

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTALYA İLİ ÖRTÜALTI ALANLARINDA AŞILI FİDELERDEN  
YETİŞTİRİLEN PATLİCANLARDA GÖRÜLEN *VERTICILLIUM DAHLIAE*  
KLEB. İZOLATLARININ MOLEKÜLER YÖNTEMLER KULLANARAK  
TESPİT VE TANIMLANMASI**

**Ünver Talha KOÇ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**2014**

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTALYA İLİ ÖRTÜALTI ALANLARINDA AŞILI FİDELERDEN  
YETİŞTİRİLEN PATLİCANLARDA GÖRÜLEN *VERTICILLIUM DAHLIAE*  
KLEB. İZOLATLARININ MOLEKÜLER YÖNTEMLER KULLANARAK  
TESPİT VE TANIMLANMASI**

**Ünver Talha KOÇ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**(Bu tez çalışması Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından 2013.02.0121.006 nolu proje ile desteklenmiştir)**

**2014**

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTALYA İLİ ÖRTÜALTI ALANLARINDA AŞILI FİDELERDEN  
YETİŞTİRİLEN PATLİCANLARDA GÖRÜLEN *VERTICILLIUM DAHLIAE*  
KLEB. İZOLATLARININ MOLEKÜLER YÖNTEMLER KULLANARAK  
TESPİT VE TANIMLANMASI**

**Ünver Talha KOÇ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

Bu tez 19/12/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Mürsel ÇATAL .....

Prof. Dr. Bülent UZUN.....

Yrd. Doç. Dr. Cengiz İKTEN.....

## ÖZET

### ANTALYA İLİ ÖRTÜALTI ALANLARINDA AŞILI FİDELERDEN YETİŞTİRİLEN PATLICANLARDA GÖRÜLEN *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEB. İZOLATLARININ MOLEKÜLER YÖNTEMLER KULLANARAK TESPİT VE TANIMLANMASI

Ünver Talha KOÇ

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç Dr. Mürsel ÇATAL

Aralık 2014, 57 sayfa

*Verticillium dahliae* kleb. fungusunun sebep olduğu *Verticillium* solgunluğu patlıcanların en ciddi ve ekonomik yönden önemli hastalıklarından biridir. Hastalığı önlemenin en etkin yolu dayanıklı anaçlar üzerine aşılınmış patlıcan çeşitleri kullanmaktır. Bununla birlikte son yıllarda Antalya bölgesinde aşılı patlıcanlarda hastalığın yoğun olarak görüldüğü ve ciddi kayıplara sebep olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada Antalya ilinde yetiştirilen aşılı patlıcanlardan elde edilen *V. dahliae* izolatlarının populasyon ve bölgedeki yaygın veya muhtemel yeni ırk yapılarının moleküler yöntemler kullanılarak tespit ve tanımlanmasına çalışılmıştır. Bu amaçla Antalya, Alanya, Aksu, Finike, Gazipaşa, Konyaaltı, Kumluca ve Manavgat ilçelerinde 20 farklı yerde 54 seradan hastalıklı bitkilerden örnekler alınmış ve *V. dahliae* izolasyonları yapılmıştır. Elde edilen izolatların türe has (species-specific) markör genomik (SSMG) ve ribozomal DNA İntergenik Spacer (IGS) bölgeleri Polymeraze Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılarak DNA dizilimleri belirlenmiştir. Aşılı patlıcan izolatları DNA dizilim ve filogenetik analizleri kullanılarak kendi aralarında ve dünyanın diğer bölgelerinden farklı bitkilerden izole edilen ve gen bankasındaki dizilimleri bulunan *V. dahliae* izolatları ile karşılaştırılmış ve patojenin Antalya bölgesinde yaygın olan populasyon ve ırkları tespit edilmiştir.

İzolasyon çalışmalarında hastalık örneklerinin toplandığı Manavgat ilçesi dışındaki ilçelerde bulunan 11 yerde toplam 30 serada *V. dahliae* tespit edilmiştir. Bu izolatlar 9 farklı anaç ve kalem kombinasyonlarından elde edilmiştir. *V. dahliae*'nin tespit edildiği 30 seranın her birinden alınan tek bir izolat PCR çoğaltmaları ve DNA dizilimlerini elde etmede kullanılmıştır. Japonyadan getirilen ve domateste ırk1 ve ırk2'yi temsil eden 4 izolatda PCR çoğaltmalarına dahil edilmiştir.

Otuz aşılı patlıcan ve 4 domates *V. dahliae* izolatının bu türe has markör genomik bölgesi DB19/DB22 primer çifti kullanılarak yapılan PCR çoğaltmaları beklenen 520 ila 550 baz arasında bir PCR ürünü vermişlerdir. IGS bölgesi primer çifti VdIGSF1/VdIGSF2 ile çoğaltılan 10 patlıcan ve 3 domates izolatının PCR çoğaltmalarından ise 1800 ila 2000 baz arasında ürünler elde edilmiştir.

*V. dahliae*'ye has markör gen bölgesi DNA dizilim analizleri 24 patlıcan izolatının 526 ve 6 izolatın ise 542 bazlık farklı bir dizilime sahip olarak iki farklı izolat grubunu temsil ettiğini göstermiştir. Grup 1 ve 2 olarak adlandırılan bu izolatlar % 100'lük bir benzerlikle *V. dahliae*'nin Dünyada bu zamana kadar belirlenen 7 seq grublarından *seq2* ve *seq4* içinde yer almıştır. Grup 1 izolatları, 2 domates ırk2 ve bir ırk1

izolatına %100 benzerken grup 2 izolatları % 98'den az benzemişlerdir. IGS DNA dizilimlerinde patlıcan izolatlarını A ve B grubu olarak ikiye ayırmıştır. Bu iki grup arasındaki benzerlik % 87 civarında bulunmuştur. A grubundaki izolatlar B grubundakilere kıyasla domates ırk2 izolatlarına daha fazla benzerlik göstermişlerdir (sırasıyla % 95 ve % 79).

30 patlıcan, 4 domates ve gen bankasından 46 farklı bitkiden alınan *V. dahliae*'ye has genomik markör bölgesinin DNA dizilimleri kullanılarak yapılan analizler patlıcan izolatları içinde birbirinden tamamen farklı iki filogenetik grup bulunduğunu göstermektedir. Özellikle birinci grup içindeki izolatlar domates ırk2 izolatlarına daha yakın grup içine girerken ikinci gruptakiler domates izolatlarından ayrı bir grup içinde yer almışlardır. Dünyanın değişik bölgelerinde değişik bitkilerden alınan 42 genbankası DNA diziliminin dâhil edildiği IGS bölgesi analizlerinde patlıcan izolatlarının 2 farklı filogenetik grup içinde yer aldığını göstermiştir. Birinci grupta yer alan izolatlar diğer sebze ve domates ırk2 izolatı ile beraber ikinci grupta yer alanlar ise domates ırk1 ve ırk2 ile tamamen ayrı bir grubun içinde yer almışlardır. *V. dahliae* domates ırk1'e has primer çifti ile yapılan PCR analizleri 30 patlıcan izolatında ırk1 olmadığını göstermiştir.

Bu tez çalışmanın sonuçları *V. dahliae*'nin Antalya bölgesinde aşılı patlıcanlarda genetik olarak 2 farklı izolat grubu veya populasyonunun olduğunu ortaya çıkarmıştır. Moleküler analizler her iki grup içindeki izolatlarında ırk1 olmadığını teyit etmiştir. Analizler yine birinci gruptaki izolatların ırk2 olabileceğini 2. gruptakilerin ise yeni farklı bir grubu temsil edebileceğini göstermiştir.

**ANAHTAR KELİMELELER:** *Verticillium solgunluğu*, aşılı patlıcan, PCR, türe has markör genomik DNA (SSMG), IGS bölgesi, filogenetik ağaç

**JÜRİ:** Yrd. Doç. Dr. Mürsel ÇATAL (Danışman)  
Prof. Dr. Bülent UZUN  
Yrd. Doç. Dr. Cengiz İKTEN

## ABSTRACT

### DETECTION AND CHARACTERIZATION OF *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEB. ISOLATES FROM GRAFTED EGGPLANT GROWN IN THE PROVINCE OF ANTALYA BY MOLECULAR METHODS

Ünver Talha KOÇ

MSc Thesis in Plant Protection

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Mürsel ÇATAL

December 2014, 57 pages

Verticillium wilt caused by soil-borne pathogen *Verticillium dahliae* is one of the most destructive and economically important disease of eggplants in Antalya province. Growing eggplants varieties grafted onto resistant rootstocks is a common and efficient practice to control the disease in the greenhouses of the region. However, the disease has become serious and caused serious losses in the greenhouse-grown grafted eggplants.

In this thesis research, the population and race structure of *V. dahliae* isolates from grafted eggplants were determined by molecular methods. The fungus were isolated from eggplants collected from 54 greenhouses at 20 different sites in Aksu, Alanya, Finike, Gazipaşa, Konyaaltı, Kumluca, Manavgat districts. The pathogen were detected in 30 greenhouses in 11 sites from all districts except Manavgat. The isolates were obtained from 9 different combination of eggplant root stock and scion. DNA were extracted from one single spore isolate representing each greenhouse. DNA were also extracted from 4 tomato isolates representing *irk1* and *irk2* from Japan. *V. dahliae* specific marker genomic (SSMG) and intergenic spacer (IGS) regions of the isolates were amplified and sequenced. While Amplifications of *V. dahliae* specific genomic region of the isolates with primers DB19 and DB22 produced PCR products of 520 to 550 bp, amplifications with IGS regions with primers VdIGSF1/VdIGSR1 yielded products of 1800-2000 bp.

