

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**TİCARİ PATATES TOHUM PARTİLERİNDE, *Spongospora*
subterranea'nın NEDEN OLDUĞU TOZLU UYUZ
HASTALIĞININ YAYGINLIĞI, YAKALANMA ORANI VE
HASTALIK ŞİDDETİNİN BELİRLENMESİ VE ETMENİN
MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER TEŞHİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESRA İÇEN

BOLU, KASIM - 2018

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI



**TİCARİ PATATES TOHUM PARTİLERİNDE, *Spongospora*
subterranea'nın NEDEN OLDUĞU TOZLU UYUZ
HASTALIĞININ YAYGINLIĞI, YAKALANMA ORANI VE
HASTALIK ŞİDDETİNİN BELİRLENMESİ VE ETMENİN
MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER TEŞHİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESRA İÇEN

BOLU, KASIM - 2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

ESRA İÇEN tarafından hazırlanan “TİCARİ PATATES TOHUM PARTİLERİNDE, *Spongospora subterranea*’nın NEDEN OLDUĞU TOZLU UYUZ HASTALIĞININ YAYGINLIĞI, YAKALANMA ORANI VE HASTALIK ŞİDDETİNİN BELİRLLENMESİ VE ETMENİN MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER TEŞHİSİ” adlı tez çalışması 15/11/2018 tarihinde Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. M. Erhan GÖRE
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi



Üye
Dr. Öğr. Üyesi Nedim ALTIN
Düzce Üniversitesi



Üye
Doç. Dr. Göksel ÖZER
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi



Mezuniyet Tarihi :

Doç. Dr. Ömer ÖZYURT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Günümüzde insanlar bilgiyi arar oldu, hikmeti değil. Halbu ki bilgi mazidir, hikmet ise istikbal.

(Kızılderili Atasözü)

AİLEME...

ETİK BEYAN

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

ESRA İÇEN

ÖZET

TİCARİ PATATES TOHUM PARTİLERİNDE, *Spongospora subterranea*'nın NEDEN OLDUĞU TOZLU UYUZ HASTALIĞININ YAYGINLIĞI, YAKALANMA ORANI VE HASTALIK ŞİDDETİNİN BELİRLENMESİ VE ETMENİN MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER TEŞHİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESRA İÇEN

**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ, FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. M. ERHAN GÖRE

BOLU, KASIM-2018

Bu çalışma, bazı patates çeşitlerinde “Tozlu Uyuz (*Spongospora subterranea*) Hastalığının” yakalanma oranını, hastalık şiddetini ve yaygınlık oranını incelenmek amacıyla ele alınmıştır. Bu amaçla araştırma enstitülerinden ve ticari tohum şirketlerinden 67 çeşide (Agata, Agria, Alegria, Alonso, Amarin, Amora, Aurea, Banba, Blondine, Bohemia, Borwina, Brooke, Carrera, Casablanca, Chalenger, Concordia, Electra, Endeavour, Estrella, Fasan, Fatih, Florice, Galata, Granola, Hermes, Innovator, Jelle, Jelly, Lady Claire, Lady Olympia, Lady Rosetta, Lady Amarilla, Lady Anna, Laura, Lovisana, Madeleine, Marabel, Marfona, Melody, Menger, Musica, Nahita, Nam, Natascha, Nectar, Onaran, Opal, Orchestra, Pomqueen, Provento, Royal, Russet Burbank, Soprano, Safrane, Sagitta, Sante, Savanna, Sifra, Slaney, Soleia, Soraya, Surya, Taurus, Ünlenen, Van Gogh, WR-808, Zorba) ait 107 patates örneği temin edilmiştir. Patates çeşitleri önce morfolojik olarak incelenmiş ve ardından stero mikroskopla bakılarak, yumrudaki lezyon dağılımı derecesine göre ıskala oluşturulmuştur. Hastalığa yakalanma oranları yüksek oranda tespit edilen çeşitler; Laura ve Galata (% 96), Estrella (% 88) olarak belirlenmiştir. Yaygınlık oranları yüksek oranda tespit edilen çeşitler; Laura, Galata ve Estrella (% 100) olarak en yüksek oranda gözlemlenmiştir. Hastalık şiddeti yüksek oranda tespit edilen çeşitler; Laura (% 57.6), Galata (% 48), Estrella (% 43.2) olarak tespit edilmiştir. Hastalığa yakalanma oranları düşük oranda tespit edilen çeşitler; Safrane (% 4), Innovator ve Provento (% 4.3) olarak belirlenmiştir. Hastalık şiddeti düşük oranda tespit edilen çeşitler; Innovator (% 0.9), Provento ve Lady Anna (% 1.7) olarak belirlenmiştir. Yaygınlık oranları; Innovator, Provento, Safrane (% 100) olarak tespit edilmiştir. Endeavour, Musica, Ünlenen çeşitlerinde ise hastalığın hiç saptanmadığı belirlenmiştir. Ayrıca *S. subterranea*'nın dinlenme sporlarını görüntüleyebilmek için lezyonlu bölgeden alınan doku, methylene blue ve safranin boyaları ile boyanarak morfolojik tanımlaması yapılmıştır. Etmenin moleküler karakterizasyonu için, türe spesifik PCR ve DNA dizi analizleri gerçekleştirilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Patates, *Spongospora subterranea*, Powdery scab, Patates Çeşitleri

ABSTRATC

DETERMINATION OF PREVALENCE, INCIDENCE AND SEVERITY OF POWDERY SCAB DISEASE CAUSED BY *Spongospora subterranea* IN COMMERCIAL POTATO SEED LOTS AND IT'S MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR IDENTIFICATION

ESRA İÇEN

ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY, GRADUATE SCHOOL OF
NATURAL AND SCIENCE

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

SUPERVISOR: Prof. Dr. M. ERHAN GÖRE

BOLU, NOVEMBER-2018

This study was conducted to investigate the rate of catching, severity and prevalence of "powdery scabies (*Spongospora subterranea*)" in some potato varieties. For this purpose, 107 seed lots belonging to 67 potato varieties (Agata, Agria, Alegria, Alonso, Amarin, Amora, Aurea, Banba, Blondine, Bohemia, Borwina, Brooke, Carrera, Casablanca, Chalenger, Concordia, Electra, Endeavor, Estrella, Fasan Lady Rosetta, Lady Amarilla, Lady Anna, Laura, Lovisana, Madeleine, Marabel, Marfona, Melody, Menger, Musica, Nahita, Jerry, Lady Claire, Fatih, Florice, Galata, Granola, Hermes, Innovator, Nam, Natascha, Nectar, Onaran, Opal, Orchestra, Pomqueen, Provento, Royal, Russet Burbank, Soprano, Safrane, Sagitta, Sante, Savanna, Sifra, Slaney, Soleia, Soraya, Surya, Taurus, Ünlenen, Van Gogh, WR- 808, Zorba) obtained from research institutes and commercial seed companies. Potato varieties were firstly examined morphologically and then examined by a stereo microscope and scored according to the degree of distribution of the malignant lesion. Some varieties detected at high rates of disease incidence; Laura and Galata were found to be (96 %), Estrella (88 %). The varieties where prevalence rates are high; Laura, Galata, Estrella were determined as (100 %). Some potato varieties in which disease severity is high; Laura was (57.6 %), Galata (48 %), Estrella (43.2 %). The varieties in which the rate of disease incidence is low; Safrane (4 %), Innovator and Provento (4.3 %). The varieties detected in low disease severity; Innovator (0.9 %), Provento and Lady Anna (1.7 %). Prevalence rates for Innovator, Provento, Safrane varieties were found to be (100 %). The disease have not been detected on Endeavor, Musica and Ünlenen varieties. *S. subterranea* was morphologically characterized by tissue staining method with methylene blue and saffron dyes from the lesioned area to display resting spores. Species-specific PCR and DNA sequence analysis were performed for molecular characterization of the pathogen.

KEYWORDS: Potatoes, *Spongospora subterranea*, Powdery scab, Potato varieties

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xi
TEŞEKKÜR	xii
1. GİRİŞ	1
1.1.Patates Hakkında Genel Bilgi	1
1.2.Patatesin Önemi	2
1.3.Dünyada Patates Ekim Alanları	2
1.4.Türkiye’de Patates Ekim Alanları ve Üretimi	3
2. LİTERATÜR ÖZETİ	5
2.1. Önceki Çalışmalar	5
2.2. Hastalık Etmeninin Taksonomideki Yeri	9
2.3. Patojen Olarak <i>S. subterranea</i>	10
2.4. Konukçuları	10
2.5. Etmenin Belirtileri ve Yayılışı	11
2.6. Yaşam Çemberi	12
2.7. Hastalığın Dünya ve Türkiye’de Bulunuşu	13
2.8. Oluşturduğu Ürün Kayıpları	15
2.9. Hastalığı Etkileyen Faktörler	16
2.9.1. Sıcaklık	16
2.9.2. Toprak Nemi	16
2.9.3. Yağış	17
2.9.4. Toprak Tipi	17
2.9.5. Toprak Ph’sı	18
2.9.6. Hastalığın Etki Oranı	18
3. METARYAL VE METOD	19
3.1. Metaryal	19
3.2. Metod	19
3.2.1. Tohumluk Yumrularında Analiz Öncesi Yapılan İşlemler	19
3.2.2. Etmenin Makroskobik ve Mikroskobik Teşhisi	20
3.2.3. Patojenin Yaygınlık ,Yakalanma Oranı ve Hastalık Şiddeti Değerinin Belirlenmesi	23
3.2.4. Boyama	25
3.3. Patojenin Moleküler Teşhisi	26
3.3.1. Etmenin DNA İzolasyonu	26

3.3.2. Patojenin DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi	27
3.3.3. Ribozomal DNA (rDNA)'nın Internal Transcribed Spacer (ITS) Gen Bölgesinin Analizi.....	28
3.3.4. Sps1-Sps2 Primerler İle Teşhisi	29
3.3.5. DNA'nın Elektroforezde Görünür Hale Getirilmesi	30
3.3.6. Sekanslama İçin Örnek Hazırlığı	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	32
4.1. Patojenin Hastalığa Yakalanma Oranı, Yaygınlığı ve Şiddeti	32
4.2. Boyama Yolu İle İnceleme	37
4.3. Etmeninin Moleküler Karakterizasyonu	38
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	42
6. KAYNAKLAR DİZİNİ	44



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.6.1. <i>Spongospora</i> 'nın eşeysiz (iç daire) ve eşeyli (dış daire) yaşam döngüsü	13
Şekil 3.2.1.1. Patateslerin yüzey temizliğinin yapıldığı küvetler ve tutulan süre	20
Şekil 3.2.2.1. <i>S. subterranea</i> 'nın yumruda oluşturduğu püstülün patlaması ve mikroskopik görüntüsü	21
Şekil 3.2.2.2. Hastalık şiddetinin belirlenmesinde kullanılan 0-5 hastalık ıskalasına dahil yumrular	22
Şekil 4.1.1. Agria, Hermes, Madeleine, Marabel çeşitlerinde <i>S. subterranea</i> 'nın, % yaygınlık, ortalama yakalanma, ortalama hastalık şiddeti değerleri	32
Şekil 4.1.2. Laura, Galata, Estrella, Banba, Jelle, Aurea çeşitlerinde <i>S. subterranea</i> 'nın % yaygınlık, hastalığa yakalanma ve hastalık şiddeti değerleri	33
Şekil 4.1.3. Innovator, Provento, Safrane, Soraya, Lady Anna, Amarin çeşitlerinde <i>S. subterranea</i> hastalığının % yaygınlık, hastalığa yakalanma ve hastalık şiddeti değerleri	34
Şekil 4.2.1. <i>S. subterranea</i> 'nın methylene blue ile boyanması sonucu mikroskop altında görülen dinlenme sporları	38
Şekil 4.2.2. <i>S. subterranea</i> 'nın safranin ile boyanması sonucu mikroskop altında görülen dinlenme sporları	38
Şekil 4.3.1. <i>S. subterranea</i> patojeninin Sps1-Sps2 (391bp'lik) ve ITS1-ITS4 (538bp'lik) primerleri ile elde edilen jel görüntüsü	39

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.3.1. Dünya Patates Verileri	3
Çizelge 1.4.1. Türkiye Patates Verileri	3
Çizelge 2.2.1. <i>S.subterranea</i> ' nın taksonomisi	10
Çizelge 3.2.2.1. Yumru lezyon oranına göre ıskala değeri	21
Çizelge 3.2.3.1. Patates çeşitleri ve çeşit sahibi firmalar	24
Çizelge 3.3.3.1. ITS bölgelerinin PCR ile çoğaltılmasında kullanılan primerler...	28
Çizelge 3.3.4.1. Sps1-Sps2 pimerler	29
Çizelge 4.1.1. Patataeslerin hastalığa yakalanma oranı, hastalık şiddeti, yaygınlık oranı, ortalama yakalanma oranı, ortalama hastalık şiddeti değerleri	35

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

bp	:Baz Çifti
°C	:Santigrat Derece
cm	:Santimetre
CO₂	:Karbondioksit
CTAB	:Hekzadesil Trimetil Amonyum Bromür
ddH₂O	:Distile Su
dk	:Dakika
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
EDTA	:Etilendiamin tetraasetik asit
FAO	:Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
gr	:Gram
ha	:Hektar
ITS	:Internal Transcribed Space
kb	:Kilo Baz
kg	:Kilogram
m	:Metre
ml	:Mililitre
mm	:Milimetre
MgSO₄	:Magnezyum Sülfat
NaCl	:Sodyum Klorür
NaOCl	:Sodyum Hipoklorit
O₂	:Oksijen
PCR	:Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
Ph	:Potansiyel Hidrojen
PMTV	:Potato Mop-Top Virus
rDNA	:Ribozomal DNA
rpm	:Dakikada Devir Sayısı
sp.	:Tür
spp.	:Türler
SSR	:Basit Sekans Tekrarları
TAE	:Tris-Acetate-EDTA
µl	:Mikrolitre
UV	:Ultraviyole
V	:Volt

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla yardımcı olmaya çalışan ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. M. Erhan GÖRE'ye,

Ayrıca hem laboratuvar çalışmalarında hem de çalışma boyunca yardımını esirgemeyen hocam Doç. Dr. Göksel ÖZER'e,

Tüm yaşamım ve eğitim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen başta babam ve annem olmak üzere tüm aile bireylerine desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

1.1. Patates Hakkında Genel Bilgi

Anavatanı Güney Amerika olan patatesin, 7000 yıllık bir geçmişi vardır. Patates ilk kez And dağlarında yabani tür olarak ortaya çıkmıştır. Daha sonra Kolombiya, Venezuela, Şili ve Arjantin'e gelmiştir. Patatesin ekimi ise 7000 yıl önce Peru'da, Kızılderililer tarafından yapılmıştır (Anonim, 2018a).

Patatesi Avrupa'ya ilk kez Pedro Cieza de Leon adlı bir İspanyol getirmiştir. 1500'lü yılların sonlarına doğru İngiltere'ye geçmiş, 16. yüzyıl içerisinde ise tüm Avrupa'ya yayılmıştır. Önceleri Avrupa'da pek ilgi görmeyen patates, keşfinden ortalama elli yıl sonra bu kez bir İngiliz tarafından tekrar keşfedilmiştir. Patatesi Virginia'da keşfeden Sir Walter Raleigh bu bitkiyi İngiltere'ye getirmiştir. Patates İngiliz halkı arasında büyük ilgi görmüştür. Zamanla önce İtalya'da, sonra da Almanya, Rusya ve Fransa'da patates tarımı başlamıştır. Ancak İngiltere'nin aksine buralarda patates, domuz ve at yemi olarak kullanılmıştır (Anonim, 2018a).

Uzun süre sadece savaş esirlerine yedirilen ve hayvan yemi olarak kullanılan patates Fransız İhtilali'nde önemli bir besin kaynağı haline gelmiştir. Kıtık nedeniyle insanlar patatesi tüketmeye başlamışlardır. Fakat ilk başlarda patatesi nasıl tüketceklerini bilmediklerinden, soymadan ve çiğ olarak tüketilmiştir. Bu da sindirim hastalıklarına yol açmıştır. Bunun üzerine patatesin hastalık kaynağı olduğuna hükmedilmiş ve o dönemde salgın olan cüzzam hastalığının nedeni olarak gösterilmiştir. Daha sonra, Fransız ordusunda subay ve kimyager olan Antoine Augustin Parmentier, Avrupa'da yaşanan kıtlık nedeniyle patatesin faydaları üzerine araştırmalar yapmış ve çalışmaları hakkında önemli kitaplar yayımlamıştır. Parmentier'in çalışmaları sonucu Fransa Kralı, Paris civarında tarlalar tahsis ederek patates yetiştirilmesine olanak sağlamıştır. Antoine Augustin Parmentier, patatesin zehirli bir bitki olduğunu savunanların tersini kanıtlamış ve insanları açlıktan ölmekten kurtaran ulusal bir kahraman olarak tanınmıştır (Anonim, 2018a).

Patatesi 1590 yılında botanik literatürüne geçiren bilim insanı İsviçreli botanikçi Gaspard Bauhin olmuştur (Anonim, 2018a).

1.2. Patatesin Önemi

Tek yıllık bir kültür bitkisi olan patates, çeşitli iklim bölgelerine kolaylıkla uyum sağlayabildiği için, dünyada çok fazla üretilen ve tüketilen temel bitkilerden biridir. Yumrularında; karbonhidrat, protein, vitamin ve Fe minerali gibi önemli besin maddelerini içerir ve insanlar tarafından doğrudan mutfaklarda tüketildiği gibi, işlenerek değişik şekillerde (cips, parmak patates vs.) tüketilmektedir. Yüksek oranda nişasta içeren patates çeşitleri endüstride hammadde (un, nişasta, alkol, v.s.) olarak ve bir kısmı da hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir (Arioğlu, 2002).

Patates; beslenme değerinin yüksek ve kullanım alanlarının geniş olması nedeniyle, geri kalmış ve yetersiz beslenen ülkelerde, giderek büyüyen açlık sorununa cevap verebilecek en önemli gıda maddelerinin başında gelmektedir. 100 gr'lık patates yumrusu; normal bir insanın gereksinim duyduğu günlük proteinin minimum % 7'sini, demirin % 10'unu, C vitamininin % 20-50'sini, B1 vitamininin % 10'unu ve enerjinin % 3'ünü karşılamaktadır. Bu değerler, patatesin günlük beslenmedeki önemini göstermektedir (Arioğlu, 2002).

