General Directory of Turkish Sugar Factories Inc. Publication.
- Pelczar, M.J. ve Ried, R.D. (1958). *Microbiology*. N.Y., Toronto, London: Mc. Graw Hill Book Company, Inc.
- Pool, V.M. ve McKay, M.B. (1916). Climatic conditions as related to *C. beticola*. *Journal Agriculture Research*. 6. 21-60.
- Rangel, L.I., Spanner, R.E., Ebert, M.K., et al., (2020). *Cercospora beticola*: The intoxicating lifestyle of the leaf spot pathogen of sugar beet. *Molecular Plant Pathology*. 21. 1020–1041.
- Raper, J.R. (1966). *Genetics of sexuality in higher fungi*. New York: The Roland Press Comp.
- Rathaiah, Y. (1976). Infection of sugar beet by *Cercospora beticola* in relation to stromata condition. *Phytopathology*. 66: 737-740.
- Rooney-Latham, S., Scheck, H J. ve Walber, T.M. (2011). First report of *Cercospora beticola* causing a leaf spot disease on *Acanthus mollis* in California. *Plant Disease*. 95. 224.
- Rossi, V., Battilani, P., Chiusa, G., Giosuè, S., Languasco, L. and Racca, P. (2000). *Journal of Plant Pathology*,. 82. 125-131.
- Rossi, V. (1998). Losses caused by *Cercospora* leaf spot on sugar beet yield end quality in the Mediterranean area. *Plenary Meeting Mediterranean Section IIRB Brussels*. 1-20.
- Rossi, V. ve Battilani, P. (1987). Dinamica dele epidemiedi *Cercospora beticola* Sacc. Su barbabie tola dazucchero. *Pyhtopathologia Mediterranea*. 26. 170-176.
- Ruppel, E.G. (1972). Variation among isolate of *Cercospora beticola* from sugar beet. *Phytopathology*. 62. 134-136.

- Schaufele, W.R. ve Wevers, J.D.A. (1996). "Possible contribution of tolerant and partially resistant sugar beet varieties to the control of the foliar disease", *Cercospora beticola*. *Proceedings of the 59th IIRB Congress*, Brussels, Belgium.
- Schlosser, E. (1971). The *Cercospora beticola* toxin. *Phytopathology Medith*. 10. 154-158.
- Skylakasis, G. (1974). Assesment of losses due to *Cercospora* leaf spot in sugar beets. *IIRB*. 4. 203-212.
- Smith, G. A. ve Campbell, L. G. (1996). Association between resistance to *Cercospora* and yield in commercial sugar beet hybrids. *Plant Breeding*. 115. 28-32.
- Smith, G. and Gaskill, J. (1970) Inheritance of resistance to *Cercospora* leaf spot in sugar beet. *Journal of the American Society of Sugar Beet*, 16, 172–180
- Smith, G.A. ve Ruppel., E.G. (1973). Association of *Cercospora* leaf spot gross sucrose, percentage sucrose and root weight sugar beet. *Can. J. Plant. Sci*. 53. 695-696.
- Soylu, S., Soylu, E.M. ve Kurt, S. (2003). First report of cercospora leaf spot on swiss chard caused by *Cercospora beticola* in Turkey. *Plant Pathology*. 52. 804.
- Synoground, T. Batson, A., Derie, M.L., Koenick, L.B., Pethybridge, S.J. ve du Toit L.J. (2020). First report of cercospora leaf spot caused by *Cercospora chenopodii* on *Spinacia oleracea* in the U.S.A., 2020. *Plant Disease*. 104. 976.
- Taguchi, K. , Kubo, T. , Takahashi, H. and Abe, H. (2011) Identification and precise mapping of resistant QTLs of *Cercospora* leaf spot resistance in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). G3: Genes, Genomes, Genetics, 1, 283–291.
- Tosun, F. (2017). *Şeker pancarı ürün raporu*. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Tepge Yayın.
- Tunalı, B., Kansu, B., Kutluk Yılmaz, N., Meyva, G. ve Kaya, R. (2018). Türkiye'de şeker pancarında *Cercospora beticola* Sacc.'nın yaygınlığı, patojenitesi ve bazı çeşitlerin dayanıklılığının belirlenmesi. *The Journal of Turkish Phytopathology*. 47 (1). 21-30.
- Tunalı, B., Meyva, G., Kansu, B., Kutluk Yılmaz, N.D. ve Kaya, R. (2012). Pathogenicity and distribution of *Cercospora*-leaf spot of sugar beets in Turkey. *Sugar Beet Congress*, Belgium.
- Trkulja, N., Milosavljevi, A., Stanisavljevi, R., Mitrovi, M., Jovi, J., Tosevski, I. ve Boskovic, J. (2015). Occurence of *Cercospora beticola* populations resistant to benzimidazoles and demethylation-inhibiting fungicides in Serbia and their impact on disease management. *Crop Protection*. 75. 80-87.
- Turgay, E. B., Bakır, M., Özeren, P., Katircioğlu, Y. Z. ve Maden, S. (2010). Detection of pathotypes and genetic diversity of *Cercospora beticola*. *Plant Pathology Journal*. 26. 306-312.
- Tümbek, A. Ç., Özeren, P., Kaya, R., Katircioğlu, Y. K. ve Maden, S. (2011). Sensitivity of *Cercospora beticola* populations in Turkey to flutriafol, mancozeb, and fentin acetate. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 3. 65-71.
- Vaghefi N., Nelson SC., Kikkert JR & Pethybridge SJ, (2017). Genetic structure of *Cercospora beticola* populations on *Beta vulgaris* in New York and Hawaii Scientific Reports | 7: 1726 | DOI:10.1038/s41598-017-01929-4
- Vereijssen, J., Schneider, J. H. M., Termorshuizen, A. J. and Jeger, M. J. (2003). Comparison of two disease assessments keys to assess *Cercospora beticola* in sugar beet. *Crop Protection*, 1: 201-209.-
- Vestal, E.F. (1933). *Cercospora* yaprak lekesinin patojenitesi, konak tepkisi ve kontrollü şeker pancarı. *Iowa Agric. Tecrübe. Stn. Res. Boğa*. 168. 43-47.

- Weiland, J. ve Halloin, J.M. (2001). Benzimidazole resistance in *Cercospora beticola* sampled from sugar beet field in Missigan. *USA, Can. J. Plant Pathol.* 23. 78-82.
- Weiland, J. ve Koch, G. (2004). Sugarbeet leaf spot disease (*Cercospora beticola* Sacc.). *Molecular Plant Pathology*. 5.157–166.
- Whitney, E.D. ve Duffus, J.E. (1991). *Compendium of Beet Diseases and insects*. St. Paul, MN, USA: APS Pres.
- Wiedemann, S. ve Merdinoglu, D. (1991). *Cercosporiose: vers la resistance varietale*. *Cultivar Paris*, 298-299. 28-29.
- Windels, C. E., Lamey, H. A., Hilde, D, Widner, J. ve Knudsen, T. (1998). A *Cercospora* leaf spot model for sugar beet: In practice by an industry. *Plant Disease*. 82. 716-726.
- Wolf, P.F.J. ve Verreet, J.A. (2005). Factors affecting the onset of *Cercospora* leaf spot epidemics in sugar beet and establishment of disease-monitoring thresholds. *Phytopathology*. 95. 269-274.



ÖZ GEÇMİŞ

Çağla YAZICI, Samsun Ondokuz Mayıs Anadolu Lisesi’ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma bölümünden 27.05.2020 tarihinde mezun oldu. 2020 yılında OMÜ LEE Bitki Koruma Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0009-0008-1580-5289