The sequence analysis of *V. dahliae* SSMG regions revealed that the isolates from grafted eggplants had sequences of 526 and 542bp lengths and formed two different population groups named group1 and group2 respectively. The sequences of these groups were compared with the sequences of *V. dahliae* sequence groups previously described in *V. dahliae* isolates from different plants in the world and available in the genbank. Comparisons showed that twenty four *V. dahliae* isolates from eggplant had a sequence of 526 and shared % 100 sequence similarity with seq2 isolates from olive. Six isolates had a sequence of 542 and were % 100 similar to seq4 isolates from cotton. Group 1 eggplant isolates displayed % 100 sequence similarity with two race-2 and one race-1 tomato isolates from Japan. The similarity of the group2 isolates to race-1 and race-2 isolates were less than 98%. The IGS sequences analysis also divided grafted eggplants isolates into two groups named group A and group B. The sequence similarity between these two groups was % 87. The isolates in the group A shared more sequence homology (% 95) with race-2 tomato isolates than group B (% 79).

Phylogenetic analysis of SSMG sequences from 30 eggplant, 4 tomato and 48 genbank sequences of the isolates also revealed that isolates from eggplants fall into 2 different groups. Group 1 isolates were found to be more closely related to race-2 tomato isolates and other isolates from vegetables. On the other hand group 2 isolates were

phylogenetically distant from race-1 and race-2 tomato isolates. Phylogenetic analysis of IGS sequences were performed with the sequences of ten grafted eggplant, two race-2 and one race-1 tomato and 42 genbank isolates from different region and different plants around the world. The analysis showed again that grafted eggplant isolates grouped in two different groups previously determined in sequence analysis as group A and group B. Group A isolates grouped together with tomato race-2 and other vegetable isolates. Group B isolates were in phylogenetically distant group with race-1 and race-2 tomato isolates.

PCR analysis with *V. dahliae* race-1 specific primers VdTr1 ve VdTr2 didn't produce any PCR products with any of the 30 isolates from grafted eggplants. This showed that eggplant isolates didn't belong to race-1 isolates.

The overall results of this thesis study indicated that there were two genetically different population and isolate groups of *V. dahliae* in the greenhouses of Antalya province. When sequence and phylogenetic analysis coupled with race-specific analysis, it can be assumed that the eggplant isolates especially first group most probably belonged to race-2 and second group to race-2 or an identified race group.

**KEYWORDS:** *Verticillium dahliae*, grafted eggplant, PSR, species specific marker genomic DNA (SSMG), IGS region, phylogenetic tree

**COMMITTEE:** Asst. Prof. Dr. Mürsel ÇATAL (Supervisor)  
Prof. Dr. Bülent UZUN  
Asst. Prof. Dr. Cengiz İKTEN

## ÖNSÖZ

Antalya’ da örtüaltında yetiştirilen patlıcanlar verim ve kalitede ciddi kayıplara sebep olan birçok hastalıklara maruz kalmaktadır. Toprak kökenli fungal etmen *Verticillium dahlia*’nın sebep olduğu Verticillium Solgunluğu bunların başında gelmektedir. Hastalık son zamanlarda dayanıklı anaçların kullanıldığı aşılı patlıcan yetiştiriciliğinin yapıldığı örtüaltı alanlarda da çok ciddi hale gelmiştir. Bu çalışmada Antalya ili örtüaltı alanlarında yetiştirilen patlıcanlarda hastalığa sebep olan *V. dahliae* izolatlarının hastalıklı bitkilerden elde edilmesi ve moleküler yöntemler kullanılarak tanı ve karakterizasyonları yapılmaya çalışılmıştır. Sonuçların hastalık etmeni ile mücadelede dayanıklı patlıcan çeşitlerinin geliştirilmesine önemli katkıda bulunacağını umuyorum.

Tez çalışmamın tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, aydınlatıcı ve yönlendirici fikir ve düşünceleri ile yol gösteren danışman hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Mürsel ÇATAL’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yönlendirici fikirleri ile bana yardımcı olan ve çalışmalarına Akdeniz Üniversitesi Tohumculuk Araştırma Merkezi Müdürlüğü ve kendi laboratuvarlarını açan ve sabırla yol gösteren hocam Yard. Doç. Dr. Cengiz İKTEN’ e de minnettar olduğumu belirtmek isterim. Yine kendi laboratuvar olanaklarını kullanmama olanak veren ve eleştirel yorumları ile çalışmama katkısı büyük olan kıymetli hocam Prof. Dr. Bülent UZUN’ a da derin şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarında bana cesaret veren her zaman destekleyen çok kıymetli eşim Hülya KOÇ’ a şükranlarımı sunarım. Yine laboratuvar çalışmalarında bana yardım eden değerli meslektaşım Gamze KURT’ a da teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans çalışmalarım dönemimde bana her türlü desteği esirgemeyen kıymetli aileme yaptıkları tüm maddi ve manevi fedakârlık ve katkılarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunmayı da bir borç bilirim.

Bu tez projesinin finansını yapan Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri ve Koordinasyon Biriminde ayrıca teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI.....	5
3. MATERYAL VE METOT.....	11
3.1. Hastalıklı Örneklerinin Toplanması.....	12
3.2. <i>V.dahliae</i> izolasyonu.....	17
3.3. DNA Ekstraksiyonu.....	20
3.4. Polimeraze Zincir Reaksiyonu (PCR) ile DNA Çoğaltılması.....	21
3.5. DNA dizilimlerinin çıkarılması, düzenlenmesi ve izolatların tanısı.....	22
3.6. Fiogenetik analizler ve ırkların belirlenmesi.....	22
4. BULGULAR.....	23
4.1. <i>V.dahliae</i> izolatlarının elde edilmesi.....	23
4.2. <i>V.dahliae</i> 'ye has markör genomik bölgesinin PCR' la çoğaltılması.....	23
4.3. <i>V.dahliae</i> 'ye has markör genomik bölgesinin DNA dizilimleri ve analizleri.....	25
4.4. <i>V.dahliae</i> 'ye has markör genomik DNA dizilimlerinin fiogenetik analizi.....	32
4.5. İntergenic Spacer bölgesinin PCR'la çoğaltılması.....	38
4.6. İntergenic Spacer bölgesinin DNA dizilimleri.....	39
4.7. İntergenic Spacer (IGS) bölgesinin DNA dizilimlerinin fiogenetik analizi.....	45
4.8. <i>V.dahliae</i> izolatlarının ırk1'e has primerler ile çoğaltılması.....	48
5. TARTIŞMA.....	49
6. SONUÇ.....	52
7. KAYNAKLAR.....	54
ÖZGEÇMİŞ	

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### **Simgeler**

°C	Santigrad Derece
g	Gram
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
L	Litre
dk	Dakika
mg	Miligram
µM	Mikromol
kb	Kilobayt
mM	Milimol

### **Kısaltmalar**

PCR	Polymerase Zincir Reaksiyonu
PDA	Patates Dekstroz Agar
ITS	Internal Transcribed Spacer
IGS	Intergenik Spacer
DNA	Deoksiribonükleik asit
TUIK	Türkiye İstatistik Kurumu
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda Tarım Örgütü
RAPD	Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA analiz yöntemi
VCG	Vejetatif Uyum Grupları

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Bitkilerde <i>V.dahliae</i> 'nin hayat döngüsü .....	3
Şekil 1.2.	Antalya Aksu İlçesinde aşılı fideden yetiştirilen patlıcanlarda <i>V. dahliae</i> 'nin zararı.....	4
Şekil 3.1.	Antalya ilinde hastalıklı örneklerin toplandığı seraların yerler.....	11
Şekil 3.2.	<i>V. dahliae</i> 'nin aşılı fideden yetiştirilen patlıcan yapraklarında başlangıçta meydana getirdiği tipik hastalık belirtisi.....	15
Şekil 3.3.	<i>V. dahliae</i> 'nin aşılı fideden yetiştirilen patlıcan yaprağında meydana getirdiği hastalık belirtisinin ilerlemiş hali.....	16
Şekil 3.4.	Yapraklarının çoğunda <i>Verticillium solgunluğu</i> gösteren patlıcan bitkisi.....	16
Şekil 3.5.	<i>V.dahlia</i> enfeksiyonu sonucu iletim demetlerinde kahverengi renk değişimi.....	17
Şekil 3.6.	Aşılı fidelerden yetişen hastalıklı patlıcanların gövde ve dallarından alınan parçalardan <i>V.dahliae</i> fungusunun PDA ortamına izolasyonu.....	18
Şekil 3.7.	Aşılı fidelerden yetiştirilen patlıcanlardan <i>V. dahlia</i> izolatlarının elde edilmesi.....	18
Şekil 3.8.	Antalya Aksu ilçesinde aşılı fidelerden yetiştirilen hastalıklı patlıcanlardan elde edilen <i>V.dahliae</i> izolatının misel, hif, konidiofor ve konidilerinin mikroskop altındaki görüntüsü.....	19
Şekil 3.9.	Antalya Konyaaltı ilçesinde aşılı fidelerden yetiştirilen hastalıklı patlıcanlardan elde edilen bir <i>V.dahliae</i> izolatının misel, hif, konidiofor ve konidilerinin mikroskop altındaki görüntüsü.....	19
Şekil 3.10.	<i>V.dahliae</i> fungusunu PDA üzerinde gelişen tek spor izolatlarından Birisi.....	20
Şekil. 4.1.	<i>V.dahliae</i> izolatlarının türe has markör genomik bölgesinin DB19/ DB22 primer çifti kullanılarak PCR'da çoğaltılması. 1KB DNA merdiveni markör olarak kullanılmıştır.....	25
Şekil. 4.2.	<i>V.dahliae</i> izolatlarının DB19 ve DB22 primerleri ile elde edilen DNA dizilimlerinin alt alta dizilmiş hali.....	26
Şekil. 4.3.	<i>V.dahliae</i> izolatlarının türe has markör genomik DNA (SSMGS) dizilimlerinin filogenetik analizi.....	37