1.3. Dünyada Patates Ekim Alanları

2016 yılı Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre, dünyada 19.3 milyon hektar alanda 376.8 milyon ton patates üretilmektedir. Dünya patates ekim alanlarının % 30.2'si Çin'de, % 11.1'i Hindistan'da, % 10.5'i de Rusya'da bulunmakta olup, bu üç ülke dünya patates üretiminde % 46.2'lik kısımdan sorumludur. Dünya patates üretiminde, Orta Avrupa ülkelerinin üretimi azalırken, Çin ve Hindistan'ın üretimi günden güne artmaktadır. FAO 2016 yılı verilerine göre, Çin'de 99 milyon ton, Hindistan'da ise 43,8 milyon tonluk patates üretimi gerçekleşmiştir. Dünyada ortalama patates verimi 2016 yılında bir önceki yıla göre % 1.4'lük azalış göstererek, 19.58 ton/ha olmuştur.

Dünyada patates ticareti en çok Avrupa Birliği üye ülkeleri arasında yapılmaktadır. 1.99 milyon tonluk patates ihracatı ile Hollanda ilk sırayı, Fransa, 1.85 milyon tonla ikinci sırayı, Almanya 1.78 milyon tonluk ihracat ile üçüncü sırayı almıştır. Belçika 1.8 milyon ton ithalat ile dünya patates ithalatında ilk sırayı, Hollanda

1.7 milyon ton ile ikinci sırayı, İspanya 666 bin tonluk ithalatı ile üçüncü sırayı almıştır. Dünya tohumluk patates ihracatında 983 bin ton (% 59.09) ile Hollanda, ithalatında ise 278 bin tonla Mısır ilk sırada yer almıştır (Anonim, 2018b).

Çizelge 1.3.1. Dünya Patates Verileri ((bin ton), (%)) son iki yılın değişimini göstermektedir (Anonim, 2018b)

	2012	2013	2014	2015	2016	Değişim (%) *
Alan (bin ha)	19.499	19.358	18.962	18.978	19.264	1.5
Verim (ton/ha)	18.97	19.36	20.09	19.86	19.58	-1.4
Üretim (ton)	369.073	374.721	380.967	376.812	376.827	0.0
İthalat (ton)	10.920	19.575	10.806	10.526	11.423	8.5
İhracat (ton)	11.255	12.551	12.044	11.486	12.132	5.6
İhracat fiyatı (\$/ton)	310	377	346	301	324	7.6

* : son iki yıl arasındaki değişimi göstermektedir.

1.4. Türkiye’de Patates Ekim Alanları ve Üretimi

Türkiye patates tarımı için çok iyi coğrafi koşullara sahiptir. 1.5 milyon dekar alanda patates üretimi yapılmaktadır. Patates ekim alanı en geniş ilimiz, 238 bin dekar (% 16.4) ile Niğde’dir. Niğde’yi 139 bin dekarla Afyon, 105 bin dekarla Konya ve sırasıyla İzmir, Kayseri ve Bolu illeri izlemektedir. 2016 yılında patates ekim alanlarında önceki yıla göre % 18.3’lük bir artış olmuştur. Üretim ise 2016 yılında bir önceki yıla göre % 14.1’lik artışla 4.7 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. 892 bin ton patates üretimi ile Niğde, ekim alanında olduğu gibi üretimde de ilk sırada yer almaktadır. Niğde’yi sırasıyla 550 bin tonluk üretimle Konya, 477 bin tonluk üretimle Afyon ve sırasıyla İzmir, Kayseri ve Nevşehir izlemektedir. Türkiye’deki patates üretiminin % 59.9’u bu illerde gerçekleştirilmektedir (Anonim 2018b).

Çizelge 1.4.1. Türkiye Patates Verileri (bin ton), (Anonim, 2018b).
(%)* : son iki yıl arasındaki değişimi göstermektedir

	2011/12	2012/13	2013/14	2014/15	2015/2016	Değişim (%)*
Alan (bin ha)	172	174	125	130	154	18.3
Verim (kg/da)	2.814	2.729	3.097	3.151	3.038	-3.6
Üretim (ton)	4.795	4.821	3.955	4.175	4.763	14.1
İthalat (ton)	3.922	4.490	3.843	4.212	4.643	10.2
İhracat (ton)	23	9	28	46	29	-37.0
İhracat fiyatı (\$/ton)	91	316	13	13	191	1.341.6

Tek yıllık bir kültür bitkisi olan patatesin gerek tarlada gerekse depoda ekonomik açıdan önemli kayıplara neden olan hastalıkları söz konusudur. Bu hastalıkların en önemlilerinden biri, *Spongospora subterranea* etmenin neden olduğu tozlu uyuz (powdery scab) hastalığıdır. Patojenin toprak ve tohum kökenli olması patates çeşitlerinde hastalığın yaygın görülmesine neden olmaktadır. Bu yüzden tez çalışmamızda, patojenin patates eşitleri üzerindeki yaygınlığı ve hastalık şiddetinin önemi vurgulanmaya çalışılmıştır.



2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Önceki Çalışmalar

Douchez (1942), Fransa'da yaptığı histolojik çalışmalarda, patojenin kök kambiyum dokularında oluşturmuş olduğu tümör ve gallerin nişasta birikimine yol açtığını bildirmiştir.

Pennsylvania'da (1988), *S. subterranea*'nın hastalığa yakalanma oranı ve hastalık şiddetinin etkisini araştırmak için, patojenle doğal bulaşık bir tarlada patatesin beş çeşidi kullanılarak (Norchip, Rosa, Kennebec, Katahdin ve Monona) ekim yapılmıştır. Hasat dönemi sonunda hastalığa yakalanma oranı ve hastalık şiddetinin tüm çeşitlerde % 66 ve üzerinde olduğu bildirilirken, Monona ve Norchip çeşitlerinde patojenin daha yaygın olduğu belirlenmiştir (Christ vd., 1988).

İsrail'de 1988 yılında toprak fümigasyonunun *S. subterranea* üzerine etkisinin araştırılması için Kuzey Negev'de hastalığın araziye istila ettiği Nir Yizhaq Kooperatif bölgesinde iki aşama olarak tarla denemesi yapılmıştır. İlk önce denemede Pentland Crown çeşidi kullanılarak tohum dezenfeksiyonu yapılmıştır. Hastalıklı tohum yumruları 2 dakika süreyle; metoksi-etil cıva klorür (% 0.03), pentakloronitrobenzen (PCNB % 0.75) karışımı, sodyum hipoklorit (% 1.0), formalin (% 2.0) ve İsrail'in Assia Riesel, Tel Aviv şehirlerinden elde edilen 70513 kodlu kimyasalı (% 0.04) sulu çözeltilere daldırılmıştır. Kullanılan çözeltilerin patates tohumu yumru dezenfeksiyonu için, İsrail Tarım Bakanlığı tarafından önerildiği belirtilmiştir. Kontrol grubu olan patates yumruları ise kimyasal bulunmayan suya daldırılmıştır. Daha sonra yumrular, metil bromür (50 g/m²) ile fümige edilmiş bir alana ekilmiştir. 110 günlük bir büyüme periyodunun sonunda, tüm yumruların hasadı el ile yapılmıştır. Hasadı yapılan yumrular görsel olarak incelenmiş ve patojenin plasmodiyal aşamasıyla enfeksiyonun erken evresi, açık kahverengi lekeler olarak gözlemlenmiş ve spor topları taşıyan püstüllerin olduğu aktarılmıştır. İkinci aşamada ise patatesin Désirée çeşidi kullanılmış ve patojenin toprakta yok edilmesi için metil bromür, bir polietilen örtü (Krikun vd., 1982) altında buharlaştırılmış gaz olarak 50 g/m²'de uygulanmıştır. Metham-sodyum (% 32.6), 750 ve 1200 l/ha (Krikun ve Frank, 1982), sulama suyu ise 250 m³ olarak uygulanmıştır. Sonuç olarak, uygulanan tüm tedavi yöntemlerinin

enfeksiyon derecesini düşürdüğü ve kullanılan organik civa+PCNB'nin patojeni ortadan kaldırmak için kullanılabileceği aktarılmıştır (Nachmias A. ve Krikun, 1988).

Tuncer (1997), aşırı sulama ve azotlu gübre kullanımının patatesin duyarlı çeşitlerinde *S.subterranea* oluşumuna etki ettiğini düşünerek, Kapadokya'nın ekim bölgelerinde bir çalışma yapmıştır. Çalışmada, Niğde ve Nevşehir illerinde hastalığa yakalanma oranının % 0.06-10.71 arasında değiştiğini ve hastalığın yaygın olarak saptandığını belirtmiştir.

Yeni Zellanda'da 1991-2002 yılları arasında, 99 patates çeşidinde ve 13 ıslah hattında tozlu uyuz hastalığına karşı duyarlılığı belirlemek amacıyla tarla ve sera denemeleri gerçekleştirilmiştir. 11 farklı üretim döneminde, deneme alanı *S. subterranea* ile inokule edilmiş ve çalışma düzenli olarak yürütülmüştür. Tarla denemesinde patojene karşı 15 çeşit duyarlı olarak saptanmıştır. Sera denemesinde ise patates köklerinde gal oluşumu gözlenmiştir. Çalışmanın devamında çeşitler ve hatlar çok dirençli (% 19), orta derecede dirençli (% 21), orta derecede duyarlı (% 28) ve çok hassas (% 33) olarak sınıflandırılmıştır. Daha sonra çeşitlerde oluşan lezyonların sebebinin, bulaşık yumru kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Falloon vd., 2003).

S. subterranea'nın toprakta oluşturduğu inokulum düzeyi ve şiddeti üzerine 2005 yılında İskoçya'da toprak tipi, toprak nemi, toprak sıcaklığı gibi faktörler esas alınarak kumlu, tınlı ve killi olarak üç farklı toprak tipindeki etkisi araştırılmıştır. Hastalık tınlı ve killi topraklarda yüksek oranda gözlemlenirken, kumlu topraklarda düşük oranda gözlemlenmiştir. Nemli topraklarda hastalık şiddetinin arttığı da belirtilmiştir. Ayrıca sıcaklığın, enfeksiyon ve hastalık seviyesi üzerinde oluşturduğu etkiyi üç farklı sıcaklık (9 °C, 12 °C ve 17 °C)'ta araştırılmıştır. 9 °C, 12 °C ve 17 °C'de hastalık seviyelerinin yüksek olduğu aktarılırken, 12 °C'de hastalığın daha şiddetli olduğu belirtilmiştir (Graaf vd., 2005).

Yeni Zellanda'da 2005 yılında patojenin, patates köklerinde oluşturduğu enfeksiyonun etkilerini araştırmak amacıyla sera ve tarla denemeleri kurulmuştur. Sera denemesi 56 gün boyunca gündüz 16 °C ve gece 2 °C'de, 16 saat aydınlık/8 saat karanlık olarak bir döngü oluşturulmuştur ve sekiz farklı patates çeşidi (Asterix, Iwa, Umatilla Russe, Russet Burbank, Ranger Russet, Moonlight, Red Rascal, Gladiator)

kullanılmıştır. Dikimden 56 gün sonra, tüm bitkiler ayrı ayrı hasat edilmiştir. Her bir bitkinin, stolon ucu büyüklüğü 1 cm'den küçük, yumru kökü ise 1 cm'den büyük olarak ölçülmüştür. Asterix ve Iwa çok duyarlı, Umatilla Russe, Russet Burbank, Ranger Russet orta derecede duyarlı ve Moonlight, Red Rascal ve Gladiator çok dayanıklı olarak kaydedilmiştir. Tarla denmesinde ise Yeni Zellanda ve İngiltere'de (Lincoln, Canterbury) kumlu killi topraklarda gerçekleştirilmiş ve ekim yapılan toprakların bir kısmına patojen bulaştırılmış bir kısmına ise patojen bulaştırılmamıştır. Deneme yapılan arazide yabancı otlar elle toplanmış ve araziden uzaklaştırılmıştır. Deneme dört kez hasat edilmiş ve inokule edilmemiş bitkilerin hiç birinde patojen görülmemiştir. Dikimden 7 hafta sonra hasat edilen *S. subterranea* ile inokulasyonu yapılmış dört bitkiden birinin kökünde birkaç tane beyaz renkte galin olduğu, 11 hafta sonra ise hasat edilen inokulasyonu yapılmış bitkilerden birinin kökünde çok sayıda beyaz ve kahverengi galin olduğu gözlemlenmiştir. 15 hafta sonra ise, hasat edilen inokulasyonu yapılmış dört bitkinin tamamında, çok sayıda beyaz ve kahverengi galin meydana geldiği bildirilmiştir. 19 hafta sonunda inokulasyonu yapılmış bitkilerin tamamında kahverengi gallerin olduğu ve zamanla inokulasyonu yapılmış bitkilerin tamamının öldüğü bildirilmiştir (Falloon, 2015).

S. subterranea'nın bitki büyümesi ve verimi üzerindeki etkisini ölçmek için deniz seviyesinden 2.561 m yüksekte bulunan Kolombiya Üniversitesi deneme alanlarında tarla denemeleri kurulmuştur. Çalışmanın gerçekleştiği bölgede ortalama yağışın yıllık olarak 2.500 mm olduğu ve sıcaklığın 14 °C olduğu belirtilmiştir. Çalışmada, *S. subterranea* ile doğal bulaşık toprak ve bulaşık olmayan toprak karşılaştırılmıştır. Ekim yapılacak toprağa organik madde olarak tavuk gübresi (100 g/arsa), $MgSO_4$ (5 g/arsa), azot, fosfat ve potasyum (1:2:2-32 g/arsa) içeren gübre uygulanmıştır. Diğer hastalıkları ve zararlıları kontrol etmek için tarlalara düzenli olarak Fosetil-Al, Metalaxyl, Mancozeb ve Lambdacihalotrına ile ilaçlama yapılmıştır. Toprak nemini sabit tutabilmek için, araziler her gün aynı oranda sulanmıştır. Bitki büyüme eğrisi oluşturularak bitkinin boy uzunluğu, yaprak çıkarma ve çiçeklenme arasında haftalık olarak ölçülmüştür. Çiçeklenme aşaması sırasında, dikimden on hafta sonra rastgele seçilmiş 5 arazinin tüm bitkileri hasat edilmiştir ve bitki başına sap sayısı ve yumru taze ağırlığı (g/bitki) ölçülmüştür. Yapraklar ve kökün kuru ağırlığı (g/bitki), 30 gün boyunca oda sıcaklığında ve daha sonra etüvde 70 °C'de 48 saat kurutulduktan sonra belirlenmiştir. Tozlu uyuz ile kaplı kök saçakları ve bitki sayısı

görsel olarak incelenmiş ve hastalık şiddetine göre bir ıskala oluşturulmuştur. *S. subterranea* ile enfekteli olan bitkilerin % 23 oranında bitki boyu azalmasına, % 32 oranında kuru yaprak ağırlık kaybına ve % 30 oranında yumru ağırlık kaybına neden olduğu belirtilirken, patojenin enfekte ettiği yumru köklerinin veya bitki gövdesi sayısının azalmadığı aktarılmıştır. Bütün bitki köklerinde *S. subterranea* patojeninin varlığını tespit etmek için, SSF ve SSR primerleri kullanılmıştır. Patojenin moleküler analizi sonucu 434 bp'lik bir ürün elde edilmiş ve patojenin varlığı tespit edilmiştir (Qu vd., 2006). Ayrıca enfekteli tarlalarda ortalama olarak 1082±187 sitosori bulunduğu bildirilmiştir (Gilchrist vd., 2011).

İsviçre'nin Zürih şehrinde yapılan bir araştırmada, *S. subterranea* 'nın patates üzerinde, karakteristik özellikte iki hastalık semptomu oluşturduğu belirtilmiştir. Semptomların patates yumrusu üzerinde ve köklerde lezyonlar halinde olduğu ve bu durumun patates üretimi yapılan bölgelerde ekonomik zararlara yol açtığı belirtilmiştir (Gau, 2012).

Karantina tedbirlerine rağmen hastalığın Güney Amerika'dan, Avrupa'ya ve daha sonra tüm dünyaya yayılmasının nedeninin, hastalıklı yumruların tohumluk olarak kullanılması ve tohumluklardan elde edilen ürünlerin dış ticaretinin yapılması neden olarak gösterilmiştir. Hastalığın kullanılan kimyasal ilaçlarla kontrolünün zor olduğu ve patojenin genetik çeşitliliğinin fazla olduğu belirtilerek, dayanıklı patates çeşitleri üretebilmek için başarılı ıslah çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu vurgulanmıştır (Gau, 2012).

Türkiye'de, 2011-2014 yılları arasında İç Anadolu (Sivas, Niğde, Nevşehir, Konya, Kayseri, Eskişehir, Ankara), Ege (Kütahya, Afyon) ve Batı Karadeniz (Bolu) bölgelerinden temin edilen 6 patates çeşidinde (Agria, Marabel, Marfona, Hermes, Jelly ve Lady Olympia) etmenin oluşturduğu etkileri, hastalığa yakalanma oranını ve yaygınlığını incelemek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada yıllara göre, hastalığa yakalanma ve yaygınlık oranlarının değiştiği belirtilmiştir. 2011 ve 2014 yıllarının hastalığa yakalanma ortalaması alındığında, hastalıktan en çok etkilenen ve en az etkilenen çeşitler sırasıyla; Agria (% 10.2), Marabel (% 8.3), Jelly (% 7.7), Hermes (% 6.4), Lady Olympia (% 3.2) ve Marfona (% 1.9) olmuştur. Hastalık yaygınlığına bakıldığı zaman ise, Bolu'dan temin edilen Agria ve Marabel çeşidinin

yaygınlığının yüksek olduğu, Konya ve Kayseri’den temin edilen Agria ve Marabel çeşidinin Sivas ve Eskişehir’e göre iki kat daha yaygın olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, Kütahya ve Afyon’dan temin edilen Agria ve Marabel çeşidinin Sivas, Niğde, Nevşehir, Konya, Kayseri ve Ankara illerine göre daha az yaygın olduğu bildirilmiştir (Göre, 2017).

Zimbabve’de 2016 yılında Harare Üniversitesi Araştırma bölgesinde deniz seviyesinden 1506 metre yükseklikte tarımsal ekolojik alan içinde bulunan ve sıcaklığın çalışma süresince 21-35 °C arasında değiştiği ve nispi nemin % 60 olduğu bir serada, *S. subterranea*’nın etkilerini azaltmak ve ekonomik zararın önüne geçebilmek için bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada ürün rotasyonlarında ve yeşil gübrelemede kullanılan *Brassica* (turpgiller) bitkilerinin, toprak kaynaklı patojenleri azalttığı belirtilmiştir. Ayrıca antagonistik mikroorganizmalardan olan *Trichoderma* spp.’nin toprağa eklenmesiyle topraktaki bitki patojenlerinin biyolojik kontrolünün sağlandığı açıklanmıştır (Tarisai, 2016).

