T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

AKDENİZ VE EGE BÖLGESİ'NDE BİBER YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN ALANLARDA FUSARİUM SOLGUNLUK HASTALIĞININ YAYGINLIĞI VE ETMENİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Hazırlayan
Gamze YÜKSEL

Danışman
Doç. Dr. Hacer Handan ALTINOK

Yüksek Lisans Tezi

Kasım 2018
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

AKDENİZ VE EGE BÖLGESİ'NDE BİBER YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN ALANLARDA FUSARİUM SOLGUNLUK HASTALIĞININ YAYGINLIĞI VE ETMENİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Gamze YÜKSEL

Danışman
Doç. Dr. Hacer Handan ALTINOK

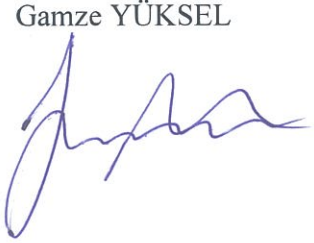
Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TÜBİTAK-COST 114O866 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Kasım 2018
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Gamze YÜKSEL



"**Akdeniz Ve Ege Bölgesi'nde Biber Yetiştiriciliği Yapılan Alanlarda Fusarium Solgunluk Hastalığının Yaygınlığı Ve Etmenin Moleküler Karakterizasyonu**" adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi' ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Gamze YÜKSEL

Danışman

Doç. Dr. Hacer Handan ALTINOK

Bitki Koruma ABD Başkanı

Prof.Dr. Ramazan CANHİLAL

Doç. Dr. H. Handan ALTINOK danışmanlığında **Gamze YÜKSEL** tarafından hazırlanan **"Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde Biber Yetiştiriciliği Yapılan Alanlarda Fusarium Solgunluk Hastalığının Yaygınlığı ve Etmenin Moleküler Karakterizasyonu"** adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Bitki Koruma** Anabilim Dalında **yüksek lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

09/ 11 / 2018

JÜRİ:

Danışman : Doç. Dr. H. Handan ALTINOK .....

Üye : Prof. Dr. Yusuf YANAR .....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ .....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 04/12/2018.. tarih ve 2018/55-07...sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...04../..12../..2018...

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve bu günlere gelmemde en büyük katkı sahibi sayın hocam Doç. Dr. Hacer Handan ALTINOK'a teşekkürü bir borç bilirim.

Deneysel çalışmalarım sırasında karşılaştığım zorlukları aşmamda yardımlarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Mahmut Alper ALTINOK'a ve yardımlarını hiç eksik etmeyen, aynı laboratuvarı paylaştığım değerli arkadaşlarım Kübra DELİSOY ve Abdul Khalil KARİMİ'ye teşekkür ederim.

Tez çalışmama TÜBİTAK-COST 114O866 nolu proje kapsamında maddi destek veren Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na teşekkür ederim.

Ayrıca; yaşamımın her aşamasında sabır göstererek beni daima destekleyen aileme sonsuz saygı ve sevgilerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince maddi ve manevi desteğiyle varlığını yanımda hep hissettiğim, karşılaştığım zorlukları aşmamda yardımcı olan sevgili eşim Ebubekir YÜKSEL'e ve bu aşamada varlığıyla güç bulduğum biricik oğlum Çağan'a teşekkür ediyorum.

Gamze YÜKSEL

Kasım 2018, KAYSERİ

AKDENİZ VE EGE BÖLGESİ'NDE BİBER YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN ALANLARDA FUSARİUM SOLGUNLUK HASTALIĞININ YAYGINLIĞI VE ETMENİN MOLEKÜLER KAREKTERİZASYONU

Gamze YÜKSEL

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Kasım 2018
Danışman: Doç. Dr. H. Handan ALTINOK

ÖZET

Ülkemizde Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde Solanaceae familyasında yer alan domates, biber ve patlıcanda patojenik *Fusarium oxysporum* tür kompleksi (FOSC) önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Biber yetiştiricilik alanlarında son yıllarda Fusarium solgunluk etmeni *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) yaygınlaşmıştır. Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde 2015 ve 2016 yıllarında biber sera ve tarlalarında sörvey çalışmaları yapılarak, biberde Fusarium solgunluk hastalığının yaygınlık durumu belirlenmiş ve elde edilen Foc izolatlarının virülenslikleri saptanmıştır. Her iki sörvey yılında da seraların %30, tarlaların ise %60 oranında solgunluk hastalığı ile enfekte olduğu saptanmıştır. Morfolojik olarak tanımlanan biber *F. oxysporum* izolatlarının moleküler tanısı da yapılmıştır. Makroskobik, mikroskobik incelemeler ve patojenisite denemeleri sonucunda toplam 64 izolat *F. oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) olarak saptanmıştır. Domates ve patlıcan fidelerine inoküle edilen Foc izolatları, çapraz inokulasyon denemelerinde solgunluk simptomu göstermemişlerdir. Hastalık şiddeti yüzdesine göre, 2015-2016 yılı sörveylerinden elde edilen 64 Foc izolatında üç ana virülenslik grubu tespit edilmiş ve bunların 17'si düşük-virülens, 24'ü orta-virülens ve 23'ü yüksek-virülens olarak değerlendirilmiştir. Toplam 40 adet Foc izolat seti ile birlikte konukçu dışı *F. oxysporum* izolatlarının tür içi ve türler arası filogenetik ilişkileri TEF1-alpha, Actin, Beta-tubulin, Calmodulin ve Chitin synthase primerleri ile belirlenmiştir. Bu gen bölgelerine ait sekans verileri üzerinden yapılan analizler sonucunda, Foc izolatları arasında sınırlı genetik varyasyon saptanmış ve *F. oxysporum*'un farklı f. spp. grupları birbirinden ayırt edilememiştir. Dendrogramda Foc izolatları aynı dalda yer alarak monofiletik bir grup oluşturmuştur. Bu çalışma, Türkiye'de biber üretim alanlarında Foc izolatlarının patojenik ve filogenetik analizine yönelik ilk kapsamlı araştırmadır.

Anahtar Kelimeler: Biber, Fusarium solgunluğu, Patojenisite, TEF1-alpha, Actin

PREVALENCE OF FUSARIUM WILT DISEASE AND MOLECULAR CHARACTERIZATION IN THE FIELDS GROWN PEPPER IN THE AEGEAN AND MEDITERRANEAN REGIONS OF TURKEY

Gamze YÜKSEL

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
M. Sc. Thesis, November 2018
Supervisor: Doç. Dr. H. Handan ALTINOK

ABSTRACT

Pathogenic *Fusarium oxysporum* species complex (FOSC) in tomato, pepper and eggplant in the Solanaceae family in the Mediterranean and Aegean regions of Turkey cause significant yield losses. In recent years, Fusarium wilting agent, *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc), in pepper cultivation areas has become widespread. The prevalence of Fusarium wilt disease and the virulence of Foc isolates obtained was determined by carrying out surveys in pepper greenhouses and fields in the Mediterranean and Aegean Region in 2015 and 2016. In both survey years, Fusarium wilt disease was detected with a prevalence of 60% of the fields and 30% of greenhouses. *Fusarium oxysporum* isolates were determined by both morphological and molecular diagnosis. A total of 64 isolates were identified as Foc based on macroscopic and microscopic studies and pathogenicity tests. Tomato and eggplant seedling from the Solanaceae family were used in cross-pathogenicity experiments with the obtained Foc isolates and no-wilting symptoms were recorded. Three main virulence groups were determined in 64 Foc isolates obtained from 2015-2016 surveys according to the percentage of disease severity and 17 isolates were evaluated as low-virulence, 24 were moderate-virulence and 23 were high-virulence. Intraspecies and interspecies phylogenetic relationships of a total of 40 Foc isolates together with non-host *F. oxysporum* isolates in pepper was established by using TEF1-alpha, Actin, Beta-tubulin, Calmodulin and Chitin synthase primers. Different groups of *F. oxysporum* f. spp. could not be distinguished from each other and limited genetic variation among Foc isolates was detected based on the analysis of the sequence data of these gene regions. Foc isolates were located in the same branch and formed a monophyletic group in the dendrogram. This study is the first comprehensive research on the pathogenic and phylogenetic analysis of Foc isolates in pepper cultivation areas of Turkey.

Key words: Pepper, Fusarium wilt, Pathogenicity, TEF 1-alpha, Actin

İÇİNDEKİLER

AKDENİZ VE EGE BÖLGESİ'NDE BİBER YETİŞTİRİCİLİĞİ YAPILAN ALANLARDA FUSARİUM SOLGUNLUK HASTALIĞININ YAYGINLIĞI VE ETMENİN MOLEKÜLER KAREKTERİZASYONU

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI ii
KABUL ONAY iii
ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR iv
ÖZET v
ABSTRACT vi
İÇİNDEKİLER vii
KISALTMALAR VE SİMGELER x
TABLOLAR LİSTESİ xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ xiv
GİRİŞ 1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Biberde Fusarium Solgunluğu (*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*) Hastalığı İle İlgili Genel Bilgiler 5
1.2. Fusarium Solgunluk Hastalığına Yönelik Moleküler Teknikler Hakkında Genel Bilgiler 10
1.3. Literatür Çalışmaları 15
1.3.1. Patojenik *Fusarium oxysporum* Türlerinin Genel Mücadele Yöntemlerine Yönelik Çalışmalar 15
1.3.2. *Fusarium oxysporum* Türlerinin Genetik ve Moleküler Karakterizasyonuna Yönelik Çalışmalar 23

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal 32

2.1.1. Sörvey Alanı 32

2.1.2. Patojenin İzolasyonu, Patojenisite ve Çapraz İnokulasyon Çalışmalarında Kullanılan Materyal 32

2.1.3. PCR Çalışmalarında Kullanılan Materyal 33

2.2. Metod 33

2.2.1. Arazi Çalışmaları 33

2.2.1.1. Biberde Patojenik *Fusarium oxysporum* İzolatlarının Örneklenmesi 33

2.2.2. Patojen İzolasyonu ve Tanısı 35

2.2.3. Patojenisite Çalışmaları 36

2.2.4. Çapraz İnokulasyon Denemeleri 37

2.2.5. Moleküler Çalışmalar 37

2.2.5.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatları Arasındaki Genetik Varyasyonların Marköre Dayalı Analizleri ve Genotipik Verilerin Değerlendirilmesi 38

3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Biber Bitkisinde Solgunluk Hastalığı Sörveyi 40

3.1.1. Biber Bitkisin den İzole Edilen *Fusarium oxysporum* İzolatlarının Patojenisite Denemeleri ve Çapraz İnokulasyonları 46

3.2. Moleküler Çalışmalar 57

3.2.1. Solgunluk ve Kök Boğazı Çürüklüğü Simptomları Gösteren Biber Bitkilerinden İzole Edilen *Fusarium oxysporum*'un Moleküler Tanımlaması 57

3.2.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatları Arasındaki Genetik Varyasyonların Marköre Dayalı Analizleri ve Genotipik Verilerin Değerlendirilmesi 59

3.2.2.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatlarının TEF1-alpha Primeri ile PCR Çalışmaları 61

3.2.2.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatlarının Actin Primeri ile PCR Çalışmaları 64

3.2.2.3. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatlarının Beta-tubulin Primeri ile PCR Çalışmaları 67

3.2.2.4. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatlarının Calmodulin Primeri ile PCR Çalışmaları 71

3.2.2.5. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatlarının Chitin Synthase Primeri ile PCR Çalışmaları 75

4. BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER 81

KAYNAKLAR 84

EKLER… 101

Ek 1. İzolasyon Çalışmalarında Kullanılan FMM Stok Solüsyonu 101

Ek 2. PCR ve Agaroz Jel Elektroforez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar ve Solüsyonlar 102

ÖZGEÇMİŞ 103

KISALTMALAR VE SİMGELER

Sembol	**Anlamı**
°C	: Santigrad (Centigrade)
µg	: Mikrogram (1/1000 mg)
µg/g	: Mikrogram/gram
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
ACT	: Actin
AFLP	: Amplified fragment length polymorphism
ASM	: Acibenzolor-S-Metil
AUDPC	: Hastalık gelişim eğrisi altındaki alan (Area under disease progress curve)
BLAST	: Basic local alignment search tool
bp	: Baz çifti
Bt	: Beta tubulin
CAL	: Calmodulin
CHS	: Chitin synthase
cm	: Santimetre
dH_2O	: Distile su
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EtBr	: Ethidium bromid
f. sp.	: Formae speciales
FMM	: *Fusarium* minimum besi ortamı (*Fusarium* minimal media)
Fo	: *Fusarium oxysporum*
Foc	: *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*
Fol	: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*
FOM	: *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*
Fomg	: *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*

FON : *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

Forl : *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

FOSC : *Fusarium oxysporum* species complex

GPS : Küresel konunlama sistemi (Global positioning system)

gr : Gram

ha : Hektar

HA : Humik asit

HCN : Hidrosiyanik asit

HPLC :Yüksek basınçlı sıvı kromotografi (High pressure liquid chromatographu)

IGS : Intergenerational spacer

IPM : Entegre zararlı yönetimi (Integrated pest management)

ISSR : İnter simple sequence repeat

ITS : Internal transcribed spacer

K : Potasyum

kb : Kilo baz

LS : Lineage specific

M : Molar

mg : Miligram (1/100 gr)

$MgCl_2$: Magnezyum klorür

ml : Mililitre

mM : Milimolar

mm : Milimetre

mtDNA : Mitokondriyal DNA

mtLSU : Mitokondrial büyük altbirim

mtSSU : Mitokondrial küçük altbirim

NaOCl : Sodyum hipoklorit

ng : Nanogram (1/1000 µg)

nm : Nanometre

PbC : *Piper betle* L.

PCN : Phenazine-1 carboxamide

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

PDA : Patates dekstroz agar

PDB : Patates dekstroz broth

PGPR : Bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (Plant growth-promoting rhizobacteria)

pmol : Pikomol

ppm : Milyonda bir (Parts per million)

RAPD : Randomly amplified polymorphic DNA

rDNA : Ribozomal DNA

RFLP : Restriction fragment length polymorphism

RNA : Ribo nükleik asit

SA : Salisilik asit

spp. : Türleri

SRAP : Sequence related amplified polymorphism

SSR : Simple sequence repeats

subsp. : Subspecies

Taq : Termo stabil polimeraz enzimi

TBE : Tris-Borik Asit-EDTA

TEF : Translation elongation factor

UPGMA : Aritmetik ortalamalı ağırlıksız çift grup yöntemi

VCG : Vejetatif uyum grubu (Vegetative compatible groups)

VUG : Vejetatif uyum grubu (Vegetative compatibilty group)

w/v : Ağırlık/Hacim

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Örnekleme yapılan illere ait ekim alanları (dekar) ve üretim değerleri (ton) (TÜİK, 2013). 34

Tablo 2.2. Filogenetik analiz çalışmalarında protein kodlayan gen bölgelerine ait primerlerin baz dizilimleri. 38

Tablo 3.1. Mersin, Antalya, Muğla, Aydın, İzmir ve Manisa illeri ve ilçelerinden biber yetiştiriciliği yapılan seralarda solgunluk simptomu gösteren bitkilerden elde edilen *Fusarium* spp. izolatlarının kodları, sörvey yapılan ilçeler, bu ilçelere bağlı beldeler ve örnek alınan seraların koordinatları (2015 yılı). 42

Tablo 3.2. Adana, Mersin, Hatay, Antalya, Muğla, Aydın, İzmir ve Manisa illeri ve ilçelerinden biber yetiştiriciliği yapılan seralarda solgunluk simptomu gösteren bitkilerden elde edilen *Fusarium* spp. izolatlarının kodları, sörvey yapılan ilçeler, bu ilçelere bağlı beldeler ve örnek alınan seraların koordinatları (2016 yılı). 45

Tablo 3.3. Biber sörveyi yapılan il ve ilçeler, toplam örnek sayıları, izole edilen toplam *Fusarium* spp., *F. oxysporum* izolatı ve patojen izolat sayıları (2015 yılı). 46

Tablo 3.4. Biber sörveyi yapılan il ve ilçeler, toplam örnek sayıları, izole edilen toplam *Fusarium* spp., *F. oxysporum* izolatı ve patojen izolat sayıları (2016 yılı). 49

Tablo 3.5. Biber bitkisinden izole edilen *F. oxysporum* izolatlarının virülenslikleri (2015 yılı). 50

Tablo 3.6. Biber bitkisinden izole edilen *Fusarium oxysporum* izolatlarının virülenslikleri (2016 yılı). 51

Tablo 3.7. Moleküler çalışmalarda yer alan izolatlara ait lokasyonlar ve izolatların kodları. 60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Ülkelere göre biber üretim miktarları (ton)..... 2

Şekil 1.2. *Fusarium oxysporum*'un neden olduğu solgunluk hastalığının döngüsü..... 8

Şekil 1.3. A: Sağlıklı sera (Mersin); B, C: *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc)'in biber bitkisinde meydana getirdiği simptom; D: İletim demetindeki kahverengileşme (solda) ve sağlıklı iletim demeti (sağda).. 9

Şekil 3.1. Biber tarlalarında sörvey çalışmaları (Temmuz 2016). A: Genel tarla görünümü; B: Biberde Fusarium solgunluk hastalık simptomu (Hatay; Kırıkhan); C: Genel bitki simptomu (Mersin; Bozyazı). 41

Şekil 3.2. A: *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc)'in koloni gelişimi (5 nokta ekim); B, C: Biber bitkisinden izole edilen *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*'nin makrokonidi ve mikrokonidileri (C; Slide culture; lactophenol cotton blue); (Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Laboratuvarı, Altınok, 2016). 48

Şekil 3.3. Biber fidelerinde *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* izolatlarının patojenisite denemesi, A: ANLY-26/1 ANSR-40/2 kodlu izolatların virülenslikleri (sağda) kontrol (solda), B: yaprak simptomu (ANSR-39/5 kodlu izolat), C: ANSR-42/1 kodlu izolatın virülenliği (sağda) kontrol (solda), D, E: Patojenisite denemesi (Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü İklim Kontrollü Kabinleri)..... 53

Şekil 3.4. Biber bitkisinden izole edilen *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* izolatlarının çapraz inokulasyon denemeleri nden genel bir görünüm. A, B: "H-2274" domates çeşidi, C: "Kemer" patlıcan çeşidi 54

Şekil 3.5. *Fusarium oxysporum* spesifik primerler kullanılarak elde edilen bant profili. $M_{1:}$ 1 kb DNA markör, $M_{2:}$ 50 bp DNA markör, K: Kontrol Grubu, 1-30 *Fusarium oxysporum* izolatları. 58

Şekil 3.6. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatlarının TEF1-alpha primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü. Markör (M); 100 bp..... 62

Şekil 3.7. Toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) izolatı ve 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatının TEF1-alpha primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda elde edilen sekans verilerinden oluşturulan dendrogram. Fol (07AAK52/15; 07AKK2.2/15-1), Forl (07AAK10/15; 07AAK26/15-a), Fomg (Fomg140; UBR-24). 63

Şekil 3.8. *Fusarium oxysporum* f. sp *capsici* (Foc) izolatlarının Actin primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü. Markör (M); 100 bp. 65

Şekil 3.9. Toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) izolatı ve 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatının Actin primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda elde edilen sekans verilerinden oluşturulan dendrogram. Fol (07AKK3.1/15-1; 07AAK52/15), Forl (07AAK26/15-a; 07AAK10/15), Fomg (Fomg236; Fomg219). 66

Şekil 3.10. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatlarının Beta-tubulin primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü. Markör (M); 100 bp..... 68

Şekil 3.11. Toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) izolatı ve 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatının Beta-tubulin primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda elde edilen sekans verilerinden oluşturulan dendrogram. Fol (07AKK3.1/15-2; 07AAK52/15), Forl (07AAK26/15-a; 07AAK10/15), Fomg (MS-9; ANZ-35)..... 70

Şekil 3.12. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatlarının Calmodulin primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü. Markör (M); 100 bp..... 72

Şekil 3.13. Toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) izolatı ve 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatının Calmodulin primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda elde edilen sekans verilerinden oluşturulan dendrogram. Fol (07AAK3.2/15; 07AAK52/15), Forl (07AAK12/15; 07AAK26/15-a), Fomg (MS-9; ANZ-35)..... 74

Şekil 3.14. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatlarının Chitin Synthase primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü. Markör (M); 100 bp..... 76

Şekil 3.15. Toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Foc) izolatı ve 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatının Chitin Synthase primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda elde edilen sekans verilerinden oluşturulan dendrogram. Fol (07AKK3.2/15; 07AAK52/15), Forl (07AAK3.1/15; 07AAK12/15), Fomg (ANZ-35; MS-9)..... 78

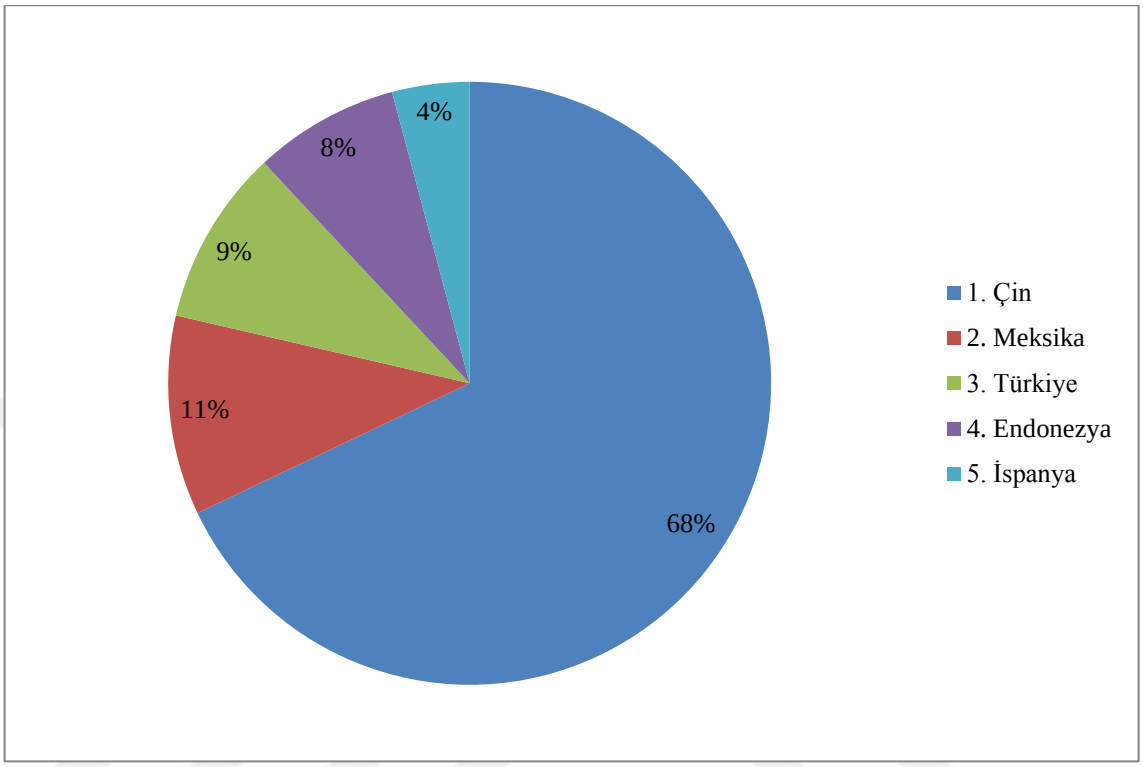
GİRİŞ

Ülkemizde mutfak kültüründe çok fazla kullanılan sebzeler arasında yer almakta olan biber (*Capsicum annuum*), Solanaceae familyasında *Capsicum* cinsi içerisinde yer almaktadır. Tarihi belgeler, eski dünyada kültürü yapılmayan biberin, Amerika'nın 1492 yılında keşfedilmesinden sonra dünyaya yayıldığını göstermektedir (Anonim, 2016a). Onaltıncı yüzyılda Orta Avrupa ülkeleri ve Osmanlı İmparatorluğu arasında ilişkiler sıkılaşmış bunun sonucu olarak da biber İstanbul'a kadar getirilmiş ve buradan da diğer bölgelerimize hızla yayılmıştır (Keleş, 2007; Vural vd., 2000). Solanaceae familyasının *Capsicum* cinsi içerisinde 20-25 tür biber yer almasına rağmen bunlardan günümüzde sadece *Capsicum annuum, C. baccatum, C. chinense, C. frutescens,* ve *C. pubescens* olmak üzere 5 tane kültürü yapılan türleri bulunmaktadır (Bozokalfa ve Eşiyok, 2010).

Ülkemizin tüm bölgelerinde yetiştirilmekte olan biber, ekonomik açıdan büyük öneme sahiptir. Biber bitkisinin yazın açık tarla şartlarında, kışın da örtü altında yetiştiriciliği yapılmaktadır (Anonim, 2016a). Taze-sofralık, salça, turşu, ketçap, pul biber, toz biber olarak gıda sanayisinde önemli bir yere sahiptir (Aybak, 2002). Biberin şiddetli öksürüklere ve ağrılara iyi gelmesi, kanser tedavisinde kullanılması, metobolizma için enerji sağlaması ve sindirime yardımcı olması gibi insan beslenmesinde de önemli bir yeri vardır (Akıncı ve Akıncı, 1999).

Biber, dünyada domates ve hıyardan sonra üretimi en fazla yapılan, antibakteriyel özellik taşıyan önemli sebze türleri arasında yer almaktadır. FAO 2016 yılı verilerine göre dünyada 4,265,483 ha alanda 38,961,880 ton biber üretimi yapılmaktadır. Şekil 1.1'de yüzdelik dağılımları verilen ülkelere bakıldığında, dünya biber üretiminde 817,759 ha alanda 17,799,849 ton üretimle birinci sırada Çin, 205,721 ha alanda 2,802,410 ton üretimle ikinci sırada Meksika, 95,708 ha alanda 2,473,961 ton üretimle

üçüncü sırada Türkiye, 428,302 ha alanda 2,043,765 ton üretimle Endonezya ve 19,167 ha alanda 1,086,659 ton üretimle İspanya bunları takip etmektedir (Anonim, 2016b).



Şekil 1.1. Ülkelere göre biber üretim miktarları (ton) (Anonim, 2016b)

Ülkemizde ise; 967,466 ton sivri, 957,030 ton salçalık ve kapya, 418,435 ton dolmalık ve 114,891 ton çarliston biber olmak üzere toplam 2,457,822 ton biber üretimi yapılmaktadır (Anonim, 2016c). Dünyada ve ülkemizde, üretim ve tüketim bakımından önemli bir yeri olan biberin, yetiştiriciliği sırasında hastalık ve zararlılar önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Her yıl biber yetiştiriciliğinde üretimi engelleyen ve önemli boyutta ürün kayıplarına neden olan abiyotik (sıcaklık, ışık, su, pH, toprak ve mineraller) ve biyotik etmenler bulunmaktadır (Anonim, 2018). Ürün kayıplarına neden olan ve üretimi tehdit eden bazı biyotik etmenler nematodlar, bakteriler, virüsler, böcekler, akarlar ve funguslardır (Agrios, 1988; Jones *et al*., 1991).

Dünya'da bitkisel üretimde fungal hastalıklar, her yıl ortalama %14 civarında verim kaybına neden olmaktadır (Gazozcuzade, 2010). Dünya genelinde biber yetiştiriciliğinde görülen genel hastalıklardan bazıları; biber kök boğazı yanıklığı (*Phytophthora capsici*), bakteriyel kanser ve solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*), bakteriyel leke (*Xanthomonas* spp.), biber bakteriyel solgunluğu

(*Ralstonia solanacearum*), çökerten hastalığı (*Phythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp.), cercospora yaprak lekesi (*Cercospora capsici*), kömür (charcoal) çürüklüklüğü (*Macrophomina phaseolina*), verticillium solgunluğu (*Verticillium albo-atrum, Verticillium dahliae*), beyaz çürüklük (*Sclerotinia sclerotium*) ve kurşuni küf (*Botrytis cinerea*)'dür (Pernezny, 2003: 5, 22). Son yıllarda biberde Fusarium kök ve kök boğazı hastalığı da bazı ülkelerden rapor edilmektedir (Cerkauskas, 2017).

Ülkemiz ekonomisinin vazgeçilmez ürünlerinden biri olan biber üretiminde verim kaybına neden olan hastalık etmenleri arasında fungal hastalık etmenleri büyük önem taşımaktadır. Fungal hastalık etmenleri içerisinde *Fusarium oxysporum* (Schlect.) emend. Synd. and Hans. f. sp. *capsici* Riv. (Foc) tarafından neden olunan Fusarium solgunluk hastalığının üretici şikayetlerinden ve arazi gözlemlerimizden giderek yaygınlaştığı görülmektedir. *F. oxysporum* türleri birçok konukçu bitkide solgunluk, kök ve kök boğazı çürüklüğü olarak simptom göstermekte ve toprakta uzun süre klamidospor formunda canlılığını sürdürmektedir. Toprak kökenli bu fungal etmen tohumla da yayılmakta olup, bu durum kontrolünde bazı zorlukları beraberinde getirmektedir. Hastalığa karşı dayanıklı çeşit henüz bildirilmemiştir. Mücadele yöntemlerinde bazı fungusitler, ekim nöbeti, fazla sulamadan kaçınmak, solarizasyon yöntemleri, ürün rotasyonu ve toprak sterilantları kullanılmaktadır. *F. oxysporum*'un hava yoluyla dağılan sporlarının uygun şartlarda sera toprağında tekrar kolonize olabilmesinden dolayı, toprak sterilantları beklenen başarıyı göstermemektedir (Yücel, 1994).

Toprak kaynaklı patojenlerle mücadele de etkili olan toprak fumigantı Methyl Bromide'nin uygulamadan kaldırılmasıyla alternatif mücadele yöntemlerine gerek duyulmaktadır (Katan, 1980). Gelişmiş olan ülkelerde son yıllarda kimyasal mücadelenin neden olduğu olumsuz durumları yok edebilmek için, biyolojik mücadele etmenlerinin bitki kök bölgesine kolonize olmaları teşvik edilerek savunma oluşturulup bitkilerde hastalık oluşumunun engellenebilmesi sağlanmaktadır (Cook, 1993; Benitez *et al*., 2004). Fusarium solgunluğunun gelişimini sınırlayarak bitki kök yüzeylerine kolonize olan, antagonistik etki gösteren bazı bakteri türleri birçok araştırıcı tarafından potansiyel biyolojik mücadele etmeni olarak rapor edilmiştir. Bu biyolojik mücadele ajanları *Bacillus subtilis, Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. ve *Pseudomonas* spp.'dir. (Thirumalachar *et al*., 1970; Turhan, 1981; Podile *et al*., 1985; Kapoor ve Kar, 1988;

El-Abyad *et al*., 1993; Nejad ve Johnson, 2000; Altınok *et al*., 2013b). Toprak kaynaklı olan bitki patojeni funguslarla uzun süreli ve etkili bir mücadelenin kültürel, fiziksel, biyolojik ve kimyasal yöntemlerin bir araya gelmesiyle başarılı olunacağı bilinmektedir (Katan *et al*., 1976; Chet *et al*., 1982; Parry, 1990). Yabancı otlar, birçok bitki patojeni için potansiyel konukçu olarak görev yapmaktadır ve bazı patojenler tarafından kolonize olduklarında herhangi bir hastalık simptomu sergilememektedir. *F. oxysporum*'ların patojenik türlerinin konukçu dışı bitkilerde özellikle yabancı otlarda kök kolonizasyonunun patojenin kalıcılığını sağladığı ve nadas alanları da dahil bu gibi alanlarda solgunluk hastalığı ile mücadelede yabancı ot mücadelesinin de önemli olduğu görülmektedir (Hennessey *et al*., 2005; Altınok, 2013).

Etmenin mücadelesine yönelik olarak etkili yöntemler geliştirmek için patojen popülasyonlarının kapsamlı olarak karakterize edilmesi gerekmektedir. Bitki patojeni fungusların klasik tanısı büyüme ortamları üzerindeki kültür karakteristiklerine ve konukçu üzerinde verdiği simptomlara göre yapılmaktadır. Bununla birlikte morfolojik kriterler gibi dış görünüşe göre yapılan fungal teşhisler her zaman doğru sonuçlar vermemekte ve hatalı teşhislere neden olabilmektedir (Baayen *et al*., 2000). Morfolojik karakterler ve klasik yöntemlerle yapılan teşhislere göre moleküler yöntemlerin kullanımı daha güvenilir ve hızlı sonuçlar vermektedir. Son zamanlarda ülkemizde moleküler karakterizasyon tekniklerinin kullanıldığı bilimsel araştırmalar hız kazanmıştır. Türkiye'de yapılan araştırmalarda en fazla kullanılan moleküler karakterizasyon tekniklerinin başında tanı primerleri, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ve 16S rDNA (ribozomal DNA) dizilim analizi gelmektedir. Bunlara her geçen gün yeni bir moleküler teknik çalışma eklenmektedir (Çetinkaya ve Ayhan, 2012).

Bu tez kapsamında, 2015 ve 2016 yıllarında Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde biberde sörvey çalışmaları yapılarak, Fusarium solgunluk hastalık etmeni *F. oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc)'nin yaygınlık durumu ve elde edilen Foc izolatlarının virülenslikleri belirlenmiştir. Biber Foc izolatlarının, Translation elongation factor (TEF), Actin, Beta-tubulin, Calmodulin, Chitin synthase primerleri ile tür içi ve türler arası genetik varyasyonuna yönelik filogenetik ilişkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışma, ülkemizde Foc etmeninin patojenik ve moleküler karakterizasyonuna yönelik ilk kapsamlı araştırmadır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Biberde Fusarium Solgunluğu (*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*) Hastalığı İle İlgili Genel Bilgiler

Fusarium oxysporum (Schlect.) emend. Synd. and Hans. f. sp. *capsici* Riv. (Foc) tarafından neden olunan Fusarium solgunluk hastalığı ilk kez; New Meksika'da rapor edilmiştir (Leonian, 1919). Daha sonra, Avery Adası (Iberia, Louisiana) (Black ve Rivelli, 1990), Java adası (Endonezya) (Agrios, 2005; Ferniah *et al*., 2014), Mısır (Abada ve Ahmed, 2014), Pakistan (Bashir *et al*., 2018) ve Meksika'da (Velarde-Félix *et al*., 2018) rapor edilmiştir. Son birkaç çalışmada biberde kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olan *F. oxysporum* türleri rapor edilmiştir (Pérez-Hernández *et al*., 2014; Cerkauskas, 2017). Ayrıca son zamanlarda *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *F. oxysporum* ve *F. solani* sonucunda oluşan solgunluk ve kök çürüklüğü hastalıklarının da Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Çukurova'da ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde biber alanlarında görüldüğü bildirilmiştir (Yücel *et al*., 2013; Güler Güney ve Güldür, 2018).

Toprak kökenli patojenler bitkilerin köklerinde, kök boğazlarında ve gövdenin alt kısımlarında kolonize olarak buradaki dokuların bozulup çürümelerine ve iletim demetlerini tıkayarak bitkide genel bir solgunluğa neden olurlar. Önemli hastalık grupları içerisinde yer alan fungusların hücre yapıları, bitkilerin hücre yapıları ile benzerlik göstermektedir. Funguslar klorofil içermezler, spor oluşturabilen, eşeyli ve eşeysiz çoğalabilen, hücrelerinde çekirdek bulunan, hücre zarında kitin ve selüloz bulunan organizmalardır. Bitki patojeni olan fungusların çoğalmaları sonucu oluşan sporları, hastalıkların çevreye dağılmalarında önemli bir rolü vardır. Fungal etmenlerin bitkinin dokusuna penetrasyonundan hemen sonra bitki dokularında oluşan bazı

değişikliklerin yanı sıra fizyolojik değişiklikler de görülmektedir. Enfeksiyonun ardından belli bir süre sonra bitkide gözle görülecek boyutta bazı değişiklikler meydana gelmekte ve bu hastalık belirtilerine de "simptom" adı verilmektedir. Fungal etmen, enfekte ettiği bitkiye göre farklı simptomlar sergileyebilmektedir. Örneğin; *F. oxysporum* ile enfekteli çeşitli bitkilerde solgunluk simptomları gözlemlenmektedir (Yeğen, 1987).