Şekil. 4.4. <i>V.dahliae</i> IGS bölgesinin primer çifti VdIGSFI ve VdIGSR1 ile PCR da çoğaltılması.....	38
Şekil. 4.5. <i>V.dahliae</i> izolatlarının IGS DNA dizilimlerinin alt alta dizilmiş hali.....	39
Şekil. 4.6. <i>V.dahliae</i> izolatlarının IGS bölgesinin filogenetik analizi.....	47
Şekil. 4.7. Bazı <i>V.dahliae</i> izolatlarının domates ırk1'e özel primer çifti VdTR1 ve VdTR2 ile PCR'da çoğaltılması.....	48

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Antalya da <i>V. dahliae</i> ile enfekteli aşılı patlıcan örneklerin alındığı ilçe, anaç ve kalem çeşidi ile örnek alım tarihleri.....	12
Çizelge 3.2.	Hastalıklı örneklerinin toplandığı yerler, örnek sayısı ve sera sahipleri....	14
Çizelge 4.1.	<i>V. dahliae</i> türüne has markör genomik (SSMGS) ve ribosomal DNA internal transcribed spacer (IGS) bölgelerinin dizilimleri Yapılan izolatlara ilgili bilgiler.....	24
Çizelge 4.2.	Filogenetik analizler için gen bankasından indirilen izolatlar.....	34
Çizelge 4.3.	Filogenetik analizde kullanılmak amacıyla IGS DNA dizilimleri Genbankası veritabanından indirilen dünyanın değişik yerlerinden ve değişik bitkilerden elde edilen <i>V.dahliae</i> izolatları.....	46

## 1. GİRİŞ

Dünya’da en çok üretilen sebzelerin başında gelen patlıcan (*Solanum melongena* L.) Solanaceae familyasından tropik bölgelerde çok yıllık ılıman bölgelerde tek yıllık yetiştirilebilen bir bitkidir. Anavatanı Hindistan altkıtası olan bu sebzenin ilk defa 2 ila 5. yüzyıllar arasında Çin’de kültüre alındığı bildirilmektedir. Patlıcan daha sonra Afrika ve Avrupa ülkelerine yayılmıştır. Patlıcanın Anadolu’ya 16 veya 17. yüzyıllarda Avrupa’dan Hindistan’a seyahat eden tacirler ve kâşifler tarafından getirildiği düşünülmektedir (Doijode 2001, Anonim 2009, Anonim 2014).

Patlıcan karbohidrat, yağ ve protein bakımından düşük besin değerine sahip olmakla beraber içerdiği B1, B3, B6, C ve K vitaminleri ile potasyum, bakır ve manganez mineralleri bakımından insan beslenmesi için önemlidir. Özellikle yüksek lif oranı, düşük kalori miktarı ve kolesterol içermemesi patlıcanı iyi bir diyet ve vejetaryan ürünü yapmaktadır (Anonim 9). Patlıcanın kandaki kolesterol miktarını düşürdüğü ve bir diyet programının parçası olarak yüksek kan basıncının düzenlenmesine yardımcı olduğu bilinmektedir (Chiej 1984).

Patlıcan Türkiye’de yetiştirilen sebzeler arasında % 4 lük bir payla domates, karpuz, soğan, biber, hıyar ve kavun’dan sonra 7. sırada yer almaktadır. Türkiye 2012 verilerine göre patlıcan üretiminde % 3,5payla dünyada Çin, Hindistan, İran ve Mısır’ın ardından 5.sırada bulunmaktadır (Anonim 2011). Ülkemizde 2013 yılında patlıcan üretimi 248.619 dekar alanda 829.941 ton olarak gerçekleşmiştir. Bu üretimde örtüaltı yetiştiriciliği 30.535 (%12) dekarlık alanda 252.396 (% 30) ton üretimle önemli bir yere sahiptir. Akdeniz bölgesi ülkemiz toplam patlıcan üretiminde 75.713 (% 31) dekar ve 366.127 (% 45) ton ürünle ilk sırada yer almaktadır. Patlıcan, domates, hıyar ve biberden sonra bölgenin örtüaltında en çok yetiştirilen sebzesidir. Bölgede Antalya ili 21.914 (% 29) dekarlık alanda 165.543 (%45) tonluk üretimi ile önde gelmektedir. 2013 yılında ilde yetiştirilen patlıcanın 137.005 tonu (% 83) 13.890 (%61) dekarlık örtüaltı alanlarından elde edilmiştir (Anonim 2009, Anonim 2013).

Patlıcan yetiştiriciliğinde yaygın olarak görülen çok sayıda hastalık arasında ekonomik bakımdan en önemli olanları fungal hastalıklardır. Patlıcan üretimini tehdit eden ve sınırlandıran bu ciddi hastalıkların başında *Verticillium solgunluğu* gelmektedir. Toprak kökenli fungus *V. dahliae*’nın sebep olduğu bu hastalık bazen üründe %50’den fazla kayıplara sebep olabilmektedir. Hastalık ürünün kalitesini ve verimi büyük ölçüde azaltmakta hatta bazen hiç ürün almadan bitkilerin ölümüne sebep olmaktadır (Bletsos vd 2003).

Hastalık etmeni *V. dahliae* kötü yapılı topraklarda ve düşük toprak sıcaklıklarında ortaya çıkarak hassas bitkilerde hastalığa neden olmaktadır. Etmen 25-28 °C gibi yüksek sıcaklıklarda iyi gelişme göstermekte ve özellikle sulanan alanlarda problem olmaktadır. Fungus bitki artıklarında ve çok yıllık bitkilerde kışı misel olarak geçirmektedir. Bununla birlikte mikroskleroti adı verilen dayanıklı yapılar sayesinde toprakta 10 yıldan daha fazla canlı kalabilmektedir. Mikrosklerotiler uygun konukçu bitki köklerinden salgılanan salgılarıyla çimlenir ve fungus bitki köklerine yaralardan veya doğrudan penetrasyon yoluyla girmektedir (Şekil 1.1). Kök korteksini kolonize eden fungus buradan ksilem iletim demetlerine geçerek sistemik olarak gövdeye ve dallara doğru ilerler. Fungus buralarda ürettiği misel ve sporları ile iletim demetlerinde tikanmalar neticede yapraklarda solma, kloroz ve nekrozlara sebep olmaktadır (Şekil

1.2). Bitki yetiştirme ortamlarında toprak işlemede kullanılan aletler, rüzgâr ve su ile bir yerden diğerine taşınmaktadır (Agrios 2005, Koike vd 2007).

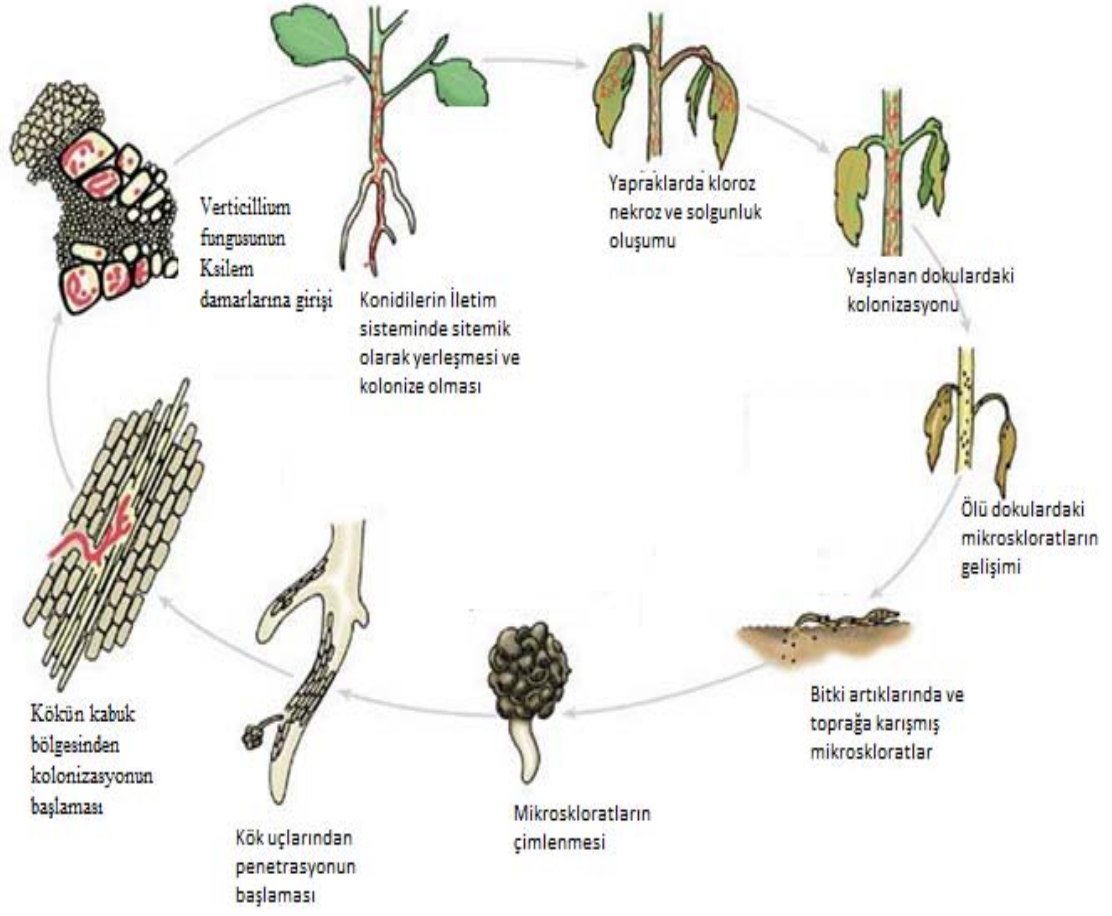
Fungal etmen *V. dahliae* bitkileri iletim demetlerini tıkayarak öldürdüğü ve bulaştığı topraklarda çok uzun süre kaldığından ilaç uygulaması da dâhil klasik mücadele yöntemleri kullanarak hastalığın kontrolü hemen hemen imkânsızdır. Üstelik topraklarda yaygın olarak bulunan bu fungusu karşı ciddi anlamda dayanıklılık gösteren patlıcan çeşidinde bulunmamaktadır. Islah yoluyla *Verticillium* solgunluk fungusuna dayanıklı çeşit geliştirme çok zor ve çok zaman gerektirmektedir.