2.2. Hastalık Etmeninin Taksonomideki Yeri

Spongospora subterranea önceleri protista (Margulis vd., 1989; Olive, 1975) ve fungus alemine (Sparrow, 1960; Waterhouse, 1972) dahil edilirken, Braselton (1995), fungus terminolojiyle ilgili sorunları ve Plasmodiophorida takımı içerisinde birkaç cinsin varlığını gözden geçirerek, bunların Protozoalar olarak değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varmıştır. Bulman vd., (2001) bu sınıflandırmayı, Plasmodiophorida üyelerinin filogenik analizini yaparak onaylamışlardır ve daha sonra *S. subterranea*’nın, Plasmodiophorida takımına ait olduğu belirtilmiştir. Plasmodiophorida’ların temel özellikleri; çift kamçılı zoosporlarının ve çok çekirdekli protoplastlarının (plazmodia) bulunmasıdır. Ayrıca, konukçu üzerinde gelişerek çoğalan bir obligat parazittir ve çevreye dirençli dinlenme sporlarına sahiptirler.

Çizelge 2.2.1. *S. subterranea*'nın taksonomisi (Anonim, 2018c)

Kingdom	: Protozoa
Phylum	: Plasmodiophoromycota
Class	: Plasmodiophoromycetes
Ordo	: Plasmodiophorales
Family	: Plasmodiophoraceae
Genus	: Spongospora

2.3. Patojen Olarak *S. subterranea*

Patojenin sitosori oluşturması üzerine hastalığın fungus kökenli olabileceği düşünölerek, *Erysibe subterranea* olarak adlandırılmış iken, Brunchhorst (1887) patojeni, *Spongospora solani* olarak belirtmiştir. Lagerheim (1892), daha önceki çalışmaları inceledikten sonra, *Spongospora subterranea* Wallr adını kullanmıştır. Yaklaşık 70 yıl sonra, Tomlinson (1958), *Nasturtium officinale* (su teresi)'de tozlu uyuz belirtilerine neden olan bir patojeni tarif etmiştir. Patateste olduğu gibi benzer sitosoriler bulmuş ve bu nedenle iki spesifik formu olan *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* (Sss) ve *Spongospora subterranea* f.sp. *nasturtii* olarak isimlendirmiştir.

Peru'da 1969-1974 yılları arasında patates fidelerinde, sarı yaprak belirtilerine neden olan Potato mop-top virus (PMTV)'ün görölme sıklığını belirlemek için, kapsamlı bir araştırma yapılmıştır. Yaprakta oluşturduğu belirtilere dayanan bazı tanıların doğrulanması için enfeksiyon testleri yapılmıştır. Yapılan çalışmada, Peru'nun dağlık bölgelerinde bulunan patateslerde PMTV belirtilerinin yaygın olarak saptandığı ve ürün kalitesi ve verimde zarara yol açarak ürün kaybına yol açtığı belirlenmiş (Salazar vd., 1975), ayrıca *S. subterranea*'nın PMTV'nin vektörü olduğu (Jones ve Harrison, 1969) tespit edilmiştir.

2.4. Konukçuları

Hastalık etmeninin ana konukçularının *Solanum tuberosum* (Patates) ve *Lycopersicon esculentum* (domates) olduğu açıklanmıştır (Norouzian, 2014). Diğer çalışmalarda *S. subterranea*'nın geniş bir konukçu aralığının bulunduğu bildirilmiştir (Jones ve Harrison 1969, 1972; Harrison ve Jones 1970; Andersen vd., 2002). *S.*

subterranea'nın patates kökleri üzerinde oluşturduğu gal belirtilerinin benzeri *Solanum nigrum* (köpek üzümü) ve *Nasturtium officinale* (su teresi) köklerinde de görüldüğü belirtilmiştir (Tomlinson, 1958; Boydston, 2006).

Yeni yayınlanan raporlarda, *S. subterranea*'nın konukçu aralığına *Amaranthaceae* (ıspanakgiller), *Brassicaceae* (turpgiller), *Triticum aestivum* L. (buğday), *Hordeum vulgare* L. (arpa), *Medicago sativa* L. (yonca), *Diploaxis tenuifolia* (yabani roka) da dahil edilmiştir (Tsrör, 2016). Ayrıca aynı çalışmada *Avena sativa* L. (yulaf), *Brassica napus* L. (kolza), *Fagopyrum esculentum* (karabuğday), *Trifolium pratense* (kırmızı yonca), *Secale cereale* (çavdar), *Dactylis glomerata* (domuz ayrığı), *Carpobrotus acinaciformis* (kazayağı), *Senecio ovatus* (kanarya otu), *Amaranthus caudatus* (horoz ibiği otu), *Apium graveolens* (kereviz), *Daucus carota* (havuç), *Brassica oleracea capitata* (lahana) *Petroselinum crispum* (maydanoz), *Phaseolus vulgaris* (fasulye), *Cucumis sativus* L. (salatalık), *Allium cepa* (soğan), *Pisum sativum* L. (bezelye) ve *Zea mays* L. (mısır)'ın ara konukçu görevi gördüğü belirlenmiştir.

2.5. Etmenin Belirtileri ve Yayılışı

S. subterranea toprak kökenli bir patojen olup, kök ve stolonlar üzerinde gal oluşturmaktadır. Oluşan gallerin rengi krem beyaz ile kahverengi arasında değişir. Patojenin yumru üzerindeki belirtileri ise, içi toz dolu kabarık lezyonlar şeklindedir (Nitzan vd., 2008; Nitzan vd., 2009; Shah vd., 2010). Etmenin oluşturduğu kök enfeksiyonunun ilk aşaması, zoosporların kök epidermis hücrelerini enfekte etmesi ve enfeksiyon alanlarını zoosporangiuma dönüştürmesidir. Enfeksiyondan sonra kök, stolon veya yumrular üzerinde gal yapılarının oluştuğu belirtilmiştir (Falloon vd., 2003; Nitzan vd., 2008).

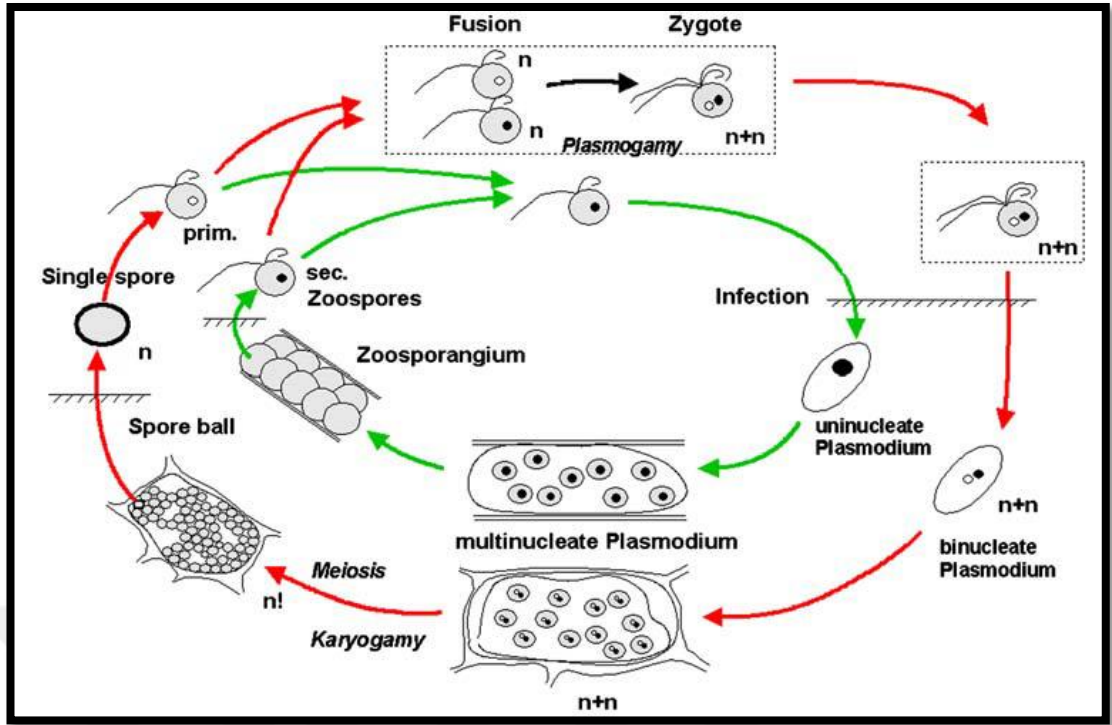
Osborne (1911), ışık mikroskobu ile yaptığı incelemelerde etmenin dinlenme sporlarının düzensiz sitosoriler şeklinde olduğunu bildirmiştir. Bu durum birçok araştırmacı tarafından ve özellikle *S. subterranea*'nın patates ve domatesteki enfeksiyonu ve yaşam döngüsü üzerine yaptığı çalışmalarında Kole (1954) tarafından doğrulanmıştır.

Jones (1978) tarama elektron mikroskobu (SEM) çalışmaları ile Osborne'un gözlemlerini doğrulayarak, sitosorinin yapısını ortaya koymuştur. Yumru üzerinde çıplak gözle görülebilen tozlu uyuzun ilk belirtileri (püstülleri), genellikle 2 mm çapta olup ilerleyen aşamalarda 10X12 mm genişliğinde çap kazanabilmektedir (Osborne, 1911; Anonymous, 1981a; Lawrence ve McKenzie, 1981). Püstüller büyüdükçe periderm dokusunun yırtılmaya başladığı (Morse, 1914) içinin boşaldığı açıklanmıştır (Butler ve Jones, 1949; Whitehead vd., 1953; Sprau, 1953). Patojenin genellikle yumrunun kabuk kısmını etkilediği, ancak nadiren de olsa daha derinlere nüfuz ederek yumru iç kısmını da enfekte edebildiği belirtilmiştir (Whitehead vd., 1953). Yumru üzerinde yeni oluşmaya başlamış püstüllerin, hasat sonrası ve depolanması süresi boyunca, büyümeye devam ettiği gözlemlenmiştir (Anonymous 1981a; Lawrence ve McKenzie, 1981). Köklerde şiddetli gal oluşumunun, zoosporangiumlar içerisindeki zoosporların serbest kalmasına neden olduğu ve bu durumun da genç bitkilerin solmasına ve ölmesine neden olduğu bildirilmiştir (Lawrence ve McKenzie, 1981). Eraslan ve Turhan (1989b), *S. subterranea* enfeksiyonunun tipik semptomları arasında kök çürümesi olduğunu da bildirmişlerdir, fakat bu durum yaygın olarak rapor edilmemiştir.

2.6. Yaşam Çemberi

Spongospora subterranea'nın, yaşam çemberinde iki ana evre bulunmaktadır (Şekil 2.6.1) (Harrison vd., 1997; Merz 2008; Balendres vd., 2016).

Birinci evre (iç daire) aseksüel veya zoosporangial fazdır. Patojenin haploid çift kamçılı zoosporları, konukçu bitkinin köklerine veya yumru yüzeyine nüfuz ederek enfeksiyon döngüsünü başlatır. Bitki içinde zoosporlar çok çekirdekli plasmodiyuma dönüşürken, tekrarlanan hücre bölünmeleri bu plasmodiyumun zoosporangiuma dönüşmesini sağlar. Zoosporangiumdan çıkan haploid çift kamçılı sekonder zoosporlar kök yüzeyinde bulunan gözeneklerden çıkarak doğrudan toprağa salınırlar. Sekonder zoosporlar aynı bitkinin başka kısımlarında veya komşu bitkilerde de enfeksiyona neden olabilirler. Böylece bir üretim sezonu boyunca çok sayıda eşeysiz üreme dönemi gerçekleşmekte ve inokulum potansiyeli artmaktadır.



Şekil 2.6.1. *Spongospora*'nın eşeysiz (iç daire) ve eşeyli (dış daire) yaşam döngüsü (Merz, U. 2008).

İkinci evre (dış daire) ise eşeyli (seksüel) üreme fazıdır. Eşeyli üreme döneminde, kalın duvarlı dinlenme sporları, primer çift kamçılı haploid zoosporları oluşturmak için çimlenir. İki haploid zoospor, bitkiyi enfekte eden bir binükleat (iki çekirdekli) zoosporu oluşturmak için hücre füzyonunu (plasmogami) gerçekleştirir. Ardından binükleat hücreler içeren çok çekirdekli bir plazmodium haline dönüşerek karyogami ve mayoz bölünme ile kalın duvarlı dinlenme sporları oluşur. Dinlenme sporları çok dirençli yapıdadır ve 4-5 yıl gibi uzun bir süre canlı kalabilirler.

2.7. Hastalığın Dünya ve Türkiye’de Bulunuşu

Hastalığın belirtileri literatürde ilk defa Almanya’da 1841 yılında Wallroth tarafından, tozlu uyuz belirtileri olarak tanımlanmıştır (Wallroth, 1842). Hastalık 5 yıl sonra İngiltere’de kaydedilmiştir (Anonymous 1981b). Daha sonra, Çekoslovakya (Blattn’y, 1935), İrlanda (Whitehead vd., 1953), Finlandiya (Makarainen vd., 1994), İtalya (Goidanich ve Mezzetti, 1948), Norveç (Wollenweber, 1921), Rusya (Gomolyako, 1930), Sicilya (Tuttobene, 1986), İsviçre (Merz, 1989), Hollanda (Mol ve Ormel, 1946), Asya (Mann vd., 1921; Gevaerum vd., 1975; Nachmias A. ve Krikun,

1988), Avusturalya (Cockayne, 1920; Bald, 1941; Letham, 1977; Hughes, 1980), Kuzey Amerika (Güssow, 1913; Elhus, 1913; Morse 1913, 1914) ve Güney Amerika (de Lagerheim, 1891; Lyman ve Rogers, 1915; Mujica, 1942; Jones, 1975; Ciampi vd., 1992) gibi ülkelerin, patates yetiştirme bölgelerinde de rapor edilmiştir. And Dağları bölgesinde ise yaygın bir hastalık olarak değerlendirilmektedir (Lyman ve Rogers, 1915; Abbot, 1931). Afrika'nın hastalık sürveylerinde yer almaması, hastalığın bu bölgeye uygun olmadığını düşündürmektedir.

İsviçre'de ilk kez Salzmann (1950), patatesin kök ve stolonlarında etmenin oluşturduğu enfeksiyonu tarif etmiştir.

Vanderwalle (1952), Belçika'da tozlu uyuz etmeninin yaygın olmasına rağmen, stolon ve köklerde nadir olarak enfeksiyon oluşturduğunu bildirmiştir. Türler arası *Solanum* hibrit bitkilerinin köklerinde birçok küçük gallerin oluştuğu belirtilerek, gallerin içinde tipik spor kitlelerinin olduğu açıklanmıştır.

Hastalık Japonya'da ilk kez 1954 yılında, ülkenin en kuzeydeki adası olan Hokkaido'dan rapor edilmiş ve aynı yıl patates yetiştirilen bölgelerin büyük bölümünde gözlenmiştir (Asuyama, 1954).

1982 yılında ilkbahar mevsiminde, İsrail'in Batı Negev bölgesinde yetiştirilen Pentland Crown patates çeşidinin yumrusu üzerinde püstüllerin olduğu ve püstüllerin zamanla çoğalıp patatesteki şekil bozukluğu oluşturduğu gözlenmiştir. 1983 yılı sonbaharında ise, Negev ve ülkenin diğer bölgelerinde yürütülen sürvey çalışmaları, etmenin hemen her üretim bölgesine yerleştiğini ortaya konmuştur (Karling, 1968; Nachmias ve Krikun, 1988).

Son yıllarda Avustralya, Yeni Zelanda, Kolombiya, Pakistan, Kore gibi birçok ülkede hastalığın yeniden önem kazandığı rapor edilmiştir (Balendres vd., 2016; Harrison vd., 1997; Merz, 2008). Hastalığın tekrar önem kazanması; geçici ve duyarlı çeşitlerin kullanılmasına, aşırı sulamaya, ürün rotasyonunun yetersiz olmasına ve civa esaslı fungusidler kullanılmamasına bağlanmıştır (Braithwaite vd., 1994; Harrison vd., 1997; Merz, 2008).

Patojenin küresel yayılımı Bulgaristan'da (Bobev 2009), İran'da (Anonim, 2018e), Letonya'da (Turka ve Bimšteine, 2011) Sri Lanka'da (Babu ve Merz, 2011) yeni ulusal kayıtlarla devam etmiştir. ABD'nin başka eyaletlerinde; Colorado (Houser ve Davidson, 2010) ve New Mexico'dan da (Mallik ve Gudmestad, 2014) raporlar bildirilmiştir. Yunanistan adası Girit'te (Vakalounakis vd., 2013) ve Kıbrıs adasında da patojen tespit edilmiştir (Kanetis vd., 2015).

Türkiye'de ise etmen ilk olarak 1978 yılında Gümüşhane'de görülmüştür (İren ve Yemen, 1979). 1980'li yıllarda yapılan araştırmalar sonucu, Türkiye'nin tüm ekim alanlarında bulunduğu belirtilmiştir (Anonim, 2018b). Bununla birlikte *S. subterranea*'nın vektörü olduğu (Foxe, 1992) Potato mop-top furovirus için Türkiye'de kaydedilmiş bir raporunun olmadığı da aktarılmıştır.

Hastalığın dünya çapında yayılması ve artmasının nedeninin ise; bulaşık yumruların tohumluk olarak kullanılması ve tohumluklardan elde edilen ürünlerin dış ticaretinin yapılması olarak açıklanmıştır (Gau vd., 2015).

2.8. Oluşturduğu Ürün Kayıpları

Dünyada patates yetiştiriciliğinin yapıldığı ılıman bölgelerin hemen hepsinde, tozlu uyuz hastalığının önemli bir sorun oluşturmasının temel nedeni patates üretiminin yoğun olarak yapılması, rotasyon aralıklarının kısa olması, aşırı sulama ve bulaşık tohumluk kullanımıyla açıklanmaktadır (Harrison vd., 1997; Merz, 2008).

Yumru kabuğunda oluşan lezyonların ürünün kalitesinde düşüşe neden olarak, süper marketlerde satışa sunulmasını olanaksızlaştırdığı, taze ve tohumluk patates üretimini etkileyerek ürünün pazarlanabilirliğini büyük ölçüde azalttığı belirtilmiştir (Kole, 1954). Depolama esnasında zamanla, bulaşık yumruların hacimsel olarak küçülüp pörsüdükleri ve ağırlıklarının azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca yumru üzerinde bulunan lezyonların, yumru içine başka mikroorganizmaların girmesine olanak sağladığı ve zamanla yumruların çürümesine neden olduğu belirtilmiştir (Falloon vd., 2004; Lister vd., 2004).