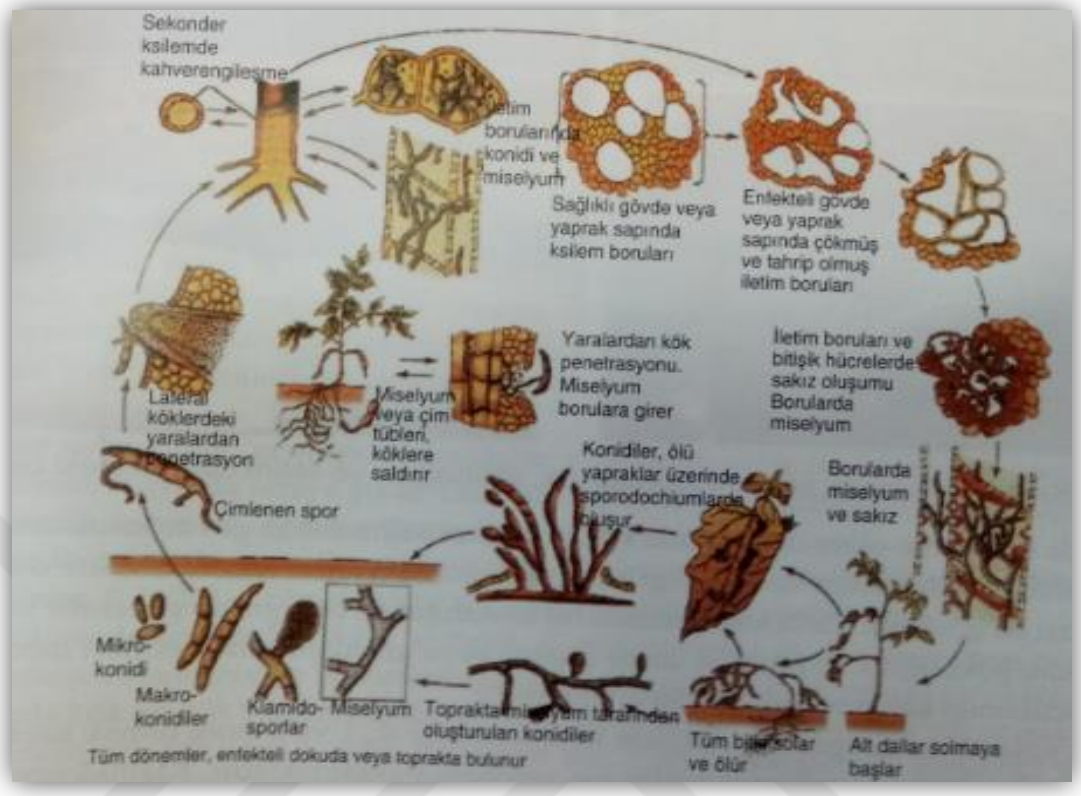
Fusarium cinsine bağlı funguslar, Ascomycota şubesi, Pyrenomycetes alt sınıfı, Hypocreales takımında yer almaktadır (Booth, 1971; Nelson *et al*., 1983; Alexopoulos *et al*., 1996; Agrios, 1997; Summerel *et al*., 2001). *Fusarium* türleri doğada çok yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Ürettikleri dayanıklı sporları sayesinde toprakta uzun yıllar canlılığını sürdürebilmektedirler (Özer ve Soran, 1991). *F. oxysporum* tür kompleksi (FOSC; *F. oxysporum* species complex), solgunluk ve kök çürüklüğüne neden olan en yaygın fitopatojenik türleri içermektedir. Bu türler domates, patates, patlıcan, hıyar ve karabiber gibi yetiştiriciliği yapılan birçok bitki türünde iletim demetlerinde solgunluklara neden olmaktadır. FOSC, morfolojik olarak ayırt edilemeyen patojen olmayan ve konukçuya özgü patojenlerden oluşmaktadır (Booth, 1971; Gordon ve Martyn, 1997). *F. oxysporum*'un patojenik izolatları genellikle tek bir konukçu veya konukçu grubu üzerindeki virülensliğine bağlı olarak yüksek derecede spesifik konukçu dizisine sahiptir ve buna bağlı olarak da formae spesiyalleri (f. spp.) olarak sınıflandırılmıştır. Fusarium solgunluğunun kontrolü zordur çünkü bu türlerin klamidosporları uygun koşullar oluşana kadar toprakta çok uzun süre dormant halde kalabilir (Nelson *et al*., 1983). FOSC'ın geleneksel yöntemlerle kontrolü çoğu zaman yetersiz kalmaktadır. Topraktaki patojenlerin varlığı ve yaşayabilirliği büyük ölçüde uygun bir konukçuda hayatta kalma yeteneklerine bağlıdır. Kültür bitkilerinin yanı sıra yabani bitkiler ve yabancı otlar da, *Fusarium* spp.'nin alternatif konukçularıdır ve *Fusarium* spp.'nin simptomsuz taşıyıcıları olduğu gösterilmiştir. (Katan, 1971; Postic *et al.,* 2012; Altınok, 2013). Bitki artıkları da bitki patojenleri için bir barınak görevi görebilir (Postic *et al.,* 2012).

F. oxysporum topraktan izole edilen en yaygın türlerdendir (Kurt, 2012: 139). Yaygın toprak habitatları olan *F. oxysporum*'lar, topraktaki lignin ve karbonhidratı parçalayarak saprofit olarak yaşama yeteneğine sahiptirler (Kistler, 2001: 70, 82). *F. oxysporum* Patates Dekstroz Agar (PDA) gibi sentetik besi ortamında çoğaltılabilir. Genellikle,

miselleri önce beyaz görünür, daha sonra *F. oxysporum*'un ırkına ya da türüne göre mordan koyu pembeye değişen renge dönüşebilirler. Eğer sporlar çok yoğun bir şekilde bulunuyorsa kültür krem ya da turuncu renginde görünebilir (Gonsalves *et al*., 1993).

F. oxysporum mikrokonidi, makrokonidi ve klamidospor olmak üzere üç çeşit aseksüel spor oluşturur. Mikrokonidiler bir ya da iki hücreli olup fungusun bütün koşullar altında en çok ürettiği spor tipidir. Makrokonidiler ise 3 veya 5 hücreli olup şekil olarak eğik ve uca doğru sivrilen bir yapıya sahiptir. Bu sporlar yaygın olarak bu patojen tarafından öldürülmüş bitkilerin yüzeyinde bulunmaktadırlar. Klamidosporlar ise bir ya da iki hücreli olup yuvarlak ve kalın duvarlıdır (Agrios, 1988: 803).

Etmenin klamidosporları oldukça dayanıklıdır ve bitki artıkları üzerinde ve toprakta çok uzun süre canlılığını koruyabilir. Sağlıklı bitkilere inokulasyon, hastalıklı bitkilerin üzerinde oluşan mikrokonidiler veya topraktaki klamidosporlar tarafından olur. Toprakta 80 cm gibi çok derinlere koloniler oluşturabilirler. Fungus, tohum, toprak, yetiştirme ortamı, fide, sulama suyu, tarımsal alet ve makineler, bitkisel artıklar ve böcekler gibi birçok vektör tarafından taşınabilir. Etmen sıcak aylarda oldukça tehlikeli olup gelişmesi için optimum sıcaklığı 28°C'dir. Bitkiler özellikle azot, fosfor ve kalsiyum gibi besin elementi noksanlıklarında ve ışığın az olduğu kısa günlerde hastalığa daha duyarlı hale gelirler (Blancard, 1994). Mikrokonidilerin hava yoluyla yayılabilmesi özelliğinden dolayı patojenin yayılmasını engellemek oldukça güçtür (Rowe ve Farley, 1977). *Fusarium oxysporum*'un neden olduğu solgunluk hastalığının döngüsü Şekil 1.2'de verilmiştir.



Şekil 1.2. *Fusarium oxysporum*'un neden olduğu solgunluk hastalığının döngüsü (Agrios, 2005; Kurt, 2012).

Yaptığımız arazi çalışmalarına göre biberde Fusarium solgunluk hastalığının "*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc)" son yıllarda ülkemizde biber alanlarında giderek yaygınlaştığı görülmektedir.

Hastalık etmeni, bitkide yaprak damarlarının açılması, bitkilerin bodurlaşması, alt yapraklarının sararması şeklinde simptomlar gösterir. Hastalık, fide zamanında solgunluk olarak kendini gösterir ve fide ölümlerine kadar devam edebilir (Kırbağ ve Turan, 2006). Fusarium solgunluk etmeni bitkiye genç köklerden girer, makro ve mikrokonidileriyle iletim demetlerini tıkayarak su ve besin elementi taşınmasını engeller (Altınok, 2005). Enfekteli bitkinin toprak yüzeyine yakın gövdesinden enine kesit alındığında, iletim demetlerinin kahverengileştiği görülür. Bitkide solgunluk alt yapraklardan başlayıp üst yapraklara doğru ilerler, alt yapraklarda dökülmeler görülür, çok şiddetli simptomlarda bitkinin yaprakları tamamen sararıp, solar ve bitki tamamen kuruyabilir, köklerde yumuşama olur ve suyla ıslanmış gibi bir görünüm alır. Bitkiler tam büyüklüğüne ulaştığı zaman ölümler meydana gelirse, meyveler kurtarılabilir fakat meyveler küçük olduğu zaman buruşur ve dökülür. Fusarium solgunluk hastalığının

biber bitkisinde meydana getirdiği simptom, sağlıklı biber bitkileri ve iletim demeti simptomları Şekil 1.3'de verilmiştir.



Şekil 1.3. A: Sağlıklı sera (Mersin); B, C: *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc)'in biber bitkisinde meydana getirdiği simptom; D: İletim demetindeki kahverengileşme (solda) ve sağlıklı iletim demeti (sağda).

Hastalıkla mücadelede farklı yöntemlerin kullanıldığı pek çok çalışma yapılmıştır (Omar *et al*., 2006). Bu hastalığın kontrolünde, sertifikalı tohum kullanımı, tolerant çeşit kullanımı, uygun sulama ve gübreleme tercihi, yabancı ot kontrolü, 2-5 yıllık ekim nöbeti, bitki artıklarının imha edilmesi, toprak fumigasyonu ve solarizasyon gibi kültürel önlemler, kontrolünün zor olduğu bilinen toprak kökenli bu hastalık için etkin yaklaşımlar arasında sıralanabilir (Elmer ve Ferrandino, 1993; Yücel, 1994; Altınok vd.,

2012b). Toprak fumigasyonunun, ekonomik olmayışı ve topraktaki yararlı mikroflorayı olumsuz etkilemesinden dolayı kullanımı sınırlıdır. Solarizasyon uygulamasının toprak kökenli patojenlerle mücadelede etkin olduğu bilinmektedir fakat büyük yetiştirme alanlarında uygulama olarak pratikte mümkün olamamaktadır (Altınok vd., 2012b).

Bitki hastalık etmenleriyle mücadelede klasik bir yöntem haline gelen pestisit kullanımının, özellikle toprak kökenli patojenlere kullanılmasında karşılaşılan çevresel, ekonomik ve teknik zorluklar nedeniyle hastalık kontrolünde istenilen başarı elde edilememiştir. Kimyasalların uzun süreli kullanılmaları, pestisitlere karşı zararlı ve patojenlerin direnç kazanmasıyla kontrol altına alınmaları oldukça zor bir hal almıştır. Pestisit kullanımının doğal yaşam ve genel olarak ekolojik dengeyi olumsuz bir şekilde etkilediği fark edilmiş ve tüketicilerin de insanların besin kaynaklarındaki pestisit kalıntısının olası tehlikeleri konusunda kaygıları artmıştır. Kimyasal mücadelede söz konusu olan bu tehlikeli sonuçlardan dolayı araştırıcılar biyolojik dengeyi korumak adına kimyasal mücadeleye alternatif olabilecek araştırmalara yönelmiştir (Yücel, 1989). Özellikle ozon tabakasını inceltici ve sudaki brom kalıntısı nedeniyle etkili bir fumigant olan Methyl Bromid'in ABD'de ve ülkemizde yasaklanması kimyasal mücadelenin tehlikeli sonuçlarını gösteren tipik bir örnektir (Hoffman ve Malkomes, 1974; Garibaldi, 1995).

Gelişmiş olan ülkelerde son yıllarda kimyasal mücadelenin neden olduğu olumsuz durumları yok edebilmek için, biyolojik mücadele etmenlerinin bitki kök bölgesine kolonize olmaları teşvik edilerek savunma oluşturulup bitkilerde hastalık oluşumunun engellenebilmesi sağlanmaktadır (Cook, 1993; Benitez *et al*., 2004). Biyolojik mücadele çevre dostu ve etkili alternatif yöntemlerdir. Rizosferik ve endofitik mikroorganizmaların kullanımı *F. oxysporum* ile rekabete girmeleri nedeniyle etkili yöntemlerdir. *Bacillus* spp. ve *Pseudomonas* spp. gibi bitki gelişimini teşvik eden kök bakterileri *Fusarium*'un inhibe edilmesini sağlamaktadır (Ajilogba *et al*., 2013).

1.2. Fusarium Solgunluk Hastalığına Yönelik Moleküler Teknikler Hakkında Genel Bilgiler

Geniş bir konukçu dağılımı gösteren *Fusarium oxysporum*, toprak kökenli bitki patojenlerini içerisinde bulunduran önemli bir gruptur. Eşeyli dönemi bulunmayan bu türlerin patojenik formları konukçuya özelleşmiştir. Enfekte ettiği bitki türlerine göre

formae speciales (f. sp.) grupları bulundurur. Fungal patojenler milyonlarca yıldır bitkilerle etkileşim halindedir. Bitki-fungal patojen etkileşimleri 4 farklı şekilde gerçekleşmektedir. Bunlar "komensalizm", "endofitizm", "simbiyosis" ve "parazitizm"dir. Parazitizm koşullarında, bitki ve mikroorganizma birbirleri ile yarışma halindedir ve bu durum evrim süresince ırklaşmaya neden olmaktadır (Stahl ve Bishop, 2000; Maor ve Shirasu, 2005). Fungal patojen genleri, konukçuda sporların tutunması, çimlenmesi, enfeksiyonu ve kolonizasyonu gibi olayların oluşumunu içerir. Bu genler enfeksiyon yapısının formasyonu, hücre duvarı parçalanması, toksin biyosentezi ve sinyal iletimi gibi konularda kategorilere ayrılmaktadır (Idnurm ve Howlett, 2001). Bazı patojenisite genleri konukçu savunma mekanizmasını yok eden veya baskı altına alan proteinleri kodlayan genlerden oluşmaktadır (Chi *et al*., 2009). Bitki patojeni fungusların klasik tanısı büyüme ortamları üzerindeki kültür karakteristiklerine ve konukçu üzerinde verdiği simptomlara göre yapılmaktadır. Bununla birlikte morfolojik kriterler gibi dış görünüşe göre yapılan fungal teşhisler her zaman doğru sonuçlar vermemekte ve hatalı teşhislere neden olabilmektedir. Patojen popülasyonlarındaki genetik varyasyon en güvenilir olarak DNA polimorfizmi ile karakterize edilebilmektedir. Farklı ürün bitkilerinde patojenik olan *F. oxysporum*'ların formae speciales tanımlanması genelde konukçu üzerindeki simptomlara bağlı olarak yapılmaktadır (Baayen *et al*., 2000). Ancak formae speciales'lerin toprak ve rizosferdeki patojenik olmayan formlar ile birlikte bulunması problemli bir durum oluşturmakta ve bu duruma bağlı olarak, geleneksel klasik tanı yaklaşımları da uzun zaman almaktadır (Edel *et al*., 2000). Farklı coğrafi bölgeleri içeren toprak kökenli patojen fungusların popülasyonlarındaki genetik çeşitliliği belirlemede kullanılan yöntemlerden birisi olan vejetatif uyum grubu (VCG; Vegetative Compatible Groups) çalışmalarıdır. Aynı konukçudan izole edilen *F. oxysporum* izolatlarının patojen olan ve olmayanlarını VCG analizi ile birbirinden ayırmak, patojen ırklarla ilişkisini belirlemek amacıyla da kullanılmaktadır (Jacobson ve Gordon, 1988; Elias *et al*., 1993).

Diğer yandan, bu metodlarla tanımlama işlemlerinde laboratuvar işçiliğinin fazla olması ve iyi bir taksonomik bilgi birikiminin gerekli olması gibi bazı dezavantajlar bulunmaktadır. Bu nedenlerle morfolojik karakterler ve klasik yöntemlerle yapılan teşhislere karşı moleküler yöntemler daha hızlı ve güvenilir sonuçlar sunmaktadır. *F. oxysporum* formae speciales grupları arasındaki farklılıklar, patojenisite testleri,

vejetatif uyum grupları (VCG; Vegetative Compatible Groups), kromozom analizleri, rDNA, mtDNA, ve diğer moleküler markörlerle araştırılmıştır (Puhalla, 1985; Jacobson ve Gordon, 1990; O'Donnell *et al*., 1998; Katan, 1999; Alves-Santos *et al*., 1999; Kawabe *et al*., 2005; Altınok *et al*., 2013a). Son yıllardaki filogenetik araştırmalarda protein kodlayan genler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu genler oldukça değişken intron bölgeler içerir ve durum tür içi varyasyonların belirlenmesi türlerin tanılanmasında bu genleri ilgi çekici hale getirmektedir. Fungal tanı ve filogenetik çalışmalarda, nüklear ve ribozomal rDNA (18S, 28S, ITS, IGS, mtSSU, mtLSU), RNA polimeraz (RPB1 ve RPB2), Beta-tubulin, actin, calmodulin, translasyon uzama faktörü (EF1, TEF1), chitin synthase (CHS) gibi protein kodlayan lokuslar yaygın olarak kullanılmaktadır (Schmitt *et al*., 2009; Wang *et al*., 2011; O'Donnell *et al*., 2012; Dubey *et al*., 2014). Bu primerler, 700 bp'lik bir intronun bir bölgesini temsil etmekte ve *Fusarium* türlerinde üç bölgede bulunmaktadır. Bu protein kodlayan genlerdeki sekans farklılıkları üzerinden tür içi ve türler arası filogenetik ilişkiler değerlendirilmektedir. Bu genin tek kopyaları *Fusarium* cinsinde bulunur ve nispeten yakın olan türlerdeki Calmodulin, Beta-tubulin ve histon H3 gibi protein kodlayıcı genlerle karşılaştırıldığında bile yüksek seviyede sekans polimorfizmi göstermektedir (Geiser *et al*., 2004). Bu protein kodlayan gen bölgeleri, ITS (Internal Transcribed Spacer) bölgesine göre tür içi/türler arasında daha fazla değişkenlik gösterdiği için türlerin tanısında daha kullanışlı olmaktadır. Nükleer gen sekanslarından Beta-tubulin, Calmodulin ve EF-1α (Translasyon Uzama Faktörü) gibi çeşitli moleküler markörlerin, *Fusarium* gibi mikroorganizmaların çeşitliliğini ve tür düzeyindeki sınıflandırılmalarını taksonomik olarak ölçme ve değerlendirmede başarılı oldukları bilinmektedir (Darvishnia, 2013). TEF geni yüksek filogenetik uygulamaya sahip kodlamanın önemli bir kısmına translate olan bir protein olarak *Fusarium* türlerinin yüksek seviyesini göstermektedir (O'Donnell *et al*., 1998; Geiser *et al*., 2004). ITS bölgesi günümüzde fungal türler arasındaki genetik farklılığı en iyi ortaya koyabilen barkod gen bölgesidir. PCR temelli teknikler sayesinde fungusun izolasyonuna ihtiyaç duyulmadan konukçu bitkilerdeki çok sayıda fitopatojenik fungal türün belirlenmesi mümkün hale gelmiştir (Maukhamedov *et al*., 1994).

Türkiye'de yapılan araştırmalarda en fazla kullanılan moleküler karakterizasyon tekniklerinin başında tanı primerleri, PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ve 16S

rDNA(rekombinant DNA) dizilim analizi gelmektedir. Bunlara her geçen gün yeni bir moleküler teknik çalışma eklenmektedir (Çetinkaya ve Ayhan, 2012). PCR *in vitro*'da spesifik bir DNA parçası kopyalarının, oligonükleotid primerlerle enzimatik olarak çoğaltılmasını sağlayan bir işlemdir (Arda, 1995; Kayrın vd., 2003). Moleküler metodlarda ağırlıklı olarak kullanılmakta olan molekül DNA'dır (Taylor *et al*., 2000).

PCR temelli yöntemler duyarlılık ve özgünlüğünden dolayı, fungusların teşhisinde kullanışlı olmakla birlikte fungal suşların, türlerin yada üst takson gruplarının belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (Dieffenbach *et al*., 1993). Bu teknikler arasında, DNA hibridizasyonuna dayalı RFLP (restriction fragment length polymorphism), SSR (simple sequence repeats), ISSR (inter simple sequence repeat), RAPD (randomly amplified polymorphic DNA), AFLP (amplified fragment length polymorphism) ve SRAP (sequence related amplified polymorphism) sıralanabilir (Hernandez, 2004: 49, 51; Gülşen ve Mutlu, 2005).

Southern blotting olarak da bilinen RFLP markörü, hibridizasyona dayalı ko-dominant bir markör sistemidir (Sambrook *et al*., 1989). Hücrelerden izole edilen genomik DNA'nın, belirli bir yerinden nükleik asit dizilişlerini tanıyan DNA kesim enzimlerince spesifik olarak kesilmesi ve prob DNA'nın melezlendiği DNA etrafındaki farklı kesim yapılarının bulunması temeline dayanır (Yorgancılar vd., 2015). Türler arası farklılıkları kolay bir şekilde belirleyebilmesi ve aynı tür içerisinde etkili olmasıyla avantaj sağlarken, fazla miktarda DNA'ya ihtiyaç olması, pahalı olması fazla iş gücü ve zamana ihtiyaç duyulması olumsuz özelliklerindendir (Aka ve Kaçar, 2001).

Mikrosatellit DNA dizinleri, ökaryatik genomlar için mükemmel bir polimorfizm kaynağıdır. SSR çeşit tayininde, polimorfizm seviyesi düşük olan türlerde genetik çeşitliliğin araştırılmasında ve genetik haritaların oluşturulmasında etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Staub *et al*., 1996). Kodominant kalıtım özelliği SSR markörleri için avantaj sağlarken; uzun zaman alması ve pahalı olması, çok fazla miktarda iş gücü ve emek gerektirmesi yanında yeni markörlerin geliştirilmesinin güçlüğü en önemli dezavantajları arasında yer almaktadır (Li ve Quiros, 2001; Büyükünal Bal, 2001).

RAPD tekniği, DNA dizisinin bilinmesine gerek olmamasından dolayı avantajlıdır. Bu sebeple herhangi bir rastgele primer herhangi bir fungal DNA bölgesini amplifiye etmek için kullanılabilir. RAPD tekniği, türler arası ve türler içi seviyede başarıyla

kullanılmıştır (Müler *et al*., 2005). 10 nükleotid uzunluğunda olan başlatıcı DNA'lar (primer) kullanılarak genom üzerindeki rastgele DNA bölgelerinin çoğaltılması esasına dayalı bir teknik olup, sadece bir tip primer kullanılır. Kullanılan bu primer, her iki DNA ipliğinde de 5′→3′ yönünde çalışır. Bu nedenle kullanılan primerin yapışabildiği DNA üzerinde birbirine yakın iki bölgenin amplifikasyonu yapılır. (Yorgancılar vd., 2015). RAPD tekniği Williams *et al*. (1990) tarafından geliştirilmiştir. Kolay uygulanabilir ve düşük maliyetli oluşundan ziyade, dominant kalıtım özelliği ve tekrarlanabilirliğinin zor oluşu gibi dezavantajları vardır (Hashizume *et al*., 1996; Lee *et al*., 1996; Hawkins *et al*., 2001; Solmaz vd., 2010).

AFLP, tekrarlanabilirliğinin yüksek olması nedeniyle çok fazla uygulama alanı bulmuştur (Vos *et al*., 1995). Bu teknik, türler arası ve türler içi genetik varyasyonun belirlenmesinde kullanılmaktadır (Bridge *et al*., 1998). Bu teknikte genomik DNA önce birisi altı, diğeri dört taban tanıyabilen iki kesim enzimi tarafından kesilmektedir. Kesilen parçaların uçlarına nükleotid dizilişi sentetik olan DNA'lar eklenir. Eklenen sentetik DNA'nın nükleotid dizilişini de taşıyan başlatıcı DNA'lar (primerler) kullanımıyla nispeten spesifik DNA çoğaltımı yapılır. Çoğaltma işlemi iki aşamada gerçekleştirilir. Birinci aşamada, her iki uçtan da DNA kesim enzimlerinin tanıdığı diziden sonraki ilk nükleotide göre seçici çoğaltımın yapıldığı ön üretim yapılır. Esas üretimde ön üretimde elde edilen parçaların kullanımıyla kesim enzimi tanıma yerinden sonraki ikinci ve üçüncü nükleotidler için seçici üretim yapılır. Bütün başlatıcılar sentetik uçların nükleotid dizilişini de taşıdığından dolayı üretim oldukça spesifik koşullarda gerçekleştirilmiş olur (Yorgancılar vd., 2015). Polimorfizm oranı çok yüksek olan bu markör tekniği, kuruluş aşamasında maliyeti oldukça fazladır. Bu markör tekniğinin en önemli dezavantajı, sistemin optimizasyonunun zor olmasıdır (Li ve Quiros, 2001).

Güvenilir, uygulaması kolay ve etkinliği iyi olan SRAP, Li ve Quiros (2001) tarafından geliştirilmiştir. PCR tekniğine dayalı olan yeni bir markör sistemidir. Genomda kodlanan sekansları hedef alan ve ortalama sayıda ko-dominant markörler meydana getiren SRAP tekniği, iki primer amplifikasyonuna dayanmaktadır. Primerler 17-18 nükleotitten oluşmakta ve bunlardan biri forward (ileri), diğeri ise reverse (ters) primer olarak adlandırılmaktadır. Forward ve reverse primerlerde 13-14 nükleotitten oluşan bir çekirdek sekans kısmı bulunmaktadır. Spesifik bir yapısı olmayan 10-11 bazlık dizinin

ardından forward primerde CCGG, reverse primerde ise AATT dizini gelmektedir. Bu kısımdan sonra 3 seçici nükleotitten meydana gelen bölüm bulunmaktadır. RAPD markörlerine kıyasla tutarlı sonuçlar veren, AFLP markörlerine göre kıyasla daha ucuz ve az işçilik gerektiren bir markör tekniği olan SRAP; genetik haritaların meydana getirilmesi, genomik DNA ve cDNA parmak izinin çıkarılması, gen etiketlenmesi ve haritaya dayalı klonlama gibi birçok farklı alana hizmet edebilmektedir (Li ve Quiros, 2001).

1.3. Literatür Çalışmaları

1.3.1. Patojenik *Fusarium oxysporum* Türlerinin Genel Mücadele Yöntemlerine Yönelik Çalışmalar

Mandeel ve Baker (1991), hıyarda Fusarium solgunluğuna neden olan *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*'a karşı biyolojik mücadele çalışmaları yürütmüştür. Patojen olmayan iki *Fusarium* türü (C5 ve C14*) F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*'a karşı kullanılmıştır. C14'ün C5'e göre *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*'a karşı daha etkili olduğu belirtilmiştir. Bu türlerin, hıyarların kök çevresinde *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*'un klamidospor çimlenmesini engellediği bildirilmiştir. C14 konukçu bitkinin köklerine uyarılmış sistemik dayanıklılık için yara açılarak ya da açılmadan, C5'in ise sadece yara açılmış köklerden giriş yaparak dayanıklılık sağlayabildiği bildirilmiştir. Biyokontrol ajanlarının bitkiye giriş yaptıktan 72-96 saat sonra patojenin çimlenmesini engellediği rapor edilmiştir.

Cohen *et al*. (1992), tarafından yapılan bir çalışmada chloroacetamid grubu herbisitlerin kavun ve domateste görülen Fusarium solgunluk hastalıklarına karşı etkileri araştırılmıştır. Bu herbisitlerden özellikle acetochlorun 0,1µg/g dozda toprağa uygulanmasıyla Fusarium solgunluk çıkışını %79'a varan oranda azalttığını saptamışlardır. Bu çalışmada ayrıca herbisitlerin toprağa karıştırılarak uygulandığı denemelerde gözlenen hastalık azalışının, yaprağa püskürtülmesiyle gerçekleşen denemelere kıyasla daha yüksek olduğunu da belirtmişlerdir.

Cohen *et al*. (1996), yaptıkları bir çalışmada acetochlor etkili maddeye sahip bir herbisitin kavunda Fusarium solgunluk hastalığının çıkışına ve bitkideki şeker içeriğinin değişimi üzerine olan etkilerini araştırılmıştır. Çalışma sonunda acetochlorun 0,1-1 µg/g

dozları arasındaki uygulamalar Fusarium solgunluk hastalık çıkışında önemli azalmalar meydana getirdiği belirtilmiştir. Bu araştırmada 1 µg/g uygulama dozunda 15. günde inokule edilen bitkilerin %75'i hastalanırken, kontroldeki bitkilerin tamamı öldüğü ve acetochlor uygulamasıyla bitkilerdeki glukoz, fruktoz ve sakaroz seviyelerinin arttığı saptanmıştır.

Eshel *et al*. (2000), yaptığı çalışmada metham sodium'un azaltılmış dozu (10 ml/m^2) ve 8 günlük solarizasyon kombine uygulamasında, *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* propagüllerinin canlılığı 10 cm derinliğinde %100 ölümle sonuç bulurken, 30 cm'de %80 başarıya ulaşıldığını saptamışlardır. Sadece solarizasyon uygulanan parsellerde ise 10 cm toprak derinliğinde %90, 30 cm'de yaklaşık %18 patojen popülasyonunda azalma gözlendiği rapor etmişlerdir.

Chin-A-Woeng *et al*. (2000), İspanya'da ticari olarak domates üretimi yapılan bir tarladan izole edilen *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391'in *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici'*ye karşı baskılayıcı etkisini araştırmıştır. *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391'nin domates köklerinde kolonizasyonunun başarılı olduğu belirlenmiş ve proteaz, kitinaz ve lipaz gibi çeşitli hidrolitik enzimleri salgıladığı, hidrosiyanik asit (HCN) ve antifungal bir bileşik olan fenazin karboksamid (phenazine-1 carboxamide, PCN) ürettiği saptanmıştır. PCN üretim yeteneği olmayan mutant *Pseudomonas chlororaphis* PCL139'in domates kök ve kök boğazı çürüklüğüne karşı biyokontrol yeteneğini kaybettiğinin saptanması ile PCN'nin biyokotrolde önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir.

Khan ve Khan (2002), tarafından yapılan çalışmada fosfat çözündürücü mikroorganizmalarla (*Bacillus subtilis, Penicillium digitatum, Aspergillus awamori, Aspergillus niger* ve *Pseudomonas fluorescens*) domateste kök daldırma yöntemi uygulanarak *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*'ye karşı önemli etkileri olduğu tespit edilmiştir. Solgunluk şiddetinde kontrol grubuna kıyasla, *A. awamori* (%37,1) ve *P. digitatum* (%21,3) oranlarında belirgin bir azalma meydana gelmiştir. Bu çalışma, *A. awamori* veya *P. digitatum* ile kök daldırma uygulamasının sonucunda sadece domates verimini arttırmakla kalmayıp aynı zamanda Fusarium solgunluğunu baskılayabileceğini de göstermiştir.

Yetişir vd. (2003), tarafından yapılan bir çalışmada aşılanmış karpuz bitkilerinde karpuzda Fusarium solgunluğu (*F. oxysporum* f. sp. *niveum*)'a karşı dayanıklılık, meyve verimi ve kalitesi değerlendirilmiştir. Hastalığa dayanıklı kabakgil anaçları kullanılarak elde edilen aşılı karpuz bitkilerinin bilinen her üç ırka (0, 1 ve 2) karşı dayanıklılık gösterdiğini saptamışlardır.

Attia *et al*. (2004), yaptıkları çalışma da bakteriyel (*Bacillus subtilis*) ve arbüsküler mikoriza fungus (*Glomus* spp.) olan mikroorganizmaların tek yada kombinasyonlarının serada steril edilmiş ve edilmemiş toprak koşullarında yetiştirilen domatesin gelişimine ve *F. oxysporum*'un kontrolü üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, kombine uygulamaların, mikroorganizmaların ayrı ayrı uygulaması durumuna göre daha etkili olduğu, hastalık şiddetinin kontrolde %65, mikoriza aşılanan uygulamalarda ise %23,3 olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca mikoriza uygulaması yapılan bitkilerde kontrole kıyasla meyve sayısında %22 ve meyve büyüklüğünde %44 oranında artışın olduğu belirtilmiştir.

Bora vd. (2004), yaptıkları çalışmada *F. oxysporum* f. sp. *melonis*'in kavunlarda neden olduğu Fusarium solgunluğunun gelişimini baskılamada *Pseudomonas putida*'nın iki farklı izolatının ayrı ayrı ve birlikte hazırlanan talk bazlı formulasyonlarının etkinliğini iki yıl üst üste *in vivo* koşullar altında araştırmışlardır. Tarla denemelerinde (2001-2002) bakteriyel izolatlarla hazırlanan formulasyonlar kavun tohumlarına uygulanmış ve ekimden doksan gün sonra yapılan incelemelerde *P. putida* izolat 30 kontrol uygulamasına göre %63 etkili olurken, *P. putida* izolat 180 %46-50 oranlarında etkili olmuştur. Bakteri izolatlarının birlikte hazırlanan formulasyonların, ayrı ayrı hazırlanan formulasyonlara kıyasla daha az etkili olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak denemelerde her iki yıl verilerine göre biyoformulasyon uygulamaları hastalık şiddetinin azaltılmasında referans kimyasal olarak kullanılan benomyl'den daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Altınok (2006), yaptığı çalışmada Doğu Akdeniz Bölgesi'nde patlıcanda Fusarium solgunluk hastalığına neden olan *F. oxysporum* f. sp. *melongenae*'nın yaygınlık oranı ile moleküler karakterizasyonunu ve bitkide hastalığa karşı dayanıklılık uyarıcı abiyotik (Acibenzolar-S-Metil; ASM) ve biyotik (patojen olmayan, *F. oxysporum* f. sp. *melonis*; FOM) faktörlerin hastalığın gelişimine olan etkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda

her iki dayanıklılık uyarıcısının da hastalığın önlenmesinde etkin olduğu belirlenmiştir. *F. oxysporum* f. sp. *melongenae* uygulandıktan 72 saat sonra patojen olmayan FOM uygulamasının, kontrole göre %75,47, ASM uygulamasının ise %67,6 oranında etki gösterdiği saptanmıştır. Arazi denemelerinde FOM uygulamasının hastalığın kontrol edilmesinde %50,61 ve ASM uygulamasının ise %37,65 oranında etkili olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak hastalığın önlenmesinde patojen olmayan *Fusarium* uygulamasının ASM uygulamasından daha etkin olduğu hem saksı hem de arazi denemeleriyle belirlenmiştir.