Sebze yetiştiriciliğinde aşılama, toprak kökenli hastalık etmenlerinin özellikle de fungus ve bakterilerin kontrolünde en önemli alternatiflerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle çalışmalar mevcut ticari olarak yetiştirilen çeşitlerinin dayanıklı anaçlar üzerine aşılama ile *V. dahliae*'de dâhil birçok toprak kökenli fungusu karşı dayanıklılık sağlama üzerine yoğunlaşmıştır. Neticede aşılı fide kullanarak patlıcan, domates, biber, kavun, karpuz başta olmak üzere sebze üretimi özellikle seralarda birçok Asya ve Avrupa ülkesinde uzun zamandır yaygın olarak yapılmaktadır (Blestos 2003, King vd 2008, Glardi vd 2013).

Aşılı patlıcan fidesi kullanımının *Verticillium* solgunluk hastalığını kontrol etmede oldukça etkili olduğu ve hastalık şiddet ve oranını önemli ölçüde düşürdüğü bilinmektedir. Bununla birlikte hastalık etmeninin bazen özellikle seralarda aşılı fidelerden yetiştirilen patlıcanları ciddi olarak hastalandırıldığı ve bulaştığı alanlarda şiddetini zamanla arttırdığı ve verim, kalite ve bitki büyümesinde ciddi azalmalara sebep olduğu bildirilmektedir (Blestos 2003, Garibaldi vd2005 ).

Antalya ilinde örtüaltı aşılı patlıcan üretimi son yıllarda hızlı bir artış göstermiştir. Bununla birlikte Antalya Yöresi'nde aşılı fidelerden yetiştirilen patlıcanlarda da *Verticillium* Solgunluğu zaman zaman çok ciddi zararlara neden olup ve ekonomik bakımdan önemli kayıplara sebep olmaktadır. 2011-2012 yıllarında hastalık özellikle Konyaaltı ve Aksu ilçelerinde aşılı fideden yetiştirilen patlıcanlarda şiddetli enfeksiyonlara sebep olmuştur. Hatta bu bölgelerdeki bazı seralarda hastalık oranı % 70-80'lere ulaşarak ciddi kayıplara sebep olduğu üreticiler ve araştırmacılar tarafından gözlemlenmiştir (Şekil1.3). *Verticillium* solgunluğuna dayanıklı olduğu varsayılan anaçlar üzerine aşılama patlıcanlarda bu hastalığın normalin üzerinde şiddet ve oranda görülmesi bu fungusun Antalya bölgesindeki ırklarının oldukça saldırgan olduğunu veya yeni ırklar geliştirmiş olabileceği şüphesini uyandırmaktadır.

Tüm dünyada olduğu gibi Antalya bölgesinde de *V. dahliae*'ya dayanıklı gerek aşılı gerekse aşısız çeşitler geliştirmek bu hastalığı kontrol etmenin ve patlıcan üretimini ekonomik olarak sürdürmenin en faydalı ve uygun yoludur. Bir hastalık etmenine karşı dayanıklı çeşit geliştirmek için o etmenin bir bölgedeki populasyon yapısının belirlenmesi ve bilinmesi büyük önem taşımaktadır. Domates, biber, marul başta olmak üzere birçok sebze *V. dahliae* izolatlarının moleküler yöntemler kullanarak yapılan analizleri, bu tür içinde farklı grup ve ırklarının olduğunu göstermektedir (Bhat vd 2003, Vallad vd 2006, Qing vd 2008, Maruthachalam vd 2011). Domateste *V. dahliae*'nin şimdilik en azından 2 ırkının olduğu ispatlanmış ve domates çeşitlerinin bu ırklara farklı dayanıklılık reaksiyonu gösterdiği tespit edilmiştir (Jabnoun-Khiareddine vd 2007, Maruthachalam vd 2011).



Şekil 1.1. Bitkilerde *V. dahliae*'nin hayat döngüsü





Şekil 1.2. Antalya Aksu İlçesinde aşılı fideden yetiştirilen patlıcanlarda *V. dahliae*'nin zararı

Bu çalışmada, Antalya ilinde örtüaltında aşılı fideden yetiştirilen patlıcanlardan edilecek *V. dahliae* izolatlarının moleküler yöntemler kullanarak teşhis ve tanımı yapılarak fungusun bölgedeki popülasyonlarının grup ve ırk yapısı belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla Antalya il merkezi ve ilçelerindeki seralardan hastalıklı bitki örnekleri toplanmış ve *V. dahliae* izolasyonları yapılmıştır. Elde edilen izolatların bu fungus tür ve ırklarına has markör genomik DNA ve ribosomal DNA intergenik spacer(IGS) bölgeleri moleküler polimeraze zincir reaksiyonu (PCR) metodu kullanılarak çoğaltılmış ve bu bölgelerin DNA dizilimleri elde edilmiştir. Her iki bölgenin DNA dizilimlerinin filogenetik yöntemlerle analizi yapılarak *V. dahliae*'nin Antalya yöresindeki izolat grupları veya ırklarının yapısı ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen veriler bu fungusu karşı dayanıklı yeni çeşitler geliştirilmesinin yanı sıra bölgede hâlihazırda yetiştirilen çeşitlerin etmenin farklı izolat veya ırk gruplarına reaksiyonlarının belirlenmesini mümkün kılacaktır.

## 2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

Carder vd (1997) *V. dahliae* için primer çifti DB19 ve DB22'yi geliştirmişler ve primerlerin PCR testlerinde bu fungusu has bir ürünü (amplikon) verdiğini belirtmişlerdir.

Daayf vd (1995) farklı konukçu ve bölgelerden elde edilen *V. dahliae* izolatlarının değişik çevre şartları altında yüksek düzeylerde patojenik çeşitlilik gösterdiklerini belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar yine bu fungusun izolatlarının patojenisitelerinin ve konukçu bitkinin orijininin vegetatif uyumluluk grupları (VCG) ile bağdaştığını bildirmişlerdir.

Karapapa vd (1997) *V. dahliae*'nin uzun sporlu izolatlarının *V. longisporum* adıyla ayrı bir tür olarak sınıflandırılmasını önermişlerdir. Bu yeni taxon çoğunlukla kanola bitkisinden elde edilen izolatlara dayandırılarak yapılmıştır. Original *V. dahliae* var. *longisporum* taxonu bazı uzun sporlu izolatları içermemekteydi. Bu yeni taxon haçlıgillerden elde edilen kısa sporlu izolatların statüsünü belirsiz bir halde bırakmıştır. Araştırmacı daha da ileri giderek *V. longisporum*'un *V. dahliae* ve *V. albo-atrum*'un yonca izolatlarının melezlemesi sonucu ortaya çıkan türler arası bir melez olduğunu ve yeni türün genetik olarak diploide yakın olduğunu belirtmiştir.

Heale ve Karapapa (1999) *V. dahliae* ve *V. albo-atrum*'un birçok bitkiden elde edilen izolatlarının kısa sporlu ve düşük nükleer DNA içeriğine sahip olduklarını oysa Haçlıgiller'den alınan izolatların büyük çoğunluğunun ise uzun sporlu ve yüksek nükleer DNA içeriğine sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar Haçlıgiller'de bulunan izolatların çoğunun mikroskleroti ürettiğini ve genellikle *V. dahliae* türü içinde yer aldığını belirtmişlerdir. Yine bu izolatlar sık sıkta alt tür veya varyete *longisporum* olarak tanımlanmıştır. Geçmişte *Verticillium* solgunlukları Haçlıgillerde önemli bir problem olarak görülmezken bundan sonra bu familyadaki bitkilerin en önemli hastalıklarından sayılmışlardır.

Pramafteftaki vd (2000) Ribosomal DNA intergenik spacer (IGS) bölgesinin *V. dahliae* türü içindeki çok yüksek olan genetik çeşitliliği göstermede faydalı olduğunu belirtmişler. *V. dahliae* izolatlarının IGS DNA dizilimleri filogenetik analizleri ve virulenslik bilgileri beraber göz önüne alındığında bazı izolatların filogenetik grupları ile bu izolatların virulensliği arasında bir ilişkinin olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Mercado-Blanco vd (2002) *Verticillium* solgunluğunun İspanyanın güneyinde yaygın hale gelmesinin zeytine bağımlı endüstrilerde endişeye yol açtığını belirtmişlerdir. Bu yayılmanın *V. dahliae* ile bulaşık topraklarda bahçe kurulmasından ve bulaşık bitkisel materyallerin fungusun oldukça virulent yaprak dökümüne sebep olan D patotipinin bu bölgelere yayılmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. D patotipi ilk defa İspanya'da pamuk ekiminin yoğun yapıldığı yerlerde tespit edilmesine rağmen buralardan uzak mesafelerdeki zeytinliklere yayılmıştır. Araştırmacılar zeytinde *Verticillium* solgunluğunun şiddetinin fungusun izolatlarının virulensliğine bağlı olduğunu bildirmişler ve yaptıkları suni inokulasyonlarla zeytinde hastalık yapan *V. dahliae* izolatlarını yapraklarda döküme sebep olup olmamasına göre yaprak dökken (D) ve dökmeyen (ND) diye iki patotipe ayırmışlardır. *V. dahliae* izolatlarının virulensliklerindeki farklılık pamuktada gözlemlenmiş ve pamuk ve zeytinden elde edilen *V. dahliae* izolatlarının zeytinde çapraz virulenslik gösterdiği bildirilmiştir.