Patateste tozlu uyuz hastalığından dolayı hem yumru üzerindeki lezyonlar nedeniyle oluşan kalite kayıpları ve bunları hasat sonrasında yıkamayla yumruda belirginleşmesi ve ayrıca köklerde oluşan galler nedeniyle besin ve su alımının zorlaşması çiftçinin üretimini büyük oranda boşa çıkarmaktadır (Gau vd., 2013; Merz ve Falloon, 2009).

İskoçya’da nemin fazla olduğu yıllarda, *S. subterranea*’nın üreticiyi yıllık 7 milyon sterlin gibi büyük ölçüde zarara uğrattığı (Graaf ve Lees, 2005) aktarılmıştır. Avustralya’nın Tazmania eyaletinde ise, *S. subterranea* hastalığının şiddetli olduğu bölgelerde, yumru verim kayıplarının % 45 olduğu ve bu kayıpların yerel patates endüstrisine 12 milyon dolarlık bir kayba neden olduğu belirtilmiştir (Falloon vd., 2016).

2.9. Hastalığı Etkileyen Faktörler

2.9.1. Sıcaklık

Tozlu uyuz hastalığı, çoğunlukla serin ve nemli hava koşulları ile ilişkilendirilerek, yüksek sıcaklıkların hastalık oluşumunu engellediği belirtilmiştir (Melhus vd., 1916; Ramsey, 1918; Mol ve Ormel, 1946; Sprau, 1953, 1966; Wurzer, 1964; Vaerdal, 1973; Hughes, 1980; Christ ve Weidner, 1988). Vielwerth (1949) ve Wenzl (1962), yüksek rakımlı bölgelerde hastalığın daha şiddetli hale geldiğini rapor etmişlerdir. Kirkham (1986), erkenci patates çeşitlerinin, geçici çeşitlere göre daha çok tozlu uyuz hastalığı ile enfekte olma riski taşıdığını aktarmıştır. Hims (1976b), İngiltere ve Galler’de yapılan araştırmalara dayanarak, 1917’den 1971’e kadar olan meteoroloji ve hastalık kayıtlarını incelediğinde hastalık gelişimi için optimum toprak sıcaklığının 12-13 °C olduğunu aktarmıştır.

2.9.2. Toprak Nemi

Toprak suyu içeriği ne kadar fazla ise, hastalık belirtisi gösteren yumru sayısının da o kadar fazla olduğu belirlenmiştir (Anonim, 1984). Wale (1987), toprak

suyu içeriğinin fazla olmasının zoospor salınımını teşvik ettiğini belirterek; toprakta bulunan suyun, zoosporların kolay hareket etmesini ve konukçu bitki hücresine daha hızlı giriş yapabilmesini mümkün kıldığını belirtmiştir. Toprakta oksijen seviyesinin düşüklüğünün yumru büyümesini yavaşlattığı, etmenin enfeksiyon oluşturma sürecini kolaylaştırdığı (Diriwächter ve Parbery 1991) ve hastalık gelişimini destekleyen karbondioksit salımını arttırdığı saptanmıştır. Patojenin bu koşullara toleranslı olduğu düşünülmektedir ancak, düşük oksijen veya yüksek karbondioksit konsantrasyonlarının etkileri üzerine spesifik bir çalışma ulaşılabilen kaynaklarda bulunmamıştır. Bunun yanında toprak drenajı zayıf olan topraklarda, etmenin enfeksiyonlarının daha şiddetli olduğu bildirilmektedir (Philipp, 1932; Blattný, 1935; Rovdo, 1936; Mol ve Ormel, 1946; Hughes, 1980; Anonim, 1984; Parker, 1984a).

2.9.3. Yağış

Yayınlanan raporların genelinde, tozlu uyuz hastalığı, şiddetli yağışlarla ilişkilendirilmiş (Blattný, 1935; Rovdo, 1936; Vielwerth, 1949; Sprau, 1953; Janke, 1963; Vaerdal, 1973) ve hastalık düzeyinin belirlenmesinde yağmur suyunun önemli olduğu vurgulanmıştır (Ramsey, 1918; Wenzl, 1962; Wurzer, 1964). Bilinçsiz sulamanın da hastalık şiddetini arttırdığı belirtilmiştir (Taylor ve Flett, 1981; Kirkham, 1986; Adams vd., 1987; Jellis vd., 1987a; Wale, 1987). Kuru tarla koşullarının, enfekteli dokuda patojen gelişimini (Jellis vd., 1987b) ve zoospor salımını engelleyebildiği saptanmıştır (Wurzer, 1964).

2.9.4. Toprak Tipi

Genellikle patates yetiştiriciliği yapılan toprakların tozlu uyuz hastalığının şiddetini belirlediği bildirilmiştir (Ramsey, 1918; Wenzl, 1962; Hims, 1976b; Anonim, 1981a; Tuttobene, 1986). Hastalığın oluşumunda, toprağın fiziksel yapısı ve su tutma kapasitesinin oldukça önemli olduğu Wild (1929) ve Sprau (1953) tarafından bildirilmiş ve patojenin yüksek humus içerikli topraklarda da gelişim gösterdiği aktarılmıştır. Janke (1963), kullanılan fungusitlerin toprağın yapısını etkileyerek,

hastalık etmenine uygun koşullar oluşturabileceğini belirtmiştir fakat bu durum hakkında henüz bir rapor yayınlanmamıştır.

2.9.5. Toprak pH'sı

Literatürde, toprak pH'sının, tozlu uyuz hastalığı üzerine olan etkileriyle ilgili, ulaşılabilen kaynaklarda bir uzlaşmanın olmadığı görülmektedir. Yapılan çalışmalarda toprağa kireç ilavesi yapılmış ve toprak içereği alkali hale getirilmiştir. Kullanılan kirecin etkileri çoğunlukla belirsiz olsa da, Berkeley (1846), Brunchorst (1887), Horne (1911b), Pethybridge (1910, 1911a, 1912), Melhus vd.,(1916) ve El Fahl ve Calvert (1976) yapılan tüm kireçleme işlemlerinin, hastalığın şiddetini arttırdığını iddia etmiştir. Bununla birlikte Massee (1908, 1915), Janchen (1921), Philipp (1932), Wenzl (1972), Reichard ve Wenzl (1976), Winter ve Winiger (1983), toprağa uygulanan kireçleme işleminin, hastalığın şiddetini azalttığını belirtmişlerdir. Sprau (1966) ise, kirecin toprağın su tutma kapasitesini arttırdığını ve hastalık üzerine olumlu ya da olumsuz herhangi bir etki oluşturmadığını iddia etmiştir.

2.9.6. Hastalığın Etki Oranı

Tozlu uyuz hastalığının etki oranının, yıldan yıla önemli derecede değiştiği bildirilmiştir (Vielwerth, 1949; Sprau, 1953; Janke, 1963; Manzer vd., 1964; Roer, 1983; Wastie ve Stewart, 1989; Christ, 1987, 1989). Bu değişiklikler; sıcaklık, yağış miktarı, duyarlı çeşit kullanımı, kullanılan tohumun fizyolojik yapısı, iklim koşulları, toprak yapısı ve tohumun ekim zamanı ile ilişkili bulunmuştur.

3. METARYAL VE METOD

3.1. Metaryal

Çalışmanın bitkisel materyalini; Niğde Patates Araştırma Enstitüsü, Ar Tarım, Hakan Gıda Tarım, Toros Tarım, Ak Tohum, Doğa Tohum, Sürde Tarım, İnan Meijer, Onur Tohum, Fritolay, Gömeç, Apak, Solana Avrasya Tarım'dan temin edilen 67 patates çeşidine (Agata, Agria, Alegria, Alonso, Amarin, Amora, Aurea, Banba, Blondine, Bohemia, Borwina, Brooke, Carrera, Casablanca, Chalenger, Concordia, Electra, Endeavour, Estrella, Fasan, Fatih, Florice, Galata, Granola, Hermes, Innovator, Jelle, Jelly, Lady Claire, Lady Olympia, Lady Rosetta, Lady Amarilla, Lady Anna, Laura, Lovisana, Madeleine, Marabel, Marfona, Melody, Menger, Musica, Nahita, Nam, Natascha, Nectar, Onaran, Opal, Orchestra, Pomqueen, Provento, Royal, Russet Burbank, Soprano, Safrane, Sagitta, Sante, Savanna, Sifra, Slaney, Soleia, Soraya, Surya, Taurus, Ünlene, Van Gogh, WR-808, Zorba) ait 107 örnek oluşturmaktadır. Patojenin kültürel ve morfolojik tanımlanması için; lam, lamel, bistüri, stereo ve immersiyon mikroskop, kurutma kağıdı, methylene blue ve safranin boyaları kullanılmıştır. Daha sonra etmenin moleküler analizi için; homojenizatör, santrifüj, vorteks, ısıtıcı blok, spektrofotometre, elektroforez, PCR cihazı ve transillüminatör kullanılmıştır.

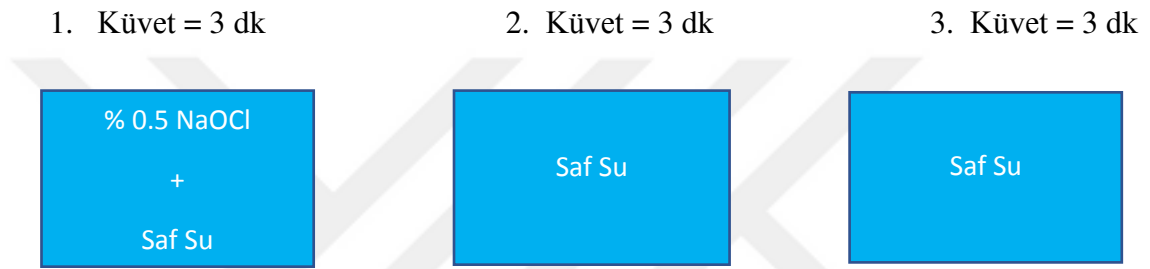
3.2. Metod

3.2.1. Tohumluk Yumrularında Analiz Öncesi Yapılan İşlemler

Laboratuvara gelen örnekler ve bilgileri kaydedildikten sonra aşağıdaki işlem basamaklarına alınmıştır;

- Gelen her örnekten 25 adet alınarak küvetlere yerleştirilmiş ve etiketleri yazılmıştır,

- K vetlere alınan patatesler, akan musluk suyu ile üzerlerinde bulunan toprak ve kirden arındırmak amacıyla, yumuşak bir sünger yardımı ile yıkanmıştır,
- Yüzey dezenfeksiyonu % 0.5'lik NaOCl'de yapılmış yumrular daha sonra saf sudan geçirilerek, süzgeçli kaplarda biraz bekletildikten sonra kurutma kağıdı yerleştirilmiş olan küvetlere aktarılmıştır,
- Kurumasına ve belirti gelişimine izin vermek için, 48 saat boyunca oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.



şekil 3.2.1.1. Patates yüzey temizliğinin yapıdığı küvetler ve tutulan süre.

3.2.2. Etmenin Makroskobik ve Mikroskobik Teşhisi

Farklı  retim yerlerinden gelen patates yumruları, önce morfolojik olarak incelenmiş, ardından bir stero mikroskop yardımıyla bakılarak patates yumrularında hastalık belirtilerinin olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır.

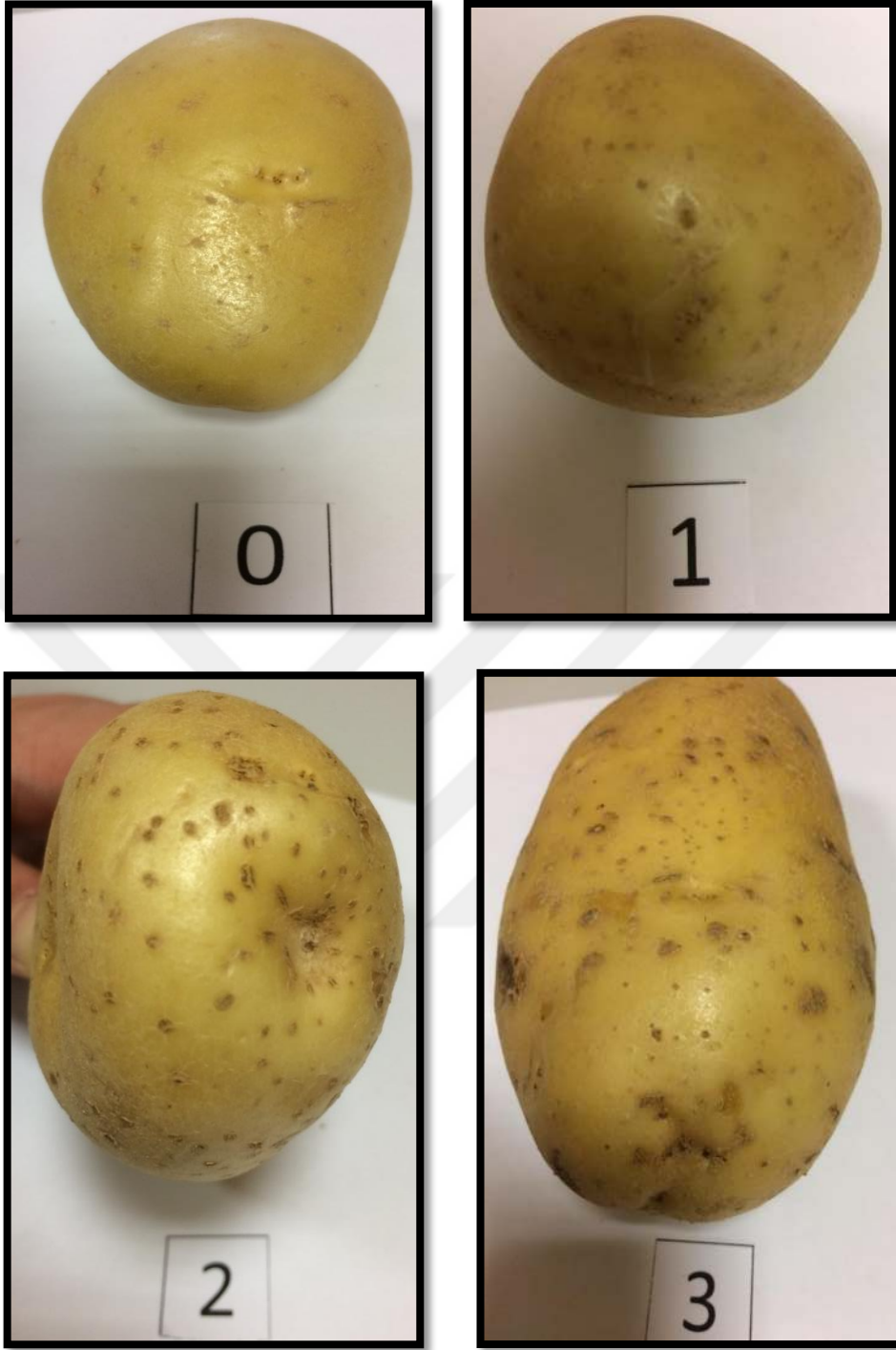
Patojenin yumrudaki lezyon dağılımı ve derecesine göre aşağıdaki ıskala oluşturulmuştur ( izelge 3.2.2.1, şekil 3.2.2.2) .



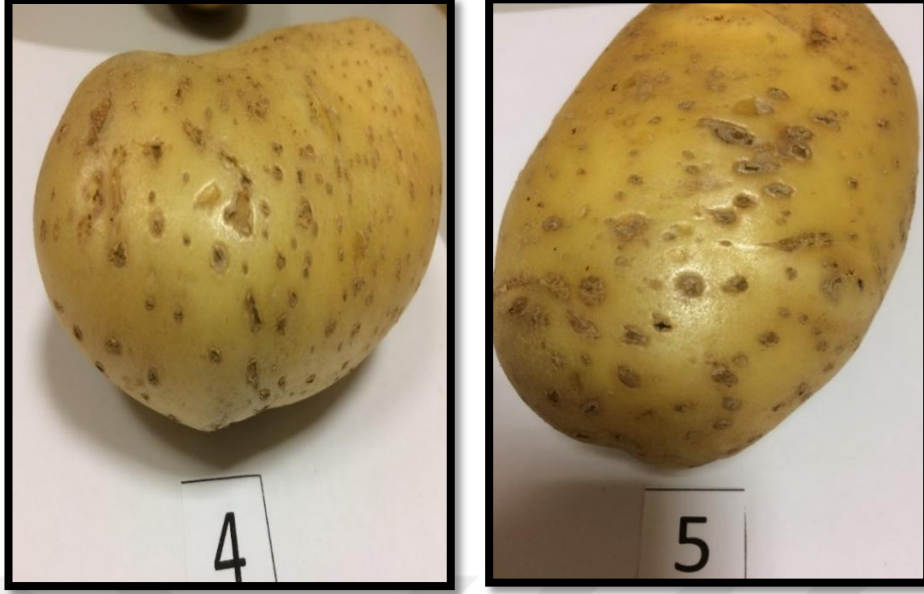
Şekil 3.2.2.1. *S. subterranea*'nın yumruda oluşturduğu püstülün patlaması ve mikroskobik görüntüsü.

Çizelge 3.2.2.1. Yumru lezyon oranına göre iskala değeri (Iskala Dr. Göre'den alınmıştır).

- 0 - Yumruda hiç hastalık gözlemi yok
- 1 - Yumru yüzeyinin %5 kadarı etmenle bulaşık, püstüller nadir görünüyor
- 2 - Yumru yüzeyinin %5-15 kadarı etmenle bulaşık, püstüller bariz görünüyor
- 3 - Yumru yüzeyinin %15-35 kadarı etmenle bulaşık
- 4 - Yumru yüzeyinin %35-50 kadarı etmenle bulaşık
- 5 - Yumru yüzeyinin %50'den fazlası etmenle bulaşık



Şekil 3.2.2.2. Hastalık şiddetinin belirlenmesinde kullanılan 0-5 hastalık ıskalasına dahil yumrular.



Şekil 3.2.2.2. (Devam) Hastalık şiddetinin belirlenmesinde kullanılan 0-5 hastalık ıskalasına dahil yumrular.

3.2.3. Patojenin Yaygınlık, Yakalanma Oranı ve Hastalık Şiddeti Değerlerinin Belirlenmesi

Patateslerin hastalık oranlarına bakılmadan önce; örnek sayısı, örnek kodu, çeşit adı, çeşit sahibi firma olarak belirtilmiş ve bir tablo oluşturulmuştur (Çizelge 3.2.3.1).