Hibar *et al*. (2007), Tunus'ta yaptığı bir çalışmada, örtü altı domates yetiştiriciliğinde önemli derecede ekonomik kayıplara neden olan Fusarium kök ve kök boğazı çürüklüğü etmenine karşı iki antogonist ajan kullanmıştır. *Trichoderma harzianum* (3 izolat) ve *Trichoderma viride* (1 izolat) antagonistlerinin etkinliği araştırılmıştır. *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*, inokulumunun antagonistlerden bir hafta önce, bir hafta sonra ve birlikte verildiği denemelerde, özellikle antagonistin patojen inokulumundan bir hafta önce ve birlikte uygulandığı parsellerde hastalık oranını sırasıyla %10 ve %13-18 oranında azalttığını bildirmişlerdir.

Baysal vd. (2008), *Bacillus subtilis* EU07 ve ticari bir preparat olan *B. subtilis* QST713'in *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*'ye karşı etkinliğini araştırmıştır. Yapılan bu çalışmada *in vitro* koşullarda patojenin gelişimini baskılamada bu ırkların sırasıyla %64 ve %57 oranında etkili olduğu belirlenmiştir. Kum+perlit+torf karışımı ile doldurulan saksılarda yapılan denemelerde kontrole oranla iki *Bacillus* ırkının da hastalığın oluşumunu engellediği ve *in vitro* testlere paralel olarak *B. subtilis* EU07'nin *B. subtilis* QST713'den daha etkin bir şekilde hastalığı önleyici özelliğe sahip olduğu saptanmıştır. Fide gelişimlerinin de incelendiği bu çalışmada hastalık gelişimini önleyici etkilerine paralel olarak ortalama fide boyu EU07'de QST713 ve kontrole kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Yücel vd. (2009), domateste örtü altı seralarında *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) ve kök-ur nematodu (*Meloidogyne javanica, Meloidogyne incognita*) ile mücadelede solarizasyonun tek ve düşük doz fumigant kombinasyonlarını araştırmışlardır. Çalışmanın sonucu olarak, Fol ile yapılan mücadelede %62,5 oranında bulaşık olan serada, tek başına solarizasyon uygulamasında hastalık çıkış oranı %39,2 ve etki %35

olarak saptanmıştır. Solarizasyon ile metham sodium'un 1000 L/ha^{-1} dozundaki kombine uygulamada ise hastalık çıkış oranı %11,6 ve etki %83,9 olarak saptanmıştır. Fol hastalığını baskılamada solarizasyon ve metham sodium kombinasyonunun en başarılı olduğu bildirilmiştir.

Wu *et al*. (2009), tarafından yapılan bir çalışmada *in vitro* koşullarda, karpuzda solgunluk etmeni olan *F. oxysporum* f. sp. *niveum*'a karşı uygulanan allelokimyasal benzoic asid'in etmenin gelişimini, sporulasyonunu ve konidi çimlenmesini %100 oranında, misel kuru ağırlığını ise %83-96 arasında değişen oranlarda azalttığı belirtilmiştir.

Hao *et al*. (2010), yaptıkları çalışmada karpuzda solgunluk hastalığına neden olan *F. oxysporum* f. sp. *niveum* (FON) patojeninin toprak işleme sisteminde önemli şekilde ürün kaybına yol açtığı ancak bitkilerin birlikte ekildiği sistemde bu hastalığın azaldığı bildirilmiştir. Buna yönelik yapılan bu çalışmada, çeltik ve karpuz bitkileri bir arada ekilerek bu bitkilerin köklerinden salgılanan eksudatların karpuzda solgunluk patojeni FON'a karşı allelopatik etkisi belirlenmiştir. Bitkilerin köklerinde var olan eksudatları belirlemek amacıyla HPLC analizleri yapılmıştır. Analiz için çeşitli yapıdaki bileşikler (gallic, p-coumaric, p-hydroxybenzoic, salicylic, phthalic, vanillic, syringic, ferulic, benzoic ve cinnamic asit) kullanılmıştır ve *in vitro* koşullarda alanine'in 7 farklı (0, 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 mg.L^{-1}) ve pcoumaric asidin 5 farklı (0, 200, 400, 800 ve 1.600 mg.L^{-1}) konsantrasyonunun patojenin miseliyal gelişimi üzerine olan etkisini belirlemek amacıyla çalışılmıştır. Bu çalışma sonucunda; karpuz bitkisinden salgılanan kök eksudatları patojenin spor çimlenmesini ve sporulasyonunu arttırırken, buna karşılık çeltikten salgılanan eksudatların azalttığı belirlenmiştir. HPLC analizlerine göre; salisilik asit, p-hydroxybenzoic asit ve phthalic asit her iki bitkinin eksudatlarında saptanmış, ancak p-coumaric asit sadece çeltikte ve ferulic asit de sadece karpuzda görüldüğü belirlenmiştir. Alanine patojenin spor çimlenmesini ve sporulasyonunu arttırırken, pcoumaric asitin ise azalttığı saptanmıştır. Sonuçlara göre, çeltik kök eksudatlarının anti-fungal özelliklere sahip olduğu ve bu hastalığın kontrol edilmesinde birlikte ekim sisteminin ümit verici olduğu bildirilmiştir.

Singha *et al*. (2011), tarafından yapılan bir çalışmada domateste (*Lycopersicon esculentum*) Fusarium solgunluğunun (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) kontrolünde

Piper betle L. (PbC) bitkisinin yaprak kloroform ekstraktının hastalığa karşı etkinliği değerlendirilmiştir. Sonuç olarak toprağa yapılan uygulamalarda, %1'lik PbC'nin carbendazim'e göre *Fusarium* popülasyonunun düşürülmesinde daha etkili olduğu ve carbendazim ve PbC'nin birlikte kullanımında fungal popülasyonu azaltmada etkinliği olduğu gözlenmiştir. Serada yürütülen Fusarium solgunluğu kontrol çalışmalarında sürgün büyümesi, kök büyümesi ve tüm tedavilerde domates fidelerinin taze ağırlığı gibi farklı varyasyonlarda parametreler kaydedilmiştir. PbC kullanılmış bitkilerle, sağlıklı kontrol karşılaştırıldığında PbC uygulanan toprakta yetişen bitkilerin sağlıklı kontrolden daha iyi olduğu gözlenmiştir. Toplam fenolik birikimi de domates kök dokulardan yapılmıştır. Toplam fenolik birikimi yüksek sağlıklı kontrol ve PbC kullanılmış bitkilerle karşılaştırılmış, *Fusarium* ile infekteli bitkiler gözlenmiştir. İletim demetlerindeki *Fusarium* birikim miktarının belirlenmesi için elektron mikroskop yöntemi kullanılmıştır. PbC bitki yaprak kloroform ekstraktının hastalık simptomlarını ve gelişmesini azalttığı gözlemlenmiştir.

Li *et al*. (2012), *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*'un neden olduğu hıyar solgunluğuna karşı *Bacillus* türlerinin biyolojik savaş etmenleri olarak etkili olduklarını belirtmişlerdir. Çalışmada, tarla ve sera koşullarında gelişen hıyar bitkilerinin yüzey sterilizasyonu yapılmış köklerinden 400 *Bacillus* örneği izole edilmiştir. B068150 olarak isimlendirilmiş bir tür Fusarium solgunluğunun kontrolünde, sera denemelerinde fide aşamasında %50,7 ile biyokontrol etkili olarak şaşırtıcı bir şekilde yüksek potansiyel özellik gösterdiği saptanmıştır. PDA'da *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*'a karşı B068150 antagonistik etkiyi açık bir şekilde göstermemiştir. Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testleri ile yağ asiti analizleri ve Biolog-tabanlı testlerde B068150'i *B. subtilis* olarak tespit etmişlerdir. Serada yapılan saksı denemelerinde *B. subtilis* olarak belirtilen B068150'nin hıyarlar da Fusarium solgunluğuna karşı biyolojik savaş etmeni olarak ümit verici olduğunu belirtmişlerdir. Kuzey Çin'de *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*'un neden olduğu verim kayıplarını azaltmada yardımcı olabileceğini rapor etmişlerdir.

Altınok *et al.* (2013b), *Pseudomonas* ve *Bacillus*'un on izolatı patlıcan rizosfer toprağından izole edilmiş ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *melogenae* (Fomg)'nin misel gelişimine karşı uçucu bileşik etkililiklerini değerlendirmişlerdir. Bu on izolatı, patlıcan bitkisi köklerini kolonileştirme yeteneklerini görebilmek için *in vitro* koşullarda test

etmişlerdir. PGPR izolatlarının hedef patojenin miselyal gelişimi inhibe ettiği ve inhibisyon yüzdesi, inhibitör aktiviteler aracılığıyla %38 ile %72 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. *Pseudomonas aeruginosa* (P07-1) ve *P. putida* (P11-4)'yı patlıcan fidelerinde başarılı bir şekilde kolonileştirici olarak tespit etmişlerdir. PGPR izolatları arasında, *Pseudomonas aeruginosa* (P07-1), *P. putida* (P11-4), *Pseudomonas aeruginosa* (85A-2), *Bacillus amyloliquefaciens* (76A-1) ve *B. cereus* (B10a)'nın Fusarium solgunluğu hastalığının meydana gelmesini ve hastalığı %85'e kadar azalttığını saptamışlardır. Bu çalışmada, umut verici PGPR izolatlarının patlıcan bitkilerinde hastalığa karşı direnci arttırarak Fomg'un biyokontrolü için potansiyel olarak çok faydalı olabileceğini rapor etmişlerdir.

Altınok ve Dikilitaş (2014), yürüttükleri çalışmada abiyotik bitki aktivatörü olarak Acibenzolar-S-metil ve patlıcanın konukçusu olmayan bir *Fusarium oxysporum* izolatı (*F. oxysporum* f. sp. *melonis*) biyotik uyarıcı olarak patlıcan Fusarium solgunluğu etmenine (*F. oxysporum* f. sp. *melongenae*) karşı daha fazla direnç kazandırmak için patlıcan fidelerine uygulamışlardır. Acibenzolar-S-metil ve *F. oxysporum* f. sp. *melonis* patojen inokulasyonundan 72 saat önce uygulanmıştır. İnokulasyondan sonra 7., 11., 14., 17. ve 21. günlerde hastalık belirtilerinin gelişimi, *Fusarium* kloroz skalasına göre değerlendirilmiştir. Patlıcan bitkilerine Fusarium solgunluğu inokulasyonu öncesinde Acibenzolar-S-metil ve *F. oxysporum* f. sp. *melonis* uygulamasının Fusarium solgunluk hastalığının şiddetini önemli ölçüde azalttığını saptamışlardır. Pozitif kontrol bitkilerinde hastalığın şiddeti %92,50 iken, bu oranın Acibenzolar-S-methyl ile ön muamele edilmiş patlıcan fidelerinde inokulasyondan sonraki 21. günde %32,21 ve *F. oxysporum* f. sp. *melonis* ile ön muamele edilmiş patlıcan fidelerinde yine inokulasyon sonraki 21. günde %21,13 olduğunu tespit etmişlerdir. Acibenzolar-S-metil ve *F. oxysporum* f. sp. *melonis* ön muamelesi, hypersensitive oluşmasını ve kallus ve H_2O_2 sentezi gibi histolojik bariyerlerin hazırlanmasını tetiklediğini bildirmişlerdir. *F. oxysporum* f. sp. *melongenae* inokule edilmiş bitkilerle karşılaştırıldığında Acibenzolar-S-metil ve *F. oxysporum* f. sp. *melonis* ile ön muamele edilmiş bitkilerde aynı zamanda prolin ve H_2O_2 içeriğinin artmasıyla birlikte katalaz ve polifenol oksidaz enzimlerinin aktivitesinde de önemli artışlar olduğunu rapor etmişlerdir.

Altınok *et al.* (2014), yaptıkları bir çalışmada patlıcanlarda Fusarium solgunluğuna neden olan 70 adet *Fusarium oxysporum* (Schlechtend: Fr.) f. sp. *melongenae* Matuo ve

Ishigami (Fomg) izolatı ırka özgü etkileşimin olup olmadığını belirlemek için farklı hatlarla ve çeşitlerle etkileşimleri bakımından test edilmişlerdir. Yapılan bu çalışma sonucunda dirençli hatların (LS1934 ve LS2436) hiçbiri solgunluk belirtisi göstermezken, duyarlı yerel çeşitlerin (cvs. 'Kemer' ve 'Hadrian') ciddi hastalık belirtisi gösterdikleri tespit edilmiştir. Virülenslik bakımından dirençli hatlar ve duyarlı çeşitler üzerinde test edilen 70 Fomg izolatı arasında ırk veya ırkların ortaya çıkışını gösteren önemli bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Amadeo, Anatolia, Angela, Brigitte, Corsica, Hawk, Köksal, Nouma, Sharapova ve Yula Patlıcan çeşit/anaçları, üç virülens Fomg izolatına karşı çeşitli derecelerde duyarlılık gösterdiği saptanmıştır. AGR-703 anacında hastalık şiddetinin, test edilen diğer patlıcan çeşitleri ve anaçlarına göre önemli ölçüde farklı ve düşük olduğu tespit edilmiştir.

Gülser vd. (2014), yaptıkları çalışmada potasyum, salisilik asit ve humik asit uygulamalarının domateste fide çıkışı ve Fusarium solgunluğuna (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) karşı etkileri kontrollü koşullarda araştırılmıştır. Denemede patojen ile bulaşık saksı topraklarına potasyum (K) (0 ve 200 ppm), salisilik asit (SA) (0 ve 0.1 mmol) ve humik asit (HA)'in (0-200 ppm) iki farklı dozu kullanılmıştır. Deneme sonunda hastalık şiddeti Fol ile bulaşık kontrolde %66,0 olarak belirlenirken en düşük hastalık şiddeti sırasıyla SA (%40,3) ve HA uygulamalarında (%40,7) elde edildiği belirtilmiştir. Çimlenme yüzdesi en yüksek HA, steril kontrol (C) ve SA uygulamalarında sırasıyla %80, %77,7 ve %71 olarak belirlenmiştir. Çimlenme hızı ise en yüksek SA, Potasyum-Salisilik Asit (KSA) ve K uygulamalarında sırasıyla 11,4, 8,17 ve 6,63 gün olarak bulunmuştur. Bu çalışmada SA ve HA uygulamalarının çimlenen tohumlarda, Fol ile bulaşık kontrole kıyasla hastalık şiddetini sırasıyla %39 ve %38 oranlarında azalttıkları belirlenmiştir. Sonuç olarak SA ve HA uygulamalarının Fol hastalık şiddetini azalttığı, domateste fide çıkışı ve gelişimine olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir.

Altınok ve Erdoğan (2015), yaptıkları çalışmada *Trichoderma harzianum*'un 2 izolat (T16 ve T23) kültürlerinin, *F. oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg), *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol), *F. oxysporum* f. sp. *niveum* (FON) ve *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM)'e karşı etkilerini laboratuvar koşullarında ve saksı denemeleriyle incelenmiştir. Denemeler sonunda, pozitif kontrol bitkilerinde ortalama hastalık şiddeti %90-95'e ulaşırken, T16-Fomg ve T23-Fomg uygulanmış bitkilerde hastalık şiddeti sırasıyla

%37,74 ve %50,12 saptanmıştır. *T. harzianum* tohum kaplaması olarak uygulandığında, sera koşullarında kök boğazı ve kök çürüğü oluşum oranını %80'e kadar düşürdüğü ve *T. harzianum*'un domateste Fusarium kök boğazı ve kök çürüklüğü oluşumunu azalttığı gözlenmiştir. Sonuçlar, T16 ve T23 izolatlarının *Fusarium* ile bulaşık fidelerde hastalık şiddetini azaltmada etkili olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak *T. harzianum* izolatlarının, saksı denemelerinde farklı ürünlerin patojenik *Fusarium* türünü baskı altına alma konusunda güçlü bir yetenek ortaya koyduğu belirtilmiştir.

1.3.2. *Fusarium oxysporum* Türlerinin Genetik ve Moleküler Karakterizasyonuna Yönelik Çalışmalar

Katan *et al*. (1991), yaptıkları çalışmada İsrail başta olmak üzere 7 ülkede solgunluk gözlenen domates bitkilerinden elde ettikleri *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*'nin 218 izolatını VUG yöntemini kullanarak karakterize etmişler ve bunların 7 farklı VUG'da toplandığını tespit etmişlerdir. İki VUG, oluşturdukları anastomosis görünümünün sıklığına ya da zayıf oluşuna göre iki alt gruba ayrılmış ve en az bir izolatın iki farklı VUG'da yer aldığı bildirilmiştir.

Assigbetse *et al*. (1994), yaptıkları çalışmada pamukta solgunluk hastalığına neden olan *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*'un, farklı coğrafik bölgelerden izole edilen 46 izolat arasındaki genetik farklılığı ortaya çıkarmak için patojenite ve RAPD yöntemlerini kullanmışlardır. Patojenite denemelerinde bu izolatlardan 25 tanesinin, *Gossypium hirsitum* ve *Gossypium barbadense* çeşitlerinde yüksek virülenslik meydana getirdiği saptanmıştır. İzolatlar arasındaki genetik varyasyon, tesadüfi 11 adet 10 bazlık primer setiyle PCR yöntemi ile amplifiye ederek belirlenmiştir. 83 DNA bandında polimorfizm gösterildiği rapor edilerek (1/0) cluster analizi ile izolatlar arasındaki genetik yakınlığı gösteren bir dendrogram meydana getirilmiştir. OPF-06 primeriyle oluşturulan amplifiye DNA fragmentlerinin büyüklüklerinin 0,2-2,1 kb arasında değiştiği belirtilmiştir. Ortaya çıkan dendrogramın patojenite sonuçlarıyla benzerlik göstermediği ve *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* izolatlarının moleküler karakterizasyonunda, RAPD yönteminin hızlı ve güvenilir olduğunu belirtmişlerdir.

O'Donnell *et al*. (1998), tarafından yapılan çalışmada Panama hastalığının patojeni olan *F. oxysporum* f. sp. *cubense*'nin ırklarının monofiletik bir orijinin olup olmadığını araştırmak için, mtSSU rRNA ile TEF1-alpha nüklear dizilerini kullanmışlardır.

Filogenetik ağaçta *F. oxysporum* f. sp. *cubense*'nin beş tane ırkını gösterdiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak muzdaki Panama hastalığının *Fusarium*'a ait evrim geçirmiş farklı bir ırka ait olduğunu rapor etmişlerdir.

Vakalounakis ve Fargkiadakis (1999), hıyar bitkisinden izole edilen *Fusarium* izolatlarını RAPD ile çalışarak genetik yakınlılıklarını saptamak için OPA -01, OPB – 01, OPB-20 ve OPF-05 primerlerini kullanmıştır. Bu primerlerden 10 tanesi verdikleri bant görüntülerine göre RAPD-PCR çalışmaları için seçilmiştir. Bu çalışmada amplifiye bantlarının büyüklüğünün 0,2-0,3kb arasında değiştiğini saptamışlar ve çalışmanın sonucunda 121 tane *F. oxysporum* izolatının RAPD profillerini oluşturmuşlardır. Sonuç olarak 107 amplifiye DNA bantının 97'sinin polimorfik olduğunu bildirmişlerdir.

Veloso *et al*. (2000), Portekiz ve Fransa kökenli *F. oxysporum* f. sp. *melonis* izolatlarının ırkları (ırk 1, 2 ve 1-2) arasındaki ilişkileri, Randomly Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) tekniği ile incelemişlerdir. Bu çalışmada, 16 primer kullanılmış ve her bir izolatın 5-10 DNA bantı oluşturduğu ve toplamda 126 bant elde edildiği belirtilmiştir. Bu primerlerle üretilen amplifiye DNA fragmentlerinin büyüklükleri, 0,5-3,2 kb arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak Portekiz izolatı (ırk 2), Fransa izolatı (ırk 1)'na çok yakın bulunurken, Fransa izolatının (ırk 2) diğer ırklara çok uzak olduğu rapor edilmiştir.

Yli-Mattila *et al*. (2001), tarafından yapılan çalışmada morfolojik olarak tanımlanan *F. avenaceum, F. arthrosporioides, F. anguioides, F. tricinctum, F. graminum* ve *F. acuminatum* izolatlarının arasındaki morfolojik farklılıklar, ITS, IGS, mtSSU, Beta-tubulin sekansları ve UP-PCR hibridizasyonu karşılaştırılmıştır. Kombine Beta-tubulin, IGS ve ITS ağacına göre, *F. avenaceum, F. arthrosporioides, F. tricinctum*'un kompleks türlerinin izolatları %50'den fazla özyükleme değerleri ile desteklenen yedi gruba ayrılabileceğini belirtmişlerdir. Morfoloji ile ayırt edilemeyen Avrupa kökenli *F. avenaceum*'un iki ana grubunun, IGS ve ITS sekanslarına dayanan ağaçlarda ve Beta-tubulin sekanslarına dayanan ağaçta az da olsa açık bir şekilde ayrıldığını bildirmişlerdir. MtSSU sekansları, üzerinde çalışılan tüm *F. avenaceum* ve *F. tricinctum* izolatlarının da aynı olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçlarının, kısmen UP-PCR hibridizasyon analizinin sonuçları tarafından desteklendiğini bildirmişlerdir.

Jimenez-Gasco *et al*. (2002), nohutta Fusarium solgunluğuna neden olan etmen *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, farklı coğrafi dağılımlardan sekiz ırk (ırk 0, 1B/C, 1A ve 2-6) ve iki patotipten (sararma ve solma) oluştuğunu belirtmiştir. Patojenin coğrafi aralığı ve iki patotipi temsil eden 0, 1B/C, 1A, 4, 5 ve 6 ırklarının her bir 6 izolatı, EF1- α , Beta-tubulin, histone 3, actin ve calmodulin genlerinin intronlarındaki özdeş dizilerini yaptıkları çalışmada göstermişlerdir. Tüm ırkları, patotipleri ve coğrafi aralığı temsil eden 11 ek *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatı ve nohut için patojen olmayan 3 *F. oxysporum* (Fo) izolatı, EF1- α geninde sekans varyasyonları için ayrıca analiz edilmiştir. *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatlarının patojen olmayan izolatlardan ve diğer f. sp.'lerden farklı bir grup olduğunu saptamışlardır. Çalışmanın sonucu olarak, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*'in monofiletik olduğunu bildirmişlerdir.

Kuramae ve Souza (2002), yaptıkları çalışmada *F. oxysporum*'un 4 farklı f. sp.'i ve *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*'nin iki ırkı (Fol; ırk 1 ve ırk 2) arasındaki genetik varyasyonun saptanmasında, RAPD, ITS ve rDNA teknikleri kullanılmıştır. RAPD moleküler markörlerinin kullanıldığı *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* arasında %50'den fazla genetik varyasyon gözlenirken, Fol; ırk 1 ve ırk 2 arasındaki varyasyon %7 oranında gözlenmiştir. *F. oxysporum*'un 4 farklı f. sp.'i ve *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*'nin iki ırkı (Fol; ırk 1 ve ırk 2), ITS1 ve ITS2 bölgelerinde %97'den fazla genetik varyasyon gösterdiği bildirilmiş ve rDNA genleri %100 homolog olarak rapor edilmiştir.

Cai *et al*. (2003), Kaliforniya'da domates yetiştiriciliğinde sorun olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici;* Fol izolatları ile patojenite ve VCG testleri yapmışlardır. Elde edilen 39 Fol izolatından yapılan VCG testleri sonucunda üç izolatın non-patojenik (VCG 0031), 13 izolatın FOL-ırk 3, 9 izolatın Fol-ırk 2 (VCG 0030), 3 izolatın Fol-ırk 1 ve 6 izolatın Fol-ırk 2 (VCG 0035) olduğunu tespit etmişlerdir. VCG çalışmaları sonucunda elde edilen sonuçların RFLP tekniğinde de benzer olduğunu bildirmişlerdir.

Yli-Mattila *et al*. (2004), tarafından yapılan çalışmada farklı coğrafi bölgelerden elde edilen *Fusarium poae*, *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium langsethiae* ve *Fusarium kyushuense*'nin 109 izolatlarından, *F. langsethiae*'nin yakından ilişkili olduğu türlerle olan filogenetik ilişkileri, birbirini izleyen rDNA kümesi IGS'nin bir kısmı, ITS 1 ve 2

ve Beta-tubulin geninin bir kısmı araştırılmıştır. ITS1 ve 2'nin dizi analizinin, tüm *F. sporotrichioides* izolatlarını *F. langsethiae* izolatlarından ayıramadığını ve Beta-tubulin'in dizi analizinin, dört türü ayırt edebildiğini fakat bu iki türün arasındaki filogenetik ilişkiyi çözemediğini bildirmişlerdir. IGS bölge dizi analizinin, bu dört türün ayırt edilmesi ve bireysel türlerin ileri alt gruplara neden olduğunu göstermiş, *Fusarium sporotrichioides* var. *minus* izolatlarının, *F. poae* ve *F. langsethiae*'den daha iyi desteklendiği saptanmıştır. *F. sporotrichioides*'ten açık bir şekilde, *Fusarium langsethiae* dahil olmak üzere üzerinde çalışılan tüm türleri kombine dizilerin yakın bağlantıları ve POY analizlerinin güvenilir bir biçimde ayırdığını bildirmişlerdir. Bu sonuçların UP-PCR hibridazasyon analizinin sonuçlarına uygun olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak, verilerin *Sporotrichiella* bölümünde yeni bir tür olan *F. langsethiae*'nin tanımlanması için moleküler destek sunduğu rapor edilmiştir.

Can vd. (2004), Doğu Akdeniz Bölgesi kavun ekim alanlarından daha önce elde edilen ırkları VUG ve RAPD yöntemlerini kullanarak karakterize etmişlerdir. Bu çalışmada elde ettikleri izolatların VUG 0138 ve VUG 0135 gruplarına dahil olduğunu belirtmişlerdir. Irk 1 ve 1-2 izolatlarının daha şiddetli simptomlar oluşturduğunu tespit etmişlerdir. RAPD analizinde 42 farklı primer kullanmışlar fakat 24 primerde 1-6 bant oluştuğunu saptamışlardır. Bu çalışmada sonuç olarak, RAPD analizi ile *F. oxysporum* f. sp. *melonis* ırkları ya da VUG'ları arasında herhangi bir ilişkinin bulunmadığını rapor etmişlerdir.

Bogale *et al*. (2006), yaptıkları çalışmada Etiyopya'dan elde edilen 32 *F. oxysporum* tür kompleksinin içinden daha önce karakterize edilmiş filogenetik gruplar olarak bilinenlerle kıyaslanmasını, AFLP, SSR ve DNA sekansı (Translasyon Uzama Faktörü1-alpha (TEF1-alpha)) karşılaştırmalarını kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan her üç yöntem, suşları *F. oxysporum*'un üç kümesine karşılık gelen üç kökene ayırmıştır. Bu çalışmaya dahil edilen 18 forma species kullanılan üç DNA tabanlı tekniğinden hiçbiriyle konukçuya göre ayrılma sağlamadığı rapor edilmiştir.

Mbofung *et al*. (2007), Fusarium solgunluğunun etmeni *F oxysporum* f. sp. *lactucae*'nın son zamanlarda Arizona'da marulda önemli bir patojen olduğunu bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada mitokondrial küçük altbirim (mtSSU), translasyon uzama faktörü

1-α (EF-1α) geni ve nükleer ribozomal DNA genler arası boşluk (IGS) bölgesinin dizi analizi, *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatları, diğer konukçulardan elde edilen *F. oxysporum* izolatları ve lokal patojen olmayan izolatlar arasındaki filogenetik ilişkiler araştırılmıştır. mtSSU dizi analizi, sınırlı filogenetik çözünürlük sağlamış ve *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatlarını diğer 13 *F. oxysporum* izolatından ayırt edemediği saptanmıştır. EF-1α sekans analizi *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* izolatları ile yedi adet forma species'i gruplandırmıştır. IGS bölgesinin analizi, insersiyon, delesyon ve tek nükleotid geçişleri ve yer değiştirmelerden oluşan *F. oxysporum* formae speciales'leri arasında çok sayıda dizi polimorfizmini ortaya çıkarmıştır. Tekrarlanan dizi analizleri bölgenin çoğunda dağınık halde bulunan birkaç duplike alt tekrarlama birimini ortaya çıkarmıştır. IGS sekans verisi analizlerine göre *lactucae* ırk 1 izolatları *F. oxysporum*'un diğer üç formae speciales'i ile monofiletik bir grup olarak ayrıştığını belirtmiştir. Yapılan bu çalışmanın sonucu olarak tüm analizlerde, *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ırk 2 izolatları filogenetik olarak birbirinden farklı ve *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* 1 izolatlarıyla uzaktan ilişkili ayrı bir soy oluşturduğu rapor edilmiştir.

Perez-Sierra *et al*. (2007), Kuzey İspanya'nın farklı coğrafi bölgelerinden ve konukçularından elde edilen *Fusarium circinatum*'un 157 farklı izolat koleksiyonunu, histone H3 geni PCR-PRFL, IGS bölgesi ve translasyon uzama faktörü 1-alfa geni (TEF) ile kültürel ve morfolojik özellikleri tanımlamış ve karakterize etmişlerdir. Eşleşme tiplerini multiplex PCR ile belirlemişler ve sexual uyumluluğu laboratuvar koşullarında gerçekleştirmişlerdir. Her iki eşleşme tipinin (MAT-1, MAT-2) İspanya'da mevcut olduğunu ve telemorf *Gibberella circinata*'yı oluşturduğunu belirtmişlerdir. Daha önceden rapor edilmemiş eşleşme tipleri arasında morfolojik farklılıklar gözlendiği bildirilmiştir. MAT-1 izolatlarının, *F. circinatum*'un sarmal, açık, steril hif karakteristiğini gösterirken, MAT-2 izolatlarının sarmal olmayan steril hifler gösterdiğini belirtmişlerdir. Temsili izolatlatların virülensliğini yedi ve sekiz aylık *Pinus nigra*, *P. pinaster* ve *P. sylvestris* fidelerinde test etmişlerdir. Sonuç olarak test edilen tüm izolatların bu çam türlerine patojenik olduğu, MAT-1 izolatlarının MAT-2 izolatlarına göre daha virülens olduğu rapor edilmiştir.

Martin-Urdiroz *et al*. (2008), tarafından yapılan çalışmada vasküler solgunluk *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*'de yeni bir miyozin motor benzeri kitin sentaz geni olan chsVb'i tanımlamışlardır. ChsVb kitin sentaz 2 alanının (CS2) türetilmiş aminoasit

dizisinin filogenetik analizi, chsVb sınıf VII kitin sentaza ait olduğunu ortaya koymuşlardır. Hedeflenen tek (chsVb) ve çift (chsV, chsVb) mutantları, domates meyve dokusunda invaziv olarak gelişme göstermediği veya domates bitkilerini kolonize ve enfekte edemediği bildirilmiştir. Bu izolatlar, fungal hücre duvarı aksamını engelleyen, limona benzer şekilde konidi üreten, hifal subapikal bölgelerde şişmiş balon benzeri yapılar, kalınlaşmış duvarlar, anormal septa ve intrahifal hifler gösteren bileşikler için aşırı duyarlı olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak, chsVb geninin polarize büyümede büyük ihtimalle işlev gördüğünü ve bu fungusun komplex enfeksiyon sürecinde hücre duvarı bütünlüğünün kritik önemini doğruladığı saptanmıştır.

Lin *et al*. (2009), Fusarium solgunluğuna dayanıklı çeşit ıslah programlarını hızlandırmak amacıyla, dayanıklı çeşitlerin belirlenmesini hızlı ve güvenilir bir şekilde sağlayan PCR'a dayalı bir teknik oluşturmuşlardır. G05-SCAR primer seti olan GsF5/GsR5, OPG05 RAPD primerinin dayanıklı bireylerde amplifiye ettiği bandın sekans analizi sonucunu elde etmişlerdir. SCAR primeri (GsF5/GsR5) sadece *Fusarium*'a dayanıklı veya tolerant olan genotiplere spesifik olmak üzere 898 bp'de bant oluşturduğunu bildirmişlerdir. *Fusarium*'a duyarlı 12 çeşit, 1 hat (SB) ve dayanıklı 8 hatta SCAR primeri (GsF5/GsR5) ile yapılan tarama çalışmasında OPG05-898 markörü tüm dayanıklı hatlarda tespit edilirken, duyarlı olarak bilinen hat ve çeşitlerde görülmediği rapor edilmiştir.

Sampietro *et al*. (2010), TEF1-alpha geninin kısmi baz dizilimi Arjantin'de tahıllarda sorun olan, fumonisin ve trichothecene üreten toksijenik *Fusarium* izolatlarının tanımlanmasında kullanılmıştır. TEF1-alpha gen sekans verisi, *F. graminearum* kompleksinde *F. graminearum sensu stricto*, *F. meridionale* ve *F. boothii*'nin ayrımında da oldukça bilgilendirici olduğunu bildirmişlerdir.

Altınok ve Can (2010), yaptıkları çalışmada tipik Fusarium solgunluk belirtileri gösteren hastalıklı patlıcanlardan elde edilen *Fusarium oxysporum*'un yetmiş dört izolatı, Fusarium solgunluğuna yüksek derecede hassas olan Pala çeşidi üzerinde patojenisite testine tabi tutmuşlardır. Test edilen tüm izolatların patlıcana patojenik olduğu belirlenmiş ve bu izolatların tamamının *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) olduğu teşhis edilmiştir. Coğrafik konumlarına göre seçilen 20 Fomg izolatı grubu arasındaki genetik çeşitlilik, patojenisite testi, vejetatif uyumluluk gruplaması

(VCG) ve rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) analizini kullanılarak karakterize etmişlerdir. Hastalık ilerleme eğrisinin altındaki alan, her bir Fomg izolatı için inokulasyondan (DAI) sonraki 21. güne kadar hesaplanmış ve en virülent izolatın, (AUDPC) hastalık ilerleme eğrisinin altındaki alana, hastalık şiddetine ve iletim demetlerindeki leke ölçümlerine göre Fomg10 olduğunu saptamışlardır. UPGMA (aritmetik ortalama ile ağırlıklandırılmamış eşleştirme gurubu yöntemi) Dice'nin benzerlik katsayısını kullanarak RAPD verilerinin kümeleme analizini gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak, Fomg izolatları arasında önemli genetik çeşitlilik olduğunu gösterdiğini, fakat aynı coğrafi bölgeden elde edilen izolatların aynı grupta yer aldığını tespit etmişlerdir.

Arif *et al*. (2011), tarafından yapılan çalışmada *Fusarium solani*'nin diğer *Fusarium* türlerinden ayırt edilebilmesi için bazı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) çalışmaları geliştirilmiştir. *F. solani* (genişletme ürünü 658, 595 ve 485) ve *Fusarium* (genişletme ürünü 420 ve 466) cinslerinin hızlı bir şekilde teşhis edilebilmesi için hedef genlerin çoklu dizilimlerinden elde edilen konsensüs sekanslarının, ITS, rDNA ve TEF1-alpha kullanılarak primerleri dizayn ettiklerini belirtmişlerdir. Primerlerin yakın bitki patojenlerine karşı kullanıldığında herhangi bir çapraz reaksiyon gözlenmediğini bildirmişlerdir. Tanımlanan primer setlerinin, *Fusarium* türleri ve *F. solani*'nin doğru teşhis edilmesine ve birbirlerinden ayırt edilmesine imkan sağlandığı saptanmıştır. Başlangıçta 16 primer seti kullanılmış ancak beş primer setinin *Fusarium* cinsine (TEF-Fu3 ve ITS-Fu1) ve *F. solani*'ye (TEF-Fs4, ITS-Fu2 ve ITS-Fs5) spesifik olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak geliştirilen yöntemlerin tespiti kolaylaştırabilir, *Fusarium* cinsi ve *F. solani* benzerliğini tespit edebilir ve patojen kontrol faaliyetleri süresince uygulanabilir olduğu rapor edilmiştir.