Araştırmacılar D patotipi ile enfeksiyonun zeytinler için ölümcül olabilirken ND patotipi ile enfeksiyonların iyileşebileceğini ve zeytinde bu hastalığın kontrolü için *V. dahliae* izolatlarının doğru karakterize edilmesinin önemli olduğunu ifade etmişlerdir.

Mercado-blanco vd (2003) *V. dahliae*'ye has markör genomik DNA bölgesi primer çifti DB19/DB2'yi pamuk ve zeytinde fungusun D ve ND izolatlarını teşhis etmek için PCR çoğaltmalarında kullanmışlardır. Araştırmacılar elde ettikleri PCR ürünlerinin DNA dizilimlerini çıkarmışlar ve D izolatlarından 539 ND izolatlarından ise 523 bazlık *V. dahliae*'ye has dizilim elde etmişlerdir. Araştırmacılar D izolatlarından elde ettikleri dizilimlerde ND izolatlarının konsensus DNA dizilimlerinin 314 ila 315'inci bazları arasında 15 bazlık (CGTGTGGCAGCCGAA) ve 164 ila 165'inci bazları arasında bir bazlık (C) ilave (insertion) tespit etmişlerdir. D izolatlarındaki 15 bazlık bu ilave baz kısmı bu izolatları ND izolatlarından ayırmak için PCR primerleri tasarlamak için kullanmışlardır. Yaprak dökken ve dökmeyen patotiplerini aynı anda teşhis eden PCR yöntemleri geliştirmişlerdir. Bu yöntemleri kullanarak hastalığın pamuğun yetiştirildiği yerlerde kurulan zeytinliklerde çok yoğun ve şiddetli olduğunu ve bunda patojenin D patotipinin etkin olduğunu bildirmişlerdir. *V. dahliae* fungusundan arı üretim materyalinin kullanılmasının ve fungusun patotiplerinin doğru tespitinin bu etmenle başarılı bir şekilde mücadele etmede çok önemli faktörler olduğunu belirtmişlerdir.

Collins vd (2003) haçlıgillerde hastalık yapan *V. dahliae* izolatlarının 3 farklı moleküler tipte olduğunu bildirmişlerdir. Haçlıgilleri hastalandıran *V. dahliae* ve *V. albo-atrum* izolatlarının yapısını ve orijinini anlamak için çeşitli izolatlarla çalışmışlardır. Bu izolatları amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis metodu kullanılarak gruplara ayırmışlardır. Bu gruplarıda ribosomal DNA dizilim ve mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism (RFLP) analiz yöntemlerini kullanarak alt gruplara ayırmışlardır. Elde edilen sonuçlar haçlıgillerde hastalık yapan *V. dahliae* izolatlarının türler arası melezler olduğunu göstermiştir. AFLP analizleri kullanarak uzun sporlu izolatları  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere iki gruba ayırmışlar ve bunların amphihaploids (allodiploids) olduğunu bu gruplardaki her bir izolatın ayrı bir türlerarası melezleme olayını temsil ettiğini göstermişlerdir. Kısa sporlu haçlıgil izolatlarının türlerarası hibridlerden elde edilmiş olduğunu belirtip ve bunları ikincil haploidler olarak adlandırmışlardır. Moleküler kanıt çarpraz melezlemelerdeki ailelerden birinin *V. dahliae*'ye benzediğini göstermektedir. Diđerininin ise *V. dahliae*'dan daha çok *V. albo-atrum*'a benzediği ama her iki türün bu zamana kadar çalışılan izolatlarından farklı olduğu *V. longisporum* isminin kullanılmasının uygun olmadığı belirtilmiştir.

Collins vd (2005) *V. dahliae*'nin yaprak dökümüne sebep olan (D) ve olmayan (ND) patotiplerini birbirinden ayıran primer çiftleri (INTD2f/r ve INTND2f/r) ve türe has primer çifti (DB19/DB22)'ni PCR çoğaltmalarında kullanarak fungusun haploid ve amphihaploid izolatlarının üzerinde çalışmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre izolatların bazı bilinen biyolojik ve diğer bazı moleküler özelliklerini karşılaştırmışlardır. Primer DB19/DB22 çiftini kullanarak yapılan PCR çoğaltmalarında elde edilen amplikonların 5 farklı DNA dizilim (seq) grubuna ait olduğunu ortaya çıkarmıştır. Fungusun yaprak dökümüne sebep olan İspanyol izolatı ve yaprak dökümüne sebep olmayan İspanyol ve Amerikan izolatlarının dizilim (seq4) grubu içine girmiştir. Primer DB19/DB22 ile elde edilen PCR ürününün büyüklüğu ve ürünlerin

DNA dizilimlerinde haçlıgillerdeki amphihaploid izolatları daha önce Collins vd 2003 tarafından rapor edildiği gibi  $\alpha$  ve  $\beta$  grupları olarak ikiye ayırdığını tespit etmişlerdir. Beta grup izolatların seq4 veya seq5 dizilim grubu içinde yer aldığı belirlenmiştir. Diğerlerinden çok farklı olan seq3 grubunda yer alan alfa izolatların DNA dizilimleri bu grubun *Verticillium* benzeri ailesinin moleküler olarak bu zamana kadar çalışılan haploid izolatların hiçbirine benzemediğini göstermiştir.

Collins vd 2005 haploid ve amphihaploid *V. dahliae* izolatlarını DB19/DB22 primerleri ile çoğaltmış ve 530 ve 550 baz büyüklüğünde iki farklı ürün elde etmiştir. Ürünlerin DNA dizilimleri 5 farklı dizilim (seq) grubu ortaya çıkarmıştır. Seq1 ve seq2 sadece haploid izolatlarda seq3 ve seq5 ise sadece amphihaploid izolatlarda bulunmuştur. Seq4 ise her iki tipte bulunmuştur. Araştırmacılar DB19/DB22 ile yapılan PCR ve elde edilen DNA dizilimlerinin *V. dahliae* izolatları arasındaki çeşitliliği ve özellikle amphihaploid ve D patotip izolatların orijinini belirlemede faydalı olduğunu belirtmişlerdir.

Collins vd 2005 *Verticillium dahliae*'nin izolatları patojenisite bakımından büyük farklılık gösterdiğini ve konukçu bitkiye has patotiplerin belli ülkelerde ve konukçu bitkilerde önemli olabileceğini belirtmişlerdir. Uygun karantina önlemleri için fungusun virulent ırklarının riski yüksek ürünlere ihraç yoluyla veya bu ürünlerde kendiliğinden yeni olarak ortaya çıktığının anlaşılması önemlidir.

Qin vd (2006) *V. dahliae*'nin marul ve diğer *Verticillium spp.* nin değişik bölgelerden alınan izolatlarının ribozomal IGS bölgesi ile Beta-tubulin genini PCR da çoğaltmış ve DNA dizilimlerini elde etmiştir. Filogenetik analizler *V. dahliae*'nin haçlıgiller dışındaki bitkilerden elde edilen izolatlarının IGS bölgesi DNA dizilim benzerliğine göre 4 alt gruba ayrılabilceğini göstermiştir. Marul izolatlarının çoğunluğu çilek ve karpuz izolatları ile aynı alt grupta yer almışlar ve bu gruptaki izolatlar birbir konukçularına karşı çapraz patojenisite göstermişlerdir. İki marul izolatu şili biberi, nane, patates ve patlıcandan birer izolatla aynı grupta yer alırken iki domates ve bir diğer patlıcan izolatıda farklı bir grup oluşturmuşlardır. Ribosomal DNA IGS bölgesinin *V. dahliae* türü içindeki yüksek genetik çeşitliliği ortaya çıkarmada yararlı olduğu belirtilmiştir.

Collado-Romero vd (2006) primer çifti DB19 ve DB22'yi *V. dahliae*'ye has PCR çoğaltmalarında kullanmışlar ve 539 ile 523 bazlık iki farklı ürün elde etmişlerdir. Primerler *V. albo-atrum* ve *V. nigrescens* türlerini çoğaltmazken, *V. dahliae* var. *longisporum* alt türünü çoğaltmıştır.

Usami vd (2007) değişik *V. dahliae* izolatlarının DNA'larını RAPD yöntemi ile çoğaltmış ve elde edilen PCR ürünlerini klonlamışlardır. Bu PCR ürünlerinden B68-TV DNA diziliminin *V. dahliae*'nin domatestede patojenik olan ırk 1 izolatlarına has olduğunu tespit etmişler ve domatesten elde edilen sınırlı sayıda bir izolatla bunu teyit etmişlerdir. Bu bölgeden *V. dahliae*'nin ırk-1'ine has primer çiftini geliştirmişlerdir (Tr1/Tr2). Araştırmacılar *V. dahliae*'nin TV103 izolatının genomik kütüphanesini oluşturmuşlar ve bu kütüphanedeki bir DNA parçasının diziliminin B68-TV bölgesinin yakınında olduğunu ve bu bölgenin domatestede patojenik olan bütün ırklara (ırk1 ve ırk2) has olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar ırk1'e has testin *V. dahliae*'nin farklı coğrafyalardan farklı konukçu bitkilerden alınan popülasyonlarında etkili olup olmayacağını bilmediğini belirtmişlerdir.

Navas-Cortés vd (2008) zeytinde *V. dahliae* izolatlarını yaprak dökken (D) veya yaprak dökmeyen patotipler olarak ikiye ayırmıştır.