Elde edilen ıskala değerlerinden; hastalığa yakalanma oranı, hastalık şiddeti, yaygınlık oranı hesaplanmıştır (Bora ve Karaca, 1970).

$$\text{Hastalık Şiddeti (\%)} = \frac{\sum (\text{Iskala Değeri} \times \text{Farklı Iskala Değerindeki Örnek Sayısı})}{\text{Toplam Örnek Sayısı} \times \text{En Yüksek Iskala Değeri}} \times 100$$

$$\text{Yaygınlık Oranı (\%)} = \frac{\text{Hastalıklı Örnek Sayısı}}{\text{Toplam Örnek Sayısı}} \times 100$$

Örnekteki Hastalıklı Yumru Sayısı

Yakalanma Oranı (%) =----- X 100

Toplam Yumru Sayısı

Çizelge 3.2.3.1. Patates çeşitleri ve çeşit sahibi firmalar

Örnek Sayısı	Örnek Kodu	Çeşit Adı	Çeşit Sahibi Firma
3	# 34 #65 #98	Agata	Niğde Patates Araştırma Enstitüsü, Ar Tarım, Hakan Gıda Tarım
4	#25 #68 #102 #72	Agria	Toros Tarım, Ar Tarım, Ak Tohum, Niğde Patates Araştırma Enstitüsü
3	#51 #75 #76	Alegria	Doğa Tohum
1	#17	Alonso	Sürde Tarım
1	#88	Amarin	Hakan Gıda Tarım
1	#7	Amora	İnan Meijer
1	#13	Aurea	Sürde Tarım
1	#29	Banba	Toros Tarım
1	#21	Blondine	Sürde Tarım
1	#106	Bohemia	Onur Tohum
3	#44 #77 #78	Borwina	Doğa Tohum
1	#28	Brooke	Fritolay
1	#86	Carrera	Gömeç
1	#52	Casablanca	Doğa tohum
1	#4	Chalenger	Gömeç
1	#104	Concordia	Ak Tohum
1	#41	Electra	Niğde Patates Araştırma Enstitüsü
1	#93	Endeavour	Apak
1	#19	Estrella	Sürde Tarım
1	#40	Fasan	Doğa Tohum
1	#50	Fatih	Niğde Patates Araştırma Enstitüsü
2	#16 #54	Florice	Sürde Tarım, Toros Tarım
1	#18	Galata	Sürde Tarım
2	#36 #61	Granola	Toros Tarım
8	#30 #46 #71 #79 #80 #91 #92 #100	Hermes	Fritolay, Doğa Tohum, Niğde Patates Araştırma Enstitüsü, Hakan Gıda Tarım, Apak
1	#87	Innovvator	Gömeç
1	#103	jelle	Ak Tohum
1	#63	Jelly	Ar Tarım
1	#27	Lady Claire	Fritolay
1	#58	Lady Olympia	Toros Tarım
3	#32 #59 #97	Lady Rosetta	Toros Tarım, Apak
1	#6	Lady Amarilla	İnan Meijer
1	#5	Lady Anna	İnan Meijer
1	#12	Lady Claire	İnan Meijer
1	#67	Laura	Ar Tarım
1	#20	Lovisana	Sürde Tarım
5	#38 #62 #90 #105 #73	Madeleine	Toros Tarım, Ar Tarım, Hakan Gıda Tarım, Ak Tohum, Niğde Patates Araştırma Enstitüsü
5	#37 #57 #66 #99 #101	Marabel	Toros Tarım, Ar Tarım, Hakan Gıda Tarım, Ak Tohum
3	#31 #64 #74	Marfona	Niğde Patates Araştırma Enstitüsü, Toros Tarım, Ar Tarım

2	#10 #56	Melody	İnan Meijer, Toros Tarım
1	#84	Menger	Gömeç
1	#8	Musica	İnan Meijer
1	#39	Nahita	Niğde Patates Araştırma Enstitüsü
1	#45	Nam	Niğde Patates Araştırma Enstitüsü
1	#43	Natascha	Solana Avrasya Tarım
1	#24	Nectar	Niğde Patates Araştırma Enstitüsü
1	#49	Onaran	Niğde Patates Araştırma Enstitüsü
2	#26 #96	Opal	Fritolay, Apak
2	#11 #89	Orchestra	İnan Meijer, Hakan, Gıda Tarım
1	#47	Pomqueen	Doğa Tohum
1	#60	Provento	Toros Tarım
2	#70 #107	Royal	Toros Tarım, Onur Tohum
2	#2 #48	Russet Burbank	Gömeç, Doğa Tohum
1	#9	Soprano	İnan Meijer
1	#14	Safrane	Sürde Tarım
2	#1 #85	Sagitta	Gömeç
2	#55 #69	Sante	Toros Tarım, Ar Tarım
1	#35	Savanna	Niğde Patates Araştırma Enstitüsü
1	#83	Sifra	Gömeç
1	#42	Slaney	Niğde Patates Araştırma Enstitüsü
1	#22	Soleia	Sürde Tarım
1	#53	Soraya	Doğa Tohum
1	#15	Surya	Sürde Tarım
2	#81 #94	Taurus	Gömeç, Apak
1	#23	Ünlenen	Niğde Patates Araştırma Enstitüsü
2	#3 #82	Van Gogh	Gömeç
1	#33	Vr-808	Fritolay
1	#95	Zorba	Apak

3.2.4. Boyama

Bu amaçla Anonim, 2018d’de yer alan standart protokol modifiye edilerek uygulanmıştır. Lezyonlu bölgeden alınan 0.1-0.3 mm’lik doku kesitleri nazıkçe lam üzerine yerleştirilmiştir. % 1’lik methylene blue çözeltisinden 3 damla, doku kesitleri üzerine damlatılmış ve bekletilmiştir. Daha sonra steril distile su ile 4 kez yıkama yapılarak steril kurutma kağıtları üzerinde kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan kesitler daha sonra bir lam üzerine tekrar yerleştirilmiş ve üzerine % 50 gliserol damlatılarak mikroskopta incelenmiştir.

Safranin ile boyama yaparken de aynı işlemler uygulanmıştır. Lezyonlu bölgeden alınan 0.1-0.3 mm’lik doku kesitleri nazıkçe lam üzerine yerleştirilmiştir. % 1’lik safranin çözeltisinden 3 damla, doku kesitleri üzerine damlatılmış ve bekletilmiştir. Daha sonra steril distile su ile 4 kez yıkama yapılarak steril kurutma kağıtları üzerinde kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan kesitler daha sonra bir lam üzerine tekrar yerleştirilmiş ve üzerine % 50 gliserol damlatılarak mikroskopta incelenmiştir.

3.3. Patojenin Moleküler Teşhisi

3.3.1. Etmenin DNA İzolasyonu

Reaksiyon karışımının içerikleri aşağıdaki gibi ayarlanmıştır.

<u>Chloroform: Isoamyl alcohol (24/1)</u>	<u>100 ml</u>
Chloroform	96 ml
Isoamyl alcohol	4 ml

<u>% 70 Etil alkol</u>	<u>1 lt</u>
% 95 Etil alkol	736.8 ml

Geriye kalan kısım 1 litreye tamamlanacak şekilde steril bidistile su eklenmiştir.

<u>Fresh Buffer</u>	<u>120 ml</u>
Tris HCl pH 8.0 ml	15.00
EDTA pH 8.0 ml	5.50
5M NaCl ml	20.00
Sorbitol gr	3.19
CTAB gr	1.00
PVP-40 gr	2.40
Sodiumdisulfite gr	0.60

İzolasyon basamakları;

- Patatesin kabuğundan alınan püstüllü kısımlar 100-250 mg olarak eppendorf tüp içine bir pens yardımıyla yerleştirilmiştir,
- Pipetle tüpün üstüne 65 °C’de ısıtılmış olan 650 µl fresh buffer ilave edilmiştir,
- Daha sonra, kuru blok ısıtıcıda 65 C°’de 60-90 dk arası inkübasyona bırakılmıştır,

- İnkübasyon süresi bittikten sonra, oda sıcaklığına ulaşınca kadar soğutulmuştur. Ardından, tüp içindeki dokunun homojenizatörde iyice parçalanması sağlanmıştır. Daha sonra eppendorf tüp içerisine 650 µl chloroform, isoamyl alcohol karışımı eklenerek tüp hafifçe 5 dk ters düz edilmiştir,
- 13.000 rpm /15.000 g'de 20 dk boyunca santrifüj edilmiştir,
- Santrifüjden sonra tüpün dip kısmında oluşan çökelmeye dikkat edilerek, tüpün üstünde bulunan kısım pipet yardımıyla alınmış ve yeni bir tüpe aktarılmıştır. Yeni tüpe aktarılan sıvının içerisine 650 µl soğuk isopropanol eklenerek 1 dk hafifçe elle ters düz edilmiştir,
- Daha sonra tüp -20 °C'de 30 dk bekletilmiştir,
- Soğutma işleminden sonra, 13.000 rpm /15.000 g'de, 10 dk santrifüj edilmiştir,
- Tüpün dip kısmında bir pellet oluşmudur, pelletli kısma zarar vermeden üstteki sıvı (supernatant) atılarak eppendorf tüpün, steril bir kurutma kağıdı üzerinde kuruması beklenmiştir,
- Ardından tüp içerisine 250 µl % 70'lik soğuk (-20 °C) ethanol eklenmiştir, sonra elle 1 dk boyunca tüpün içindeki pelletin yıkanması sağlanmıştır. Yıkamadan sonra tüp içerisindeki ethanol dikkatli bir şekilde dökülerek, tüp steril bir kurutma kağıdı üzerinde bırakılarak, kuruması sağlanmıştır.
- Tüp içerisinde kuruyan pellete 100 µl saf su ekleyerek DNA'nın çözünmesi beklenmiştir,
- Ardından spektrofotometrede DNA tayin miktarı belirlenmesi için -20 °C'de bir gece bekletilmiştir.

3.3.2. Patojenin DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

İzolasyonu gerçekleştirilen DNA'nın DS-11 FX Series spektrofotometrede (Denovix Inc., USA) ölçümü yapılmadan önce, pipete 1.5 µl steril saf su alınarak spektrofotometre cihazının ölçüm yapılacak kısmına damlatılmıştır ve cihazın sıfırlama ayarı gerçekleştirilmiştir. Tüp içerisinde olan DNA, mikropipetle 1.5 µl

kadar alınarak spektrofotometrenin ölçüm kısmına aktarılmıştır, sonrasında DNA'nın kalitesi ve miktarı ölçülmüştür.

3.3.3. Ribozomal DNA (rDNA)'nın Internal Transcribed Spacer (ITS) Gen Bölgesinin Analizi

S. subterranea hastalığına neden olan tozlu uyuz etmenini, tür düzeyinde tanılamak için, rDNA'nın ITS gen bölgesi ITS1/ITS4 primer çifti kullanılarak T100 Thermal Cycler (Bio-Rad, USA) kullanılarak PCR analizi yapılmıştır.

ITS bölgelerinin PCR ile çoğaltılmasında kullanılan primerler aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir.

Çizelge 3.3.3.1. ITS bölgelerinin PCR ile çoğaltılmasında kullanılan primerler

Primer	Primer Baz Dizisi (5'-3')	PCR ürünü baz çifti (bp)	Kaynak
ITS1 Forward	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	538 bp.	Fujita SI. ve Senda Y. 2001
ITS4 Reverse	TCCTCCGCTTATTGATATGC	538 bp.	Fujita SI. ve Senda Y. 2001

PCR için reaksiyon bileşenleri;

PCR analizi için reaksiyon karışımları hazırlanmıştır.

ITS1 – ITS4

Toplam 50 µl Hacim için

10 X Taq Buffer	5 µl
dNTP Mix 2 mM	5 µl
Forward primer (10 µM)	2.5 µl
Reverse primer (10 µM)	2.5 µl
Taq DNA Polymerase 5 U/µl	0.4 µl
Template DNA	2 µl
Water	32.6 µl

ITS1- ITS4 için toplam 50 µl hacimde; 0.2 µl'lik PCR tüpüne 10 X Taq buffer 5 µl, dNTP mix 2 mM 5 µl, forward primer (10 µM) 2.5 µl, reverse primer (10 µM) 2.5 µl, Taq DNA polymerase 5U/µl 0.4 µl, kalıp DNA 2 µl, geriye kalan 32.6 µl kısım

saf su ile tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti karıştırılarak spin yapıldıktan sonra tüpler PCR cihazına yerleştirilerek thermal cycler çalışması için programlanmıştır.

PCR reaksiyonu ise

95 °C’de	3 dakika ilk denetürasyon	}	35 döngü
95 °C’de	45 saniye denatürasyon		
56 °C’de	1 dakika bağlanma		
72 °C’de	1 dakika uzama		
72 °C’de	5 dakika son uzama safhası olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.		

3.3.4. Spesifik (Sps1-Sps2) Primerler İle Teşhisi

PCR ile çoğaltılmasında kullanılan primerler aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir.

Çizelge 3.3.4.1. Sps1-Sps2 Primerler

Primer	Primer Baz Dizisi (5’-3’)	PCR ürünü baz çifti (bp)	Kaynak
Sps1 Forward	CCTGGGTGCGATTGTCTGTT	391 bp.	Cooke and Duncan, 1997
Sps2 Reverse	CACGCCAATGGTTAGAGACG	391 bp.	Cooke and Duncan, 1997

PCR için reaksiyon bileşenleri;

PCR analizi için reaksiyon karışımları hazırlanmıştır.

Sps1 - Sps2

Toplam 20 µl Hacim için

10 X Taq Buffer	2 µl
dNTP Mix 2mM	2 µl
Forward primer (10 µM)	0.4 µl
Reverse primer (10 µM)	0.4 µl
Taq DNA Polymerase 5U/ µl	0.4 µl
Template DNA	2 µl
Water	12.8 µl

Sps1-Sps2 primerleri için toplam 20 µl hacimde; 10XTaq Buffer 2 µl, dNTP (dATP,dGTP,dTTP,dCTP) mix 2mM 2 µl, forward primer 0,4 µl, reverse primer 0,4

μ l, *Taq* DNA polymerase 5U/ μ l 0,4 μ l, kalıp DNA, geriye kalan 12.8 μ l kısım saf su ile tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti karıştırılarak spin yapıldıktan sonra tüpler PCR cihazına yerleştirilerek thermal cycler çalışması için programlanmıştır.

PCR reaksiyonu ise

95 °C’de	3 dakika ilk denetürasyon	}	35 döngü
95 °C’de	20 saniye denatürasyon		
56 °C’de	25 saniye bağlanma		
72 °C’de	50 saniye uzama		
72 °C’de	5 dakika son uzama safhası olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.		

Standart protokol basamakları uygulanarak, program süresi sonunda çoğalmış ürün hazır hale gelmiştir.

3.3.5. DNA’nın Elektroforezde Görünür Hale Getirilmesi

Malzemeler

Agaroz	0.50 gr
1X TAE	50 ml

0.5 gr agaroz ile 50 ml 1X TAE, 250 ml’lik bir erlen içerisinde karıştırılarak 1.5 dk mikrodalga fırında bırakılmıştır. Isınmaya başlayan erlen, aralıklarla çıkarılıp çalkalanarak içindeki agarozun tamamen çözünmesi sağlanmıştır ve 50-60 °C’ye kadar soğuması beklenmiştir. Daha sonra karışım elektroforez tankına dökülmüştür. Taraklar doğru bir şekilde yerleştirilerek, jelin elektroforez tankında herhangi bir kabarcık oluşmaması için mikropipet ucu ile jel karışımı yaydırılmıştır. Jelin katılaşması için 20-25 dk süre beklenmiştir. Katılaştıran jel üzerindeki tarak çıkarılarak yükleme çukurları oluşturulmuştur. İlk kuyucuğa gen ruler, diğer kuyucuklara tampon çözelti ve PCR ürünü karıştırılarak, 15 μ l yüklenmiştir. Güç kaynağı 90 volt 100 miliamper koşullarına ayarlanarak 90 dakika boyunca ürünler elektroforetik ayrımına tabi tutulmuştur. Bu işlemlerin ardından jel etidyum bromür solüsyonu ile 20 dakika

boyunca boyanması işleme tabi tutulmuştur. Jel UV transillimünatör üzerinde 300 nm dalga boyunda görüntülenerek DNA bantları fotoğraflanmıştır.