Chehri *et al*. (2011), tarafından yapılan çalışmada enfekteli kabakgil bitkilerinden *Fusarium* spp.'lerin izolasyonunun yapılması, patojeniteleri ve filogenetik ilişkileri belirlemek amaçlanmıştır. İran'ın Kermanshah bölgesinden farklı coğrafik bölgelerden enfekteli kabakgil bitkilerinden toplam yüz adet *Fusarium* izolatı elde etmişlerdir. Yapılan morfolojik teşhis sonucu bu izolatları *F. oxysporum, F. proliferatum, F. equiseti, F. semitectum* ve *F. solani* olarak teşhis etmişlerdir. Bu beş izolat ile sağlıklı kabakgil bitkileri üzerinde yapılan patojenite testi sonucu tüm izolatların hastalık simptomu oluşturduğunu saptamışlardır. Ribozomal DNA (rDNA)'nın ITS bölgesi ve

RFLP analizine dayanılarak beş *Fusarium* türünün iki önemli gruba ayrıldığını bildirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda ITS+5.8S PCR-RFLP analizi kullanılarak *Fusarium* türlerinin varyasyonu analiz edildiği belirtilmiştir.

O'Donnell *et al*. (2012), *Fusarium* cinsi içerisinde 82 taksonun RBP1, RBP2 ve TEF1-alpha gen bölgelerinin sekans verileri kullanılarak evrimsel ilişkileri değerlendirilmiştir. Multilokus tiplemeye dayalı olarak dört tür kompleksinde oldukça yüksek bir genetik çeşitlilik belirlenerek yeni haplotipler keşfetmişlerdir.

Altınok *et al*. (2013a), farklı coğrafi konumlarda yer alan Fomg izolatları arasındaki genetik çeşitliliğin patojenisite ve VCG testleri ile araştırılmasını amaçlamışlardır. Patojenisite testi yoluyla yüksek derecede virülens, virülens, orta derecede virülens ve düşük virülens olarak 374 Fomg izolatı bildirilmiştir. Fomg izolatlarının virülenliği ve coğrafi konumları arasında herhangi bir korelasyon olmadığını tespit etmişlerdir. Nitrattan yararlanmayan mutantları (nit), çeşitli nitrojen kaynakları ile Fomg izolatlarının büyüme özelliklerinin fenotiplenmesine bağlı olarak nit1, nit3 ve NitM olarak 3 grupta toplandığını belirtmişlerdir. Elde edilen nit mutantların çoğunluğunun (%39,4) %2,0 potasyum klorat içeren minimal ortam içerisinde nit1 olduğunu tespit etmişlerdir. Fomg izolatlarının yaklaşık %96,3'ü VCG 0320 olarak, geri kalan %3,7'si ise vejatatif uyumsuz grup olarak sınıflandırıldığını bildirmişlerdir.

Dubey *et al*. (2014), filogenetik ayrımda başarılı bulunan bu markörlerden translation elongation factor-1α (TEF1-alpha), Beta-tubulin ve internal transcribed spacer (ITS) bölgeleri üzerinden dizayn edilen primer/problar ile Fusarium solgunluk etmeni *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatları spesifik olarak belirlenmiştir.

Tekeoglu vd. (2017), nohuttan izole edilmiş *Fusarium* spp. izolatlarının tür tanımlamalarında TEF1-alpha gen bölgesinin kısmi baz dizilimlerinin, farklı *Fusarium* türlerinin ayrımında oldukça başarılı bulunduğunu bildirmişlerdir.

Altınok *et al.* (2018), tarafından yapılan çalışmada Türkiye'de elde edilen *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatlarının yapısını ve genetik çeşitliliğini belirlemek için actin (actA) DNA bölgeleri, translation elongation factor 1-alpha (TEF1-alpha), inter-transcribed-spacer (ITS) dizi analizleri ve inter simple sequence repeat (ISSR) bantlama teknikleri kullanılmıştır. ISSR çalışmasında; $(ACTG)_5$,

$(GACAC)_3$, $(GACA)_4$, $(GATA)_4$, $HVH(TG)_7$ ve $(CA)_8RG$ primerleri 16'lık bir setten seçildiği belirtilmiştir. ISSR verilerinde 202 Fomg izolatına ait 31 locus saptanmış ve bunları 14'ünün polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucu olarak ITS, TEF1-alpha ve actA bölgelerinden elde edilen sonuçlarda, monofiletik orijine sahip oldukları bulunmuştur.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

2.1.1. Sörvey Alanı

Sörvey çalışmaları 2015 ve 2016 yıllarında Ege Bölgesi'nde Aydın, İzmir, Muğla ve Manisa illerinde Akdeniz Bölgesi'nde Antalya, Mersin, Adana ve Hatay illerinde, sera ve tarlada yetiştiriciliği yapılan biber alanlarında yürütülmüştür.

2.1.2. Patojenin İzolasyonu, Patojenisite ve Çapraz İnokulasyon Çalışmalarında Kullanılan Materyal

Yapılan sörvey çalışmaları sonucunda biber bitkisinden izole edilen *Fusarium* türleri çalışma materyali olmuştur. İzolasyon ve tanı aşamalarında patates dekstroz agar (PDA; Merck, Darmstadt, Germany) ve ve *Fusarium* minimum besi (FMM) ortamı, Petri kapları ve kültürlerin gelişimi için inkübatör kullanılmıştır. ***FMM ortam içeriği***; "(0,1% (w/v) KH_2PO_4, 0,05% (w/v) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,05% (w/v) KCl, 0,2% (w/v) $NaNO_3$, 3% (w/v), Sukroz ve agar 2% (w/v); iz elementlerin ilavesi (0,001% (w/v) sitrik asit, 0,001% (w/v) $ZnSO_4 \cdot 6H_2O$, 0,0002% (w/v) $Fe(NH_4)2(SO_4)2 \cdot 6H_2O$, 0,00005% (w/v) $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0,00001% (w/v) $MnSO_4$, 0,00001% (w/v) H_3BO_4, 0,00001% (w/v) $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$)" şeklindedir (Altınok *et al*., 2013a), (Ek 1).

Patojenisite çalışmalarında biber çeşidi olarak hastalığa duyarlı "Atalante F_1" çeşidi kullanılmıştır. Çapraz inokulasyon çalışmalarında "H-2274" domates çeşidi ve "Kemer" patlıcan çeşidi kullanılmıştır. Denemelerde sterilize edilmiş torf-perlit-toprak karışımı içeren 108x165 mm ebatında saksılar kullanılmıştır. Deneme süresince bitkiler Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümüne ait iklim kontrollü kabinlerinde muhafaza edilmiştir.

2.1.3. PCR Çalışmalarında Kullanılan Materyal

PCR çalışmalarında, *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatına ait DNA'lar, Taq buffer, dNTP, primerler (TEF1-alpha, Actin, Beta-tubulin, Calmodulin, Chitin Synthase), Taq polimeraz, dH_2O materyal olarak kullanılmıştır.

Foc izolatlarına ait DNA'ların elde edilmesi amacıyla yapılan izolasyon çalışmalarında, lysis buffer, proteinaz-K, su banyosu, santrifüj, mikrosantrifüj tüpleri, ependorf, otomatik pipet ve pipet uçları, Qiagen, DNeasy Plant Mini Kit (cat no:69106) ve ExiPrep™ 16 (Ful Otomatik Nukleik asit Ekstraksiyon Sistemi, Bioneer, USA) kullanılmıştır. Elde edilen DNA'nın miktar ve saflık dereceleri ölçümü NanoDrop ND1000 spektrofotometre'de (NanoDrop Products, USA) yapılmıştır.

PCR çalışmaları sonucunda amplifiye edilmiş DNA'lar agaroz jel elektroforez çalışmalarının materyali olmuştur. PCR ürünlerinin ayrıştırılmasında, agaroz (%1,5), 1XTBE buffer, DNA Markör (GeneRuler 1 kb DNA Ladder), yükleme tamponu (Loading), Jel tankı güç kaynağı (Thermo EC300), jeldeki DNA bantlarının görüntülenmesi için ethidium bromid, UV transilluminatör ve bilgisayarlı jel dökümantasyon ve görüntüleme sistemi kullanılmıştır.

2.2. Metod

2.2.1. Arazi Çalışmaları

2.2.1.1. Biberde Patojenik *Fusarium oxysporum* İzolatlarının Örneklenmesi

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde biber yetiştiriciliğinin yaygın olduğu iller, 4,000 dekar ve üzeri ekiliş alanına sahip örnekleme programına dahil edilmiştir (Anonim, 2013). Tez çalışması kapsamında örneklemenin yapıldığı illere ait ekim alanları (dekar) ve üretim değerleri (ton) verilmiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Örnekleme yapılan illere ait ekim alanları (dekar) ve üretim değerleri (ton) (TÜİK, 2013).

İller	**Biber (sivri)**	
	Dekar	***Ton***
Mersin	38851	220420
Antalya	30599	216821
Manisa	14505	36189
İzmir	12607	27820
Hatay	11603	18317
Aydın	10362	23857
Muğla	6824	8219
Adana	6274	7713

Ege Bölgesi'nde Aydın, İzmir, Muğla ve Manisa illerinde Akdeniz Bölgesi'nde Antalya, Mersin, Adana ve Hatay illerinde, sera ve tarlada yetiştiriciliği yapılan biber alanlarında, 2015 ve 2016 yıllarında; biberde solgunluğa yol açan *F. oxysporum* f. sp. *capsici;* Foc etmenine ait izolatların elde edilmesi amacıyla sörvey çalışmaları yapılmıştır.

Sörvey çalışmalarına arazi çıkış takvimi aşağıda verilmiştir.

1. Çıkış: 01-14 Temmuz 2015 - Antalya, İzmir, Muğla, Aydın, Manisa, Mersin (Biber Sörveyi)

2. Çıkış: 29 Temmuz - 12 Ağustos 2016 - Hatay, Adana, Mersin, Antalya, Muğla, Aydın, İzmir, Manisa (Biber Sörveyi)

Yetiştiricilik yapılan alanın büyüklüğüne ve bölgenin coğrafi konumuna göre homojen örnekleme alanları belirlenmiş her bir örnekleme alanından, birbirine en az 100 m mesafade bulunan tarla/seralardan alanın büyüklüğüne göre 2-6 bitki örneği alınmıştır. Solgunluk simptomu ile beraber iletim dokularında kahverengileşme gözlenen ve kök boğazında simptom gözlenen bitkilerden %2'lik sodyum hipokloritle (NaOCl) dezenfekte edilmiş budama makası ile 15-20 cm uzunluğunda gövde ve kök boğazı örnekleri alınmıştır. Alınan örnekler kağıtlara sarılıp poşetlenmiş ve etiketleme işlemi yapılarak bekletilmeden en kısa sürede laboratuvara getirilmiştir. Sörvey yapılan sera/tarlanın koordinatları, GPS (Global Positioning System; Küresel Konumlama Sistemi) cihazı ile kaydedilmiştir. Gözlem ve örneklemeler, ekim alanlarının en az

%1'inde yapılmıştır (Altınok vd., 2012a; Altınok vd., 2012b). Homojen bir şekilde bölgelerin örneklenmesini sağlayabilmek için tüm sörveyler, ilgili köylerden sorumlu olan Ziraat Mühendisleri/Tarım Danışmanları yönlendirmeleri ve eşliği doğrultusunda yapılmıştır. Sörveyler sırasında, her bir sera/tarla için anket formuna yetiştiricilikle ilgili üretici bilgilerinin kayıt işlemleri yapılmıştır.

2.2.2. Patojen İzolasyonu ve Tanısı

İletim demetlerinde kahverengileşme gözlenen biber örneklerinin kahverengileşen kısımlarından enine kesitler alınarak, standart mikolojik yöntemlere göre izolasyon işlemi yapılmıştır. Alınan parçalarak kurutularak, streptomycin (100 μg ml^{-1}) içeren patates dekstroz agar (PDA; Merck, Darmstadt, Germany) ve *Fusarium* minimum besi (FMM) ortamına ekilerek 24±1ºC'de bir hafta süreyle inkübe edilmiştir. *F. oxysporum* olarak tanısı yapılan izolatların saf kültürleri, gelişen koloninin hif ucu veya tek spor izolasyonu ile elde edilmiştir. Tek spor izolasyonu; 9 cm çapındaki Petri kaplarına, konidilerinin çimlendirileceği su agar (%2) ortamı hazırlanarak dökülmüştür. Sonraki aşamada 10 ml steril distile su içerisinde konidi süspansiyonu hazırlanarak ve mikroskopta incelenerek 40X objektif görüş alanında 1^{-10} konidi olacak şekilde konsantrasyon ayarlaması yapıldıktan sonra su agar içeren Petri kaplarına yüzeyi kaplayacak şekilde (1 ml) cam bagetle yayma işlemi yapılmıştır. Petri kapları 24±1ºC'de 16-24 saat inkübatörde bekletildikten sonra mikroskopta incelenerek çimlenen ve yakınında başka spor bulunmayan konidiler işaretlenmiş, sonrasında steril aşılama iğnesiyle alınarak PDA veya FMM içeren ortama ekimi yapılmıştır. Makroskobik ve mikroskobik incelemeler yapılarak tek spordan saf bir şekilde geliştirilen kolonilerin koloni rengi, konidiofor, fialid ve konidi özellikleri, mikrosklerot varlığı incelenerek *F. oxysporum* (Booth, 1971; Altınok, 2005; Leslie ve Summerell, 2006) olarak tanısı gerçekleştirilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda tek spordan gelişen kolonilerden 4 mm çapında miseliyal disk alarak eğik PDA ortamı içeren deney tüplerine ekimi yapılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda gelişen izolatlar +4ºC'de saklanmıştır. Sonraki aşamalarda kullanılmak üzere izolatlar, steril gliserol-su (%20 gliserol, %80 distile su, %0,25 NaCl) solüsyonunda miseliyal diskler şeklinde -80ºC'de saklanmıştır. Ayrıca bu kültürler,

Whatman filtre kağıtlarında geliştirilerek steril zarflar içerisinde -20ºC'de saklanmıştır.

2.2.3. Patojenisite Çalışmaları

Foc inokulasyonlarında, *Fusarium*'a dayanıklılık ıslahı deneme çalışmaları yürüten firma görüşlerinden sonra tavsiye edilen duyarlı "Atalante F_1" biber çeşidi kullanılmıştır. Elde edilen izolatların patojenisite denemeleri için, PDA ortamında geliştirilen fungusların 8-10 günlük taze kültürlerinin üzerine 50 ml steril distile su dökülerek spatül yardımıyla kazıyarak sporların suya geçmeleri sağlanmıştır. Hazırlanan bu spor süspansiyonu iki kat steril tülbentten geçirip süzülerek miselyum kalıntıları süspansiyondan uzaklaştırılmıştır. Spor süspansiyonuna sporların homojen bir şekilde dağılımını sağlaması amacıyla %0,05 Tween 20 konulmuştur. Sporların Thoma lamında (hemocytometre) sayımı yapılmış ve konsantrasyonları 10^6 konidi/ml'ye ayarlanmıştır. Fideler 3-4 gerçek yapraklı döneme geldiğinde kökleri bu şekilde hazırlanan konidi süspansiyonuna daldırılarak 5 dakika bekletilmiş ve steril torf-perlit-toprak (2:1:1) karışımı içeren 108x165 mm ebatlarında plastik saksılara şaşırtma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kontrol bitkilere de aynı işlem uygulanmış fakat spor süspansiyonu yerine steril distile suya kök daldırma işlemi yapılmıştır.

Tesadüf parselleri deneme desenine göre her bir saksıda 3 fide olacak şekilde 5 tekerrürlü olarak deneme kurulmuştur. Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü iklim kontrollü kabinlerinde fidelerin; 16 saat aydınlık (11000 lüks), 8 saat karanlık fotoperiyota ayarlı, %60 nisbi nem, gündüz 25±2ºC ve gece 20±2ºC sıcaklıkta gelişimi sağlanmıştır. İnokulasyon işleminden sonra fideler her gün kontrol edilerek ve ilk simptomların gözlendiği günden itibaren (10., 15., 20., 25. gün) bitkilerde ölüm görülmeye başladığı süreye kadar (25 gün) periyodik olarak 5 gün aralıklarla değerlendirilme yapılmıştır. Fidelerin solgunluk simptomlarının derecelendirilmesinde kullanılan skala aşağıda verildiği gibidir;

0: Gözle görülebilir hastalık simptomu yok,

1: Solgunluk başlangıcı, alt yapraklarda ince damarlarda renk açılması,

2: Bitkinin yarısında solgunluk, gelişme geriliği, klorosis ve nekrosis,

3: Genel solgunluk, yapraklarda kuruma, dökülme ve uçlardan geriye doğru ölüm,

4: Kuruma ve ölüm (Altınok *et al*., 2013b).

Tüm FOC izolatlarının skala değerleri üzerinden yüzde Hastalık şiddeti aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (Bora ve Karaca, 1970; Campbell ve Madden, 1990; Altınok ve Can, 2010). Patojenisite denemeleri sonlandırıldığında bütün Foc izolatları başarılı bir şekilde bitkilerden re-izole edilerek Koch'postulatları tamamlanmıştır.

Hastalık Şiddeti (%): (n.V) / (Z.N) x 100; n: Her bir skala değerine giren bitki sayısı, V: Skala değeri, Z: En yüksek skala değeri, N: Gözlem yapılan toplam bitki sayısı.

2.2.4. Çapraz İnokulasyon Denemeleri

Duyarlı olduğu daha önce rapor edilmiş olan "H-2274" domates çeşidi Çolak ve Biçici (2013) ve "Kemer" patlıcan çeşidi, biber bitkisinden elde edilen *F. oxysporum* izolatlarının çapraz inokulasyon denemelerinde kullanılmıştır. İzolatların patojenisite çalışmaları Bölüm 2.2'de verilen kök daldırma yöntemi ile testlenmiştir. Periyodik olarak çok sayıda izolatın kullanıldığı çapraz inokulasyon denemeleri, Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü iklim kontrollü kabinlerinde Şubat-Haziran 2016'da yürütülmüştür.

2.2.5. Moleküler Çalışmalar

Miselyum üretimi: Bir haftalık taze miseliyal kültürlü izolatlardan, 5 mm çapında 4-5 adet miseliyal disk alınarak, 20 ml patates dekstroz broth (PDB; Difco, Detroit, USA) sıvı ortam içeren erlenlere aktarılmıştır. Bu şekilde hazırlanan kültürler karanlıkta, 25±1°C'de bir hafta süreyle çalkalanarak inkübe edilmiş ve inkübasyon süresinin sonunda gelişen miseliyal koloninin altındaki PDB sıvı ortamı süzülerek uzaklaştırılmıştır. Daha sonra miseller steril distile suyla yıkanıp kurutma kağıtları arasına konularak fazla suları alınmıştır. Miseller 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine konularak, DNA ekstraksiyonu yapılıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

Fungal genomik DNA izolasyonu: Foc izolatlarının total DNA izolasyonu Qiagen, DNeasy Plant Mini Kit (cat no:69106) ve ExiPrep™ 16 (Ful Otomatik Nukleik asit Ekstraksiyon Sistemi, Bioneer, USA) kullanılarak yapılmıştır (Altınok *et al*., 2018).

Elde edilen DNA'lar %1,5'lik agaroz jelde 180 dk/ 90 Volt'da elektoroforez edilerek jel görüntüleme sisteminde görüntüleme işlemi yapılmıştır. Elektroforez işlemlerinden sonra oluşan bantlar, UV transilluminatör ve bilgisayarlı jel dökümantasyon ve görüntüleme sisteminde görüntülenmiştir ve kaydedilmiştir. DNA'nın miktar ve saflık dereceleri ölçümü NanoDrop ND1000 spektrofotometre'de (NanoDrop Products, USA) yapılmıştır. PCR çalışmalarında kullanılan solüsyonlar ve kimyasalların hazırlanışı Ek 2'de verilmiştir.

2.2.5.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatları Arasındaki Genetik Varyasyonların Marköre Dayalı Analizleri ve Genotipik Verilerin Değerlendirilmesi

Biber bitkisinden izolasyonu yapılan 40 adet *F. oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatının DNA'sının Translation elongation factor (TEF1-alpha), Actin, Beta-tubulin, Calmodulin, Chitin synthase primerleri ile PCR çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2. 2'de tez kapsamında yer alan protein kodlayan gen bölgeleri ile ilgili primerler verilmiştir.

Tablo 2.2. Filogenetik analiz çalışmalarında protein kodlayan gen bölgelerine ait primerlerin baz dizilimleri.

Primer Adı	**Kod**	**Baz Dizilimi**
Translation elongation factor*	TEF1-A 2	5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3'
	TEF1-A 4	5'-TACTTGAAGGAACCCTTACC-3'
Actin*	ACT-512F	5'-ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC-3'
	ACT-783R	5'-TACGAGTCCTTCTGGCCCAT-3'
Beta-tubulin**	Bt-F	5'-CAA GAA CTC AGA GTA TTT CGT C-3'
	Bt-R	5'-TAT GAA CTA GAA GGG GAT GAA G-3'
Calmodulin**	CAL-F	5'-CTC ACT TAC TGA AGA GCA AGT CT-3'
	CAL-R	5'-TTA GTA CTG ACC GTC CTC TAA TC-3'
Chitin synthase**	CHS-F	5'-CTA CAT TCG CTC CTA CCT ACT C-3'
	CHS-R	5'-TGGAAGAACCATCTGTGAGAGTTG-3'

*Schmitt *et al*. (2009); Altınok *et al.* (2018).
**Tüm genom sekans verisi üzerinden ilk kez bu çalışmada ilgili bölge primeri dizayn edilmiştir.

PCR çalışmalarında kontrol olarak DNA yerine steril distile su içeren reaksiyonlar hazırlanmış, 20 µl reaksiyon hacmi belirlenmiştir. Foc için TEF1-alpha, Actin, Beta-tubulin, Calmodulin ve Chitin synthase bölgelerinin PCR amplifikasyonunu takiben, ortaya çıkan bantların her bir izolat için ayrı ayrı olacak şekilde PCR ürünleri çift yönlü sekans verileri elde etmek amacıyla firmaya gönderilmiştir (Medsantek, İstanbul). İzolatlara ait konsensus sekansları, forward ve reverse sekans bilgileri kullanılarak Geneious yazılımı v10.0.5 (Biomatters, NZ, USA) ile sağlanmıştır. Sekanslar ClustalW yazılımının çoklu dizi hizalama yöntemi ile hizalanmıştır (Larkin *et al*., 2007). Sekans karşılaştırmaları NCBI (Anonim, 2017) BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) aracı kullanılarak yapılmıştır. Dendrogramların çiziminde MEGA programının (Huelsenbeck ve Ronquist, 2001; Tamura *et al*., 2013) filogeni fonksiyonu kullanılmış, UPGMA (Aritmetik Ortalamalı Ağırlıksız Çift Grup Yöntemi) yöntemine (500 tekrarlı bootstrap, p-distance, pairwise deletion) dayalı olarak dendrogramlar ortaya konulmuştur (Sneath ve Sokal, 1973).

3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Biber Bitkisinde Solgunluk Hastalığı Sörveyi

Biber sörvey çalışmaları 2015 yılında Temmuz-Ağustos aylarında solgunluk hastalığının en karakteristik görüldüğü meyve hasat döneminde yapılmıştır. Tablo 3.1'de sörvey yapılan iller, bu illere ait ilçe, belde veya köyler, GPS (Global Positioning System; Küresel Konumlama Sistemi) ile incelemesi yapılan tarlalara ait lokasyonlar ve rakım değerleri verilmiştir. Sörvey çalışmalarında Antalya ilinde Gazipaşa, Alanya, Manavgat, Serik, Kumluca ve Kaş ilçelerinden, Mersin ilinde Bozyazı ve Anamur ilçelerinden, Aydın ilinde Çine, Nazilli ve Bozdoğan ilçelerinden, Muğla ilinde Milas ilçesinden, Manisa ilinde Saruhanlı ve Gölmarmara ilçelerinden, İzmir ilinde ise Menderes ve Torbalı ilçelerinden, toplam 502 solgun bitki örneği alınmıştır. Şekil 3.1'de biber sörveylerinden bazı görseller sunulmuştur.



Şekil 3.1. Biber tarlalarında sörvey çalışmaları (Temmuz 2016). A: Genel tarla görünümü; B: Biberde Fusarium solgunluk hastalık simptomu (Hatay; Kırıkhan); C: Genel bitki simptomu (Mersin; Bozyazı).

Tablo 3.1. Mersin, Antalya, Muğla, Aydın, İzmir ve Manisa illeri ve ilçelerinden biber yetiştiriciliği yapılan seralarda solgunluk simptomu gösteren bitkilerden elde edilen *Fusarium* spp. izolatlarının kodları, sörvey yapılan ilçeler, bu ilçelere bağlı beldeler ve örnek alınan seraların koordinatları (2015 yılı).

İzolat Kodu	Lokasyon (İl/İlçe/Mahalle/Köy)	Enlem			Boylam			Rakım (m)	Toplam Örnek
		(.. /. '. / .".)			(.. / .' ./ .".)				
MRBZ-1/6	Mersin/Bozyazı/Tekmen	N36	07’	52,365”	E033	06’	15,753”	18,6	10
MRBZ-1/9	Mersin/Bozyazı/Tekmen	N36	05’	43,321”	E033	04’	09,032”	12,4	7
MRBZ-2/1	Mersin/Bozyazı/Tekmen	N36	05’	43,321”	E033	04’	09,032”	12,4	11
MRBZ-3/1	Mersin/Bozyazı/Çubukkoyağı	N36	06’	24,408”	E032	59’	39,966”	33,5	5
MRBZ-4/1	Mersin/Bozyazı/Merkez	N36	06’	24,407”	E032	59’	39,473”	35,5	5
MRBZ-5/1	Mersin/Bozyazı/Merkez	N36	06’	21,553”	E032	59’	39,824”	27,3	3
MRAN-7/1	Mersin/Anamur/Bozdoğan	N36	06’	21,553”	E032	59’	39,824”	27,3	3
MRAN-10/1	Mersin/Anamur/Malaklar	N36	07’	08,903”	E032	51’	26,181”	15,5	6
MRAN-11/1	Mersin/Anamur/Malaklar	N36	07’	26,856”	E032	51’	12,117”	44,8	7
ANGP-13/1	Antalya/Gazipaşa/BeyrebucakMh	N36	04’	25,527”	E032	38’	32,875”	318,1	5
ANGP-14/1	Antalya/Gazipaşa/Beyrebucak	N36	11’	44,097”	E032	25’	24,328”	175,1	1
ANGP-15/1	Antalya/Gazipaşa/Muzkent	N36	11’	29,603”	E032	23’	54,296”	136,2	3
ANGP-18/A-1	Antalya/Gazipaşa/Beyrebucak	N36	13’	36,646”	E032	22’	37,032”	67,4	4
ANGP-18/2	Antalya/Gazipaşa/Beyrebucak	N36	13’	36,646”	E032	22’	37,032”	67,4	3
ANGP-20/1	Antalya/Gazipaşa/MacarMh	N36	14’	00,132”	E032	20’	52,871”	69,8	5
ANGP-21/2	Antalya/Gazipaşa/KorubaşıMh	N36	16’	07,057”	E032	20’	20,612”	26,1	3
ANGP-23/1	Antalya/Gazipaşa/KorubaşıMh	N36	16’	07,057”	E032	20’	20,612”	26,1	6
ANLY-26/1	Antalya/Alanya/UğrakMh	N36	21’	51,917”	E032	12’	39,759”	111,2	9
ANLY-27/1	Antalya/Alanya/Demirtaş	N36	21’	51,917”	E032	12’	39,759”	111,2	2
ANLY-28/1	Antalya/Alanya/Demirtaş/YeniMh	N36	21’	51,917”	E032	12’	39,759”	111,2	4
ANLY-29/4	Antalya/Alanya/Hacıamanlıderesi	N36	26’	00,386”	E032	10’	42,042”	16,5	7
ANLY-29/6-A	Antalya/Alanya/Hacıamanlıderesi	N36	26’	00,386”	E032	10’	42,042”	16,5	4
ANLY-29/6-B	Antalya/Alanya/Hacıamanlıderesi	N36	26’	00,386”	E032	10’	42,042”	16,5	5
ANLY-31/1	Antalya/Alanya/Konaklar/ElikesikMh	N36	35’	34,028”	E031	54’	17,357”	140,7	3
ANLY-32/1	Antalya/Alanya/Konaklar/ElikesikMh	N36	35’	34,028”	E031	54’	17,357”	140,7	3
ANLY-33/1	Antalya/Alanya/KonaklıMh	N36	35’	34,028”	E031	54’	17,357”	140,7	1
ANLY-34/1	Antalya/Alanya/KonaklıMh/KetirMv	N36	35’	55,861”	E031	52’	19,521”	41,2	5
ANLY-36/1	Antalya/Alanya/Avsallar/KaramustafalarMh	N36	38’	10,652”	E031	45’	21,790”	5,9	2
ANMG-37/1	Antalya/Manavgat/Taşağıl	N36	38’	10,652”	E031	45’	21,790”	5,9	4
ANSR-39/3	Antalya/Serik/Dikmen	N36	54’	57,107”	E030	59’	35,856”	13,1	6
ANSR-39/5	Antalya/Serik/Dikmen	N36	54’	57,107”	E030	59’	35,856”	13,1	2
ANSR-40/1	Antalya/Serik/AşağıçatmaMh/BardaklıMv	N36	54’	48,434”	E031	03’	12,675”	10,2	2
ANSR-40/2	Antalya/Serik/AşağıçatmaMh/BardaklıMv	N36	54’	48,434”	E031	03’	12,675”	10,2	3
ANSR-42/1	Antalya/Serik/Üründü	N36	54’	48,434”	E031	03’	12,675”	10,2	5
ANSR-42/2	Antalya/Serik/Üründü	N36	54’	48,434”	E031	03’	12,675”	10,2	4
ANMK-43/2	Antalya/Kumluca/Merkez	N36	22’	24,060”	E030	17’	18,749”	22,2	6
ANMK-43/3	Antalya/Kumluca/Merkez	N36	22’	24,060”	E030	17’	18,749”	22,2	7
ANMK-45/1	Antalya/Kumluca/YeniMh	N36	22’	13,279”	E030	16’	49,138”	26,6	6

Tablo 3.1. Devamı

İzolat Kodu	Lokasyon (İl/İlçe/Mahalle/Köy)	Enlem			Boylam			Rakım (m)	Toplam Örnek
		(.. /. '. / .".)			(.. / .' ./ .".)				
ANKS-49/2	Antalya/Kaş/Demre/KasabaMh	N36	18’	48,666”	E029	45’	00,151”	189,5	11
ANKS-49/3	Antalya/Kaş/Demre/KasabaMh	N36	18’	48,666”	E029	45’	00,151”	189,5	4
ANKS-49/8	Antalya/Kaş/Demre/KasabaMh	N36	18’	48,666”	E029	45’	00,151”	189,5	5
ANKS-50/3	Antalya/Kaş/Demre/KasabaMh/Fatihçiftliği	N36	18’	48,666”	E029	45’	00,151”	189,5	4
ANKS-52/1	Antalya/Kaş/Demre/Kasaba/Köfdere	N36	18’	38,598”	E029	44’	04,969”	210,7	6
MGML-54/1	Muğla/Milas/KızılcayıkıkMh	N36	18’	38,598”	E029	44’	04,969”	210,7	6
MGML-55/1	Muğla/Milas/KızılcayıkıkMh	N36	18’	38,598”	E029	44’	04,969”	210,7	8
MGML-56/5	Muğla/Milas/EpçeMh	N37	22’	45,279”	E027	45’	18,315”	41,5	6
MGML-57/1	Muğla/Milas/KafacaKöyü	N37	22’	45,279”	E027	45’	18,315”	41,5	4
AYCN-58/1	Aydın/Çine/Kahramanköyovası	N37	36’	21,806”	E028	00’	06,156”	57,1	11
AYNZ-60/1	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	N37	36’	21,806”	E028	00’	06,156”	57,1	9
AYNZ-60/3	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	N37	36’	21,806”	E028	00’	06,156”	57,1	6
AYNZ-60/4	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	N37	36’	21,806”	E028	00’	06,156”	57,1	7
AYNZ-60/5	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	N37	53’	33,469”	E028	16’	02,904”	70,1	12
AYNZ-60/7	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	N37	53’	33,469”	E028	16’	02,904”	70,1	3
AYNZ-61/1	Aydın/Nazilli/Yazırlıköyü	N37	51’	00,725”	E028	21’	45,878”	74,4	2
AYNZ-62/1	Aydın/Nazilli/Yazırlıköyü	N37	50’	33,849”	E028	21’	37,602”	75,3	7
AYNZ-63	Aydın/Nazilli/Güzelköy	N37	50’	33,849”	E028	21’	37,602”	75,3	1
AYBZ-64/1	Aydın/Bozdoğan/BeyerliKöyü	N37	45’	39,357”	E028	20’	48,359”	79,7	7
AYBZ-65/5	Aydın/Bozdoğan/BeyerliKöyü	N37	43’	25,064”	E028	21’	59,202”	91,2	8
AYBZ-65/7	Aydın/Bozdoğan/BeyerliKöyü	N37	43’	25,064”	E028	21’	59,202”	91,2	5
AYBZ-69/1	Aydın/Bozdoğan/YazıkentKöyü	N37	41’	25,416”	E028	23’	10,064”	101,5	3
AYBZ-70/5	Aydın/Bozdoğan/YazıkentKöyü	N37	40’	57,102”	E028	22’	23,610”	97,2	11
AYBZ-70/10	Aydın/Bozdoğan/YazıkentKöyü	N37	40’	57,102”	E028	22’	23,610”	97,2	10
IZMN-71/1	İzmir/Menderes/SancaklıKöyü	N37	40’	57,102”	E028	22’	23,610”	97,2	3
IZMN-75/1	İzmir/Menderes/SancaklıKöyü	N37	40’	57,102”	E028	22’	23,610”	97,2	3
IZMN-76/1	İzmir/Menderes/SancaklıKöyü	N38	08’	53,479”	E027	08’	59,181”	79,2	6
IZMN-76/5	İzmir/Menderes/SancaklıKöyü	N38	08’	53,479”	E027	08’	59,181”	79,2	8
IZMN-77/1	İzmir/Menderes/DeğirmendereKöyü	N38	08’	12,268”	E027	08’	56,857”	90	5
IZMN-78/1	İzmir/Menderes/ÇamönüKöyü	N38	07’	34,188”	E027	09’	17,555”	98,9	7
IZMN-79/1	İzmir/Menderes/ÇamönüKöyü	N38	06’	05,903”	E027	09’	47,475”	117,4	1
IZTB-80/D-1	İzmir/Torbalı/ÖzbeyMh	N38	08’	50,035”	E027	19’	00,543”	51,8	16
IZTB-81/2	İzmir/Torbalı/ÖzbeyMh	N38	08’	34,121”	E027	19’	28,561”	34	7
IZTB-81/6	İzmir/Torbalı/ÖzbeyMh	N38	08’	34,121”	E027	19’	28,561”	34	7
IZTB-83/1	İzmir/Torbalı/AhmetliKöyü	N38	04’	54,810”	E027	21’	42,800”	31,4	4
MSSR-85/12	Manisa/Saruhanlı/DeveliMh	N38	42’	00,118”	E027	38’	29,312”	77,5	12
MSSR-86/7	Manisa/Saruhanlı/DeveliMh	N38	42’	03,877”	E027	38’	34,066”	75,6	7
MSSR-87/1	Manisa/Saruhanlı/DeveliMh	N38	42’	02,716”	E027	37’	27,513”	50,6	8
MSSR-88/1	Manisa/Saruhanlı/AlibeyMh	N38	42’	02,716”	E027	37’	27,513”	50,6	2
MSSR-89/1	Manisa/Saruhanlı/AlibeyMh	N38	41’	48,140”	E027	44’	40,316”	86,9	8

Tablo 3.1. Devamı

İzolat Kodu	Lokasyon (İl/İlçe/Mahalle/Köy)	Enlem			Boylam			Rakım (m)	Toplam Örnek
		(.. /. '. / .".")			(.. / .' ./ .".")				
MSSR-90/1	Manisa/Saruhanlı/AlibeyMh	N38	41’	49,191”	E027	44’	39,916”	89,3	10
MSGM-91/1	Manisa/Gölmarmara/Merkez/BuğdaylıMh	N38	43’	03,556”	E027	56’	47,079”	99,1	7
MSGM-92/1	Manisa/Gölmarmara/Merkez/BuğdaylıMh	N38	43’	04,555”	E027	56’	44,975”	99,6	6
MSGM-93/1	Manisa/Gölmarmara/Merkez/BuğdaylıMh	N38	43’	04,044”	E027	56’	44,223”	100,6	10
MSGM-94/1	Manisa/Gölmarmara/Merkez/BuğdaylıMh	N38	43’	04,043”	E027	56’	44,222”	100,6	11
MSGM-94/6	Manisa/Gölmarmara/Merkez/BuğdaylıMh	N38	43’	04,042”	E027	56’	44,213”	100,6	6
MSGM-95/10	Manisa/Gölmarmara/Merkez/BuğdaylıMh	N38	42’	54,650”	E027	55’	55,287”	101,1	15
Toplam									**502**

Tablo 3.2’de 2016 yılında sörvey yapılan iller, bu illere ait ilçe, belde veya köyler, GPS ile koordinatları alınan tarlalara ait lokasyonlar ve rakım değerleri verilmiştir. Sörvey çalışmalarında Adana ilinde Karaisalı, Hatay ilinde Kırıkhan ilçesinden, Mersin ilinde Erdemli, Bozyazı ve Anamur ilçelerinden, Muğla ilinde Milas ilçesinden, Aydın ilinde Çine, Nazilli ve Bozdoğan ilçelerinden, Antalya ilinde Gazipaşa, Alanya, Manavgat, Serik, Kumluca ve Kaş ilçelerinden, İzmir ilinde Menderes ve Torbalı ilçelerinden, Manisa ilinde ise Saruhanlı ve Gölmarmara ilçelerinden toplam 211 adet solgun bitki örneği alınmıştır.