Alkher vd (2009) *V. dahliae* izolatlarının patates ve ayçiçeği arasında çapraz patojenisitelerinin olduğunu teyit etmişlerdir. Bu durumun potansiyel olarak her iki ürün içinde özellikle de asıl konuğu patates olduğu zaman ayçiçeği için oldukça zararlı olduğunu belirtmişlerdir.

Collado-Romero vd (2008) *V. dahliae*'nin VCG alt grupları arasındaki evrimsel ilişkileri anlamak için farklı konukçu bitki ve coğrafi bölgeden alınan 101 izolatı AFLP parmak izi ve 6 DNA gen bölgesinin (actin,  $\beta$ -tubulin, calmodulin, histone3, rDNA ITS ve *V. dahliae*'ya has markör genomik DNA dizilim analizlerini yaparak incelemişlerdir. Araştırmacılar bu gen bölgelerinin tek tek ele alındığında izolatları VCG gruplarına ayırmada etkili olmadıkları ama hepsi bir arada kullanılıncaya birkaç VCG dışında kullanışlı olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar primer çifti DB19/DB22'yi kullanarak *V. dahliae*'ye has bölgedeki izolatlar arasındaki polimorfizme bakmışlardır. Seçilen 50 *V. dahliae* izolatından elde edilen 523/539 bazlık ürünlerin DNA dizilimlerinin analizi daha önce Collins vd (2005)'nin tarif ettiği 5 DNA dizilim grubundan üçü olan seq1, seq2 ve seq4'ü vermiştir. Bunlara ek seq7 olarak isimlendirilen yeni bir polimorfik dizilim grubu tespit edilmiştir. Bu DNA dizilim grupları ve VCG arasında korelasyon olduğu belirlenmiştir.

Collado-Romero vd (2009) enginar bitkisini hastalandıran *V. dahliae* izolatlarını ve bunların VCG gruplarını doğrudan hastalıklı bitkiler içinde tespit etmek ve tanımlamak için bir nested multiplek PCR yöntemi geliştirmişlerdir. Bu yöntemin ilk turunda *V. dahliae*'ye has primer çifti DB19 ve DB22'yi diğer primer çifti Ndf ve NDr ile birlikte kullanmışlardır. Primerler DB19/DB22 tüm *V. dahliae* izolatlarından 543 ve 526 bazlık 2 farklı ürün çoğaltmışlardır. Bu yöntemde farklı VCG gruplarına has 334, 688 ve 964 bp büyüklüklerinde PCR ürünleri çoğaltan özel PCR primerleri kullanmışlardır. Bazı izolatların VCG grubu belirlenememesine rağmen, yöntemin fungusu hastalıklı bitkilerde tespit ve izolatların çoğunun VCG gruplarını belirlemede klasik yöntemlere göre oldukça üstün olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Collado-Romero vd (2010) *V. dahliae*'nin birçok farklı coğrafi bölgeyi, VCG'lerini ve konukçu bitkilerini temsil eden izolatlarının bazı değişken olmayan genlerinin filogenetik analizlerini yapmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar *V. dahliae*'nin VCG1 ve/veya VCG4A izolatları arasında melezleme olaylarının *V. dahliae* var. *Longisporum*'un ortaya çıkmasına yol açmış olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Collado-Romero vd (2010) VCG3 grubuna ait *V. dahliae* izolatlarının melezlemeden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Bu gruptaki izolatların actin (Act),  $\beta$ -tubulin (b-tub), calmodulin (Cal) ve histone 3 (H3) gen DNA dizilimleri bakımından farklılık gösterdiklerini tespit etmişlerdir. Bu 4 gene ilave olarak, internal transcribed spacer (ITS) bölgelerinin ve *V. dahliae*'ye has bölgelerin DNA dizilimlerinin filogenetik analizleri bu izolatların türler arası melezlemeden kaynaklandığını göstermiştir. Filogenetik analiz ve PCR markörler bir VCG3 izolatının bir VCG1B izolatı ile henüz teşhis edilmemiş bir ana-baba arasındaki tek bir melezleme olayı neticesi ortaya çıktığını göstermiştir.

Maruthachalam vd (2010) *V. dahliae*'nin domates ve marulu enfekte eden 2 ırkı bulunduğunu belirtmişler. Hem domates hemde marulda ırk1'e has dayanıklılık tespit edilmiş ama bu bitkilerde ırk2'ye dayanıklı çeşit mevcut olmadığı belirtilmiştir.

Maruthachalam vd (2010) çoğunluğu Kalifornia'nın merkezi ve sahil kısımlarında yetiştirilen çok değişik konukçu bitkilerden elde edilen 101 ve bu bölgeye dışarıdan gelen 10 *V. dahliae* izolatının genetik çeşitliliğini ve ırk yapısını karakterize etmek için moleküler analizler yapmıştır. IGS bölgesinin analizleri izolatlar arasında yüksek oranda farklılık olduğunu ama bunun bu fungusun ırklarını belirlemede yetersiz kaldığını göstermiştir. Araştırmacılar bu izolatları *V. dahliae*'nin ırka has ürününü çoğaltmak için PCR'a tabi tutmuşlar ve elde edilen sonuçları teyit etmek için de virulens testleri yapmışlardır. Domatesten izole edilen 48 izolatla yapılan PCR testleri ırk1 ve ırk2' yi birbirinden % 100 oranda ayırmıştır. Sonuçlar PCR testinin ırkları birbirinden ayırmada kullanılabileceğini ve bu testten bu patojene karşı dayanıklılık ıslahı ile bu ırkların domates ve marul üretim yerlerindeki dağılımlarını belirlemede yararlanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Maruthachalam vd (2010) *V. dahliae* izolatlarının IGS rDNA dizilimlerinin filogenetik analizlerinde 3 ana grup belirlemiştir. Domates izolatlarının çoğu ırk1 ve ırk2 dâhil pamuk, zeytin ve marul izolatlarında yer aldığı ana bir grup (grup1) içinde yer almışlardır. Bu grup aynı zamanda Kanada ve Japonyadan 3 domates izolatı ve Kaliforniya sahillerinde maruldan elde edilen izolatları içermiştir. Grup 2 ise marigold, zeytin ve pamuk izolatlarından oluşmuştur. Domates izolatlarının hiçbiri grup 2 içine girmemiştir. Grup 3 Kaliforniya sahilinden bir marul ve merkezinden bir domates izolatını içine almıştır.

Maruthachalam vd (2010) *V. dahliae*'nin domatesteki ırk1 için Usami vd 2007 tarafından geliştirilen VdTr1 ve VdTr2 primerlerini domates ve marulun farklı çeşitlerine inokülasyonla Bhat vd 2003 ve Qin vd 2006 tarafından belirlenen ırk1 ve ırk2 izolatlarını moleküler testlere tabii tutmuştur. Bu primer çifti ile yapılan PCR testleri dokuz farklı bitkiden ırk1 fenotipine ait 680 bazlık has bir ürün vermiştir. Domates, pamuk, zeytin, marigold, biber, ıspanak ve kavundan elde edilen ve ırk2 virulens fenotipine sahip bitkilerden herhangi bir PCR amplikonu elde edilememiştir. Bu testlerde Kanada'dan alınan 4 izolatın ırk1 ve VCG2A'ya ait olduğu görülmüştür.

Collado-Romero vd (2010) *V. dahliae*'ye has DNA bölgesini PCR'da çoğaltıp, klonlayıp DNA dizilimlerini çıkarmışlardır. Sonuçlar bir *V. dahliae* VCG3 izolatının 543 bazlık ilk defa rapor edilen seq6 olarak isimlendirirken yeni bir dizilim grubunu ortaya çıkarmıştır. Bu 6. dizilim grubu seq1,2,3 ve 7 den daha çok fungusun VCG1 ve VCG2B izolatlarında bulunan seq4 grubu ve seq5 ile akraba bulunmuştur.

Gebeloğlu vd (2011) aşılı biber fidelerinde farklı anaçların verim ve *F.oxysporium*, *Verticillium dahliae* and *Meloidogyne incognita*'ya dayanıklılıklarına bakmışlardır. Sonuçlar aşılı fide kullanımının *V. dahliae*'ye karşı çok etkili olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte aşılı fide kullanımının hastalığın çıkış süresini geciktirdiği ve bu nedenle aşısız biberlere kıyasla verimde artışa sebep olduğunu göstermiştir. Elde edilen verim anaç çeşidine bağlı olarak farklılık gösterebilir, araştırmada kullanılan tüm anaçların *V. dahliae*'ye karşı toleranslı olduğu saptanmıştır.

Jiménez-Díaz vd (2011) yaptıkları çalışmada 637 *V. dahliae* izolatının polimorfik *V. dahliae*'ye has DNA bölgesini DB19 ve DB22 primerleri kullanarak çoğaltmışlardır. Elde edilen dizilimleri bu bölgenin daha önce tanımlanan uzunlukları 523 ila 539 arasında değişen 7 polimorfik dizilimle kıyaslamışlardır. 637 *V. dahliae* izolatının DNA dizilimlerinin bu 7 gruptan sadece 3'ü (seq1, seq2, seq4) içinde yer aldığını saptamışlardır. Bu DNA dizilim gruplarının ve vegetatif uyum gruplarının (VCG) karşılaştırılması seq1'in VCG2B, seq2'nin VCG2A ve VCG4B ve seq4'ünde VCG1A ile bağdaştığını göstermişlerdir.