3.3.6. Sekanslama İçin Örnek Hazırlığı

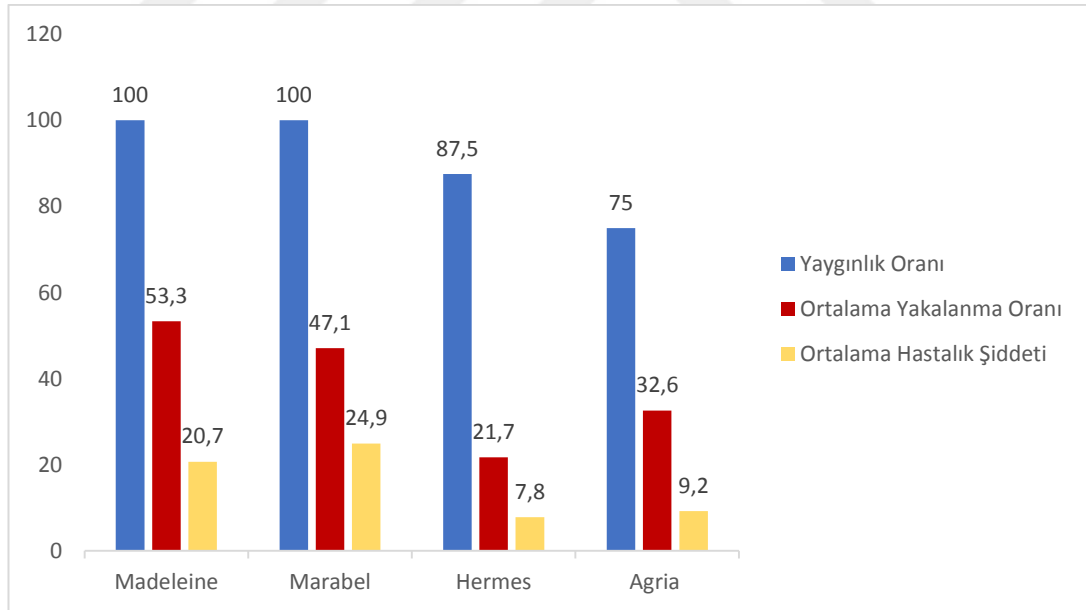
Görülebilir duruma gelen DNA bantları incelendikten sonra bistüri ile kesilmiştir. Büstüri ile kesilen jel, 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmeden önce, tüpün darası alınmıştır. Boş tüpün ağırlığı 1.122 gr gelirken, içinde jel olan tüplerin ağırlıkları sırasıyla; 1. Tüp: 1.533 gr, 2. Tüp: 1.375 gr, 3. Tüp: 1.360 gr olarak tartılmıştır. İçi dolu tüplerin dara ile farkı alınmıştır ve 10 mg jel miktarına, 10 µl membran bağlama solüsyonu eklenmiştir. Tüpler içindeki jelin tamamen erimesi için vortex yapılmış, kuru blok ısıtıcıda 50–65 °C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra tüp içindeki jel solüsyon karışımı kolon tüpe aktarılmıştır. Oda sıcaklığında 1dk inkübasyondan sonra 1dk 16.000xg'de santrifüj yapılmıştır. Ardından tüp içindeki solüsyon yıkanarak sıvı kısmı atılmış, yeni bir kolon tüpe aktarılmıştır. Tüp içine 700 µl membran yıkama solüsyonu eklenerek (etanol ilaveli) tekrar 1 dk 16.000xg'de santrifüjlenmiştir. Aynı şekilde tüpteki sıvı kısım atılmış, yeni bir kolon tüpe aktarılmıştır ve 500 µl membran yıkama solüsyonu eklenerek bir önceki işlem tekrar edilmiştir. Ardından 5 dakika boyunca 16.000xg'de santrifüjlenmiştir ve etanolün buharlaşması için mikrosantrifüj tüpünün kapağı 1 dk boyunca açık bırakılmıştır. Daha sonra 1.5 ml minikolon tüpüne aktarılacak 50 µl nükleaz içermeyen su eklenmiş ve oda sıcaklığında 1 dk inkübasyondan sonra 1 dk 16.000xg'de santrifüj yapılmıştır (DNA dizi analizi Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System kitinde önerilen protokol izlenerek gerçekleştirilmiştir). Bu işlemlerin ardından ayrıştırılan DNA sekans analizi yapılmak üzere firmaya gönderilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Patojenin Hastalığa Yakalanma Oranı, Yaygınlığı ve Şiddeti

S. subterranea etmeninin; yakalanma oranı, hastalık şiddeti, yaygınlık oranı, ortalama yakalanma oranı ve ortalama hastalık şiddetinin belirlenmesi amacı ile 2017 üretim yılında, 67 çeşite ait numuneler toplanmıştır. Toplanan çeşitlerden 107 örnek (Niğde Patates Araştırma Enstitüsü, Ar Tarım, Hakan Gıda Tarım, Toros Tarım, Ak Tohum, Doğa Tohum, Sürde Tarım, İnan Meijer, Onur Tohum, Fritolay, Gömeç, Apak, Solana Avrasya Tarım'dan) incelenmiş ve elde edilen verilen (Bora ve Karaca, 1970) belirtilen formül ile hesaplanmıştır.

Örnek olarak çoğunlukta olan Agria, Hermes, Madeleine, Marabel çeşitleri aşağıdaki grafikte; ortalama yakalanma oranı, ortalama hastalık şiddeti ve yaygınlık oranı bazında belirtilmiştir.

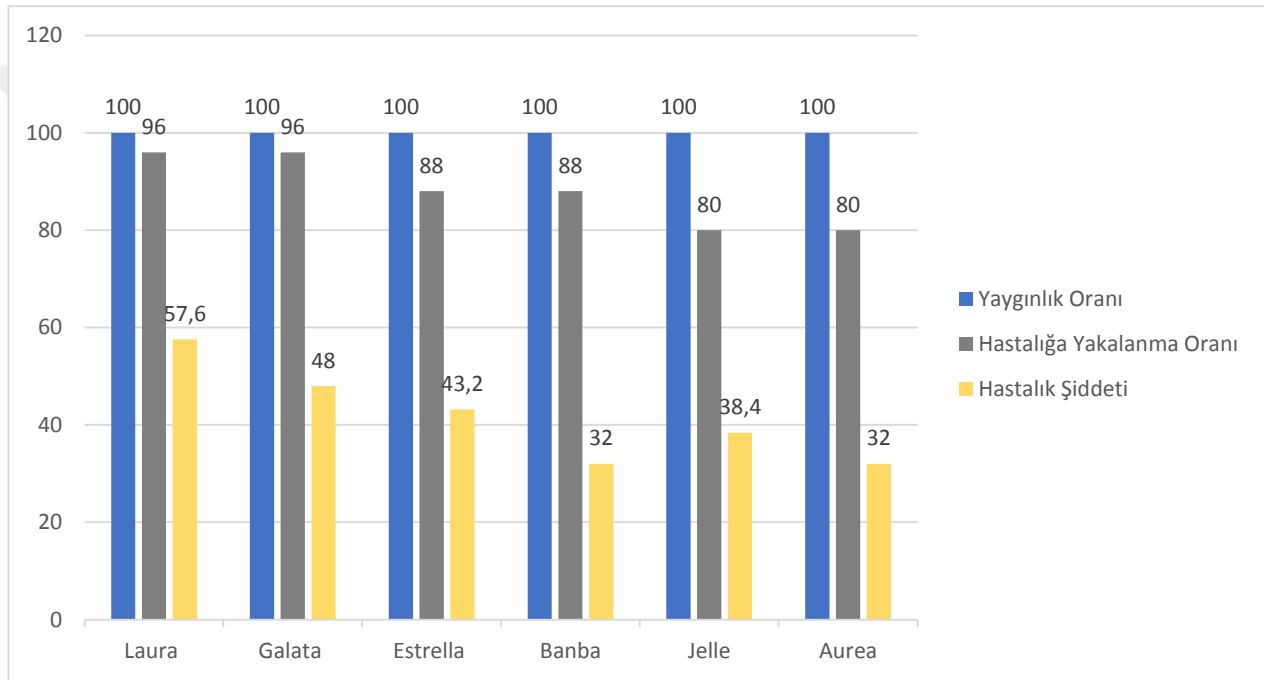


Şekil 4.1.1. Agria, Hermes, Madeleine, Marabel çeşitlerinde *S.subterranea* hastalığının, yüzde yaygınlık, ortalama yakalanma ve ortalama hastalık şiddeti değerleri.

Çeşitlerin (Şekil 4.1.1.) ortalama yakalanma oranları, % 2 ile % 96 arasında değişmekte olup; Madeleine % 53.3, Marabel % 47.1, Agria % 32.6, Hermes % 21.7

oranında tespit edilmiştir. Çeşitlerin yaygınlık oranları % 50 ile % 100 arasında değişmekte olup; Madeleine % 100, Marabel % 100, Hermes % 87.5, Agria % 75 oranında tespit edilmiştir. Ortalama hastalık şiddeti ise, % 0.8 ile %5 7.6 arasında değişmekte olup; Marabel % 24.9, Madeleine % 20.7, Agria % 9.2, Hermes % 7.8 olarak tespit edilmiştir.

Patojenin yüksek oranda tespit edildiği çeşitlerin, yaygınlık oranı, hastalığa yakalanma oranı ve hastalık şiddeti saptanarak aşağıdaki grafikte belirtilmiştir (Şekil 4.1.2.).

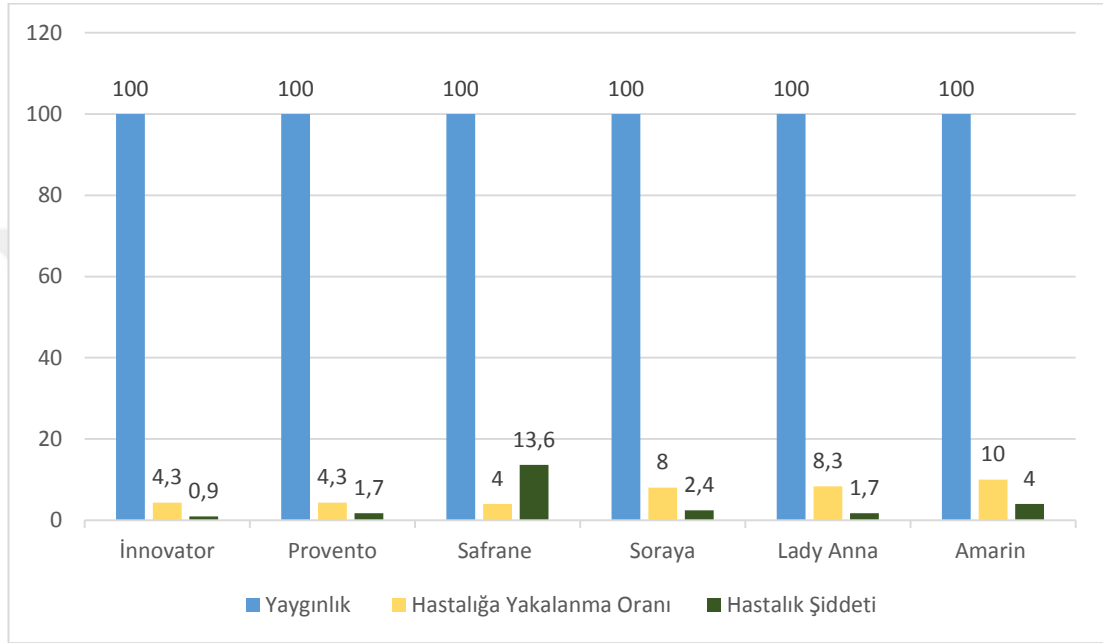


Şekil 4.1.2. Laura, Galata, Estrella, Banba, Jelle, Aurea çeşitlerinde *S. subterranea* hastalığının yüzde yaygınlık, hastalığa yakalanma ve hastalık şiddeti değerleri.

Çeşitlerin hepsi incelendiğinde hastalığa yakalanma oranlarının; % 0 ile % 96 arasında olduğu saptanmıştır. Hastalığa yakalanma değerleri yüksek oranda tespit edilen çeşitler; Laura ve Galata % 96, Estrella ve Banba % 88, Jelle ve Aurea % 80 olarak dikkat çekmiştir. Çeşitlerin hepsinde yaygınlık oranları % 0 ile % 100 arasında olup; Laura, Galata, Estrella, Banba, Jelle ve Aurea % 100 olarak tespit edilmiştir. Çeşitlerin bütününde hastalık şiddeti oranlarının % 0 ile % 57.6 arasında değişmekte

olduğu görülmüştür. Hastalık şiddeti yüksek oranda olan çeşitler; Laura % 57.6, Galata % 48, Estrella % 43.2, Jelle % 38.4, Banba ve % 32 olarak tespit edilmiştir.

Hastalığın görüldüğü ancak düşük oranda tespit edildiği çeşitlerin, hastalık şiddeti, yaygınlık oranı ve hastalığa yakalanma oranı aşağıdaki grafikte belirtilmiştir (Şekil 4.1.3.).



Şekil 4.1.3. Innovator, Provento, Safrane, Soraya, Lady Anna, Amarin çeşitlerinde *S. subterranea* hastalığının yüzde yaygınlık, hastalığa yakalanma ve hastalık şiddeti değerleri.

Hastalığın görüldüğü ancak düşük oranda tespit edildiği çeşitlerin hastalığa yakalanma oranları; Safrane % 4, Innovator ve Provento % 4.3, Soraya % 8, Lady Anna % 8.3, Amarin % 10, olarak belirlenmiştir. Hastalık şiddeti düşük oranda tespit edilen çeşitler; Innovator % 0.9, Provento ve Lady Anna % 1.7, Soraya % 2.4, Amarin % 4.0 Safrane % 13.6 olarak belirlenmiştir. Yaygınlık oranları Innovator, Provento, Safrane, Soraya, Lady Anna ve Amarin % 100 olarak tespit edilmiştir.

Endeavour, Musica, Ünlene çeşitlerinde hastalığın hiç saptanmadığı belirlenmiştir.

Hastalık firma/kurum bazında incelendiğinde ise, yakalanma oranı en yüksek firmalar sırasıyla; Sürde Tarım, Ar Tarım, Niğde Patates Araştırma Enstitüsü, Toros Tarım, Ak Tohum olarak tespit edilmiştir. Hastalık şiddetinin en yüksek saptandığı firmalar sırasıyla; Ar Tarım, Ak Tohum, Sürde Tarım, Toros Tarım, Niğde Patates Araştırma Enstitüsü olarak belirlenmiştir. Hastalık firma/kurum bazında, yakalanma oranı en düşük değerler ise sırasıyla; Niğde Patates Araştırma Enstitüsü, Apak, İnan Meijer, Toros Tarım, Ar Tarım, Doğa Tohum'da ölçülmüştür. Hastalık şiddeti en düşük olan çeşit sahibi firma sırasıyla, Niğde Patates Araştırma Enstitüsü, Apak, İnan Meijer, Toros Tarım, Ar Tarım, Doğa Tohum olarak belirtilmiştir.

Çizege 4.1.1. Patateslerin hastalığa yakalanma oranı (HYO), hastalık şiddeti (HŞ), yaygınlık oranı (YO), ortalama yakalanma oranı (OYO), ortalama hastalık şiddeti (OHŞ)

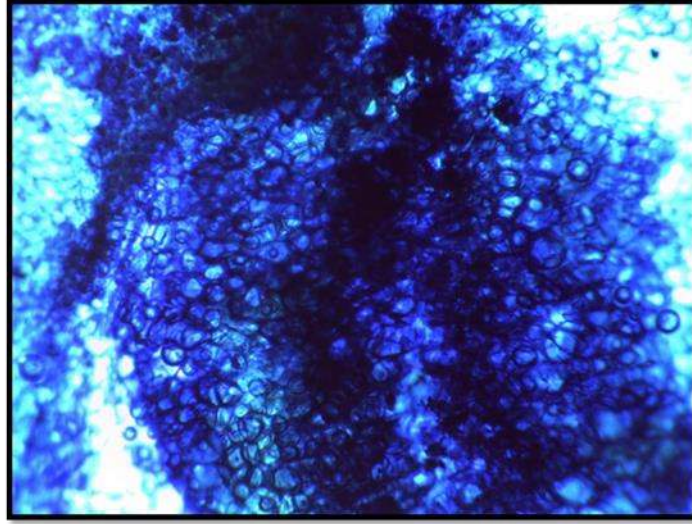
	Çeşit Adı	Firması	HYO	HŞ	YO	OYO	OHŞ
1	Agata	Niğde Pat. Ara. Ens.	28.0	4.8	100	23.5	7.9
2	Agata	Ar Tarım	12.0	3.2			
3	Agata	Hakan Gıda Tarım	30.4	15.7			
4	Agria	Toros Tarım	16.0	3.2	75	32.6	9.2
5	Agria	Ar Tarım	0.0	0.0			
6	Agria	Ak Tohum	22.2	5.6			
7	Agria	Niğde Pat. Ara. Ens.	92.0	28.0	100	24.0	8.5
8	Alegria	Doğa Tohum	28.0	10.4			
9	Alegria	Doğa Tohum	20.0	8.0			
10	Alegria	Doğa Tohum	24.0	7.2	100	56.0	14.4
11	Alonso	Sürde Tarım	56.0	14.4			
12	Amarin	Hakan Gıda Tarım	10.0	4.0			
13	Amora	İnan Meijer	37.5	7.5	100	37.5	7.5
14	Aurea	Sürde Tarım	80.0	21.6	100	80.0	21.6
15	Banba	Toros Tarım	88.0	32.0	100	88.0	32.0
16	Blondine	Sürde Tarım	52.0	15.2	100	52.0	15.2
17	Bohemia	Onur Tohum	52.0	15.2	100	52.0	15.2
18	Borwina	Doğa Tohum	25.0	5.8	100	16.3	3.8
19	Borwina	Doğa Tohum	12.0	2.4			
20	Borwina	Doğa Tohum	12.0	3.2			
21	Brooke	Fritolay	36.0	8.0	100	36.0	8.0
22	Carrera	Gömeç	50.0	15.0	100	50.0	15.0
23	Casablanca	Doğa Tohum	12.0	4.8	100	12.0	4.8
24	Chalenger	Gömeç	76.0	28.8	100	76.0	28.8
25	Concordia	Ak Tohum	80.0	26.4	100	80.0	26.4
26	Electra	Niğde Pat. Ara. Ens.	36.0	12.0	100	36.0	12.0
27	Endeavour	Apak	0.0	0.0	0	0.0	0.0
28	Estrella	Sürde Tarım	88.0	43.2	100	88.0	43.2
29	Fasan	Doğa Tohum	27.3	8.2	100	27.3	8.2
30	Fatih	Niğde Pat. Ara. Ens.	24.0	6.4	100	24.0	6.4

31	Florice	Sürde Tarım	62.5	13.3	100	35.3	7.5
32	Florice	Toros Tarım	8.0	1.6			
33	Galata	Sürde Tarım	96.0	48.0	100	96.0	48.0
34	Granola	Toros Tarım	4.0	1.6	50	2.0	0.8
35	Granola	Toros Tarım	0.0	0.0			
36	Hermes	Fritolay	4.0	0.8	87.5	21.7	7.8
37	Hermes	Doğa Tohum	12.0	2.4			
38	Hermes	Niğde Pat. Ara. Ens.	32.0	8.0			
39	Hermes	Doğa Tohum	0.0	0.0			
40	Hermes	Doğa Tohum	4.0	0.8			
41	Hermes	Hakan Gıda Tarım	48.0	16.0			
42	Hermes	Apak	8.0	3.2			
44	Innovator	Gömeç	4.3	0.9	100	4.3	0.9
45	Jelle	Ak Tohum	80.0	38.4	100	80.0	38.4
46	Jelly	Ar Tarım	12.0	2.4	100	12.0	2.4
47	Lady Claire	Fritolay	16.0	3.2	100	16.0	3.2
48	Lady Olympia	Toros Tarım	32.0	11.2	100	32.0	11.2
49	Lady Rosetta	Toros Tarım	9.1	1.8	100	32.1	10.6
50	Lady Rosetta	Toros Tarım	83.3	27.5			
51	Lady Rosetta	Apak	4.0	2.4			
52	Lady Amarilla	İnan Meijer	40.0	2,4	100	32.1	10.6
53	Lady Anna	İnan Meijer	8.3	1.7	100	8.3	1.7
54	Lady Claire	İnan Meijer	60.0	19.2	100	60.0	19.2
55	Laura	Ar Tarım	96.0	57.6	100	96.0	57.6
56	Lovisana	Sürde Tarım	50.0	10.0	100	50.0	10.0
57	Madeleine	Toros Tarım	60.0	17.6	100	53.3	20.7
58	Madeleine	Ar Tarım	68.0	26.4			
59	Madeleine	Hakan Gıda Tarım	50.0	17.3			
60	Madeleine	Ak Tohum	56.5	30.4			
61	Madeleine	Niğde Pat. Ara. Ens.	32.0	12.0			
62	Marabel	Toros Tarım	40.0	9.6	100	47.1	24.9
63	Marabel	Toros Tarım	41.7	21.7			
64	Marabel	Ar Tarım	4.0	0.8			
65	Marabel	Hakan Gıda Tarım	62.5	40.8			
66	Marabel	Ak Tohum	87.5	51.7			
67	Marfona	Toros Tarım	50.0	15.8	100	46.0	12.7
68	Marfona	Ar Tarım	16.0	4.8			
69	Marfona	Niğde Pat. Ara. Ens.	72.0	17.6			
70	Melody	İnan Meijer	56.0	15.2	100	36.7	11.1
71	Melody	Toros Tarım	17.4	7.0			
72	Menger	Gömeç	24.0	5.6	100	24.0	5.6
73	Musica	İnan Meijer	0.0	0.0	0	0.0	0.0
74	Nahita	Niğde Pat. Ara. Ens.	8.0	3.2	100	8.0	3.2
75	Nam	Niğde Pat. Ara. Ens.	16.0	4.0	100	16.0	4.0
76	Natascha	Solana Avrasya Tarım	20.0	4.0	100	20.0	4.0
77	Nectar	Niğde Pat. Ara. Ens.	59.1	16.4	100	59.1	16.4
78	Onaran	Niğde Pat. Ara. Ens.	16.0	4.0	100	16.0	4.0
79	Opal	Fritolay	34.8	7.0	100	27.4	6.7
80	Opal	Apak	20.0	6.4			
81	Orchestra	İnan Meijer	56.0	14.4	100	38.0	10.4