Tablo 3.2. Adana, Mersin, Hatay, Antalya, Muğla, Aydın, İzmir ve Manisa illeri ve ilçelerinden biber yetiştiriciliği yapılan seralarda solgunluk simptomu gösteren bitkilerden elde edilen *Fusarium* spp. izolatlarının kodları, sörvey yapılan ilçeler, bu ilçelere bağlı beldeler ve örnek alınan seraların koordinatları (2016 yılı).

Lokasyon (İl/İlçe/Mahalle/Köy)	Enlem			Boylam			Rakım (m)	Toplam Örnek
	(.. /. '. / ." .)			(.. / .' ./ ." .)				
Adana/Karaisalı/Merkez	N37	15’	31,37’’	E35	4’	15,91’’	234	5
Adana/Karaisalı/Merkez	N37	15’	14,57’’	E35	4’	18,46”	234	7
Mersin/Erdemli/Esenpınar	N36	35’	27,719”	E34	6’	39,751”	780	7
Mersin/ Erdemli/Tapureli	N36	39’	4,097”	E34	3’	49,903”	1056	6
Mersin/ Erdemli/Tapureli	N36	39’	3,938”	E34	3’	54,197”	1053	5
Mersin/ Erdemli/Esenpınar	N36	35’	29,49"	E34	6’	33,71”	807	5
Mersin/Bozyazı/Merkez	N36	6’	34,30”	E32	58’	18,86”	7	6
Mersin/Anamur/Bozdoğan	N36	6’	3,65”	E32	53’	31,71”	116	5
Mersin/Anamur/Malaklar	N36	7’	49,11”	E32	50’	48,19”	86	6
Hatay/Kırıkhan/Kürtnasır	N36	34’	20,74”	E36	26’	49,31”	95	7
Hatay/Kırıkhan/İncirli	N36	33’	51,35”	E36	33’	19,39”	284	8
Hatay/Antakya/Avsuyu	N36	11’	37,42”	E36	18’	43,26”	198	5
Hatay/Kırıkhan/Aygırköyü	N36	34’	14,81”	E36	29’	9,86”	122	5
Antalya/Gazipaşa/Beyrebucak	N36	13’	10,08”	E32	23’	31,25”	113	5
Antalya/Gazipaşa/Muzkent	N36	10’	56,74”	E32	23’	40,89”	283	6
Antalya/Gazipaşa/MacarMh	N36	13’	54,79”	E32	20’	54,76”	382	5
Antalya/Gazipaşa/KorubaşıMh	N36	16’	6,69”	E32	21’	5,85”	60	5
Antalya/Alanya/Demirtaş	N36	25’	5,78”	E32	10’	50,69”	74	5
Antalya/Alanya/Demirtaş	N36	25’	17,32”	E32	11’	30,20”	43	5
Antalya/Alanya/Avsallar/KaramustafalarMh	N36	31’	3,69”	E31	46’	59,17”	83	5
Antalya/Manavgat/Taşağıl	N36	55’	29,89”	E31	13’	39,97”	49	4
Antalya/Serik/Dikmen	N36	54’	31,91”	E31	0’	19,40”	14	6
Antalya/Serik/Üründü	N36	57’	28,80”	E31	6’	10,29”	40	5
Antalya/Kumluca/Merkez	N36	22’	16,34”	E30	17’	16,97”	36	6
Antalya/Kumluca/YeniMh	N36	21’	45,62”	E30	16’	54,09”	26	8
Antalya/Kaş/Demre/KasabaMh	N36	18’	35,93”	E29	44’	20,27”	204	5
Antalya/Kaş/Demre/KasabaMh	N36	18’	24,98”	E29	44’	9,64”	200	5
Muğla/Milas/EpçeMh	N37	22’	46,44”	E27	45’	15,96”	48	5
Muğla/Milas/KafacaKöyü	N37	22’	18,29”	E27	43’	58,66”	39	6
Aydın/Çine/Kahramanköyovası	N37	36’	14,59”	E28	2’	18,76”	64	7
Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	N37	54’	52,77”	E28	15’	21,83”	126	5
Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	N37	54’	20,23”	E28	15’	53,77”	98	5
Aydın/Bozdoğan/BeyerliKöyü	N37	45’	33,16”	E28	22’	18,10”	150	5
İzmir/Menderes/SancaklıKöyü	N37	8’	30,95”	E27	9’	19,80”	141	7
İzmir/Torbalı/ÖzbeyMh	N38	8’	22,29”	E27	19’	24,41”	42	6
Manisa/Saruhanlı/DeveliMh	N38	42’	20,99”	E27	38’	22,82”	55	7
Manisa/Gölmarmara/Merkez/BuğdaylıMh	N38	43’	10,96”	E27	54’	58,75”	111	6
TOPLAM								**211**

3.1.1. Biber Bitkisinden İzole Edilen *Fusarium oxysporum* İzolatlarının Patojenisite Denemeleri ve Çapraz İnokulasyonları

Tez kapsamında biber bitkisinde sörvey çalışmaları yapılan il ve ilçelere ait toplam örnek sayıları, bu bitkilerden izole edilen toplam *Fusarium* spp., *F. oxysporum* izolatı sayıları ve patojen izolat sayıları verilmiştir (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Biber sörveyi yapılan il ve ilçeler, toplam örnek sayıları, izole edilen toplam *Fusarium* spp., *F. oxysporum* izolatı ve patojen izolat sayıları (2015 yılı).

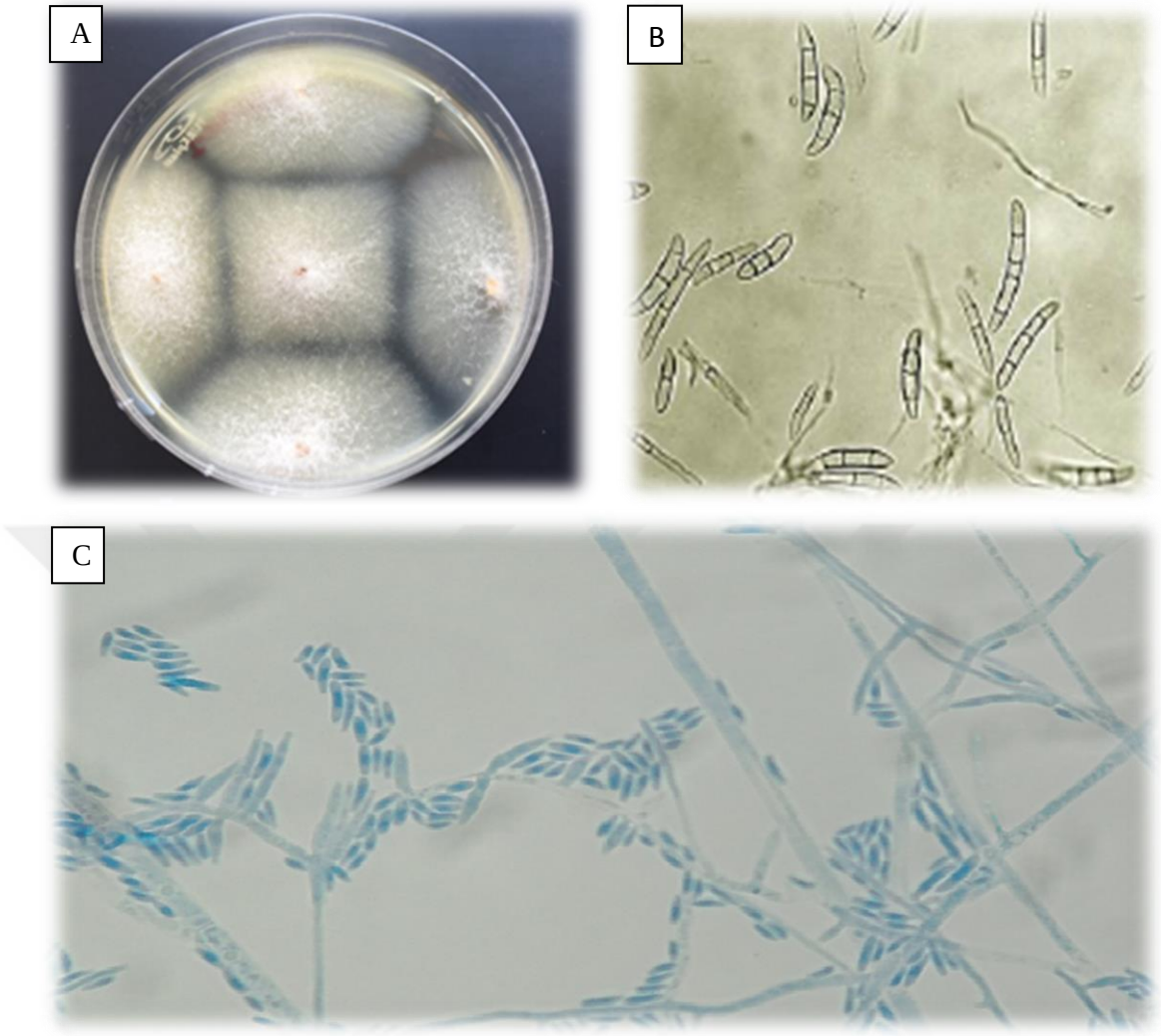
Lokasyon (İl/İlçe)	Toplam Örnek	*Fusarium* spp.	*Fusarium oxysporum*	Patojen
Mersin/Bozyazı	41	8	4	2
Mersin/Anamur	16	4	2	0
Antalya/Gazipaşa	30	9	5	4
Antalya/Alanya	45	9	5	4
Antalya/Manavgat	4	0	0	0
Antalya/Serik	22	6	2	5
Antalya/Kumluca/Merkez	19	5	3	2
Antalya/Kaş	30	14	9	3
Muğla/Milas	24	4	2	1
Aydın/Çine	11	4	1	0
Aydın/Nazilli	47	9	4	6
Aydın/Bozdoğan	44	13	7	2
İzmir/Menderes	33	13	6	2
İzmir/Torbalı	34	12	7	2
Manisa/Saruhanlı	47	18	7	2
Manisa/Gölmarmara	55	20	5	3
TOPLAM	**502**	**148**	**69**	**38**

Mersin ilinde Bozyazı ve Anamur ilçelerinden toplam 57 örnek alınmış, izolasyon çalışmaları sonucunda sadece 6 *F. oxysporum* izole edilmiş, patojenisite denemeleri sonucunda bu izolatlardan 2 tanesinin biberde patojen olduğu tespit edilmiştir. Antalya ilinde Gazipaşa, Alanya, Manavgat, Serik, Kumluca ve Kaş ilçelerinde inceleme yapılan

alanlardaki solgun biber bitkisinden toplam 150 adet örnek alınmış, bu örneklerden 24 adet *F. oxysporum* izole edilmiş ve bunlardan 18'i biberde patojen olarak kaydedilmiştir. Muğla ilinde Milas ilçesinden toplam 24 bitki örneklenmiş, bu bitkilerden izole edilen 2 adet *F. oxysporum*'dan biri biberde patojen olarak belirlenmiştir. Aydın ilinde Çine, Nazilli ve Bozdoğan ilçelerinden toplam 102 bitki örneklenmiş, bu bitkilerden elde edilen 12 adet *F. oxysporum* izolatından 8 adeti biber bitkisinde patojen olarak tespit edilmiştir. İzmir ilinde Menderes ve Torbalı ilçelerinden toplam 67 bitki örneklenmiş, bu bitkilerden izole edilen 13 adet *F. oxysporum* izolatından 4'ünün biberde patojen olduğu belirlenmiştir. Manisa ilinde Saruhanlı ve Gölmarmara ilçelerinden toplam 102 solgun bitki örneklenmiş, izolasyon çalışmaları sonucunda elde edilen 12 adet *F. oxysporum* izolatından 5'inin biberde patojen olduğu belirlenmiştir.

Mersin, Antalya, Muğla, Aydın, İzmir ve Manisa il ve ilçelerinde yürütülen 2015 yılı sörvey çalışmaları sonucunda toplam 502 adet solgunluk simptomu gösteren biber bitkisi örneği alınmış, bu bitkilerden yapılan izolasyonlar sonucunda toplam 148 adet *Fusarium* spp. elde edilmiş, bunlardan 69 adetinin *F. oxysporum* olduğu saptanmıştır. *F. oxysporum* olarak tespit edilen izolatlarla yürütülen patojenisite denemeleri sonucunda 38 izolatın biberde patojen olduğu belirlenmiştir.

Biberde 2015 yılı sörvey çalışmaları sonucuna göre, Akdeniz Bölgesi'nin Mersin ve Antalya illerinde, Ege Bölgesi'nin Muğla, Aydın, İzmir ve Manisa illerinde, seraların %29'unun ve tarlaların %51'inin solgunluk hastalığıyla bulaşık olduğu tespit edilmiştir. *F. oxysporum* f. sp. *capsici*'nin koloni gelişimi ve sporulasyonu Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. A: *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc)'in koloni gelişimi (5 nokta ekim); B, C: Biber bitkisinden izole edilen *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*'nin makrokonidi ve mikrokonidileri (C; Slide culture; lactophenol cotton blue); (Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Laboratuvarı, Altınok, 2016).

Tablo 3.4'de 2016 yılı biber sörveyi yapılan il ve ilçelere ait toplam örnek sayıları, bu bitkilerden izole edilen toplam *Fusarium* spp., *F. oxysporum* izolatı sayıları ve patojen *F. oxysporum* izolat sayıları verilmiştir.

Tablo 3.4. Biber sörveyi yapılan il ve ilçeler, toplam örnek sayıları, izole edilen toplam *Fusarium* spp., *F. oxysporum* izolatı ve patojen izolat sayıları (2016 yılı).

Lokasyon (İl/İlçe)	Toplam Örnek	*Fusarium* spp.	*Fusarium oxysporum*	Patojen
Adana/Karaisalı	12	4	4	0
Mersin/Erdemli	23	11	6	3
Mersin/Bozyazı	6	3	1	0
Mersin/Anamur	11	2	0	0
Hatay/Kırıkhan	25	15	11	8
Antalya/Gazipaşa	21	5	2	0
Antalya/Alanya	15	7	4	2
Antalya/Manavgat	4	2	1	0
Antalya/Serik	11	5	2	1
Antalya/Kumluca	14	9	5	2
Antalya/Kaş	10	8	6	5
Muğla/Milas	11	6	3	0
Aydın/Çine	7	5	2	0
Aydın/Nazilli	10	7	5	2
Aydın/Bozdoğan	5	3	2	1
İzmir/Menderes	7	4	2	0
İzmir/Torbalı	6	3	1	1
Manisa/Saruhanlı	7	4	2	0
Manisa/Gölmarmara	6	3	1	1
TOPLAM	**211**	**106**	**60**	**26**

Adana, Hatay, Mersin, Antalya, Muğla, Aydın, İzmir ve Manisa il ve ilçelerinde yapılan sörvey çalışmaları sonucunda toplam 211 adet solgunluk simptomu sergileyen biber bitkisi örneği alınmıştır. Bu bitkilerden yapılan izolasyonlar sonucunda toplam 106 adet *Fusarium* spp. elde edilmiş, bunlardan 60 adetinin *F. oxysporum* olduğu tespit edilmiştir. *F. oxysporum* olarak belirlenen izolatlarla yürütülen patojenisite denemeleri sonucunda 26 izolat biberde patojen olarak tespit edilmiştir. Akdeniz Bölgesi'nde Adana, Hatay, Mersin, Antalya illerinde ve Ege Bölgesi'nde, Muğla, Aydın İzmir ve Manisa illerinde 2016 yılında yapılan sörvey çalışmalarında örnekleme yapılan seraların %35'inin ve örnekleme yapılan arazilerin ise %59'unun patojenle enfekte olduğu

saptanmıştır. Tablo 3.5'de biber bitkisinden izole edilen *F. oxysporum* izolatlarının duyarlı "Atalante F1" çeşidinde patojenisite sonuçları verilmiştir.

Tablo 3.5. Biber bitkisinden izole edilen *F. oxysporum* izolatlarının virülenslikleri (2015 yılı).

İzolat Kodu	Lokasyon (İl/İlçe/Mahalle/Köy)	İnokulasyondan Sonraki Günler			
		10	15	20	25
		Hastalık Şiddeti (%)			
MRBZ-1/6	Mersin/Bozyazı/Tekmen	25,00	38,33	43,33	53,33
MRBZ-1/9	Mersin/Bozyazı/Tekmen	25,00	31,67	40,00	48,33
ANGP-15/1	Antalya/Gazipaşa/Muzkent	21,67	25,00	31,67	51,67
ANGP-18/A-1	Antalya/Gazipaşa/Beyrebucak	5,00	16,67	26,67	36,67
ANGP-18/2	Antalya/Gazipaşa/Beyrebucak	13,33	18,33	26,67	41,67
ANGP-21/2	Antalya/Gazipaşa/KorubaşıMh	20,00	26,67	30,00	45,00
ANLY-26/1	Antalya/Alanya/UğrakMh	11,67	23,33	30,00	38,33
ANLY-29/4	Antalya/Alanya/Hacıamanlıderesi	21,67	36,67	50,00	70,00
ANLY-29/6-A	Antalya/Alanya/Hacıamanlıderesi	11,67	25,00	40,00	43,33
ANLY-29/6-B	Antalya/Alanya/Hacıamanlıderesi	11,67	23,33	40,00	40,00
ANSR-39/3	Antalya/Serik/Dikmen	10,00	18,33	46,67	71,67
ANSR-39/5	Antalya/Serik/Dikmen	8,33	25,00	31,67	40,00
ANSR-40/2	Antalya/Serik/AşağıçatmaMh/BardaklıMv	23,33	36,67	48,33	66,67
ANSR-42/1	Antalya/Serik/Üründü	0,00	10,00	13,33	28,33
ANSR-42/2	Antalya/Serik/Üründü	0,00	16,67	38,33	48,33
ANMK-43/2	Antalya/Kumluca/Merkez	21,67	30,00	38,33	46,67
ANMK-43/3	Antalya/Kumluca/Merkez	11,67	23,33	36,67	45,00
ANKS-49/2	Antalya/Kaş/Demre/KasabaMh	11,67	25,00	30,00	41,67
ANKS-49/8	Antalya/Kaş/Demre/KasabaMh	5,00	11,67	25,00	48,33
ANKS-50/3	Antalya/Kaş/Demre/KasabaMh/Fatihçiftliği	20,00	31,67	45,00	63,33
MGML-56/5	Muğla/Milas/EpçeMh	8,33	21,67	36,67	56,67
AYNZ-60/1	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	5,00	18,33	31,67	38,33
AYNZ-60/2	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	1,67	10,00	18,33	36,67
AYNZ-60/3	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	11,67	21,67	31,67	40,00
AYNZ-60/4	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	23,33	36,67	48,33	58,33
AYNZ-60/5	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	18,33	28,33	38,33	46,67
AYNZ-60/7	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	16,67	33,33	51,67	60,00
AYBZ-65/7	Aydın/Bozdoğan/BeyerliKöyü	5,00	18,33	33,33	41,67
AYBZ-70/5	Aydın/Bozdoğan/YazıkentKöyü	10,00	35,00	45,00	61,67
IZMN-76/1	İzmir/Menderes/SancaklıKöyü	16,67	30,00	43,33	48,33
IZMN-76/5	İzmir/Menderes/SancaklıKöyü	0,00	16,67	16,67	38,33
IZTB-80/D-1	İzmir/Torbalı/ÖzbeyMh	0,00	8,33	25,00	50,00
IZTB-81/6	İzmir/Torbalı/ÖzbeyMh	0,00	15,00	16,67	36,67
MSSR-85/12	Manisa/Saruhanlı/DeveliMh	13,33	25,00	31,67	45,00
MSSR-86/7	Manisa/Saruhanlı/DeveliMh	23,33	35,00	46,67	68,33
MSGM-94/1	Manisa/Gölmarmara/Merkez/Buğdaylı	18,33	30,00	45,00	56,67
MSGM-94/6	Manisa/Gölmarmara/Merkez/Buğdaylı	8,33	25,00	33,33	41,67
MSGM-95/10	Manisa/Gölmarmara/Merkez/Buğdaylı	0,00	8,33	30,00	46,67

Hastalık şiddeti yüzdesine göre, 2015 yılı sörvey çalışmalarından elde edilen 38 Foc izolatında üç ana virülenslik grupları tespit edilmiş ve bunların 14'ü düşük-virülens (grup 1; %28-42), 13'ü orta-virülens (grup 2; %43-52) ve 11'i yüksek-virülens (grup 3; %53-72) olarak değerlendirilmiştir. ANSR-39/3 (Antalya, Serik) izolatının inokulasyondan sonraki 25. gündeki hastalık şiddetine göre (%71,67) en virülent izolat olduğu bulunmuştur ve bu izolatı %70-66 arasında değişen hastalık şiddeti yüzdesiyle birlikte ANLY-29/4, MSSR-86/7, ANSR-40/2 izolatları takip etmiştir. Tablo 3.6'da 2016 yılına ait biber bitkisinden izole edilen *F. oxysporum* izolatlarının duyarlı "Atalante F1" çeşidinde patojenisite sonuçları verilmiştir.

Tablo 3.6. Biber bitkisinden izole edilen *Fusarium oxysporum* izolatlarının virülenslikleri (2016 yılı).

İzolat Kodu	**Lokasyon (İl/İlçe/Mahalle/Köy)**	**İnokulasyondan Sonraki Günler**			
		10	**15**	**20**	**25**
		Hastalık Şiddeti (%)			
MRED-16/2	Mersin/Erdemli/Esenpınar	23,33	31,67	46,67	66,67
MRED-16/20	Mersin/Erdemli/Esenpınar	18,33	35,00	45,00	56,67
MRED-16/22	Mersin/Erdemli/Esenpınar	21,67	33,33	55,00	66,67
HTKR-21/01	Hatay/Kırıkhan/Avsuyu	16,67	25,00	46,67	72,00
HTKR-21/50	Hatay/Kırıkhan/İncirli	23,33	35,00	51,67	75,00
HTKR-21/12	Hatay/Kırıkhan/İncirli	16,67	33,33	40,00	60,00
HTKR-21/17	Hatay/Kırıkhan/Avsuyu	21,67	36,67	50,00	66,67
HTKR-21/33	Hatay/Kırıkhan/Avsuyu	16,67	33,33	45,00	60,00
HTKR-21/41	Hatay/Kırıkhan/Avsuyu	11,67	21,67	40,00	48,33
HTKR-21/16	Hatay/Kırıkhan/İncirli	10,00	25,00	45,00	60,00
HTKR-21/01	Hatay/Kırıkhan/İncirli	18,33	21,67	55,00	68,33
ANLY-16/12	Antalya/Alanya/Hacıamanlıderesi	20,00	36,67	48,33	58,33
ANLY-16/18	Antalya/Alanya/Demirtaş	13,33	36,67	40,00	68,33
ANSR-16/97	Antalya/Serik/Dikmen	23,33	28,33	40,00	56,67
ANKM-16/5	Antalya/Kumluca/YeniMh	18,33	33,33	46,67	60,00
ANKM-16/8	Antalya/Kumluca/YeniMh	23,33	33,33	46,67	68,33
ANKS-10/50	Antalya/Kaş/Demre	20,00	31,67	50,00	71,67
ANKS-16/50	Antalya/Kaş/Demre	11,67	18,33	30,00	56,67
ANKS-16/57	Antalya/Kaş/Demre	23,33	35,00	48,33	68,33
ANKS-16/52	Antalya/Kaş/Demre	16,67	33,33	45,00	60,00
ANKS-16/9	Antalya/Kaş/Demre	11,67	21,67	31,67	58,33
AYNZ-16/19	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	23,33	35,00	46,67	66,67
AYNZ-16/29	Aydın/Nazilli/İsabeyliMh	10,00	25,00	31,67	40,00
AYBZ-16/24	Aydın/Bozdoğan/BeyerliKöyü	11,67	23,33	38,33	45,00
IZTB-16/14	İzmir/Torbalı/ÖzbeyMh	18,33	35,00	48,33	68,33
MSGM-16/20	Manisa/Gölmarmara/Merkez/BuğdaylıMh	18,33	35,00	45,00	56,67

Bu izolatların virülenslik durumları incelendiğinde 2016 yılı sörveylerinden elde edilen toplam 26 Foc izolatında üç virülenslik grupları tespit edilmiştir ve bunlardan 3'ü düşük virülens (grup 1; %40-48), 11'i orta-virülens (grup 2; %57-60) ve 12'si yüksek-virülens (grup 3; %67-75) olarak değerlendirilmiştir. HTKR-21/50 (Hatay, Kırıkhan) izolatının inokulasyondan sonraki 25. gündeki hastalık şiddetine göre (%75,00) göre en virülent izolat olduğu saptanmış ve bunu %72-71 hastalık şiddeti yüzdesiyle HTKR-21/01 ve ANKS-10/50 izolatları takip etmiştir. Patojenisite denemeleri tamamlandığında bütün Foc izolatları başarılı bir şekilde bitkilerden re-izole edilerek Koch'postulatları başarıyla tamamlanmıştır.

Patojenisite denemeleri sonucunda toplam, test edilen 129 *F. oxysporum* izolatından 64 tanesinin biberlerde patojen olduğu ve bu izolatların *F. oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) olduğu tespit edilmiştir. Arazideki solgunluk simptomlarının, her iki yılda da genellikle orta düzeyde bir virülenslik düzeyine sahip olduğu gözlemlenmiştir ve herhangi bir güçlü solgunluk belirtisiyle karşılaşılmamıştır. Bu gözlemlerin, patojenisite testlerindeki Foc izolatlarının virülenslikleriyle paralel olduğu saptanmıştır. Biber bitkisinde patojenisite denemelerinden bazı görseller de Şekil 3.3'de sunulmuştur.



Şekil 3.3. Biber fidelerinde *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* izolatlarının patojenisite denemesi, A: ANLY-26/1 ANSR-40/2 kodlu izolatların virülenslikleri (sağda) kontrol (solda), B: yaprak simptomu (ANSR-39/5 kodlu izolat), C: ANSR-42/1 kodlu izolatın virülenliği (sağda) kontrol (solda), D, E: Patojenisite denemesi (Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü İklim Kontrollü Kabinleri).

Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü iklim kontrollü kabinlerinde Eylül-Aralık 2016 tarihlerinde biber bitkisinden izole edilen Foc izolatlarının çapraz inokulasyonları yapılmıştır. Çapraz inokulasyon denemelerinde "H-2274" domates çeşidi ve "Kemer" patlıcan çeşidi kullanılmıştır. İzolatlar hem patlıcan hem de domates bitkilerinde herhangi bir solgunluk simptomu oluşturmamıştır. Domates ve patlıcan fidelerinde çapraz inokulasyon denemelerinden görseller Şekil 3.4'de yer almaktadır.



Şekil 3.4. Biber bitkisinden izole edilen *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* izolatlarının çapraz inokulasyon denemeleri nden genel bir görünüm. A, B: "H-2274" domates çeşidi, C: "Kemer" patlıcan çeşidi.

Benzer bir çalışmada örtü altı patlıcan yetiştiriciliğinin yaygın olduğu Antalya, Mersin ve Samsun illerinde 2010 ve 2011 yıllarında sörvey çalışmaları yapılarak, Fusarium solgunluk hastalığının yaygınlık oranı ve hastalık şiddeti belirlenmiştir. Örtü altı sörvey çalışmaları sonucunda farklı bölgelerden elde edilen toplam 176 izolatın, makroskobik, mikroskobik incelemeler ve patojenisite denemeleri sonucunda simptomatolojik olarak, 112 tanesi *F. oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) olarak saptanmıştır. Antalya ili ve yöresinde 2010 ve 2011 yıllarında, Fusarium solgunluk hastalığının yaygınlık oranı (%46,7-%52,2) ve hastalık şiddeti (%25,2-%32,5) en yüksek oranda Finike ilçesinde saptanmıştır. Mersin ilinde gözlem yapılan ilçelerde Fusarium solgunluk hastalığının yaygınlık oranı (%49,2-%52,3) ve hastalık şiddeti (%29,9-%30,5) en yüksek Tarsus ilçesinde saptanmıştır. Hastalık şiddeti yüzdesine göre izolatlar, yüksek virülens (%80-90), virülens (%70-80), orta virülens (%60-70) ve düşük virülens (%50-60) olarak gruplandırılmıştır (Altınok vd., 2012a). Adana ve Mersin'de domates yetiştiriciliği yapılan seralarda yürütülen bir çalışmada *F. oxysporum*'un neden olduğu *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) hastalıklarının hastalık yaygınlığı ve hastalık şiddeti oranlarını Adana için sırasıyla %35,1, %18,8, %43,3 ve %20,4 olarak belirlenmiştir. Mersin ilinde hastalık yaygınlık oranını sırasıyla %58,8 ve %54.4 olarak tespit edilmiştir (Çolak ve Biçici, 2011). Söz konusu çalışmalarda elde edilen Fusarium solgunluk hastalığının yaygınlık oranlarının çalışmamızdaki oranlara kıyasla yüksek olduğu görülmektedir. Foc etmeninin ülkemizde henüz çok yaygın olduğu söylenemez. Bu tez çalışması kapsamında, her iki sörvey yılında da biber sörvey alanlarında Fusarium solgunluk hastalığı düşük yoğunlukta gözlemlenmiştir. Foc etmenine karşı dayanıklı bir biber çeşidinin piyasada şuan için bulunmaması, bu etmenin zamanla daha da yaygınlık göstermesine ve daha ciddi ürün kayıplarına yol açmasına neden olabilir. Fusarium solgunluk hastalığının 2050 ve 2100 yıllarında ki dağılımını belirlemek amacıyla gerçekleştirdiği çalışmada, Türkiye'nin Ege ve Akdeniz Bölgesi'nin Fusarium solgunluk hastalığının gelişmesi için en uygun çevresel koşullara sahip bölgeler içerisinde yer aldığını belirtmiştir (Shabani *et al.,* 2014). Bu tez kapsamında elde edilen yaygınlık oranı bu kanıyı destekler niteliktedir. Fusarium solgunluk hastalıklarının yaygınlık oranı ile toprakta bulunan inokulum oranı ve bu inokulumun uzun yıllar canlılığını koruması arasında ilişki olduğu düşünülmektedir. Genellikle günlük ortalama sıcaklığın 23°C'nin üzerinde olan alanlarda daha yaygın olarak görüldüğü tespit

edilmiştir. Kontrolü zor olan toprak kökenli Foc'un mücadelesinde dikkate alınması gereken yaklaşımlar arasında, tolerant çeşit tercihi, sertifikalı tohum kullanımı, uygun sulama ve gübreleme tekniklerinin tercih edilmesi, tohum dezenfeksiyonu, ekim nöbeti ve bitki artıklarının imhası ve yabancı ot kontrolü gibi kültürel önlemler sıralanabilir. Fusarium solgunluk hastalığının kültürel önlemlerin yeterince uygulanmadığı tarlalarda daha yaygın olduğu saptanmıştır. Bu çalışmanın bulguları söz konusu bu hastalığın farklı bölgelerde kontrolünde, entegre mücadele çerçevesinde uygun mücadele alternatiflerinin planlanması gerektiğini göstermektedir. Son yıllarda dünya genelinde kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olan f. sp.'lerde yaygınlaşmaktadır. *F. oxysporum* formae speciales'lerinin yayılışı ve yeni ırk geliştirmeleri birçok yolla olabilir. Toprak kökenli olmaları ve bazen tohumla taşınmaları nedeniyle bir bölgeden başka bir bölgeye taşınmaları, büyük oranda ticaretin küresel boyutta gelişmesi ve/veya iklim değişikliğinin etkileri ile ilişkili olabilir. Propagüllerin coğrafi ve zamansal yayılışı hastalık gelişiminin hızı ve patojenin hayatta kalması üzerinde doğrudan etkiye sahiptir. *Fusarium* patojenleri birçok kimyasal pestisitlere karşı dirençli olması nedeniyle Entegre mücadelede (Integrated pest management; IPM) hem hastalık kontrolü şeklinde hem de bitkide dayanıklılık anlamında önemli tedbirlerin alınması gerekmektedir.

3.2. Moleküler Çalışmalar

3.2.1. Solgunluk ve Kök Boğazı Çürüklüğü Simptomları Gösteren Biber Bitkilerinden İzole Edilen *Fusarium oxysporum*'un Moleküler Tanımlaması

Patojenisite denemeleri öncesinde biber bitkisinden izole edilen izolatlar *Fusarium oxysporum* tanı primeri ile testlenmiştir. Morfolojik olarak tanımlanmış *F. oxysporum* izolatları universal *F. oxysporum* tanımlama primerleri ile (uni f "ATCATCTTGTGCC AACTTCAG" ve uni r"GTTTGTGATCTTTGAGTTGCCA" *F.oxysporum* için 670 bp) PCR yapılarak doğrulanmıştır (Hirano ve Arie, 2006).