Jiménez-Díaz vd (2011) İspanya'nın güneyinde zeytinde *V. dahliae* popülasyonlarındaki genetik çeşitliliğin bölge çapında analizini yapmıştır. Araştırmacılar aynı zamanda patojenin vegetatif uyum gruplarının (VCG) dağılım ve yaygınlığına bakmışlardır. Vegetatif uyum testlerinde Endülüsün 5 farklı zeytin yetiştirilen bahçelerinden alınan 637 izolatın % 78'inin VCG1A ve % 19,8'ininse VCG2 grubu içinde yer aldığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda bu izolatların PCR yöntemleri kullanarak moleküler patotiplerini belirlemişler. Sonuçlar VCG1A izolatların D pathotipinde VCG2A, 2B ve 2C izolatların ise ND pathotipinde olduğunu göstermiştir. Zeytin bahçeleri arasında hem VCG hemde DNA dizilim gruplarının dağılım ve yaygınlığı Endülüste *V. dahliae*'nin zeytin izolatları arasındaki genetik çeşitliliğin VCG1A grubunun bulunmadığı bölgelerde daha yüksek olduğunu göstermiştir.

El-Bebany vd (2013) nitrat kullanmayan (nit) mutant testleri ve PCR'a dayalı yöntemleri kullanarak *V. dahliae*'nin patates ve ayçiçeği izolatlarının vejetatif uyumluluğunu incelemişlerdir. Daha önce Collado-Romero vd (2009)'da olduğu gibi multiplex-nested PCR testlerinde DB19/DB22 ve NDf/NDr primer çiftlerini kullanarak bu izolatları VCG gruplarına ayırmışlardır. PCR sonuçları nit mutant testleri ile uyumlu olmuş ve testleri doğrulamıştır. Bununla birlikte araştırmacılar PCR yöntemlerinin nit mutant testlerinin yerini alması için VCG gruplarına has primerlere ihtiyaç duyulacağını belirtmişlerdir.

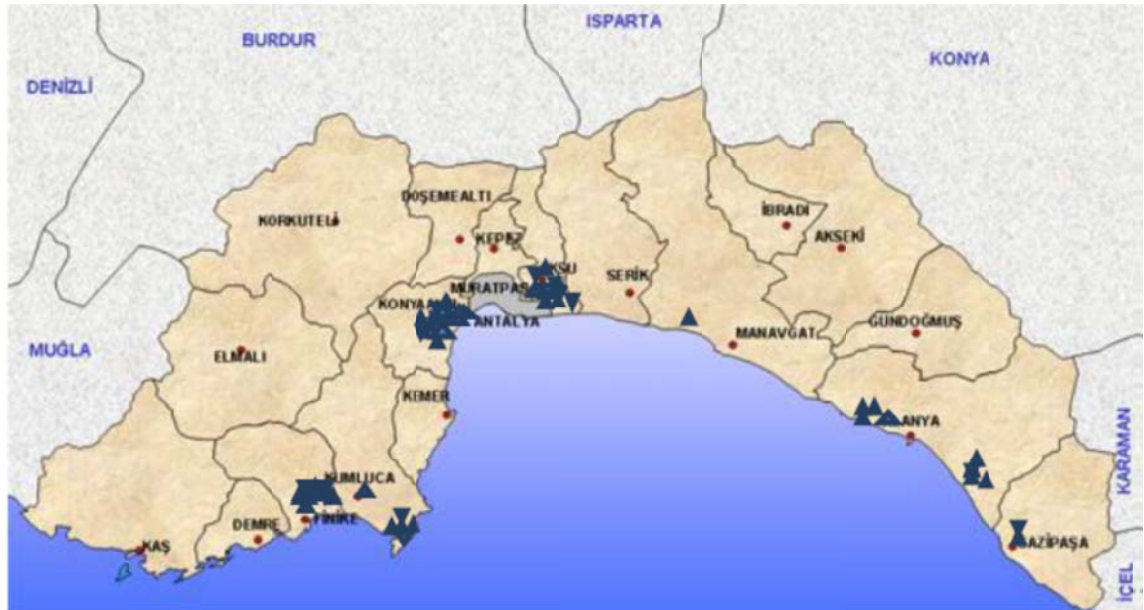
### 3. MATERYAL ve METOT

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Entomoloji laboratuvarları ve Akdeniz Üniversitesi Tohumculuk Araştırma laboratuvar olanaklarından faydalanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Hastalıklı Örneklerinin Toplanması

Bu çalışma kapsamında aşılı fideden patlıcan yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Antalya merkez ve ilçelerindeki seralar ziyaret edilmiştir (Şekil 3.1). Bu örtüaltı alanlarda *Verticillium solgunluğu* gösteren veya bu hastalıkla enfekteli olduğundan şüphelenilen bitkilerden örnekler toplanmıştır (Çizelge 3.1 ve 3.2). Hastalıklı bitkiler öncelikle fungusun yaprakta meydana getirdiği tipik belirtilere bakılarak tespit edilmiştir (Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4). Yaprak belirtisi gösteren bitkilerin gövdeleri aynı zamanda enine ve boyuna kesilerek iletim demetlerinde kahverengi renk değişikliği gözlenerekte hastalığın teyidi yapılmıştır (Şekil 3.5). Toplanan örnekler naylon torbalar içinde *V. dahliae* izolasyonu yapmak amacıyla Bitki Koruma Bölümü Laboratuvarı'na getirilmiştir. Hastalıklı örnekler fungus izolasyonları yapılmaya kadar 4 °C sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Seralardan örnekler alınırken hastalıklı her bir patlıcan bitkisinin gövde ve dallarından 15-20 cm uzunluğunda parçalar alınmıştır. Her hastalıklı bitkiden her defasında steril edilmiş makasla alınan parçalar ayrı ayrı kilitli örnek naylon poşetlere konmuştur. Örnek alınan her yer ve buradaki seraya bir kod verilmiştir. Söz konusu seraların sahiplerinin isim ve adres bilgileri ile yetiştirmede kullandıkları aşılı patlıcan fidesinin anaç ve kalem çeşitleride kaydedilmiştir. Seralardan toplanan örneklerden bir sonraki gün fungus izolasyonları yapılmıştır.



Şekil 3.1. Antalya ilinde hastalıklı örneklerin toplandığı seraların yerleri



Çizelge 3.1. Antalya da *Verticillium dahliae* ile enfekteli aşılı patlıcan örneklerin alındığı ilçe, anaç ve kalem çeşidi ile örnek alım tarihleri

Yer kodu	Sera kodu	İlçe	Anaç	Kalem	Örnek Tarihi
Y1	S1	Konyaaltı	AGR-703	Faselis F1	20.02.2012
Y1	S2	Konyaaltı	Yula F1	Faselis F1	20.02.2012
Y1	S3	Konyaaltı	AGR-703	Faselis F1	26.02.2012
Y3	S4	Finike	Yula F1	Amadeo F1	20.05.2012
Y3	S5	Finike	AGR-703	Faselis F1	20.05.2012
Y3	S6	Finike	Hawk	Sicilia F1	20.05.2012
Y4	S7	Kumluca	LadyRod	Köksal F1	20.05.2012
Y5	S8	Konyaaltı	Yula F1	Faselis F1	23.05.2012
Y6	S9	Konyaaltı	Yula F1	Faselis F1	23.05.2012
Y7	S10	Manavgat	AGR-703	Faselis F1	01.06.2012
Y8	S11	Alanya	Tera ARC	Faselis F1	02.06.2012
Y9	S12	Alanya	Tera ARC	Faselis F1	02.06.2012
Y9	S13	Alanya	AGR-703	Faselis F1	02.06.2012
Y8	S14	Alanya	AGR-703	Faselis F1	02.06.2012
Y10	S15	Aksu	Yula F1	Faselis F1	06.06.2012
Y2	S16	Aksu	LadyRod	Faselis F1	25.03.2012
Y2	S17	Aksu	LadyRod	Faselis F1	25.03.2012
Y2	S18	Aksu	LadyRod	Faselis F1	25.03.2012
Y2	S19	Aksu	LadyRod	Faselis F1	25.03.2012
Y3	S20	Finike	Yula F1	Amadeo F1	20.05.2012
Y3	S21	Finike	Hawk	Sicilia F1	20.05.2012
Y11	S22	Konyaaltı	AGR -703	Faselis F1	16.03.2013
Y11	S23	Konyaaltı	AGR -703	Faselis F1	16.03.2013
Y11	S24	Konyaaltı	AGR -703	Faselis F1	16.03.2013
Y12	S25	Konyaaltı	AGR-703	Faselis F1	16.03.2013
Y12	S26	Konyaaltı	AGR-703	Faselis F1	16.03.2013
Y12	S27	Konyaaltı	AGR-703	Faselis F1	16.03.2013
Y12	S28	Konyaaltı	AGR-703	Faselis F1	16.03.2013
Y13	S29	Konyaaltı	AGR-703	Faselis F1	05.04.2013
Y14	S30	Konyaaltı	AGR-703	Faselis F1	05.04.2013
Y14	S31	Konyaaltı	Tera ARC	Faselis F1	05.04.2013
Y15	S32	Kumluca	AGR-703	Faselis F1	06.04.2013
Y15	S33	Kumluca	AGR-703	Faselis F1	06.04.2013
Y15	S34	Kumluca	AGR-703	Sicilia F1	06.04.2013
Y15	S35	Kumluca	AGR-703	Sicilia F1	06.04.2013
Y3	S36	Finike	AGR-703	Sicilia F1	06.04.2013
Y3	S37	Finike	AGR-703	Sicilia F1	06.04.2013
Y3	S38	Finike	Tera- ARC	Sicilia F1	06.04.2013