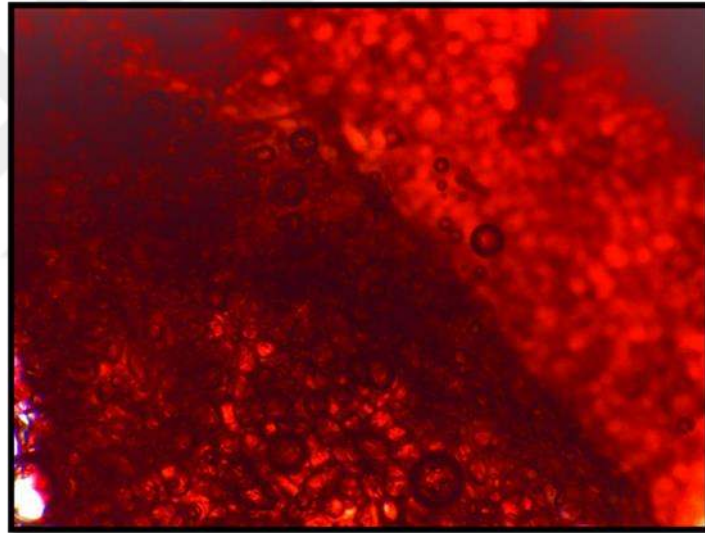
82	Orchestra	Hakan Gıda Tarım	20.0	6.4			
83	Pomqueen	Doğa Tohum	54.2	15.0	100	54.2	15.0
84	Provento	Toros Tarım	4.3	1.7	100	4.3	1.7
85	Royal	Toros Tarım	92.0	32.8	100	84.0	26.4
86	Royal	Onur Tohum	76.0	20.0	100	84.0	26.4
87	Russet Burbank	Gömeç	32.0	6.4	100	40.0	10.4
88	Russet Burbank	Doğa Tohum	48.0	14.4			
89	Soprano	İnan Meijer	40.0	8.0	100	40.0	8.0
90	Safrane	Sürde Tarım	4.0	13.6	100	4.0	13.6
91	Sagitta	Gömeç	92.0	51.2	100	52.0	27.6
92	Sagitta	Gömeç	12.0	4.0			
93	Sante	Toros Tarım	48.0	21.6	100	28.0	11.6
94	Sante	Ar Tarım	8.0	1.6			
95	Savanna	Niğde Pat. Ara. Ens.	72.0	32.8	100	72.0	32.8
96	Sifra	Gömeç	48.0	13.6	100	48.0	13.6
97	Slaney	Niğde Pat. Ara. Ens.	78.3	19.1	100	78.3	19.1
98	Soleia	Sürde Tarım	90.5	29.5	100	90.5	29.5
99	Soraya	Doğa Tohum	8.0	2.4	100	8.0	2.4
100	Surya	Sürde Tarım	48.0	9.6	100	48.0	9.6
101	Taurus	Gömeç	20.0	4.0	50	10.0	2.0
102	Taurus	Apak	0.0	0.0			
103	Ünlenen	Niğde Pat. Ara. Ens.	0.0	0.0	0	0.0	0.0
104	Van Gogh	Gömeç	64.0	31.2	100	58.0	22.8
105	Van Gogh	Gömeç	52.0	14.4			
106	WR-808	Fritolay	20.0	4.8	100	20.0	4.8
107	Zorba	Apak	32.0	12.8	100	32.0	12.8
TOPLAM ORANI				13.1	93.46		

4.2. Boyama Yolu İle İnceleme

Patojenin enfeksiyonu sonucu yumru kabuğunda oluşan lezyonlu dokudan, büstüri ile kesit alınarak, dinlenme sporları tespit edilmeye çalışılmıştır. Methylene blue ve safranin boyaları kullanılarak mikroskopta dinlenme sporları görüntülenmiştir (Şekil 4.2.1. ve Şekil 4.2.2.).



Şekil 4.2.1. *S.subterranea*'nın methylene blue ile boyanması sonucu mikroskop altında görülen dinlenme sporları.

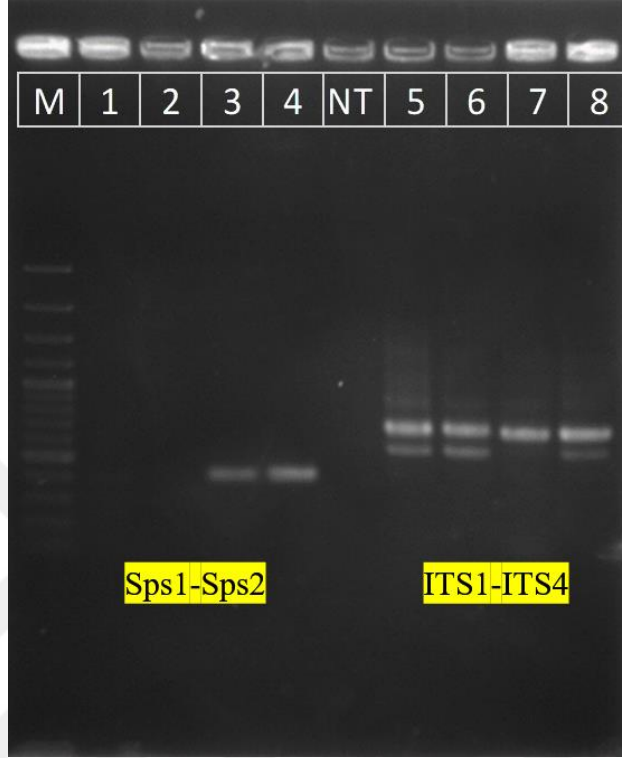


Şekil 4.2.2. *S. subterranea*'nın safranin ile boyanması sonucu mikroskop altında görülen dinlenme sporları.

4.3. Etmenin Moleküler Karakterizasyonu

Patojenin DNA izolasyonu ile gerçekleştirilen PCR çalışmalarında iki ürün elde edilmiştir. Birincisi; *S. subterranea* etmeninin türünü belirlemek için kullanılan türe spesifik primer setlerinin PCR ürünüdür. İkincisinde ise; etmenin, rDNA'sında bulunan, ITS1 ve ITS4 (White vd., 1990) bölgelerine ait, gen dizilerini elde etmek için primer setlerinin kullanıldığı DNA fragmentidir. Bu fragmentler jelden ekstrakte

edilerek temizlenmiş ve sekans analizi sonucu gelen sekans bilgisi BLAST analizi ile GenBank'taki *S. subterranea* izolatlarının ITS bölgesine % 100 benzerliğe sahip olduğu görülmüştür. Sekans NCBI-GenBank'a MG926825 Accession numarası ile kaydedilmiştir.



Şekil 4.3.1. *S. subterranea* patojeninin Sps1-Sps2 (391 bp'lik) ve ITS1-ITS4 (538 bp'lik) primerleri ile elde edilen jel görüntüsü M: GeneRuler 100 bp plus DNA ladder (Thermo Scientific) 1: Patates 2: *Fusarium solani* 3-4: *S. subterranea*, NT: no DNA, 5-8: *S. subterranea*+Patates.

Dünyada ve ülkemizde tozlu uyuz etmeninin önemli bir hastalık olduğu ve patates yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerin hepsinde hastalığın gözlemlendiği rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalarda patojen için toprağın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin de önemli olduğu vurgulanmıştır. Çalışmalarda patatesin farklı çeşitleri kullanılmış ve hastalığın çeşitler üzerinde oluşturduğu etkilere bakılmıştır.

Christ vd., (1988) patatesin Norchip, Rosa, Kennebec, Katahdin ve Monona çeşidini kullanarak, hastalığa yakalanma oranı ve hastalık şiddetinin etkilerini incelemişlerdir. Beş çeşidin hastalığa yakalanma oranı ve hastalık şiddetinin % 66 ve üzerinde olduğunu, Monona ve Norchip çeşitlerinde ise patojenin daha yaygın olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda patatesin 67 farklı çeşidi kullanılmış ve

çeşitlerde toplam hastalık şiddeti oranı % 13.1 iken, toplam yaygınlık oranı % 93.4 olarak hesaplanmıştır.

Patojenle mücadele için yapılmış çalışmalar incelendiğinde mücadelenin zor olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle Nachmias A. ve J. Krikun toprak ve yumru kaynaklı inokulumun ortadan kaldırılabilmesi için metham sodyum fumigasyonu uygulanabileceğini açıklamışlardır. Başka bir mücadele yöntemi ise Manditsvara Hilda Tarisai (2016), ürün rotasyonlarında ve yeşil gübrelemede kullanılan *Brassica* (turpgiller) bitkilerinin, toprak kaynaklı patojenleri azalttığını belirtmiştir. Ayrıca antagonistik mikroorganizmalardan olan *Trichoderma* spp.'nin toprağa eklenmesiyle topraktaki bitki patojenlerinin biyolojik kontrolünün sağlandığını açıklamıştır. Ülkemizde patojen ile mücadele için benzer çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tuncer (1997) aşırı sulama ve azotlu gübre kullanımının patatesin duyarlı çeşitlerinde, *S.subterranea* oluşumuna etki ettiğini bildirmiştir. Çalışmamızda elde edilen yüksek orandaki hastalık çıkışı ve yakalanma oranları çeşitlerin ekiliş yapıldığı arazilerde aşırı sulama ve gübrelemeden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir, bu durum ileriki çalışmalar ile ortaya konulmalıdır.

Türkiye’de (Göre, 2017) yapılan başka bir çalışmada İç Anadolu, Ege ve Batı Karadeniz Bölgelerinden temin edilen 6 patates çeşidi (Agria, Marabel, Marfona, Hermes, Jelly ve Lady Olympia) üzerinde yapılan çalışmada hastalığın yaygın olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma ile yaptığımız çalışma paralellik göstermektedir. Yaptığımız çalışmada 2017 üretim yılına ait 67 patates çeşidi incelenmiş ve çeşitler üzerinde hastalık şiddeti, hastalığa yakalanma oranının farklı oranlarda olduğu fakat çeşit geneli baz alındığında hastalığın yaygın olduğu belirlenmiştir. Literatür kayıtları incelendiğinde çalışmalarda kullanılan çeşitlerin farklı olduğu görülse de çeşitlerin genelinde hastalığın gözlemlendiği ve yaygın olduğu anlaşılmaktadır.

Yeni Zelanda’da 2005 yılında patojenin, patates köklerinde oluşturduğu enfeksiyonun etkilerini araştırmak amacıyla sera ve tarla denemeleri kurulmuştur. Sera denemesinde sekiz farklı patates çeşidi (Asterix, Iwa, Umatilla Russe, Russet Burbank, Ranger Russet, Moonlight, Red Rascal, Gladiator) kullanılmıştır. Dikimden 56 gün sonra, tüm bitkiler ayrı ayrı hasat edilmiştir. Her bir bitkinin, stolon ucu büyüklüğü 1

cm'den küçük, yumru kökü ise 1 cm'den büyük olarak ölçülmüştür. Yapılan denemenin ardından Asterix ve Iwa'nın çok duyarlı, Umatilla Russe, Russet Burbank, Ranger Russet'in orta derecede duyarlı ve Moonlight, Red Rascal, Gladiator'un ise çok dayanıklı olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda patojenin bitki köklerinde oluşturduğu lezyonun etkilerine bakılmamıştır. Yapılan çalışmada kullanılan çeşitlerden biri de Russet Burbank'tır ve Russet Burbank'ın orta derecede duyarlı olduğu çalışma sonucunda vurgulanmıştır. Çalışmamızda incelediğimiz 67 patates çeşidi içinde Russet Burbank'da bulunmaktadır. Bizim incelemelerimiz, Russet Burbank'ın yaygınlık oranının: % 100, ortalama yakalanma oranının: % 40, ortalama hastalık şiddeti oranının: % 10.4 olduğunu ortaya koymuştur. Aynı çalışmanın tarla denemesi ise Yeni Zellanda ve İngiltere'de (Lincoln, Canterbury) kumlu killi topraklarda gerçekleştirilmiş ve ekim yapılan toprakların bir kısmına patojen bulaştırılmış bir kısmına ise patojen bulaştırılmamıştır. Denemede patojen inokule edilmemiş bitkilerin, hiç birinde patojen görülmemiştir. 15 hafta sonra ise, hasat edilen inokulasyonu yapılmış dört bitkinin tamamında, çok sayıda beyaz ve kahverengi galin meydana geldiği bildirilmiştir. 19 hafta sonunda inokulasyonu yapılmış bitkilerin tamamında kahverengi gallerin olduğu ve zamanla inokulasyonu yapılmış bitkilerin tamamının öldüğü bildirilmiştir (Falloon, 2015). Ülkemizde de toprak tipine bağlı çalışmalar yapılmalı ve patojen inokulasyonun bitkiler üzerindeki etkileri rapor edilmelidir.

Yapılan çalışmalar sonucu hastalığın tüm dünyaya yayılmasının nedeni ise, hastalıklı yumruların tohumluk olarak kullanılması ve tohumluklardan elde edilen ürünlerin dış ticaretinin yapılması olarak vurgulanmıştır. Hastalığın kullanılan kimyasal ilaçlarla kontrolünün zor olduğu ve patojenin genetik çeşitliliğinin fazla olduğu belirtilerek, dayanıklı patates çeşitleri üretebilmek için başarılı ıslah çalışmalarına ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (Gau, 2012).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Patateste tozlu uyuz hastalığına neden olan *S. subterranea*'nın, patates çeşitlerindeki hastalığa yakalanma oranı, hastalık şiddeti, yaygınlığı ve bu etmenin tanılanmasında kolaylık sağlayacak moleküler tanılamayı hedefleyen bu çalışma, özellikle tohumluk patatesler için hastalık kontrol stratejileri geliştirme ihtiyacının temelini vurgulamaktadır ve elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir;

1. Patateste tozlu uyuz hastalığına neden olan *S.subterranea* etmeninin, yakalanma oranı, hastalık şiddeti ve yaygınlığını saptamak amacıyla patates çeşitlerinde, hastalık değerlendirmesi yapılmıştır. Hastalığa yakalanma oranları yüksek oranda tespit edilen çeşitler; Laura ve Galata (% 96), Estrella ve Banba (% 88), Jelle ve Aurea (% 80) olarak saptanmıştır. Çeşitlerin genelinde hastalık yaygın olup; Laura, Galata, Estrella, Banba, Jelle ve Aurea (% 100) olarak saptanmıştır. Hastalık şiddeti yüksek oranda saptanan çeşitler ise; Laura (% 57,6), Galata (% 48), Estrella (% 43,2), Jelle (% 38,4), Banba ve Aurea (% 32) olarak belirlenmiştir.
2. Hastalığa yakalanma oranları düşük oranda tespit edilen çeşitler; Safrane (% 4), Innovator ve Provento (% 4,3), Soraya (% 8), Lady Anna (% 8,3), Amarin (% 10), olarak tespit edilmiştir. Çeşitlerin genelinde hastalık yaygın olup; Innovator, Provento, Safrane, Soraya, Lady Anna ve Amarin (% 100) olarak tespit edilmiştir. Hastalık şiddeti düşük oranda saptanan çeşitler; Innovator (% 0,9), Provento ve Lady Anna (% 1,7), Soraya (% 2,4), Amarin (% 4), Safrane (% 13,6) olarak tespit edilmiştir.
3. Endeavour, Musica, Ünlene çeşitlerinde hastalığın hiç saptanmadığı belirlenmiştir.
4. Etmenin dinlenme sporları boyanarak mikroskopta incelenmiştir. Methylene blue ile mavi, safranin ile kırmızı renkte görüldüğü belirlenmiştir.
5. Patojen ile ilgili Türkiye'de daha önce hastalığa yakalanma ve yaygınlık üzerine çalışmalar mevcuttur fakat etmenin moleküler tanılaması yapılmamıştır. Bu

Çalışma ile etmenin moleküler tanılaması ilk kez yapılmıştır. Etmenin moleküler tanılamasında tre spesifik primerler kullanılarak PCR yapılmıştır. Sps1-Sps2’de 391 bp ve ITS1-ITS4’de 538 bp bant uzunluğunda DNA fragmenti saptanmıştır. Çalışmada kullanılan primer setleri ile patojenin *S. subterranea* olduğu belirlenmiştir.

6. Dünyada ve lkemizde *S. subterranea* ile ilgili çalışmalar yapılmış ve önemli bir patojen olduğu vurgulanmıştır. Patojenin patates çeşitlerinde yaygın olduğu ve patates yüzeyinde oluşturduğu leyzonlar nedeniyle üretici ve tüketiciyi olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir.
7. Geçmişte genel olarak patatesler yıkanmadan satışa sunulmuştur. Daha sonra tüketiciler talepleri doğrultusunda, patatesler yıkanmış, üzerlerinde bulunan toprak ve kirden arındırılmıştır. Hastalık etmeninin yıkanmış patates kabukları üzerinde daha belirgin görünmesi, patatesin pazar değerini ve kalitesini düşürmektedir. Bu nedenle dayanıklı ve pazarlanabilirliği yüksek çeşitler üretebilmek için başarılı ıslah çalışmalarına ihtiyaç vardır.
8. Sonuç olarak; tozlu uyuz hastalığının çeşitler üzerinde yaygın olduğu bu nedenle problem teşkil ettiği vurgulanarak, dayanıklı çeşit kullanımının hastalıktan korumada bir ölçüde etkili olacağı, bulaşık yumruların tohumluk olarak kullanılmaması, rotasyon aralıklarına dikkat edilmesi gerektiği, aşırı sulamadan kaçınmanın gerektiği kanısına varılmıştır.