İzolatların gradient PCR yapılarak optimum bağlanma sıcaklıkları belirlenmiştir. Optimizasyon için 50-55-58-60ºC'lerde sıcaklık koşulları testlenmiştir. Ayrıca, PCR çalışmalarında reaksiyon bileşenlerinin de optimizasyonları gerçekleştirilmiştir. Bantlar net çıkmadığı durumda $MgCl_2$ oranı ve döngü sayısı arttırılmıştır. Optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlenen en uygun reaksiyon koşulları ve PCR döngü parametreleri aşağıda verilmiştir.

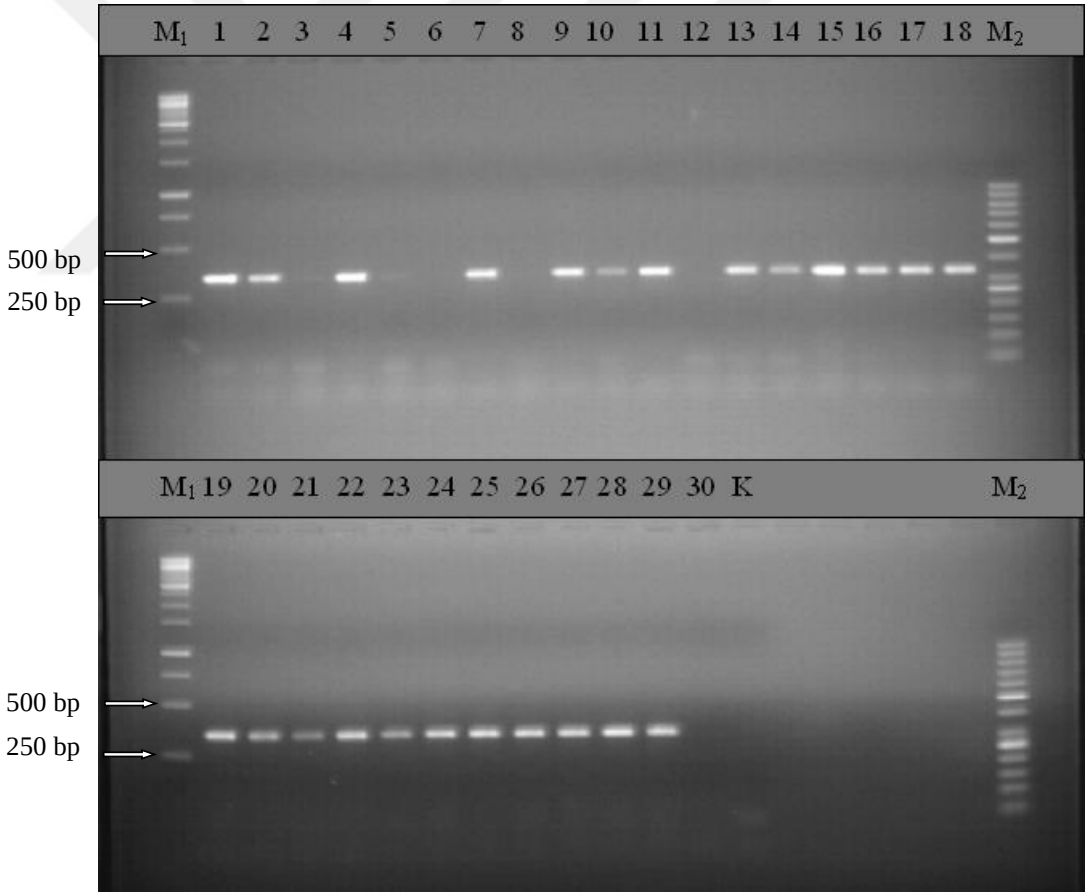
<u>*Reaksiyon koşulları*</u>:

1X (20 µl volume)	
10x Taq DNA polimeraz buffer	2,0 µl
25 mM $MgCI_2$	1,5 µl
2 mM dNTP	2,0 µl
Taq polimeraz (1 unit)	0,2 µl
10 µM F-Primer	1,0 µl
10 µM R-Primer	1,0 µl
Template DNA (25 ng)	1,0 µl
ddH_2O	11,3 µl

PCR döngü parametresi:

94ºC'de 2 dak……..1 döngü
93ºC'de 30 sn .....
55°C'de 1 dk ..... 30 döngü
72ºC'de 1 dak .....
72ºC'de 10 dak……..1 döngü
4°C'de bekleme

Fusarium oxysporum profili veren izolatlarda 340 bp büyüklüğünde tek bant elde edilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *Fusarium oxysporum* spesifik primerler kullanılarak elde edilen bant profili. $M_{1:}$ 1 kb DNA markör, $M_{2:}$ 50 bp DNA markör, K: Kontrol Grubu, 1-30 *Fusarium oxysporum* izolatları.

3.2.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatları Arasındaki Genetik Varyasyonların Marköre Dayalı Analizleri ve Genotipik Verilerin Değerlendirilmesi

Tez kapsamında, filogenetik ve moleküler sistematik amaçlı bazı çalışmalarda kullanılmış olan çeşitli protein kodlayan markör genlerle PCR çalışmaları yapılmıştır. Biberden elde edilen izolatlara ait sekans verileri üzerinden izolatlar arasındaki genetik varyasyon ve filogenetik ilişkilerin araştırmaları yapılmıştır. Analizlerde kullanılan programlar ve yazılımlar ayrıntılı bir şekilde, Materyal ve Metod Bölüm 2.2.4.1'de verilmiştir. Protein kodlayan bu genlere ait primerlerin sekansları Materyal ve Metod bölümünde Tablo 2.2'de verilmiştir.

Toplam 40 adet Foc izolatının DNA'sının Translation elongation factor (TEF1-alpha), Actin, Beta-tubulin, Calmodulin, Chitin synthase primerleri ile PCR analizleri Schmitt *et al* (2009)'a göre yapılmıştır. Bu tez çalışması kapsamında yer alan Foc izolatlarının her bir primer için gradient PCR yapılarak (GRA-45-60) optimum bağlanma sıcaklıkları tespit edilmiş ve PCR çalışmalarında reaksiyon bileşenlerinin de optimizasyonları yapılmıştır. Bantlar net çıkmadığı durumda $MgCl_2$ oranı ve döngü sayısı arttırılmıştır. PCR çalışmalarında yer alan izolatlara ait lokasyonlar ve izolatların kodları Tablo 3.7'de verilmiştir.

Tablo 3.7. Moleküler çalışmalarda yer alan izolatlara ait lokasyonlar ve izolatların kodları.

Örnek No	**İzolat Kodu**	**Lokasyon**
B*1	MSGM-94/1	Manisa-Gölmarmara
B2	IZTB-80/D-1	İzmir-Torbalı
B3	ANMK-43/3	Antalya-Kumluca
B4	ANKS-49/8	Antalya-Kaş-Demre
B5	MSGM-95/10	Manisa-Gölmarmara
B6	MGML-56/5	Muğla-Milas
B7	ANSR-42/2	Antalya-Serik
B8	ANKS-49/2	Antalya-Kaş-Demre
B9	FOC-2	Mersin-Tarsus
B10	ANSR-40/2	Antalya-Serik
B11	ANGP-21/2	Antalya-Gazipaşa
B12	MRBZ-1/6	Mersin-Bozyazı
B13	MSGM-94/6	Manisa-Gölmarmara
B14	ANSR-39/3	Antalya-Serik
B15	ANSR-39/5	Antalya-Serik
B16	ANLY-29/4	Antalya-Alanya
B20	ANKS-49-11	Antalya-Kaş-Demre
B21	AYBZ-65-12	Aydın-Bozdoğan
B22	IZTB-81/6	İzmir-Torbalı
B23	ANSR-42/1	Antalya-Serik
B24	ANLY-26/1	Antalya-Alanya
B25	AYNZ-60/4	Aydın-Nazilli
B26	ANMK-43/2	Antalya-Kumluca
B27	IZMN-76/1	İzmir-Menderes
B28	AYBZ-70/5	Aydın-Bozdoğan
B29	AYNZ-60/5	Aydın-Nazilli
B30	AYNZ-60/7	Aydın-Nazilli
B31	AYNZ-60/3	Aydın-Nazilli
B32	AYBZ-65/7	Aydın-Bozdoğan
B33	MSSR-85/12	Manisa-Saruhanlı
B34	ANGP-18/2	Antalya-Gazipaşa
B35	ANGP-18/A-1	Antalya-Gazipaşa
B36	MSSR-86/7	Manisa-Saruhanlı
B37	MRBZ-1/9	Mersin-Bozyazı
B38	IZMN-76/5	İzmir-Menderes
B39	ANLY-29/6-B	Antalya-Alanya
B40	ANLY-29/6-A	Antalya-Alanya
B41	ANGP-15/1	Antalya-Gazipaşa
B42	ANKS-50/3	Antalya-Kaş-Demre
B43	MGML-65/5	Muğla-Milas

B: *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (İzolat numarası).

3.2.2.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatlarının TEF1-alpha Primeri ile PCR Çalışmaları

PCR çalışmalarında 20 µl reaksiyon hacmi belirlenmiş, kontrol olarak DNA yerine steril distile su içeren reaksiyonlar hazırlanmıştır. Optimizasyon çalışmalarında herhangi bir sorunla karşılaşılmayan bu primerin PCR çalışmaları kapsamında optimize edilen reaksiyon koşulları ve PCR döngü parametrelerine aşağıda yer verilmiştir.

Reaksiyon koşulları:

1X (20 µl volume)

10x Taq DNA polimeraz buffer	2,0 µl
25 mM $MgCI_2$	1,0 µl
2 mM dNTP	2,0 µl
Taq polimeraz (1 unit)	0,20 µl
10 µM F-Primer	1,0 µl
10 µM R-Primer	1,0 µl
Template DNA (25 ng)	1,0 µl
ddH_2O	11,8 µl

PCR döngü parametresi:

94ºC'de 5 dak……..1 döngü

94ºC'de 30 sn .....

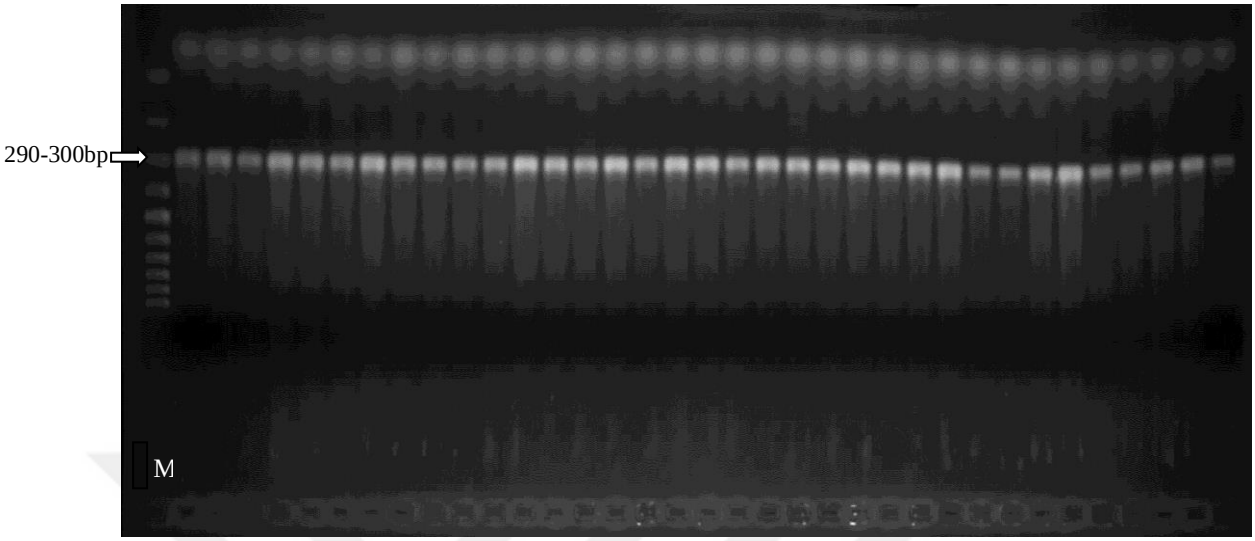
55°C'de 30 sn..... 35 döngü

72ºC'de 1 dak .....

72ºC'de 10 dak……..1 döngü

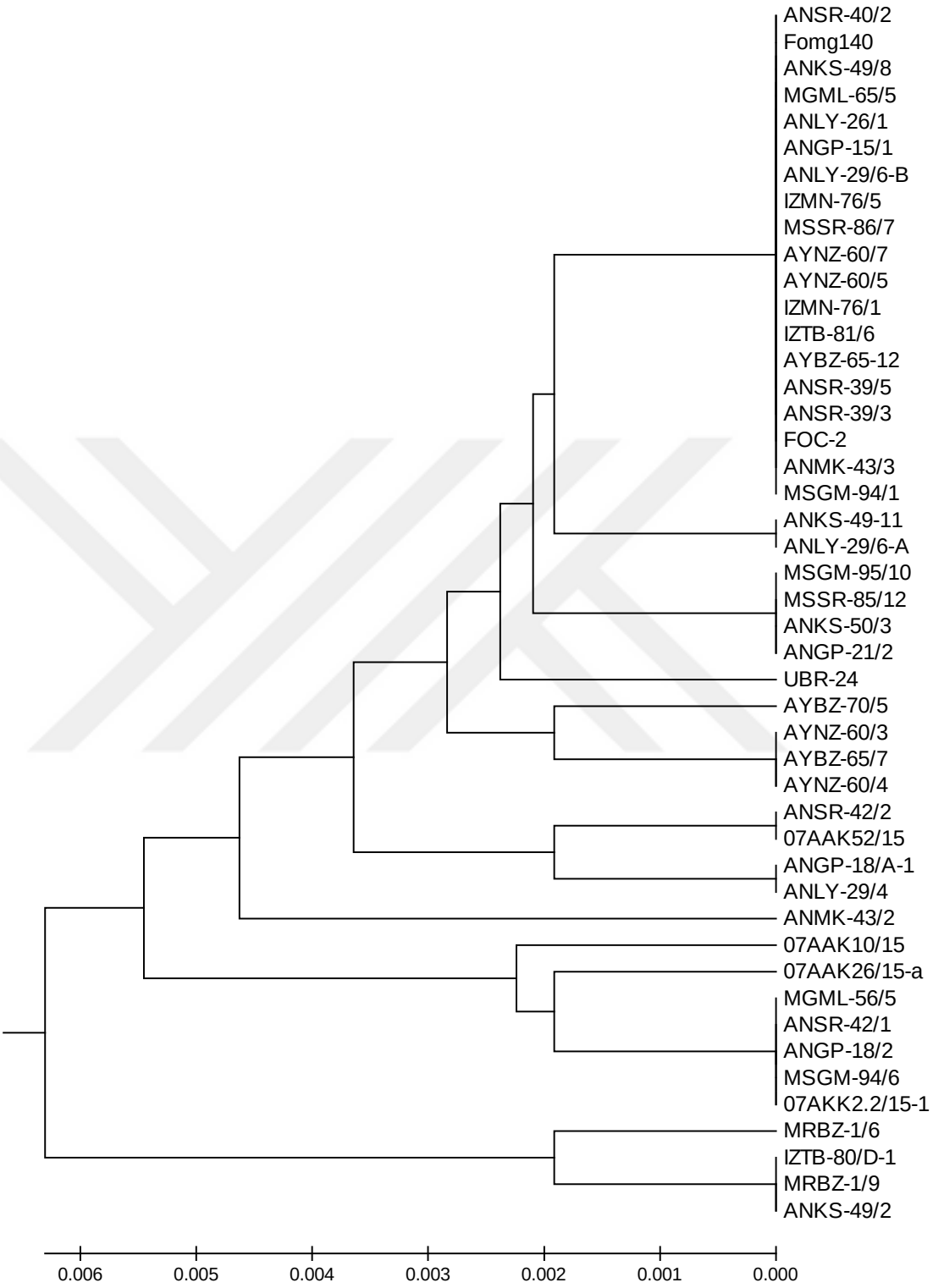
4°C'de bekleme

İzolatlardan TEF1-alpha bölgesi için ~290-300 bp PCR ürünü sağlanmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatlarının TEF1-alpha primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü. Markör (M); 100 bp.

Fol, Forl, Foc ve Fomg için TEF1-alpha, bölgelerinin PCR amplifikasyonunu takiben oluşan bantların her bir izolat için ayrı ayrı olmak üzere PCR ürünlerinin forward ve reverse sekans verileri sağlanmıştır. Foc izolatlarının forward ve reverse sekanslarından konsensus dizileri elde edilerek, hizalanmıştır. Farklı f. sp. izolatları olarak Fol, Forl ve Fomg izolatlarından 2 adet hizalamalara dahil edilmiştir. Filogenetik analizler ayrıntılı olarak, Moleküler Çalışmalar kısmında Bölüm 2.2.4.1'de verilmiştir. TEF1-alpha primeri ile her bir f. sp. grubu için MEGA programında oluşturulan dendrogramlar Şekil 3.7'de verilmiştir. Dendrogramda yer alan izolatların kodları ve lokasyonları Tablo 3.7'de verilmiştir.



Şekil 3.7. Toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) izolatı ve 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatının TEF1-alpha primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda elde edilen sekans verilerinden oluşturulan dendrogram. Fol (07AAK52/15; 07AKK2.2/15-1), Forl (07AAK10/15; 07AAK26/15-a), Fomg (Fomg140; UBR-24).

TEF1-alpha primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda Foc izolatlarının sekansların karşılaştırma analizlerine dahil edilen diğer f. sp.'ler le birlikte oluşturulan dendrogramda 2 ana grup ortaya çıkmıştır. Grup I'de 4 adet Foc izolatı (MRBZ-1/6; MRBZ-1/9; IZTB-80/D-1; ANKS-49/2) yer almıştır. Grup II'de ise, diğer f. sp.'ler filogenetik olarak birbirine yakın olmakla beraber genel olarak konukçu dışı izolatlar, Foc izolatlarından ayırt edilememiştir.

Foc izolatlarının filogenetik olarak sınıflandırılmasında coğrafi lokasyonları ile aralarında bir ilişki görülmemiş ve konukçu dışı izolatlarla genetik yakınlık göstermişlerdir.

3.2.2.2. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatlarının Actin Primeri ile PCR Çalışmaları

PCR çalışmaları kapsamında, Actin primeri ile toplam 40 adet Foc izolat setinin PCR çalışmaları yapılmıştır. PCR çalışmalarında yer alan izolatlara ait lokasyonlar ve izolatların kodları Tablo 3.7'de verilmiştir.

Optimizasyon çalışmaları sırasında herhangi bir sorunla karşılaşılmayan Actin primerin PCR çalışmaları kapsamında optimize edilen reaksiyon koşulları ve PCR döngü parametrelerine aşağıda yer verilmiştir.

Reaksiyon koşulları:

1X (20 µl volume)	
10x Taq DNA polimeraz buffer	2,5 µl
25 mM $MgCI_2$	2,5 µl
2 mM dNTP	2,0 µl
Taq polimeraz (1 unit)	0,20 µl
10 µM F-Primer	1,0 µl
10 µM R-Primer	1,0 µl
Template DNA (25 ng)	1,0 µl
ddH_2O	9,8 µl

PCR döngü parametresi:

93°C'de 5 dak……..1 döngü

94°C'de 30 sn.....

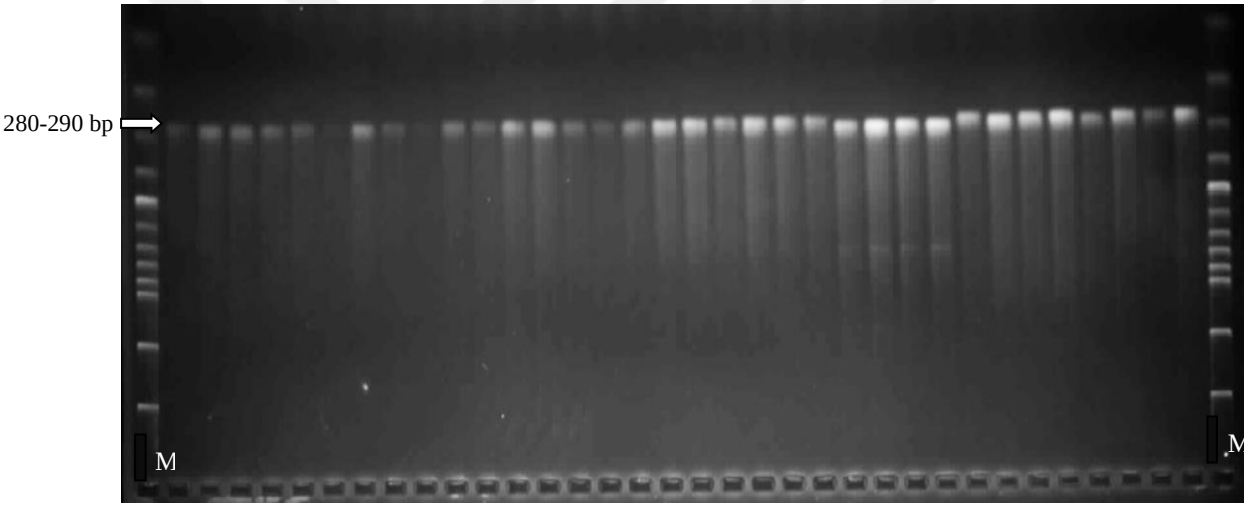
59°C'de 30 sn..... 35 döngü

72°C'de 1 dak.....

72°C'de 10 dak……..1 döngü

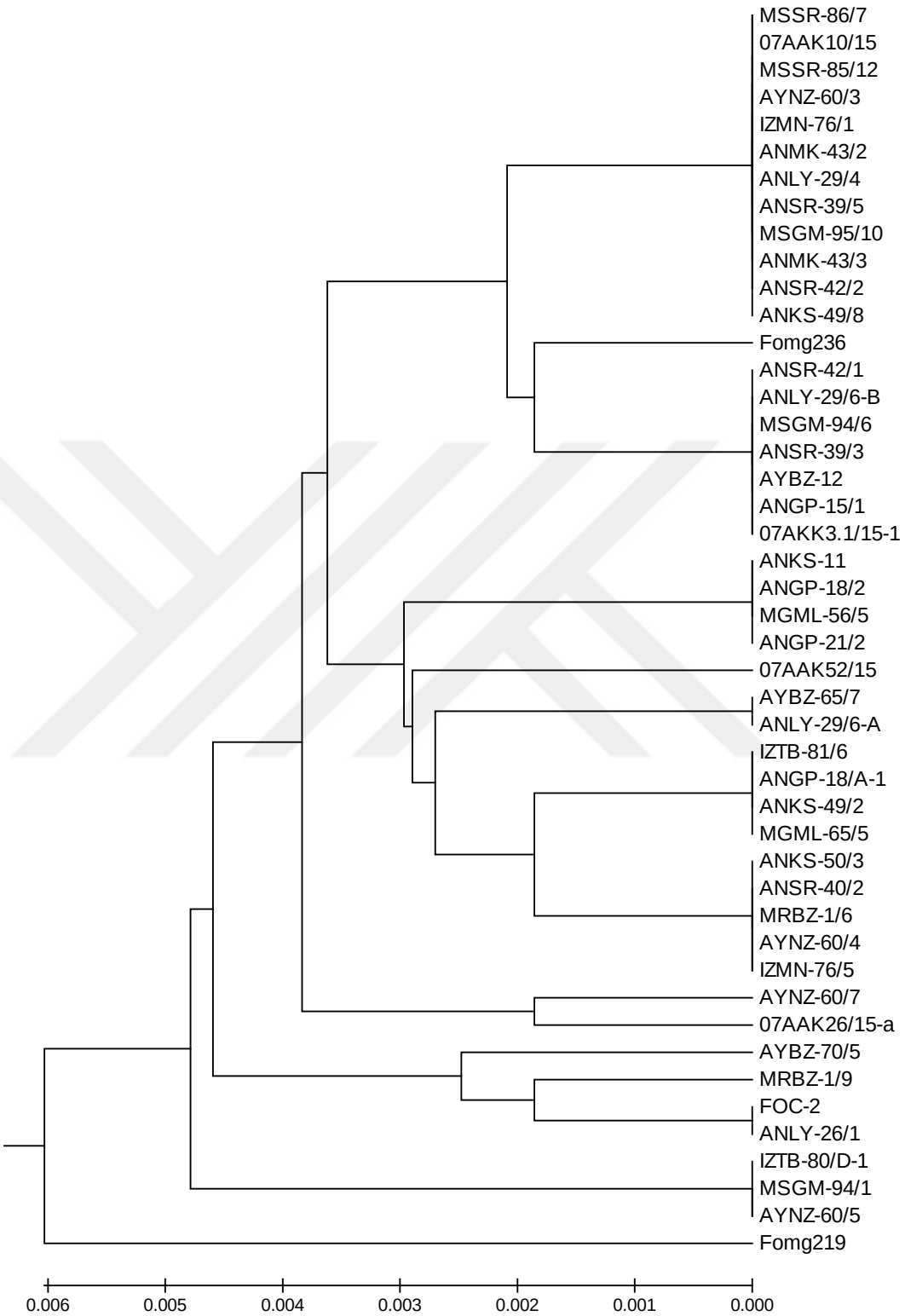
4°C'de bekleme

Actin primerinden ~280-290 bp PCR ürünü elde edilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. *Fusarium oxysporum* f. sp *capsici* (Foc) izolatlarının Actin primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü. Markör (M); 100 bp.

PCR çalışmalarında 20 µl reaksiyon hacmi belirlenmiş, kontrol olarak DNA yerine sadece steril distile su kullanılmıştır. Fol, Forl, Foc ve Fomg için Actin bölgelerinin PCR amplifikasyonunu gerçekleştirilmiş ve daha sonra belirtilen aralıkta bant veren her bir izolat için ayrı ayrı olmak üzere PCR ürünlerinin forward ve reverse sekans verileri elde edilmiştir. Foc izolatlarının forward ve reverse sekanslarından konsensus dizileri elde edilerek hizalanmıştır. Farklı f. sp. izolatları olarak Fol, Forl ve Fomg izolatlarından 2 adet hizalamalara dahil edilmiştir. Filogenetik analizler ayrıntılı olarak, Moleküler Çalışmalar kısmında Bölüm 2.2.4.1'de verilmiştir. Actin primeri ile her bir f. sp. grubu için MEGA programında oluşturulan dendrogramlar Şekil 3.9'da verilmiştir. Dendrogramda yer alan izolatların kodları ve lokasyonları Tablo 3.7'de verilmiştir.



Şekil 3.9. Toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) izolatı ve 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatının Actin primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda elde edilen sekans verilerinden oluşturulan dendrogram. Fol (07AKK3.1/15-1; 07AAK52/15), Forl (07AAK26/15-a; 07AAK10/15), Fomg (Fomg236; Fomg219).

Actin primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda Foc izolatlarının sekansların karşılaştırma analizlerine dahil edilen diğer f. sp.'lerle birlikte oluşturulan dendrogramda 2 ana grup meydana gelmiştir. Gruplardan birinde yalnızca tek Fomg izolatı (Fomg219) dahil olurken diğer izolatlar farklı f. sp.'ler ile birlikte diğer gruba dahil olmuştur. Bu grupta farklı alt gruplar bulunmakla beraber bu primer, izolatları anlamlı bir şekilde filogenetik açıdan sınıflandıramamıştır.

3.2.2.3. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatlarının Beta-tubulin Primeri ile PCR Çalışmaları

Beta-tubulin primeri ile toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolat setinin PCR çalışmaları yapılmıştır. PCR çalışmalarında yer alan izolatlara ait lokasyonlar ve izolatların kodları Tablo 3.7'de verilmiştir. İlgili bu bölge için dizayn edilen primerle PCR çalışmaları, izolatların amplifikasyonlarını tüm genom üzerinden başarılı bir şekilde ortaya koymuştur. Beta-tubulin primeri ile PCR çalışmaları kapsamında optimize edilen reaksiyon koşulları ve PCR döngü parametrelerine aşağıda yer verilmiştir.

Reaksiyon koşulları:

1X (20 µl volume)	
10x Taq DNA polimeraz buffer	2,5 µl
25 mM $MgCI_2$	2,5 µl
2 mM dNTP	2,0 µl
Taq polimeraz (1 unit)	0,20 µl
10 µM F-Primer	1,0 µl
10 µM R-Primer	1,0 µl
Template DNA (25 ng)	1,0 µl
ddH_2O	9,8 µl

PCR döngü parametresi:

94ºC'de 2 dak……..1 döngü

94ºC'de 30 sn .....

53°C'de 30 sn..... 35 döngü

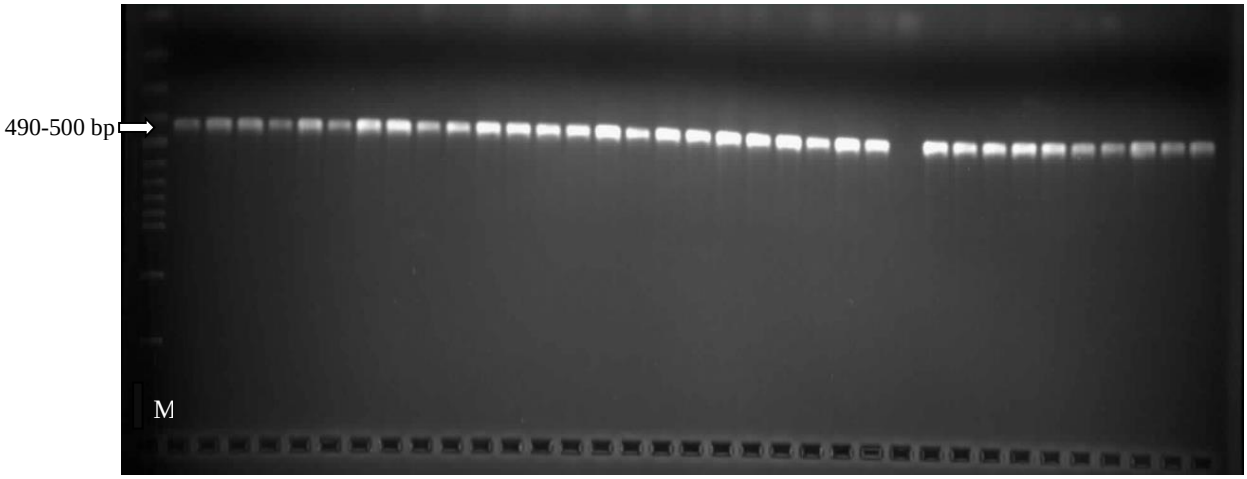
72ºC'de 1 dak.....

72ºC'de 10 dak……..1 döngü

4°C'de bekleme

Her bir izolat için ayrı ayrı olmak üzere PCR amplifikasyonunu takiben ortaya çıkan bantların PCR ürünlerine ait çift yönlü sekans verilerinin hizmet alımı şeklinde firmadan temini sağlanmıştır.

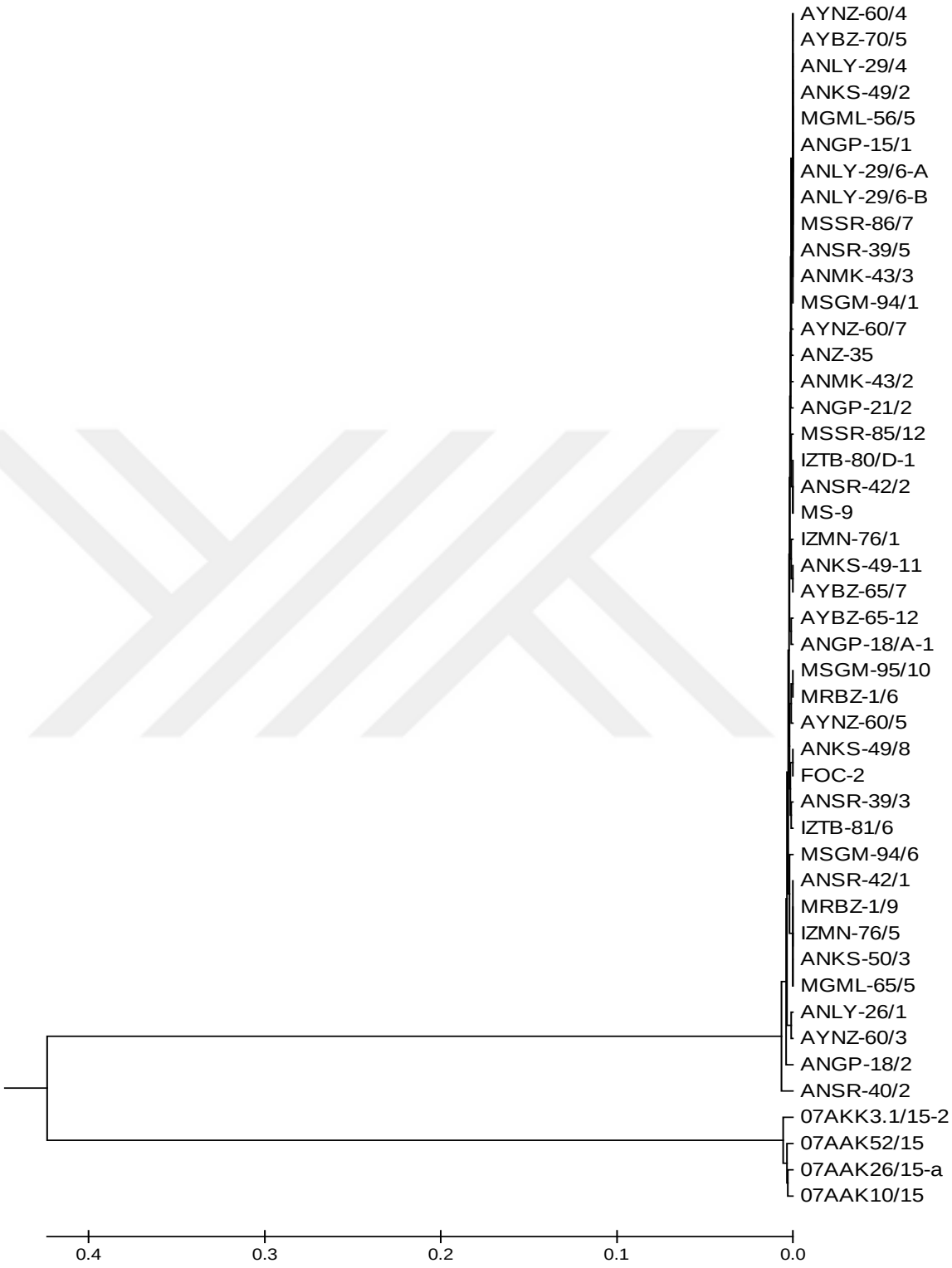
Beta-tubulin gen bölgesi için ~490-500 bp PCR ürünü elde edilmiştir. Şekil 3.10'da Beta-tubulin primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü sunulmuştur.



Şekil 3.10. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatlarının Beta-tubulin primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü. Markör (M); 100 bp.