6. KAYNAKLAR DİZİNİ

Anonim 2018a <http://yumurtaliekmek.com/patatesin-tarihcesi/> 2018.

Anonim2018b

<https://arastirma.tarim.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tarim%20Ürünleri%20Piyasalari/2018-Ocak%20Tarim%20Ürünleri%20Raporu/2018-Ocak%20Patates.pdf> 2018.

Anonim2018c

<http://www.mycobank.org/BioloMICS.aspx?Table=Mycobank&Rec=98286&Fields=All>2018.

Anonim2018d <https://www.protocols.io/view/Methylene-Blue-staining-fd7bi9n>2018.

Anonim 2018e

<http://ppo.ir/LinkClick.aspx?fileticket=TGbjw2VCtEs%3D&tabid=885>2018.

Anonymous (1981a) “Powdery Scab of Potatoes” London Her Majesty’s Stationery Office Ministry of Agriculture Fisheries and Food Leaflet No 99.

Anonymous (1981b) Lawrence CH McKenzie AR (1981) “Powdery scab In Hooker WJ (ed) Compendium of potato disease” The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, pp. 35–36.

Anonymous (1984) “Biology and control of powdery scab of potatoes”. Annual Report of the School of Agriculture Aberdeen, for 1982–1983, 34.

Arıoğlu (2002) “Türkiye’de patates üretimi, sorunları ve çözüm önerileri. IV. Ulusal Patates Kongresi”, 06-08.

Asuyama H (1954) “Powdery scab disease of potato (in Japanese)”. Shokubutsu bôeki (Plant Protection) 8:510–513.

Babu G ve Merz U (2011) “First confirmed report of powdery scab, caused by *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea*, on potato in Sri Lanka”, Plant Diseases 95:1033.

Balendres MA vd (2016) “Key events in pathogenesis of *spongospora* diseases in potato: a review”. Australas Plant Pathol 45:1–12. doi:10.1007/s13313-016-0398-3.

Berkeley MJ (1848) “On a form of scab in potatoes”. Journal of the Royal Horticultural Society of London 3, 37–41.

Berkeley MJ vd (1846) “Observations, botanical and physio-logical, on the potato murrain”. Journal of the Royal Horticultural Society of London 1, 9–34.

Blattny C (1935). Príspevek k poznání hlenky Bramborové. Rec. Inst. Rech. agron. Rep. tchecosl. No. 137, 21–5. (Summary in: Review of Applied Mycology 15, 393).

Bora T ve Karaca İ (1970) “Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi” Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın, (167).

Bobev S (2009) Reference Guide for the Diseases of Cultivated Plants 466 pp
Available: <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases>.

Boydston R (2006) "Potato disease, nematode and insect problems worsened by hairy nightshade In Proceedings of the 45th Washington State Potato Conference", 1–4. Published by the Washington State Potato Commission, www.potatoes.com.

Braselton J P (1995) "Current status of the Plasmodiophorids Critical Reviews in Microbiology" 21 (4): 263-275.

Braithwaite M, Falloon RE, Genet RA, Wallace AR, Fletcher JD ve Braam WF(1994) "Control of powdery scab of potatoes with chemical seed tuber treatments". N Z J Crop Hortic Sci 22:121–128. doi:10.1080 /01140671.1994.9513815.

Brunchorst J (1887) Ueber eine sehr verbreitete Krankheitder Kartoffelknollen. Bergens Museums Aarsberetning,1886 217–26.

Bulman S vd (2001) "A phylogenetic analysis of the SSU rRNA from members of the Plasmodiophorida and Phagomyxida", Protist, 152(1), 43-51.

Butler EJ ve Jones SG (1949) "Powdery scab of potato *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh" In: Plant Pathology. London: MacMillan, 493–8.

Christ B J ve Weidner R J (1988) "Incidence and severity of powdery scab on potatoes in Pennsylvania". American Potato Journal, 65 (10), 583.

Christ, (1987, 1989, in pres) "Powdery scab disease of potato – a review" JG. Harrison, R.J Searle and NA. Williams Plant Pathology (1997) 46, 1–25.

Cockayne AH (1920) "Powdery scab of potatoes the Australian embargo", New Zealand Journal of Agriculture 21, 169–74.

de Lagerheim G (1891) "Remarks on the fungus of a potato scab", Journal of Mycology 7, 103–4.

Diriwachter G ve Parbery DG (1991) "Infection of potato by *Spongospora subterranea*", Mycological Research 95,762–4.

Douchez Y (1942) "Sur les galles de racines de pomme de terre provoquee par le *Spongospora subterranea* (Wallr.)" T. Johnson. Extrait des Annales de Institut Pasteur 68, 351.

Eraslan F ve Turhan G, (1989b) "Studies on powdery scab of potato with special regard to the reactions of certain potato cultivars and clones", Zeitschrift fur Pflanzen krankheiten und Pflanzenschutz 96, 353–60.

Falloon RE, Genet RA, Wallace AR ve Butler RC (2003) "Susceptibility of potato (*Solanum tuberosum*) cultivars to powdery scab (caused by *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*) and relationships between tuber and root infection". Australasian Plant Pathology, 32(3), 377-385.

Falloon RE (2008) "Control of powdery scab of potato: Towards integrated disease management", American Journal of Potato Research, 85(4), 253-260.

Falloon RE, Merz U, Butler RC, Curtin D, Lister, RA ve Thomas SM (2016) “Root infection of potato by *Spongospora subterranea*: knowledge review and evidence for decreased plant productivity”, Plant pathology, 65(3), 422-434.

Foxe MJ (1992) “Breeding for viral resistance: conventional methods”, Netherlands Journal of Plant Pathology 98: 13-20.

Fujita SI, Senda Y, Nakaguchi S ve Hashimoto T (2001) “Multiplex PCR using internal transcribed spacer 1 and 2 regions for rapid detection and identification of yeast strains”, Journal of clinical microbiology, 39(10), 3617-3622.

Gau RD, Merz U, Falloon RE (2015) “Infection risk potential of south American *Spongospora subterranea f.sp subterranea* root gall and tuber lesion inoculum on potato (*Solanum tuberosum* ssp *tuberosum*)”, Am J Potato Res 92:109–116. doi:10.1007/s12230014-9419-3.

Gau RD (2012) “Global population genetics of *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* the plasmodiophorid pathogen causing powdery scab of potato and its impact on disease management”, (Doctoral dissertation, ETH Zurich).

Gau RD, Merz U, Falloon RE, Brunner PC (2013) “Global genetics and invasion history of the potato powdery scab pathogen *Spongospora subterranea f.sp subterranea*”, PLoS One 8:e67944. doi:10.1371/journal.pone.0067944.

Gilchrist E, Soler J, Merz U ve Reynaldi S (2011) “Powdery scab effect on the potato *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* growth and yield”, Tropical Plant Pathology, 36(6), 350-355.

Goidanich G, Mezzetti A, (1948) “La *Spongospora subterranea* in Italia”, Ann. Sper. agr., NS, ii, 2, 237–46. (Summary in: Review of Applied Mycology 27,539).

Gomolyako NI (1930) “Observations on the development of powdery scab of potatoes” Morbi Plantarum (Leningrad) 19(1–2), 79–88. (Summary in: Review of Applied Mycology 10, 402).

Göre ME (2017) “Fungal seedborne pathogens infecting potato seed tubers from Turkey, 2011–2014”, Journal of Plant Diseases and Protection, 124(6), 539-551.

Graaf P, Lees AK, Wale SJ ve Duncan JM (2005) “Effect of soil inoculum level and environmental factors on potato powdery scab caused by *Spongospora subterranea*”. Plant Pathology, 54(1), 22-28.

Gussow HT (1913) “Powdery scab of potatoes *Spongospora subterranea* (Wallr.)” Johns, Phytopathology 3, 18–9.

Harrison JG, RJ Searle and NA Williams (1997) “Powdery scab disease of potato—a review”, Plant Pathology 46: 1–25.

Hims MJ (1976b) “The biology of *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh. *f.sp. subterranea* Tomlinson, the cause of powdery scab disease of potato”, Leeds, UK: University of Leeds, PhD thesis.

Houser A, Davidson R (2010) “Development of a greenhouse assay to evaluate potato germplasm for susceptibility to powdery scab”, *Am J Potato Res* 87:285–298.

Iren S, ve O Yemen, (1979) “A new potato seed disease for Turkey (*Spongospora subterranea* Wallr-Johnson)”, *Annual Ankara University Agricultural Faculty Supplementary* 28: 3-4.

Janke C (1963) “Untersuchungen zur Okologie des Pulverschorfes der Kartoffel (*Spongospora subterranea* Wallr. Johns)”, *Nachrichtenblatt fur den Deutschen Pflanzenschutzdienst* (Berlin) 17, 65–75.

Jellis GJ, Starling NC ve Phul PS (1987b) “Screening potatoes for resistance to powdery scab (*Spongospora subterranea*) using a glasshouse method”, In: *Proceedings of the Crop Protection in Northern Britain Conference 1987*. Dundee, UK: The Association for Crop Protection in Northern Britain, 192–5.

Jones D (1978) “Scanning electron microscopy of cystosori of *Spongospora subterranea*”, *Trans. Br. Mycol. Soc.* 70: 292-293.

Jones RAC and BD Harrison (1969) The behaviour of potato mop top virus in soil, and evidence for its transmission by *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh”, *Annals of Applied Biology* 63: 1–17.

Kanetis L, Samouel S, Iacovides T, Papayiannis L (2015) “First Report of Potato Powdery Scab, caused by *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*, in Cyprus. *Plant Disease*. doi:10.1094/PDIS-07-150778-PDN.

Karling, JS. (1968) “The Plasmodiophorales”, Hafner Publishing Co New York, NY.

Kirkham RP, (1986) “Screening for resistance to powdery scab disease of potatoes”, *Australian Journal of Experimental Agriculture* 26, 245–7.

Kole AP, (1954) “A contribution to the knowledge of *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh the cause of powdery scab of potatoes”, *Tijdschrift over Plantenziekten* 60, 1–65.

Krikun J, Orion D, Nachmias A and Reuveni R (1982) “The role of soilborne pathogens under conditions of intensive agriculture”, *Phytoparasitica* 10: 247-258.

Krikun J and Frank ZR (1982) “Metham-sodium applied by sprinkler irrigation to control pod rot of peanut”, *Pl. Dis.* 66:128-130.

Lawrence CH, McKenzie AR (1981) “Powdery scab In Hooker WJ ed *Compendium of Potato Diseases*” St.Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society, 35–6.

Lyman GR, Rogers JT (1915) “The native habitat of *Spongospora subterranea*”, *Science* 42, 940–2.

Makarainen HR, Teperi E, Valkonen JPT 1994 “Resistance to *Spongospora subterranea* in tuber-bearing and non tuber-bearing *Solanum* spp”, *Potato Research* 37,123–7.

Mallik I ve Gudmestad NC (2014) “First report of potato mop top virus causing potato tuber necrosis in Colorado and New Mexico”, *Plant Dis* 99:164–164.

Manditsvara H (2014) “Potential of brassica napus and trichoderma harzianum in control of powdery scab (*Spongospora subterranea* f. *sp. subterranea*) of potato (*Solanum tuberosum* L.)”, 2014.

Mann HH, Nagpurkar SD, Kulkarni GS, Kasargode RS, Paranjpye SR, Joshi BM, (1921) “Investigations on potato cultivation in Western India”, Department of Agriculture, Bombay, Bulletin No. 102, 357–8.

Margulis L, Corliss JO, Melkonian M ve Chapman DJ (Eds) (1989) “Handbook of Protoctista”, Jones and Bartlett Publishers, Boston, 1989.

Massee G (1908) “Corky scab of potatoes (*Spongospora scabies* Mass), *Journal of the Board of Agriculture and Fisheries* 15, 592–9.

Melhus IE, Rosenbaum J, Schultz ES, (1916) “*Spongospora subterranea* and *Phoma tuberosa* on the Irish potato”, *Journal of Agricultural Research* 7, 213–54.

Merz U (1989) “Infectivity inoculum density and germination of *Spongospora subterranea* resting spores: a solution-culture test system”, *European Plant Protection Organisation Bulletin* 19, 585–92.

Merz U (2008) “Powdery scab of potato—occurrence, life cycle and epidemiology”, *American Journal of Potato Research*, 85(4), 241.

Mol J ve Ormel HA (1946) “Enkele opmerkingen over poederschurft *Spongospora subterranea* Wallr”, *Tijdschrift over Plantenziekten* 52, 18–22.

Morse WJ (1914) “Powdery scab of potatoes”, *Maine Agricultural Experiment Station Bulletin* 227, 89–104.

Nachmias A ve Krikun J (1988) “Etiology and control of powdery scab of potato in a semi-arid region of Israel”, *Phytoparasitica* 16 (1), 33-38.

Nitzan N, Cummings TF, Johnson DA, Miller JS, Batchelor DL, Olsen C, Quick RA, Brown CR (2008) “Resistance to root galling caused by the powdery scab pathogen *Spongospora subterranea* in potato”, *Plant Dis* 92:1643–1649

Norouzian MSJ, Banihashemi M, Ahangaran A, Nikshad K (2010) “First report of detection of *Spongospora subterranea* f.sp. *subterranea* (Sss) on imported potato minitubers in greenhouse in Iran and its eradication”, *Iran J Plant Pathol* 46:89–90.

Osborn TGB (1911) “*Spongospora subterranea* (Wallroth) Johnson”, *Annals of Botany* 25, 327–41.

Philipp W (1932) “Starkes Auftreten des Pulverschorfes der Kartoffel”, *Die Kranke Pflanze* 9, 111–2.

Pieter van de Graaf ve Alison Lees SCRI (2005) “Epidemiology, autecology and control of *Spongospora subterranea* cause of potato powdery scab”, BPC project report.

Qu XS, Christ BJ (2006) “The host range of *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* in the United States”, American Journal of Potato Research 83:343-347.

Ramsey GB (1918) “Influence of moisture and temperature upon infection by *Spongospora subterranea*”, Phytopathology 8, 29–31.

Salazar LF ve Jones RAC (1975) “Some studies on the distribution and incidence of potato mop-top virus in Peru”, American Potato Journal, 52(5), 143-150.

Shah FA, Falloon RE, Butler RC ve Lister RA (2012) “Low amounts of *Spongospora subterranea* sporosorus inoculum cause severe powdery scab, root gallings and reduced water use in potato (*Solanum tuberosum*)”, Australasian Plant Pathology, 41(2), 219-228.

Sparrow FK (1960) Aquatic Phycomycetes, 2nd ed University of Michigan Press, Ann Arbor, 1960 Taylor, P.A. and Flett, S.P. (1981) “Effect of Irrigation on Powdery Scab of Potatoes”, Australasian Plant Pathology 10 55-56.

Sprau F (1966) “Zur Biologie und Bekämpfung des Pulverschorfs (*Spongospora subterranea* Wallr. John-son) der Kartoffel”, In: Salzmann R & Keller ER eds. Proceedings of the Third Triennial Conference of the European Association for Potato Research. Wageningen, The Netherlands: European Association for Potato Research, 211–2.

Taylor PA, Flett SP, (1981) “Effect of irrigation on powdery scab of potatoes”, Australasian Plant Pathology 10(3), 55–6.

Tomlinson JA (1958) “Crook root of watercress 3. the causal organism *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh. f. sp. *nasturtii* f. sp. nov.”, Transactions of the British Mycology Society 41: 491–498.

Tsror L, 2016 “Alternative hosts for *Spongospora subterranea* under semi-arid conditions”, Dep. of Plant Pathology, Agricultural Research Organization, Gilat Research Center, Israel, Powdery scab Workshop, 2016, Switzerland.

Tuncer G (1997) “The incidence, distribution and control measurements of fungal diseases at stored potato tubers in Central Anatolia”, The Ministry of Agriculture and Rural Affairs of Turkey, BKA/01-E-053.

Turka I, Bimšteine G (2011) “The screening of different potato varieties for tuber diseases and its importance in integrated pest management”, Proceedings of the Latvia University of Agriculture Jelgava, Nr 26:54–59.

Turkensteen LJ (1985) “A survey of fungal and bacterial diseases in Turkey in 1981-1983”, Agriculture and Rural Affairs Ministry, Ankara.

Tuttobene R (1986) “Epidemie di scabbia polverulenta [*Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh.] in Sicilia”, Informatore-Fitopatologico 36(6), 35–9.

Vielwerth (1949) ve Wenzl (1962)., Powdery scab disease of potato – a review J. G. HARRISON, R. J. SEARLE and N. A. WILLIAMS Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee DD2 5DA, UK Plant Pathology (1997) 46, 1–25.

- Vielwerth V (1949) “O spongoporove strupovitosti Bramborii”, *Ochrana Rostlin* 22(3–4), 77–86. (Summary in: *Review of Applied Mycology* 30, 71).
- Vakalounakis DJ, Doulis AG, Lamprou KK (2013) “First report of powdery scab, caused by *Spongospora subterranea* f. *sp. subterranea*, on potatoes in Crete”, *Greece. Plant Dis* 98:425–425.
- Wale SJ, (1987) “Powdery scab—are there any easy solutions?”, *Potato World* 4(4), 8–9.
- Wallroth FW (1842) “Der Knollenbrand der Kartoffel”, *Linnea* 16: 332.
- Wastie RL, Stewart HE (1989) “Resistance screening. Fungal and bacterial diseases”, *Scottish Crop Research Institute Annual Report for 1988*.78–9.
- Whitehead T, McIntosh TP, Findlay WM, (1953) “Diseases caused by Archimycetes, Actinomycetes and bacteria”, In: *The Potato in Health and Disease*, 3rd edn. Edinburgh: Oliver and Boyd, 367–403.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) “Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics”, In: Innis, M., Gelfand, D.H., Sninsky J.J., White T.J. (Eds.), *PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, San Diego, pp. 315±322.
- Wild N (1929) “Untersuchungen über den Pulverschorf der Kartoffelknollen (*Spongospora subterranea* (Wallr.) Johnson)”, *Phytopathologische Zeitschrift* 1, 367–452.
- Wollenweber HW (1921) “Verschleppung von *Spongospora*-oder Schwammschorf durch Pflanzgut”, *Mitteilungen der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft* 21, 254–5.
- Wurzer B (1964) “Ergänzende Untersuchungen über den Pulverschorf der Kartoffel und dessen Erreger *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh”, Hohenheim: Landwirtschaftliche Hochschule, dissertation.