PCR çalışmalarında 20 µl reaksiyon hacmi belirlenmiş, kontrol olarak DNA yerine sadece steril distile su içeren reaksiyonlar kullanılmıştır. Fol, Forl, Foc ve Fomg için Beta-tubulin bölgelerinin PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiş ve daha sonra belirtilen aralıkta bant veren her bir izolat için ayrı ayrı olmak üzere PCR ürünlerinin forward ve reverse sekans verileri elde edilmiştir. Foc izolatlarının forward ve reverse sekanslarından konsensus dizileri elde edilerek, hizalanmıştır. Farklı f. sp. izolatları olarak Fol, Forl ve Fomg izolatlarından 2 adet hizalamalara dahil edilmiştir. Filogenetik analizler ayrıntılı olarak Moleküler Çalışmalar kısmında Bölüm 2.2.4.1'de verilmiştir.

Beta-tubulin primeri ile her bir f. sp. grubu için MEGA programında oluşturulan dendrogramlar Şekil 3.11'de verilmiştir. Dendrogramda yer alan izolatların kodları ve lokasyonları Tablo 3.7'de sunulmuştur.



Şekil 3.11. Toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) izolatı ve 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatının Beta-tubulin primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda elde edilen sekans verilerinden oluşturulan dendrogram. Fol (07AKK3.1/15-2; 07AAK52/15), Forl (07AAK26/15-a; 07AAK10/15), Fomg (MS-9; ANZ-35).

Beta-tubulin primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda Foc izolatları ile birlikte Fol, Forl ve Fomg izolatları dendrogramda iki grup oluşturmuştur. Fol ve Forl izolatları bir grup oluşturmuşlar ve bu izolatlar genetik olarak birbirine yakınlık göstermişlerdir. Toplam 40 adet Foc izolatı 2 adet Fomg izolatı (MS-9; ANZ-35) ile birlikte diğer grupta toplanmışlar ve genetik olarak birbirine çok yakınlık göstermişlerdir. Bu primer için, Foc ve Fomg izolatlarının genetik olarak yakınlığını gösteren benzer durum Fol ve Forl izolatları için oluşturulan dendrogramda da gözlenmiştir.

3.2.2.4. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatlarının Calmodulin Primeri ile PCR Çalışmaları

Calmodulin primeri ile toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolat setinin PCR çalışmaları yapılmıştır. PCR çalışmalarında yer alan izolatlara ait lokasyonlar ve izolatların kodları Tablo 3.7'de verilmiştir.

Calmodulin primerin, optimizasyon çalışmalarında herhangi bir olumsuz durumla karşılaşılmamıştır. PCR çalışmaları kapsamında optimize edilen reaksiyon koşulları ve PCR döngü parametrelerine aşağıda yer verilmiştir.

Reaksiyon koşulları:

1X (20 µl volume)

10x Taq DNA polimeraz buffer	2,5 µl
25 mM $MgCI_2$	2,5 µl
2 mM dNTP	2,0 µl
Taq polimeraz (1 unit)	0,20 µl
10 µM F-Primer	1,0 µl
10 µM R-Primer	1,0 µl
Template DNA (25 ng)	1,0 µl
ddH_2O	9,8 µl

PCR döngü parametresi:

94ºC'de 5 dak……..1 döngü

94ºC'de 40 sn .....

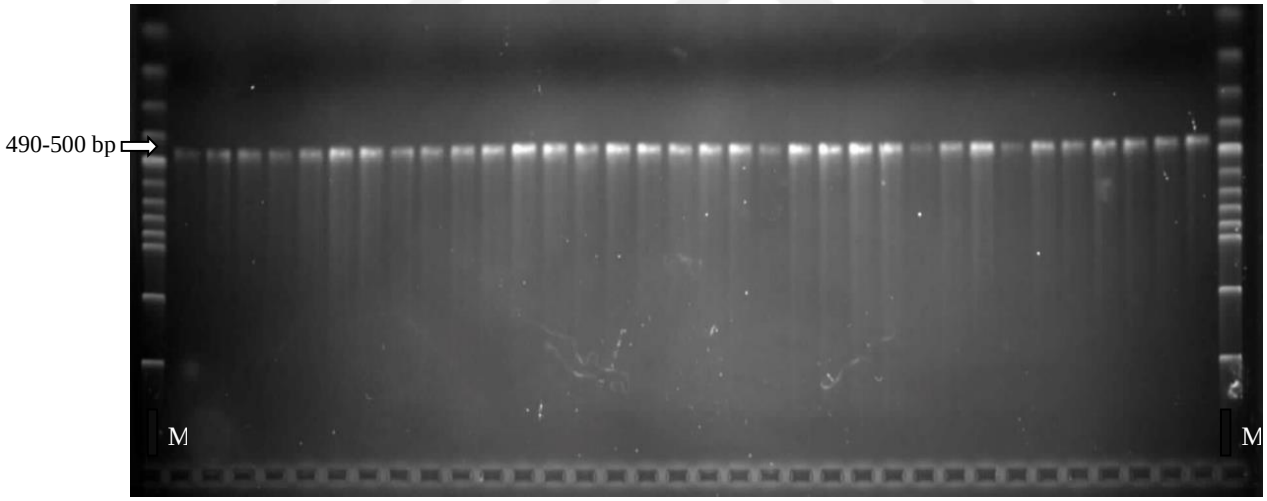
58°C'de 40 sn..... 35 döngü

72ºC'de 1 dak.....

72ºC'de 10 dak……..1 döngü

4°C'de bekleme

PCR amplifikasyonunu takiben oluşan bantların her bir izolat için ayrı ayrı olmak üzere PCR ürünlerine ait çift yönlü sekans verilerinin hizmet alımı şeklinde firmadan temin sağlanmıştır. Calmodulin için ~490-500 bp PCR ürünü elde edilmiştir (Şekil 3.12)



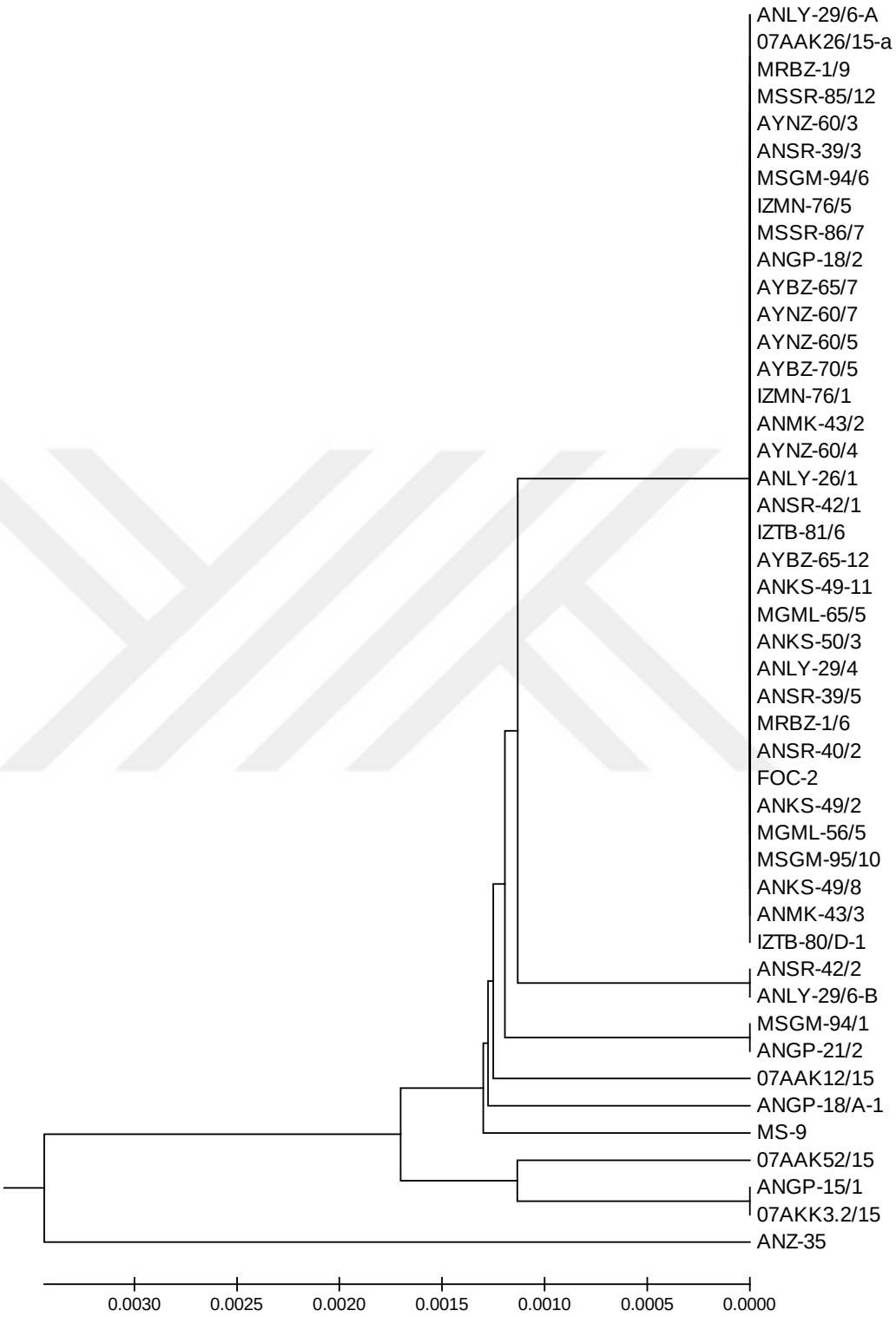
Şekil 3.12. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatlarının Calmodulin primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü. Markör (M); 100 bp.

PCR çalışmalarında 20 µl reaksiyon hacmi belirlenmiş, kontrol olarak DNA yerine sadece steril distile su içeren reaksiyonlar kullanılmıştır. Fol, Forl, Foc ve Fomg için Calmodulin bölgelerinin PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiş ve daha sonra belirtilen aralıkta bant veren her bir izolat için ayrı ayrı olmak üzere PCR ürünlerinin forward ve reverse sekans verileri elde edilmiştir. Foc izolatlarının forward ve reverse sekanslarından konsensus dizileri elde edilerek, hizalanmıştır. Farklı f. sp. izolatları

olarak Fol, Forl ve Fomg izolatlarından 2 adet hizalamalara dahil edilmiştir. Filogenetik analizler ayrıntılı olarak Moleküler Çalışmalar kısmında Bölüm 2.2.4.1'de verilmiştir.

Calmodulin primeri ile her bir f. sp. grubu için MEGA programında oluşturulan dendrogramlar Şekil 3.13'de verilmiştir. Dendrogramda yer alan izolatların kodları ve lokasyonları Tablo 3.7'de sunulmuştur.

Calmodulin primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda bütün izolatlar iki grupta toplanmışlardır. Sekans analizleri sonucunda oluşturulan dendrogramda birinci grupta bir Fomg izolatı (ANZ-35) yer almıştır. İkinci grup iki alt grup oluşturmuş, gruplardan birinde bir adet Foc izolatı (ANGP-15/1) ile birlikte diğer f. sp.'lerden iki Fol izolatı yer alırken, diğer alt grupta 39 adet Foc izolatı ile birlikte diğer f. sp.'lerden 2 adet Forl izolatı yer almıştır. Bu primer, Foc izolatlarını diğer f. sp.'lerden (Fol, Forl ve Fomg) başarılı bir şekilde ayırt edememiştir.



Şekil 3.13. Toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) izolatı ve 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatının Calmodulin primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda elde edilen sekans verilerinden oluşturulan dendrogram. Fol (07AAK3.2/15; 07AAK52/15), Forl (07AAK12/15; 07AAK26/15-a), Fomg (MS-9; ANZ-35).

3.2.2.5. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) İzolatlarının Chitin Synthase Primeri ile PCR Çalışmaları

PCR çalışmaları kapsamında, Chitin Synthase primeri ile toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolat setinin PCR çalışmaları yapılmıştır. PCR çalışmalarında yer alan izolatlara ait lokasyonlar ve izolatların kodları Tablo 3.7'de verilmiştir.

Chitin Synthase primerin Optimizasyon çalışmalarında herhangi bir sorunla karşılaşılmamıştır. İzolatlara ait tüm genom sekans verileri üzerinden (TÜBİTAK-COST 114O866 projesi kapsamında) ilgili bölge için dizayn edilen primerle PCR çalışmaları sonucunda, izolatların amplifikasyonları başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Chitin Synthase primeri ile PCR çalışmaları kapsamında optimize edilen reaksiyon koşulları ve PCR döngü parametrelerine aşağıda yer verilmiştir.

<u>*Reaksiyon koşulları*</u>:

1X (20 µl volume)	
10x Taq DNA polimeraz buffer	2,5 µl
25 mM $MgCI_2$	2,5 µl
2 mM dNTP	2,0 µl
Taq polimeraz (1 unit)	0,20 µl
10 µM F-Primer	1,0 µl
10 µM R-Primer	1,0 µl
Template DNA (25 ng)	1,0 µl
ddH_2O	9,8 µl

PCR döngü parametresi:

94ºC'de 5 dak……..1 döngü

94ºC'de 30 sn .....

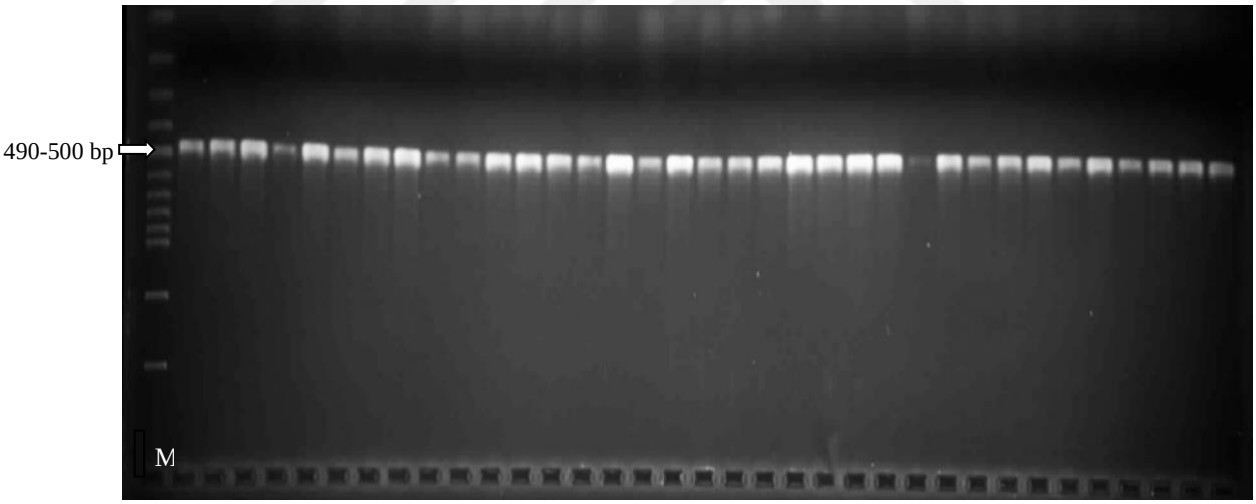
60°C'de 30 sn..... 35 döngü

72ºC'de 1 dak.....

72ºC'de 10 dak……..1 döngü

4°C'de bekleme

PCR amplifikasyonunu takiben oluşan bantların her bir izolat için ayrı ayrı olmak üzere PCR ürünlerine ait çift yönlü sekans verilerinin hizmet alımı şeklinde firmadan temini sağlanmıştır. Chitin Synthase için ~490-500 bp PCR ürünü elde edilmiştir. Şekil 3.14'de Foc izolatlarının Chitin Synthase primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü verilmiştir.

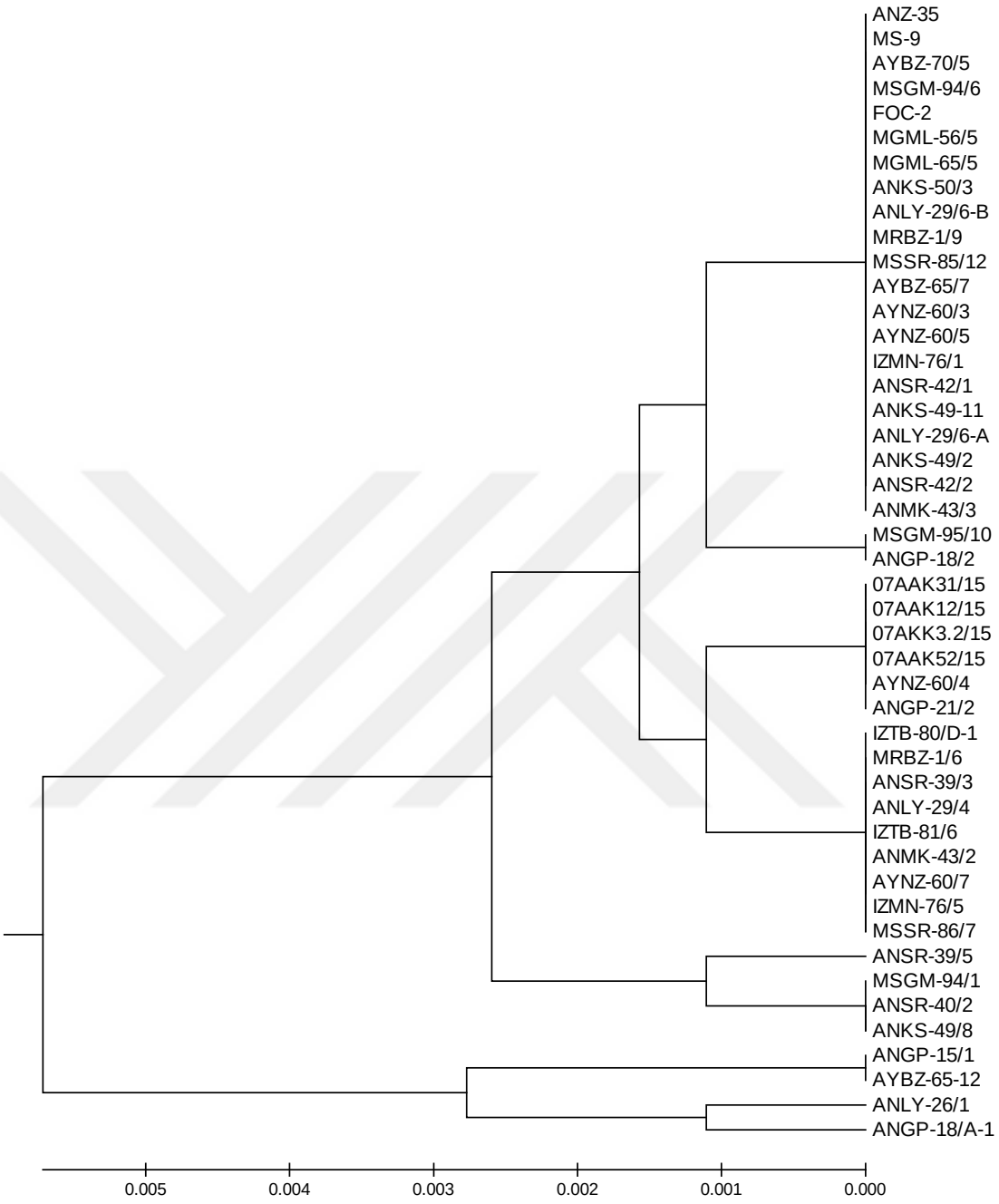


Şekil 3.14. *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatlarının Chitin Synthase primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jelde görünümü. Markör (M); 100 bp.

PCR çalışmalarında 20 µl reaksiyon hacmi belirlenmiş, kontrol olarak DNA yerine sadece steril distile su içeren reaksiyonlar kullanılmıştır. Fol, Forl, Foc ve Fomg için Chitin Synthase bölgelerinin PCR amplifikasyonu amplifikasyonu gerçekleştirilmiş ve daha sonra belirtilen aralıkta bant veren her bir izolat için ayrı ayrı olmak üzere PCR ürünlerinin forward ve reverse sekans verileri elde edilmiştir. Foc izolatlarının forward

ve reverse sekanslarından konsensus dizileri elde edilerek, hizalanmıştır. Farklı f. sp. izolatları olarak Fol, Forl ve Fomg izolatlarından 2 adet hizalamalara dahil edilmiştir. Filogenetik analizler ayrıntılı olarak, Moleküler Çalışmalar kısmında Bölüm 2.2.4.1'de verilmiştir. Chitin Synthase primeri ile her bir f. sp. grubu için MEGA programında oluşturulan dendrogramlar Şekil 3.15'de, dendrogramda yer alan izolatların kodları ve lokasyonları Tablo 3.7'de verilmiştir.

Chitin synthase primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda iki ana grup oluşmuştur. Grup I'de 4 adet Foc izolatı yer almıştır. Grup II kendi içinde 3 alt gruba ayrılmıştır. Alt gruplardan birinde Fol ve Forl izolatları genetik olarak birbirine oldukça yakınlık göstermekle birlikte 11 adet Foc izolatı ile aynı grupta yer almıştır. Diğer alt gruplardan birinde Foc izolatları ile birlikte Fomg izolatları birbirine yakın çıkmıştır. Diğer bir alt grubu ise, Foc izolatları oluşturmuştur. Bu primerle sekans analizi, sınırlı filogenetik çözünürlük sağlamış ve Foc izolatlarını Fol izolatlarından ve konukçu dışı diğer f. sp.'lerden başarılı şekilde ayırt edememiştir.



Şekil 3.15. Toplam 40 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) izolatı, 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Foc) izolatı ve 2 adet *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatının Chitin Synthase primeri ile yapılan PCR çalışmaları sonucunda elde edilen sekans verilerinden oluşturulan dendrogram. Fol (07AKK3.2/15; 07AAK52/15), Forl (07AAK3.1/15; 07AAK12/15), Fomg (ANZ-35; MS-9).

Tez çalışmasında yer alan, kodlayıcı 5 gen bölgesine ait sekans verileri birlikte değerlendirildiğinde Fol, Forl, Foc ve Fomg izolatları arasında sınırlı genetik varyasyon tespit edilmiş ve *F. oxysporum*'un farklı f. spp. gruplarını bu gen bölgeleri birbirinden ayırt edememiştir. Bu bölgeler, f. sp.'ler açısından konukçu tabanlı ayrımı için uygun olmayabilir. Ancak, Beta-tubulin gen bölgesi Fomg ve Foc izolatlarını aynı grupta toplamıştır. Foc izolatları aynı dalda yer alarak monofiletik bir grup oluşturmuştur. Farklı f. sp'leri içeren izolatların beş farklı protein kodlayıcı gen bölgelerinin sekans analizlerinin formae speciales'leri ayırt edici olmadığı belirlenmiştir Konukçu, patojen, ekolojik ve epidemiyolojik faktörler bu patojenlerin genetik olarak farklılaşmasını sınırlandırabilir (Bogale *et al*., 2006). Bitki patojenlerinin genetik olarak farklılaşmasında temel faktörlerin virülenslik ve patojen arasında uygun ilişki, alternatif konukçunun bulunması, saprofitik yeteneği veya uzun süre dayanıklı kalması olduğunu bildirmiştir. Bu uniformitenin diğer bir nedeni ise, bu hastalığa karşı dayanıklı çeşitlerin bulunmamasının, seleksiyon baskısına neden olması sonucu yeni fizyolojik ırkların ortaya çıkmasını engellemesi olarak açıklanabilir (Parker ve Gilbert, 2004). Formae speciales'lerin belirli bitkilere patojenite şeklinde ortaya çıkan bir fenotipik karaktere dayalı oldukları, patojenisitenin birçok faktör tarafından etkilendiği ve filogenetik yeriyle bağlantılı olmak zorunda olmadığını belirtmiştir (Bogale *et al.,* 2006). Araştırmalar incelendiğinde genom sekans analiz sonuçları, konukçuya özelleşmenin aksesuar genler veya lineage spesific (LS) genomik kromozomların (patojenisite kromozomları) varlığı ile bağlantılı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bölgeler patojenisite ile ilişkili efektör genleri taşımakta, kromozom eksilmesi farklı fungal izolatlar arasında yatay transferlerin varlığı ile çekirdek genomdan farklı hızlı ve büyük çaplı re-organizasyonlar göstermektedir (Ma *et al*., 2010). Yatay gen transferi ve virülensle ilişkili kromozomlar arasındaki rekombinasyonlar yeni virülent pathovarların ortaya çıkmasına neden olabilir. *Fusarium* izolatları çekirdek kromozomlarını paylaşırken, virülenslikle ilgili genleri de paylaşmakta ve buna bağlı olarak konukçu patojenisite ve virülenslikleri farklı olabilmektedir. Çekirdek genomda yer alan "housekeeping" genler arasındaki sekans farklılıklarına dayalı standart yaklaşımların çok sayıda *Fusarium* türünü ayırt edemediği ya da farklı f. sp.'ler veya patojenik ve non-patojenik *F. oxysporum* izolatları arasındaki ayrımı yapmada sınırlı filogenetik çözünürlük sağladığı bildirilmiştir (Ma *et al*., 2010). Formae speciales'lerin belirli bitkilere patojenite şeklinde meydana gelen bir fenotipik karaktere dayalı oldukları,

belirli bitkilere patojenisitenin birçok faktör tarafından etkilendiği ve filogenetik yeriyle bağlantılı olmak zorunda olmadığı belirtilmiştir. (Ma *et al*., 2010). Filogenetik ayrımda başarılı bulunan markörlerden translation elongation factor-1α (TEF1-alpha), Beta-tubulin ve internal transcribed spacer (ITS) bölgeleri üzerinden dizayn edilen primer/problar ile Fusarium solgunluk etmeni *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* izolatları spesifik olarak belirlenmiştir (Dubey *et al*., 2014). Türkiye'de elde edilen *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* (Fomg) izolatlarının yapısını ve genetik çeşitliliğini belirlemek için actin (actA) DNA bölgeleri, translation elongation factor 1-alpha (TEF1-alpha), inter-transcribed-spacer (ITS) dizi analizleri ve inter simple sequence repeat (ISSR) bantlama teknikleri kullanılmıştır. Çalışmanın sonucu olarak ITS, TEF1-alpha ve actA bölgelerinden elde edilen sonuçlarda, Türkiye'den örneklenen Fomg izolatları arasında genetik çeşitlilik için bilgi verici bulunmadığı bildirilmiştir (Altınok *et al.,* 2018). Nohuttan izole edilmiş *Fusarium* spp. izolatlarının tür tanımlamalarında TEF1-alpha gen bölgesinin kısmi baz dizilimleri, farklı *Fusarium* türlerinin ayrımında oldukça başarılı bulunduğu bildirilmiştir (Tekeoglu vd., 2017). Filogenetik analizler temel bilimsel veri yanında, epidemiyolojik araştırmalar, moleküler filogenetik ve patojen/forma specialis takibi, spesifik izolat genotiplemesi gibi amaçlarla da kullanılabilmektedir. Ayrıca bu bulgular, hastalık kontrol stratejileri, karantina düzenlemeleri, çeşit geliştirme gibi pek çok tarımsal alan uygulamalarına da katkı sağlayabilecektir.

4. BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünya genelinde sebze tarımında üretimi sınırlandıran en önemli fungal türler arasında patojenik *Fusarium oxysporum*'lar yer alır. Akdeniz Bölgesi'nde Antalya, Mersin, Adana ve Hatay illerinde, Ege Bölgesi'nde Aydın, İzmir, Muğla ve Manisa illerinde sera ve tarlada biber tarımında 2015 ve 2016 yıllarında; "Solgunluk Hastalığı"na neden olan *F. oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) hastalık etmenine ait izolatların elde edilmesi için sörvey çalışmaları yapılmıştır. Sörvey yapılan sera/tarlanın GPS (Global Positioning System; Küresel Konumlama Sistemi) cihazı ile koordinatları kaydedilmiştir.

Türkiye'de Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde biber yetiştiriciliği yapılan alanlarda biberde Fusarium solgunluk hastalığı (*F. oxysporum* Schlecht. f. sp. *capsici*) gözlenmektedir. Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde örtü altı ve açıkta biber yetiştiriciliğinin yaygın olduğu bölgelerde 2015 yılı sörveylerinde Fusarium solgunluk hastalığı simptomlarının karakteristik olarak gözlemlendiği bitkilere genellikle rastlanmamıştır. İzolasyon bulguları da buna paralel sonuç ortaya koymuştur. Sörvey çalışmaları, izolat sayısında sorunla karşılaşmamak için 2016 yılında da yapılmıştır. Yıllık yağış miktarının 2015 yılında, 2016 yılına oranla az olmasının ve 2015 yılının kurak geçmesinin hastalık çıkış oranını etkilemiş olabileceği düşünülmüştür. Akdeniz Bölgesi'nde Mersin, Antalya, Ege Bölgesi'nde Muğla, Aydın, İzmir ve Manisa il ve ilçelerinde 2015 yılında yapılan sörvey çalışmaları sonucunda, inceleme yapılan sera/tarlaların ortalama %25-50'inin solgunluk hastalığı ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Akdeniz Bölgesi'nde Mersin, Antalya, Adana ve Hatay, Ege Bölgesi'nde Muğla, Aydın, İzmir ve Manisa il ve ilçelerinde 2016 yılında yapılan sörvey çalışmaları sonucunda ise, inceleme yapılan sera/tarlaların ortalama %35-55'inin solgunluk hastalığı ile bulaşık olduğu saptanmıştır.

Her iki sörvey yılında da biber sörvey alanlarında Fusarium solgunluk hastalığı düşük yoğunlukta gözlemlenmiştir.

Biber *F. oxysporum* izolatlarının morfolojik olarak tanımlanması yapılmış ve universal *F. oxysporum* tanı primerleri (uni-f & uni-r) ile de moleküler tanısı da yapılmıştır. Makroskobik, mikroskobik incelemeler ve *F. oxysporum*'a duyarlı Atalante F1 çeşidinde yapılan patojenisite denemeleri sonucunda toplam 64 izolat simptomatolojik olarak *F. oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) olarak tespit edilmiştir. Hastalık şiddeti yüzdesine göre, 2015 yılı sörveylerinden elde edilen 38 Foc izolatında üç ana virülenslik grupları tespit edilmiş ve bunların 14'ü düşük-virülens (grup 1; %28-42), 13'ü orta-virülens (grup 2; %43-52) ve 11'i yüksek-virülens (grup 3; %53-72) olarak değerlendirilmiştir. 2016 yılı sörveylerinden elde edilen toplam 26 Foc izolatında üç virülenslik grupları tespit edilmiştir ve bunlardan 3'ü düşük virülens (grup 1; %40-48), 11'i orta-virülens (grup 2; %57-60) ve 12'si yüksek-virülens (grup 3; %67-75) olarak değerlendirilmiştir.

Foc izolatlarının çapraz inokulasyon denemeleri sonucunda, aynı familyaya giren konukçu dışı bitkilerde herhangi bir simptom gözlenmemiştir. Alt yapraklarda hafif solgunluk simptomu gözlenen izolatlara ait bitkiler yaklaşık bir buçuk ay bekletilmiş, solgunlukta herhangi bir ilerleme görülmeyince bu bitkiler re-izolasyon çalışmaları yapılmış, ancak bu hafif solgun bitkilerden *Fusarium oxysporum* izole edilememiştir.

Ülkemiz genelini temsil edecek şekilde toplam 40 izolatlık alt setin *F. oxysporum* f. sp. *capsici* (Foc) TEF1-alpha, Actin, Beta-tubulin, Calmodulin ve Chitin synthase primeri ile PCR analizleri yapılmış, DNA markör bazında genetik varyasyonları belirlenmiş ve formae speciales grupları arasındaki filogenetik ilişkiler değerlendirilmiştir. Bu tez kapsamında TEF1-alpha, Actin, Beta-tubulin, Calmodulin ve Chitin synthase primerleri Fol, Forl, Foc ve Fomg izolatlarının tür içi (f. sp.) ve türler arası (f. sp.'ler) filogenetik farklılığı ortaya koymada yetersiz olmuştur. Dendogramda Foc izolatları aynı dalda yer alarak monofiletik bir grup oluşturmuştur. Günümüzde Foc'un fizyolojik ırk/ırkları tespit edilmemiştir. Genetik olarak farklılaşmayı konukçu, patojen, ekolojik ve epidemiyolojik faktörlerin sınırlandırmış olabileceği düşünülmektedir. Bitki patojenlerinin genetik olarak farklılaşmasında temel faktörlerin virülenslik ve konukçu-patojen arasındaki ilişki, alternatif konukçunun bulunması, saprofitik yeteneği veya

uzun süre dayanıklı kalması olduğunu bildirmiştir. Bu uniformitenin diğer bir nedeni ise, bu hastalığa karşı dayanıklı çeşitlerin bulunmamasının, seleksiyon baskısına neden olarak yeni fizyolojik ırkların ortaya çıkmasını engellemiş olmasıdır. Diğer yandan bu patojenlerin sahip olduğu uniform popülasyon yapısı, biyolojik kontrolü dahil mücadele stratejilerinin geliştirilmesi ve dayanıklılık ıslahı çalışmaları açısından da bir avantaj sağlayacaktır.

Elde edilen bu veriler, temel bilimsel verinin yanında, epidemiyolojik araştırmalar, moleküler filogenetik ve patojen/forma specialis takibi, spesifik izolat genotiplemesi gibi amaçlarla kullanımı olabilecektir. Ayrıca bu verilerin, hastalık kontrol stratejileri ve karantina düzenlemeleri gibi pek çok tarımsal alan uygulamaları da yapılabilecektir. Popülasyon seviyesinde meydana gelen bu genom verileri tür içi/formae speciales grup içi gibi farklı seviyede kullanılabilecek markörlerin geliştirilmesin de imkan elde edilebilecektir. Bu çalışma, Türkiye'de biber üretim alanlarında Foc izolatlarının patojenik ve filogenetik analizine yönelik ilk kapsamlı araştırmadır. Mevcut veriler, biber üretimindeki potansiyel riskler hakkında farkındalık sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Abada KA, Ahmed MA. 2014. Management Fusarium wilt of sweet pepper by *Bacillus* strains. **American Journel Life Sciences, 2** (6-2): 19-25.

Agrios, G. N., 1988, Plant Pathology. 3rd ed. Academic Pres, Inc., New York, 803 pp.

Agrios, G. N., 1997. Plant Pathology. Fourth Edition, Aps Press, St. Paul, Mnn., 327-335 pp.

Agrios G. N., 2005. Plant Pathology. Fifth edition Elsevier Academic Press. London, 952 pp.

Ajilogba, C. F., Babalola, O. O., Ahmad, F., 2013. Antagonistic effects of *Bacillus* species in biocontrol of tomato Fusarium wilt. **Studies on Ethno-Medicine, 7** (3): 205-216.

Aka-Kaçar, Y., 2001. Türkiyede Yetiştirilen Önemli Kiraz (*Prunus Avium* L.) ve Vişne (*Prunus Cerasus* L.) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmak İzi Yöntemi ile Sınıflandırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 192s.

Akıncı, S., Akıncı, İ.E. 1999. Kahramanmaraş kırmızı biber yetiştiriciliğinin sorunları.Türk gıda kodeksi yönetmeliği karşısında Kahramanmaraş biberinin sorunları ve çözüm önerileri paneli, 6 Mart 1999, Kahramanmaraş.

Alexopoulos, C. J., Mıms, C. N., Blackwell, M., 1996. Introductory Mycology. John Willey & Sons Inc. Usa, 869 pp.

Altınok, H. H., Canıhoş, Y., Akgül, D.S., 2002. Patlıcanda Fusarium solgunluğuna karşı patojen olmayan *Fusarium* türü ve Actigard'ın etkinliklerinin belirlenmesi, 429-436 s. Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, 4-7 Eylül, 2002, Erzurum, 463 s.

Altınok, H. H., 2005. First report of Fusarium wilt of eggplant caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* in Turkey. **Plant pathology, 54** (4): 577.

Altınok, H. H., 2006. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Patlıcanda Fusarium Solgunluğu Hastalığı (*Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *melongenae* Matuo and Ishigami)'nın Yaygınlığı, Etmenin Moleküler Karakterizasyonu ve Bitkide Hastalığa Karşı Dayanıklığın Uyarılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi.

Altınok H. H., Can C., 2010. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* isolates from eggplant in Turkey by pathogenicity, VCG and RAPD analysis. **Phytoparasitica, 38** (2): 149-157.

Altınok, H. H., Boyacı, F., Topçu, V. 2012a. Antalya, Mersin ve Samsun illeri örtü altı patlıcan üretim alanlarında Fusarium ve Verticillium solgunluklarının yaygınlığı ve izolatların virülensliklerinin coğrafi dağılımı. **Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 43** (2): 107-115.

Altınok, H. H., Can, C., Dikilitaş, M., Çolak, H., 2012b. Türkiye'de açık tarla patlıcan yetiştiriciliğinde Fusarium solgunluk hastalığının yaygınlığı ve izolatların virülenslikleri. **Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 16** (3): 342-350.

Altınok, H. H. 2013. *Fusarium* species isolated from common weeds in eggplant fields and symptomless hosts of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* in Turkey. **Journal of Phytopathology, 161**: 335-340.

Altınok, H. H, Can, C., Çolak, H. 2013a. Vegetative compatibility, pathogenicity and virulence diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* recovered from eggplant. **Journal of Phytopathology, 161** (9): 651-660.

Altınok H. H., Dikilitas, M., H. N. Yıldız. 2013b. Potential of *Pseudomonas* and *Bacillus* isolates as biocontrol agents against Fusarium wilt of eggplant. **Biotechnology & Biotechnological Equipment, 27** (4): 3952-3958.

Altınok H. H., Can C., Boyaci, H. F., Topçu V., 2014. Genetic variability among breeding lines and cultivars of eggplant against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* from Turkey. **Phytoparasitica, 42** (1): 75-84.

Altinok, H. H., Dikilitas, M., 2014. Antioxidant response to biotic and abiotic inducers for the resistance against Fusarium wilt disease in eggplant (*Solanum melongena* L.). **Acta Botanica Croatica, 73** (1): 79-92.

Altınok, H. H., Erdoğan, O., 2015. Determination of the *in vitro* effect of *Trichoderma harzianum* on phytopathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. **Not Bot Horti Agrobo, 43** (2): 494-500.

Altınok, H. H., Can, C., Altınok, M.A., 2018. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* isolates from Turkey with ISSR markers and DNA sequence analyses. **European Journal of Plant Pathology, 150** (3): 609-621.

Alves-Santos F. M., Benito, E. P., Eslava, A. P., Diaz-Minguez, J. M., 1999. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* strains from common bean fields in Spain. **Applied and Environmental Microbiology, 65** (8): 3335-3340.

Anonim, 2003.**https://projects.ncsu.edu/cals/course/pp728/Fusarium/Fusarium_oxysporum.htm**, (Erişim tarihi: 05.10.2017).

Anonim, 2013. Türkiye İstatistik Kurumu. http://www.tuik.gov.tr (Erişim tarihi: 30.12.2013).

Anonim, 2016a. **http://www.dunyagida.com.tr/kose-yazisi/fitokimyasallar-biber capsicum-spp/5629,** (Erişim tarihi: 28.09.2017).

Anonim, 2016b. **http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC,** (Erişim tarihi: 28.01.2018).

Anonim, 2016c**. https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul, (**Erişim tarihi: 26.09.2017).

Anonim, 2017. Nucleotide Blast. National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; **https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi,** (Erişim tarihi: 02.11.2017).

Anonim, 2018. KKGM, 2010, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, "Biber Hastalık ve Zararlıları"; **https://docplayer.biz.tr/1443977-T-c-tarim-ve-koyisleri-bakanligi-koruma-ve-kontrol-genel-mudurlugu-biber-hastalik-ve-zararlilari.html,** (Erişim tarihi:18.09.2018)

Arda, M., 1995. Biyoteknoloji (Bazı Temel İlkeler). Kükem Derneği Bilimsel Yayınları, Ankara, 432 s.

Arif, M., Chawla, S., Zaidi, N.W., Rayar, J.K., Variar, M., Singh, U.S., 2011. Development of specific primers for genus *Fusarium* and *F. solani* using rDNA sub-unit and transcription elongation factor (TEF1α) gene. **African Journal of Biotechnology 11** (2): 444-447.

Assigbetse, K. B., Fernandez, D., Dubois, M. P., Geigern, J. P., 1994. Differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* races on cotton by random amplified polymorfic DNA (RAPD) analysis. **Phytopathology, 84**: 622-626.

Attia, M., Hamed, H. A., Turky, A. S., 2004. Influence of root colonization with *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizae on promoting tomato seedling, yield and protection against Fusarium crown and root rot. **Bulletin of the National Research Centre (Cairo), 29** (3): 347-360.

Aybak, H. Ç., 2002. Biber Yetiştiriciliği. Hasad Yayıncılık, 155 s.

Baayen, R. P., O'Donnell, K., Bonants, P. J. M., Cigelnik, E., Kroon, L. P. N. M., Roebroeck, E. J. A., Waalwijk, C., 2000. Gene genealogies and AFLP analyses within the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and non-monophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. **Phytopathology, 90** (8): 891-900.

Bashir, M. R., Atiq M., Sajid, M., Mohsan, M., Abbas, W., Alam, M. W., Bashair, M., 2018. Antifungal exploitation of fungicides against *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* causing Fusarium wilt of chilli pepper in Pakistan. **Environmental Science and Pollution Research, 25** (7): 6797-6801.

Baysal, Ö., Çalışkan, M., Yeşilova, Ö., 2008. An inhibitory effect of a new *Bacillus subtilis* strain (eu07) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology, 73**: 25-32.

Benitez, T., Rincon, A., M., Limon, M., C., Codon, A., C., 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology, 7** (4): 249-260.

Black, L. L., Rivelli, V., 1990. Fusarium wilt of pepper in Louisiana. In: Proc. 101t1. Natl. Pepper Conference, 25.27 June. Wilmington, Delaware.

Blancard, D., 1994. A Colour Atlas of Tomato Diseases Observation, Identification and Control. INRA Vegetable Pathology Unit France, 210 pp.

Bogale, M., Wingfield, B. D., Wingfield, M. J., Steenkamp, E. T., 2006. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from Ethiopia using AFLP, SSR and DNA sequence analyses. **Fungal Diversity, 23**: 51-66.

Booth, C., 1971. The Genus *Fusarium*, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 237pp.

Bora, T., Karaca, I., 1970. Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No:167. İzmir, 43 s.

Bora, T., Ozaktan, H., Göre, E., Aslan, E., 2004. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* by wettable powder formulations of the two strains of *Pseudomonas putida*. **Journal of Phytopathology, 152** (8-9): 471-475.

Bozokkalfa, M. K., Eşiyok, D., 2010. Biber (*Capsicum annuum* L.) aksesyonlarında genetik çeşitliliğin agronomik özellikler ile belirlenmesi. **Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 47** (2): 123-134.

Bridge, P. D., Arora, D. K., Reddy, C. A., Elander, R. P., 1998. Appliation of PCR in Mycology. Cab International, New York, 357 pp.

Büyükünal Bal, E. B., 2001. Arpa mikrosatellitlerinin ekmeklik buğdaydaki genetik çalışmalar için kullanım olanaklarının araştırılması. **KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 6** (2): 34-40.

Cai, G., Rosewich, G. L., Schneider, R. W., Kistler, H. C., Davis, R. M., Elias, K. S., Miyao, E. M., 2003. Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a single site in California. **Phtopathology, 93** (8): 1014-1022.

Campbell C., L., Madden L., V., 1990. Introduction to plant disease epidemiology. New York, NY, USA, John Wiley & Sons.

Can, C., Yücel, S., Koç, K., 2004. Doğu Akdeniz Bölgesi kavun ekim alanlarında sorun olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* izolatlarının karakterizasyonları. Türkiye 1. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 8-10 Eylül, 2004, Samsun, 151 s.

Cerkauskas, F. R., 2017. Etiology and management of *Fusarium* crown and root rot (*Fusarium oxysporum*) on greenhouse pepper in Ontario, Canada. **Canadian Journal of Plant Pathology, 39** (2): 121-132.

Chehri, K., Salleh, B., Yli-Mattila, T., Reddy, K.R.N., Abbasi, S., 2011. Molecular characterization of pathogenic *Fusarium* species in cucurbit plants from Kermanshah province, Iran. **Saudi Journal of Biological Sciences, 18** (4): 341-351.

Chet, I., Elad, Y., Kalfon, A., Hadar and Katan, J., 1982. Integrated control soil-borne and bulb-borne pathogens in iris. **Phytoparasitica, 10** (4): 229-231.

Chi, M. H., Park, S. Y., Kim, S., Lee, Y. H., 2009. A novel pathogenicity gene is required in the rice blast fungus to suppress the basal defenses of the host. **Plos Pathogens, 5** (4): e1000401.

Chin-A-Woeng, T. F. C., Bloemberg, G. V., Lugtenberg, B. J. J., 2000. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. **New Phytologist, 157**: 503-523.

Cohen, R., Blajer, B., Katan, J., 1992. Chloroacetamide herbicides reduce incidence of Fusarium wilt in melons. **Crop Protection, 11**: 181-185.

Cohen, R., Blajer, B., Schaffer, A. A., Katan, J., 1996. Effect of acetochlor treatment on Fusarium wilt and sugar content in melon seedlings. **European Journal of Plant Pathology, 102** (1): 45-50.

Cook, R., J., 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. **Annual Review Phytopathology, 31**: 53-80.

Çetinkaya, E., Ayhan K., 2012. Mikrobiyolojide kullanılan bazı moleküler teknikler. **Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, 2** (1): 53-62.

Çolak, A., Biçici, M., 2011. Doğu Akdeniz Bölgesi örtü altı domates yetiştiriciliğinde *Fusarium oxysporum* spesiyal formlarının simptomatolojik ayrımı ile solgunluk ve kök- kök boğazı çürüklüğü hastalıklarının çıkış, şiddet ve yaygınlıklarının belirlenmesi. **Bitki Koruma Bülteni, 51** (4): 331-345.

Çolak A., Biçici, M., 2013. "PCR detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* of tomato in protected tomato-growing areas of the eastern Mediterranean region of Turkey", **Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 37**: 457-467.

Darvishnia, M., 2013. Morphological and phylogenetic studies of *Fusarium* species in Iran. **Journal of Novel Applied Sciences, 2**: 1134-1142.

Dieffenbach, C. W., Lowe, T. M. J., Dveksler, G. S., 1993. General concepts for PCR primer design. **PCR Methods and Applications, 3** (3): 30-37.

Dubey, S. C., Priyanka, K., Upadhyay, B. K., 2014. Development of molecular markers and probes based on TEF-1α, β-tubulin and ITS gene sequences for quantitative

detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* by using real-time PCR. **Phytoparasitica, 42**: 355-366.

Edel, V., Steinberg, C., Gautheron, N., Alabouvette, C., 2000. Ribosomal DNA-targeted oligonucleotide probe and PCR assay specific for *Fusarium oxysporum.* **Mycological Research, 104** (5): 518-526.

El-Abyad, M., S., El-Sayed, M., A., El-Shansoury, A., R., ElSabbagh, S., A., 1993. Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic *Streptomyces* spp. **Plant Soil, 149**: 185- 195.

Elias, K.S., Zamir, D., Lichtman-Pleban, T., Katan, T., 1993. Population structure of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: restriction fragment lenght polymorphism provide genetic evidence that vegetative compatibilty group is an indicator of evolutionary origin. **Molecular Plant Microbe Interactions, 6** (5): 565-572.

Elmer, W. H., Ferrandino, F. S., 1993. Comparison of amonium sulfate and calcium nitrate fertilization effects on Verticillium wilt of eggplant. **Plant Disease, 78**: 811-816.

Eshel, D., Gamliel, A., Grinsteiın, A., Di Primo, P., Katan, J., 2000. Combined soil treatments sequence of application in improving the control of soilborne pathogens. **Phytopathology, 90**: 751-757.

Ferniah R. S., Daryono B. S., Kasiamdari R. S., Priyatmojo A., 2014. Characterization and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* as the causal agent of Fusarium wilt in Chili (*Capsicum annuum* L.). **Microbiology, 8** (3): 21-126.

Garibaldi, A., 1995. Soilborne Pathogens İn Greenhouse Crops and Their Control, Integrated Pest and Disease Management İn Protected Crops. IAMZ, Zaragoza, 221 pp.

Gazozcuzade, N., 2010. Silifke Yayla Köylerinde Domates Üretiminde Hastalık Yönetimi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 7s.

Geiser, D. M., Jimenez-Gasco, M. M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T. J., Zhang, N., Kuldau, G. A., O'Donnell, K., 2004. *Fusarium*-ID v.1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. **European Journal of Plant Pathology, 110**: 473-479.

Gonsalves, A. K., Ferreira S. A., 1993. *Fusarium oxysporum*, Crop Knowledge Master.

Gordon T., R., Martyn R., D., 1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. **Annual Review of Phytopathology, 35**: 111-28.

Güler Güney İ., Güldür M. E., 2018. Inoculation techniques for assessing pathogenicity of *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* on pepper seedlings. **Turkish Journal of Agricultural Research, 5** (1): 1-8.

Gülser, E., Tüfenkçi, Ş., Demir, S., 2014. Domateste potasyum, salisilik asit ve humik asit uygulamalarının fide çıkışı ve Fusarium solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) etkileri. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 24** (1): 16-22.

Gülşen, O. ve Mutlu, N., 2005. Bitki biliminde genetik markırlar ve kullanım alanları. **Alatarım, 4** (2): 27-37.

Hao, W., Ren, L., Ran, W., Shen, Q., 2010. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. **Plant Soil, 336**: 485-497.

Hashizume, T., Skimamoto, I., Harushima, Y., Yui, M., Sato, T., Imai, T., Hirai., M., 1996. Construction of a linkage map for watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] using random amplified polymorphic DNA (Rapd). **Euphytica, 90** (3): 265-273.

Hawkins, L.K., Dane, F., Kubisiak, T.L., Rhode, B.B., Jarret, R.L., 2001. Linkage mapping in a watermelon population segregating for Fusarium wilt resistance. **Journal of the American Society for Horticultural Science, 126** (3): 344-350.

Hennessy, C., Walduck, G., Daly, A., Padovan, A., 2005. Weed hosts of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 in northern Australia. **Australasian Plant Pathology, 34:** 115-117.

Hernandez, P., 2004. Development and use of genomic tools for cereal introversion breeding, pp. 49-51. *In:* Genetic variation for plant breeding (Eds. J. Vollmann, H. Grausgruber, P. Ruckenbauer). Eucarpia & Boku, Vienna, Austria.

Hibar, K., Daami-Remadi, M., El Mahjoub, M., 2007. Induction of resistance in tomato plants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* by *Trichoderma* spp. **Tunisian Journal of Plant Protection, 2** (1): 47-58.

Hirano Y., Arie T., 2006. PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *radicis-lycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici.* **Journal of General Plant Pathology, 72** (5): 273-283.

Hoffman, G. M., Malkomes, H. P., 1974. Bromide residues in vegetable crops after soil fumigation with methyl bromide. **Agriculture and Environment, 1**: 321-328.

Huelsenbeck, J. P., Ronquist, F., 2001. MrBayes: Bayesian Inference of Phylogeny. **Bioinformatics, 17**: 754-755.

Idnurm, A., Howlett, B. J., 2001. Pathogenicity genes of phytopathogenic fungi. **Molecular Plant Pathology, 2** (4): 241-255.

Jacobson, D. J., Gordon, T. R., 1988. Vegetative compatibility and self-incompatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. **Phytopathology, 78**: 668-672.

Jacobson, D. J., Gordon, T. R., 1990. Variability of mitochondrial DNA as an indicator of relationships between populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. **Mycological Research, 94** (6): 734–744.

Jimenez-Gasco, M. M., Milgroom, M. G., Jimenez-Diaz, R. M., 2002. Gene genealogies support *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* as a monophyletic group. **Plant Pathology, 51**: 72-77.

Jones, J. B., Jones, J. P., Stall, R. E. And Zitter, T. A., 1991. Compendium of Tomato Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, 370 pp.

Kabaş, A., 2008, Domateste *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersic*i'ye Karşı Dayanıklılık için Moleküler İşaretleyicilerin Belirlenmesi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İzmir, 123 s.

Kapoor, I. J., Kar, B., 1988. Antagonistic effects of soil microbes *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causing tomato wilt. **International Journal of Tropical Plant Disease, 6**: 257-262.

Katan, J., 1971. Symptomless carriers of the tomato Fusarium wilt pathogen. **Phytopathology, 61**: 1213-1217.

Katan, J., Greenberger, A., Alon, H., Grinstein, A., 1976. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soil-borne pathogens. **Phytopathology, 66**: 683-688.

Katan, J., 1980. Solar pasteurization of soils for disease control: status and prospects. **Plant Disease, 64** (5): 450-454.

Katan, T., Zamir, D., Sarfatti, M., Katan, J., 1991. Vegetative compatibility groups and subgroups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. **Phytopathology, 81**: 255-262.

Katan, T., 1999. Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum.* **Phytoparasitica, 27** (1): 51-64.

Kawabe, M., Kobayashi, Y., Okada, G., Yamaguchi, I., Teraoka, T., Arie, T., 2005. Three evolutionary lineages of tomato wilt pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, based on sequences of IGS, MAT1, and pg1, are each composed of isolates of a single mating type and a single or closely related vegetative compatibility group. **Journal of General Plant Pathology, 71** (4): 263-272.

Kayrın, L., Aksoy, K., Tuli, A., Çürük, M. A., Atilla, G., 2003. Tanıda DNA Teknikleri. Çukurova Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, 64 s.

Keleş, D., 2007. Farklı Biber Genotiplerinin Karakterizasyonu ve Düşük Sıcaklığa Tolerans. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, 189 s.

Khan, M. R., Khan, S. M., 2002. Effect of root-dip treatment with certain phosphate solubilizing microorganisms on the fusarial wilt of tomato. **Bioresource Technology, 85** (2): 213-215.

Kırbağ, S., Turan, N., 2006. Malatya'da yetiştirilen bazı sebzelerde kök ve kökboğazı çürüklüğüne neden olan fungal etmenler. **Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 18** (2): 159-164.

Kistler, H. C., 2001. Evolution of host specificity in *Fusarium oxysporum*, pp. 70-82. (Eds. B.A. Summerel, J.F. Leslie, D. Backhouse, W.L. Bryden and L.W. Burgess). *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Pres, St. Paul, Minn.

Kuramae, E. E., De Souza, N. L., 2002. Variabilidade genetica entre formae speciales de *Fusarium oxysporum* e raças 1 e 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

atraves de RAPD e sequencias de regioes ITS e rDNA. **Acta Scientiarum, 24** (5): 1481-1485.

Kurt, Ş., 2012. Bitki Fungal Hastalıkları Kitabı. Akademisyen Kitabevi, Ankara, 214 s.

Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm A., Lopez, R., Thompson J. D., Gibson, T. J., Higgins, D. G., 2007. ClustalW and ClustalX version 2. **Bioinformatics, 23**: 2947-2948.

Lee, S. J., Shin, J. S., Park, K. W., Hong, Y. P., 1996. Detection of genetic diversity using RAPD-PCR and sugar analysis in watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.) germplasm. **Theoretical and Applied Genetics, 92**: 719-725.

Leonian, L. H., 1919. Fusarium wilt of chile pepper. **New Mexico Agricultural Experimental Station Technical Bulletin, 121.**

Leslie, J. F., Summerell, B. A. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Ames, Iowa, USA, Blackwell Professional.

Li, G., Quiros, C. F., 2001. Sequence-Related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. **Theoretical and Applied Genetics, 103** (2-3): 455-461.

Li, L., Ma, J., Li, Y., Wang, Z., Gao, T., Wang, Q., 2012. Screening and partial characterization of *Bacillus* with potential applications in biocontrol of cucumber Fusarium wilt. **Crop Protection, 35**: 29-35.

Lin, H. Y., Chen, S. K., Liou, D. T., Huang, W. J., Chang, L. F. P., 2009. Development of a molecular method for rapid differentiation of watermelon lines resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. **Botanical Studies, 50**: 273-280.

Ma, L. J., van der Does, H. C., Borkovich, K. A., Coleman, J. J., Daboussi, M. J., Di Pietro, A., Dufresne, M., Freitag, M., Grabherr, M., *et al*., 2010. Comparative genomics reveals mobile pathogenicity chromosomes in *Fusarium*. **Nature, 464**: 367-373.

Mandeel, Q., Baker, R., 1991. Mechanisms involved in biological control of Fusarium wilt of cucumber aith strains of nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. **Phytopatholog, 81**: 462-469.

Maor, R., Shirasu, K., 2005. The arms race continues: battle strategies between plants and fungal pathogens. **Current Opinion in Microbiology, 8** (4): 399-404.

Martin-Urdiroz, M., Isabel, M., Roncero, G., Gonzalez-Reyes, J. A., Ruiz-Rolda, C., 2008. ChsVb, a class VII chitin synthase involved in septation, is Critical for pathogenicity in *Fusarium oxysporum*. **Eukaryotic Cell, 7** (1): 112-121.

Maukhamedov, R., Hu, X., Nazar, R. N., Robb, J., 1994. Use of polymerase chain reaction-amplified ribosomal intergenic sequences for the diagnosis of *Verticillium tricorpus.* **Phytopathology, 84**: 256-259.

Mbofung, G. Y., Hong, S. G., Pryor, B. M., 2007. Phylogeny of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* inferred from mitochondrial small subunit, elongation factor 1-α, and nuclear ribosomal intergenic spacer sequence data. **Phytopathology, 97** (1): 87-98.

Müler, M. V. G., Germani, J. C., Van Der Sand, S. T., 2005. The use of RAPD to characterize *Bipolaris sorokiniana* isolates. **Genetics and Molecular Research, 4** (4): 642-652.

Nejad, P., Johnson, P. A., 2000. Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. **Biological Control, 18** (3): 208-215.

Nelson, P. E., Toussoun, T. A., Marasas, W. F. O., 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. University Park: Pennsylvania State University Press, London, 190 pp.

O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., Ploetz, R. C., 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondria1 gene genealogies. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 95** (5): 2044-2049.

O'Donnell, K., Humber, R. A., Geiser, D. M., Kang, S., Park, B., Robert, V. A., Crous, P. W., Johnston, P. R., Aoki, T., Rooney, A. P., Rehner, S. A., 2012. Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and Fusarium MLST. **Mycologia, 104:** 427-445.

Ozbay, N., Steven, E. N., 2004. Fusarium crown and root rot of tomato and control methods. **Plant Pathology Journal, 3** (1): 9-18.

Omar, I., O'Neill, T. M., Rossall, S., 2006. Biological control of Fusarium crown and root rot of tomato with antagonistic bacteria and integrated control when combined with the fungicide carbendazim. **Plant Pathology, 55**: 92-99.

Özer, N., Soran, H., 1991. *Fusarium* Genus and *Fusarium* Species Isolated From The Cultivated Plants in Turkey. **Journal of Turkish Phytopathology, 20** (2-3): 69-80.

Parry, D., 1990. Plant Pathology in Agriculture. Cambridge University Pres, Cambridge, 197pp.

Parker, I. M., Gilbert, G. S., 2004. The evolutionary ecology of novel plant-pathogen interactions. **Annual Review of Ecology, Evolutions and Systematics, 35**: 675-700.

Pérez-Hernández, A., Serrano-Alonso, Y., Aguilar-Pérez, M. L., Gómez- Uroz, R., Gómez-Vázquez, J., 2014. Damping-off and root rot of pepper caused by *Fusarium oxysporum* in Almeria province, Spain. **Plant Disease, 98**: 1159.

Perez-Sierra, A., Landeras, E., Leon, M., Berbegal, M., Garcia-Jimenez, J., Armengol, J., 2007. Characterization of *Fusarium circinatum* from *Pinus* spp. in northern Spain. **Mycological Research, 111** (7): 832-839.

Pernezny, K., 2003. Diseases caused by infectious agents, pp. 5-22. *In:* Compendium of pepper diseases (Eds: P.D. Roberts, J.F. Murphy and N.P. Goldberg). The American Phytopathological Society, USA.

Podile, A. R., Prasad, G. S., Dube, H. C., 1985. *Bacillus subtilis* as antagonist to vascular wilt pathogens. **Current Science, 54**: 864-865.

Postic, J., Cosic, J., Vrandecic, K., Jurkovic, D., Saleh, A. A., Leslie, J., F., 2012. Diversity of *Fusarium* species isolated from weeds and plant debris in Croatia. **Journal of Phytopathology, 160**: 76-81.

Puhalla, J. E., 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. **Canadian Journal of Botany, 63** (2): 179-183.

Rowe, R. C., Farley, J. D., 1977. New greenhouse tomato disease can be controlled. **Ohio Rep., 62**: 41-43.

Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., 1989. Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 2nd Edition. Cold Spring Harbor, Ny: Cold Harbor Laboratory Press, 626 pp.

Sampietro, D. A., Marín, P., Iglesias, J., Presello, D. A., Vattuone, M. A., Catalan, C. A., Gonzalez Jaen, M. T., 2010. A molecular based strategy for rapid diagnosis of toxigenic *Fusarium* species associated to cereal grains from Argentina. **Fungal Biology, 114:** 74-81.

Schmitt, I., Crespo, A., Divakar, P. K., Fankhauser, J. D., Herman-Sackett, E., Kalb, K., Nelsen, M. P., Nelson, N. A., 2009. New primers for promising single-copy genes in fungal phylogenetics and systematics. **Persoonia, 23**: 35-40.

Singha, I. M., Kakoty, Y., Unni, B., 2011. Control of Fusarium wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* using leaf extract of *Piper betle* L.: a preliminary study. **World Journal of Microbiology Biotechnology,** DOI 10.1007/s11274-011-0730-6.

Sneath, P. H. A., Sokal, R. R., 1973. Numerical taxonomy; the principles and practice of numerical classification. San Francisco: Freeman, 573 pp.

Shabani, F., Kumar, L., Esmaeili, A., 2014. Future distributions of *Fusarium oxysporum* f. spp. in European, Middle Eastern and North African agricultural regions under climate change. **Agriculture, Ecosystems and Environment, 197**: 96-105.

Solmaz, İ., Sarı, N., Aka-Kaçar, Y., Yalçın-Mendi, Y., 2010. The genetic charterization of Turkish watermelon (*Citrullus lanatus*) accessions using RAPD markers. **Genetic Resources and Crop Evolution, 57** (5): 763-771.

Stahl, E. A., Bishop, J. G., 2000. Plant-pathogen arms races at the molecular level. **Current Opinion in Plant Biology, 3** (4): 299-304.

Staub, J. E, Serquen, F. C., Gupta, M., 1996. Genetic markers, map construction and their application in plant breeding. **Hortscience, 31**: 729-741.

Summerel, B. A., Leslie, J. F., Backhouse, D., Bryden, W. L., Burgess, L. W., 2001. *Fusarium*, Paul E. Nelson Memorial Symposium. Aps Press, St. Paul, Minnesota, 1-192 pp.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution, 30**: 2725-2729.

Taylor, J. W., Jacobson, D. J., Kroken, S., Kasuga, T., Geiser, D. M., Hibbett, D. S., Fisher, M. C., 2000. Phylogenetic species recognition and species concept in fungi. **Fungal Genetic and Biology, 31** (1): 21-32.

Tekeoglu, M., Ozkilinc, H., Tunali, B., Kusmenoglu, I., Chen, W., 2017. Molecular identification of *Fusarium* spp. causing wilt of chickpea and the first report of *Fusarium redolens* in Turkey. **Mediterranean Agricultural Sciences, 30**: 27-33.

Thirumalachar, M. J., Rhalkar, P. W., Sukapure, R. S., Pawar, P. H., Desia, P. V., 1970. Control of damping-off and root rot with use of *Streptomyces* species**. Hindustan Antibiotics Bulletin, 12**: 138-141.

Turhan, G., 1981. A new race of *Streptomyces* ochraceiscleroticus in the biological control of some soil-borne plant pathogens II. *in vivo* studies on the possibilities of using C/2-9 against some important diseases. **Journal of Plant Diseases and Protection, 88**: 422-434.

Vakalounakis, D. J., Fragkiadakis, G. A., 1999. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumer, differentiation by pathogenecity, vegetative compatibility and RAPD fingerprinting. **Phytopathology, 89** (2): 161-168.

Velarde-Félix, S., Garzón-Tiznado J. A., Hernández-Verdugo, S., López-Orona, C. A., Retes-Manjarrez, J. E., 2018. Occurrence of *Fusarium oxysporum* causing wilt on pepper in Mexico. **Canadion Journal of Plant Pathology,** doi.org/10.108 0/07060661. 2017.1420693.

Veloso, M. M., Melo, E. M. P. F., Jorge-Silva, M. L., Bravo, M. A., 2000. Genetic diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis.* diseases of cucurbitaceous and solanaceous vegetable crops the mediterranean region. **OEPP/EPPO Bulletin, 30** (2): 195-197.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van Der Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research, 23** (21): 4407-4414.

Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ., 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 440 s.

Wang, H., Xiaho, M., Kong, F., Chen, S., Dou, H. T., Li, R. Y., Xu, Y. C., Sorrell, T., 2011. Accurate and practical identification of 20 *Fusarium* species by seven-locus sequence analysis and reverse line blot hybridization, and an *in vitro* antifungal susceptibility study. **Journal of Clinical Microbiology, 49**: 1890-98.

Williams, J. V., Kubelik, A. R., Livak, K., Rafalski, J. A., Tingey, S., 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are usefull as genetic markers, **Nucleic Acid Research**, **18** (22): 6531- 6535.

Wu, H. S., Wang, Y., Zhang, C. Y., Gu, M., Lıu, Y. X., Chen, G., Wang, J. H., Tang, Z., Mao, Z. S., Shen, Q. R., 2009. Physiological and biochemical responses of *in vitro Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* to benzoic acid. **Folia Microbiologica, 54** (2): 115-122.

Yeğen, O., 1987. Fitopatoloji. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 203 s.

Yetişir, H., Sarı, N., Yücel, S., 2003. Rootstock resistance to Fusarium wilt and effect watermelon fruit yield and quilty. **Phytoparasitica, 31** (2): 163-169.

Yli-Mattila, T., Paavenen-Huhtala, S., Bulat, S. A., Alekhina, I. A., Nirenberg, H. I., 2001. Molecular, morphological and phylogenetic analysis of the *Fusarium avenaceum/F. arthrosporioides/F. tricinctum* species complex - a polyphasic approach. **Mycological Resarch, 106** (6) : 655-669

Yli-Mattila, T., Mach, R. L., Alekhina, I. A., Bulat, S. A., Koskinen, S., Kullnig-Gradinger, C. M., Kubicek, C. P., Klemsdal, S. S., 2004. Phylogenetic relationship of *Fusarium langsethiae* to *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichioides* as inferred by IGS, ITS, ß-tubulin sequences and UP-PCR hybridization analysis. **International Journal of Food Microbiology, 95** (3): 267-285.

Yorgancılar, M., Yakışır, E., Tanur Erkoyuncu, M., 2015. Moleküler markörlerin bitki ıslahında kullanımı. **Journal of Bahri Dagdas Crop Research, 4** (2):1-12.

Yücel, S., 1989. Domates Fusarium solgunluğuna *(Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *Iycopersici* (Sacc.) Synd. and Hans) karşı biyolojik kontrolde antagonistlerin ve toprak solarizasyon uygulamasının karşılıklı etkileşimlerinden yararlanma

olanakları üzerinde araştırmalar. Adana Zirai mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Araştırma Yayınları Serisi, Yayın No: 64.

Yücel, S., 1994. Akdeniz bölgesi örtü altı sebze alanlarında görülen fungal hastalıklar. **Bitki Koruma Bülteni, 34** (1-2): 23-33.

Yücel, S., Ozarslandan, A., Çolak, A., Ay, T., 2009. Methyl bromide alternatives for controlling Fusarium wilt and root knot nematodes in tomatoes in Turkey. **Acta Horticulture, 808** (63): 381-385.

Yücel, S., Günaçtı, H., Sezen, S. M., 2013. Salçalık biber yetiştiriciliğinde farklı sulama yöntemlerinin toprak kökenli hastalık çıkışı ve verime etkileri. **Derim, 30** (2): 11-21.

EKLER

Ek 1. İzolasyon Çalışmalarında Kullanılan FMM Stok Solüsyonu

FMM STOK SOLÜSYONLARININ HAZIRLANMASI (50X STOK SOLÜSYONU)

$NaNO_3$	40 gr
KH_2PO_4	20 gr
$MgSO_4.7H_2O$	10 gr
KCI	10 gr
400 ml	ddH_2O

FMM İZ ELEMENTLER STOK SOLÜSYONU

Citric Acid	5 gr
$ZnSO_4.7H_2O$	5 gr
$FeSO_4.7H_2O$	4,75 gr
$Fe(NH_4)SO_4.6H_2O$	1 gr
$CuSO_4.5H_2O$	250 mgr
$MnSO_4.H_2O$	50 mgr
H_3BO_3	50 mgr
$Na_2MoO_4.2H_2O$	50 gr
95 ml	ddH_2O

FMM ortamı hazırlamak için;

FMM (x50)	20 ml
İz elementler	200 µl
Sakaroz	30 gr
Agar	20 gr
dH_2O	1000 ml

Ek 2. PCR ve Agaroz Jel Elektroforez Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar ve Solüsyonlar

Primer Sulandırma: Primerler ürün bilgilerinden 100 µM (100 pmol) oranı esas alınarak sulandırılmıştır. Primerlerin 100 pmol'lük stok konsantrasyonlarından 10 pmol'lük çalışma stokları hazırlanmıştır.

DNA Derişim Hesabı: İzole edilen DNA'nın nanodrop ölçüm sonuçları üzerinden, 25 ng/µl çalışma stoğu hazırlanmıştır. Saf DNA için; 260 nm/280 nm; 260 nm/230 nm oranları dikkate alınarak nitelikli DNA'lar çalışma kapsamına alınmıştır.

10X TBE (Tris-Borik Asit-EDTA) Buffer (pH 8,0)

10,8 gr ..... Tris Baz (Sigma) ..... 0,9 M

5,5 gr ..... Borik Asit (Merck)..... 0,9 M

0,74 gr ..... Na_2EDTA (Sigma) ..... 0,02 M

Agaroz Jel (%2) Tankının Hazırlanması

Jel tankının hacmine göre (1,5 gr Agaroz (Sigma) 100 ml 1XTBE; Merck)

1X TBE buffer (Running Buffer)

DNA Örnekleri (PCR Ürünü)'nin Yüklenmesi

Markör (Generuler 100 bp plus DNA ladder 100-3000bp)

4 µl Markör + 2 µl Loading Buffer (Loading Dye)

7 µl PCR Ürünü + 2 µl Loading Buffer

Ethidium Bromid (EtBr; Sigma**)**: DNA'ların görünebilmesi için, EtBr'in 10 mg/ml

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Gamze YÜKSEL

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri:1 Ekim 1993, Denizli

Medeni Durumu: Evli

email: gamze-msf@hotmail.com

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji Lab. Melikgazi/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	ERÜ Fen Bilimler Enstitüsü	2018
Lisans	ERÜ Ziraat Fakültesi	2014
Lise	Çameli Çok Programlı Lisesi	2010

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2015-2017	Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi	TÜBİTAK-COST Araştırma Proje Bursiyeri

YABANCI DİL

İngilizce