Çizelge 3.1.'in devamı

Yer kodu	Sera kodu	İlçe	Anaç	Kalem	Örnek Tarihi
Y16	S39	Aksu	Tera -ARC	Faselis F1	13.04.2013
Y16	S40	Aksu	Tera -ARC	Faselis F1	13.04.2013
Y16	S41	Aksu	AGR-703	Faselis F1	13.04.2013
Y16	S42	Aksu	AGR-703	Faselis F1	13.04.2013
Y16	S43	Aksu	AGR-703	Faselis F1	13.04.2013
Y16	S44	Aksu	Tera ARC	Faselis F1	13.04.2013
Y17	S45	Gazipaşa	AGR-703	Faselis F1	20.04.2013
Y17	S46	Gazipaşa	Tera ARC	Faselis F1	20.04.2013
Y18	S47	Alanya	Tera ARC	Amadeo F1	20.04.2013
Y18	S48	Alanya	Tera ARC	Amadeo F1	20.04.2013
Y18	S49	Alanya	Tera ARC	Amadeo F1	20.04.2013
Y19	S50	Alanya	AGR-703	Faselis F1	27.04.2013
Y18	S51	Alanya	Tera ARC	Faselis F1	27.04.2013
Y18	S52	Alanya	Tera ARC	Faselis F1	27.04.2013
Y20	S53	Alanya	Tera ARC	Amadeo F1	27.04.2013
Y20	S54	Alanya	Tera ARC	Amadeo F1	27.04.2013

Çizelge 3.2. Hastalıklı örneklerin toplandığı yerler, örnek sayısı ve sera sahipleri

<b>Örnek toplanan yerler</b>	<b>Örnek sayısı</b>	<b>Sera numara ve sahipleri</b>
Y1: Konyaaltı Doyran	3	S1: Nazım Karabulut
Y1: Konyaaltı Doyran	3	S2: Süleyman Negiz
Y1: Konyaaltı Doyran	3	S3: Bayram Karabulut
Y3: Finike Çavdır	3	S4: Yakup Özkaya
Y3: Finike Çavdır	5	S5: İbrahim Geyikci
Y3: Finike Çavdır	2	S6: Salih Topcu
Y4: Kumluca Merkez	3	S7: İdris Kurşunlu
Y5:Konyaaltı Karatepe	3	S8: İbrahim Gezer
Y6: Konyaaltı Gökçam	4	S9: Ali Kan
Y7: Manavgat Taşağıl Bereket	5	S10: Orhan Varol
Y8:Alanya Konaklı	3	S11: Abdullah Kızıldaş
Y9: Alanya Payallar	4	S12: Ahmet KüçükYılmaz
Y9: Alanya Payallar	5	S13: Ali Ulukaya
Y8:Alanya Konaklı	4	S14: Ahmet Bostancı
Y10: Aksu Boztepe	3	S15: Ali Sevim
Y2: Aksu Merkez	3	S16: Ömer Aydoğan
Y2: Aksu Merkez	4	S17: Omer Aydoğan
Y2: Aksu Merkez	2	S18: Ömer Aydoğan
Y2: Aksu Merkez	4	S:19: Tunahan Kaleli
Y3: Finike Çavdır	5	S20: Yakup Özkaya
Y3: Finike Çavdır	3	S21: Salih Topcu
Y11: Konyaaltı Çamlıbel	2	S22-S23-S24: M. Ali Kaya
Y12: Konyaaltı Aşağı Karaman	4	S25: İzzet Yüksel

Çizelge 3.2.'nin devamı

Örnek toplanan yerler	Örnek sayısı	Sera numara ve sahipleri
Y12: Konyaaltı Aşağı Karaman	3	S26-27-28: Atilla Güneş
Y13: Konyaaltı Dağ Mahallesi	2	S29: Bayram Boz
Y14: Konyaaltı Çamlıbel	4	S30: Sedat Kaya
Y14: Konyaaltı Çamlıbel	2	S31: Hasan Kaya
Y15: Kumluca Adrasan	4	S32-S33: Rifat Deniz
Y15: Kumluca Adrasan	3	S34-S35: Kemal Alaçay
Y3: Finike Çavdır	3	S36-S37-S38 :Cihangir Oral
Y16: Aksu Solak Mah.	4	S39-S40: Ahmet Bakır
Y16: Aksu Solak Mah.	3	S41: Halil Bakır
Y16: Aksu Solak Mah.	3	S42: Burkan Sarıtekeli
Y16: Aksu Solak Mah.	5	S43: İbrahim Kara
Y16: Aksu Solak Mah.	4	S44: Abdullah Şen
Y17: Gazipaşa Merkez	3	S45: Ali Çetin
Y17: Gazipaşa Merkez	2	S46: Ağıah Peker
Y18: Alanya Yeşilöz	3	S47-S49: M.Galip Akçocuk
Y18: Alanya Yeşilöz	4	S48: Fatih Akçocuk
Y19: Alanya Özvadi	5	S50: Adem Çalış
Y18: Alanya Yeşilöz	3	S51-S52: Ali Karadağ
Y20: Alanya Özvadi Sazbaşı Mah.	3	S53-S54: Nuri Koca



Şekil 3.2. *V. dahliae*'nin aşılı fideden yetiştirilen patlıcan yapraklarında başlangıçta meydana getirdiği tipik hastalık belirtisi



Şekil 3.3. *V. dahliae*'nin aşılı fideden yetiştirilen patlıcan yaprağında meydana getirdiği hastalık belirtisinin ilerlemiş hali



Şekil 3.4. Yapraklarının çoğunda Verticillium solgunluğu gösteren patlıcan bitkisi



Şekil 3.5. *V. dahliae* enfeksiyonu sonucu iletim demetlerinde kahverengi renk değişimi

### 3.2. *V. Dahliae* İzolasyonu

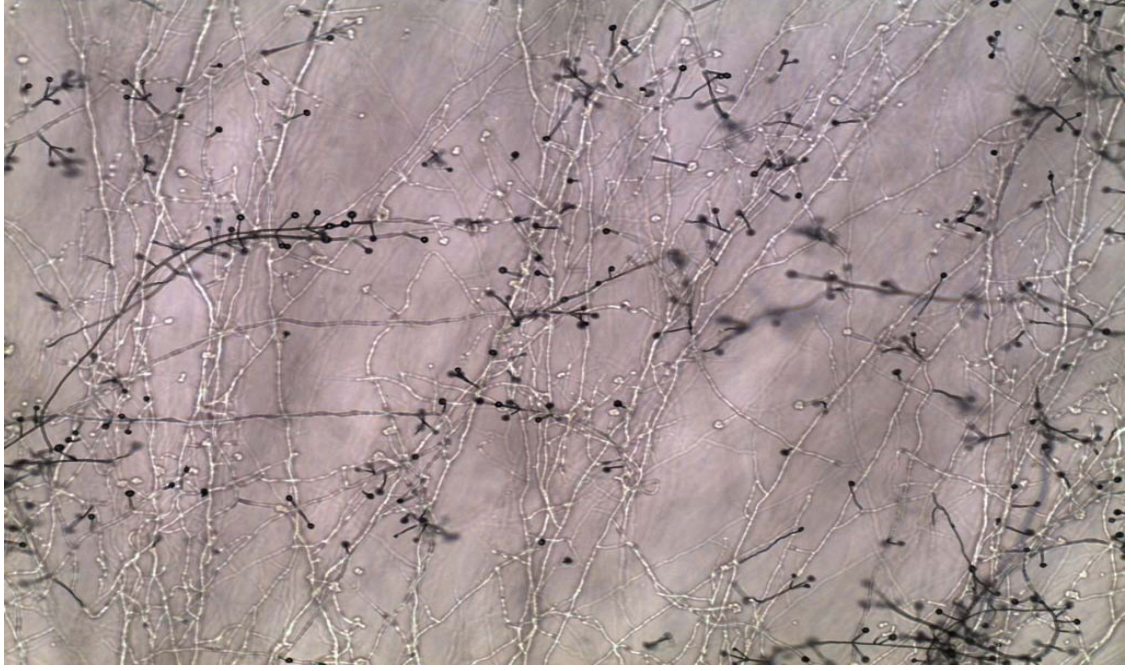
Hastalıklı patlıcan örneklerinden *V.dahliae* izolasyonu yapmak için dal veya gövdelerden alınan 1-1.5 cm uzunluğundaki parçalar önce 96'lık Etil Alkol daha sonrada 2 dakika % 10'luk sodyum hipoklorit solusyonu içine daldırılarak yüzeysel sterilizasyona tabii tutulmuştur. Sterilize edilen parçalar steril su içine daldırılıp müteakiben steril kağıtları arasında kurutulduktan sonra 2-3 mm'lik parçalar halinde tekrar kesilmiştir. Bu parçalar önceden 120<sup>0</sup>C sıcaklık ve 15 barlık basınçta sterilize edilmiş, içine bakteri gelişimini önlemek amacıyla Ampicilin antibiyotiği (100 mg/L) ilave edilmiş ve 9 cm çapta petrilere dökülmüş Patates Dekstroz Agar (PDA) besi ortamlarına her bir petriye 5 tane olacak şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 3.6). Yaklaşık 5-7 günlük inkubasyonu müteakiben bu ortamlar üzerinde gelişen misel kolonilerinin uç kısımlarından alınan hif parçaları yeni PDA ortamına transfer edilerek fungusun izolatları elde edilmiştir (Şekil 3.7). Bu izolatlar ışık mikroskobu altında incelenmiş ve misel, konidiofor ve konidi yapısına bakılarak morfolojik olarak *V. dahliae* türüne ait oldukları teyit edilmiştir (Şekil 3.8, Şekil 3.9). *V.dahliae* olduğu belirlenen kültürler tekrar PDA üzerinde 7-10 gün daha büyütülmüş ve bunlardan steril saf suda seri seyreltme yöntemi ile tek spor izolatları elde edilmiştir (Şekil 3.10). Tek spor izolatları yine PDA içeren eğik agar tüplerinde muhafaza edilmiştir (Blestos vd 2003, Başay vd 2011).



Şekil 3.6. Aşılı fidelerden yetişen hastalıklı patlıcanların gövde ve dallarından alınan parçalardan *V. dahliae* fungusunun PDA ortamına izolasyonu



Şekil 3.7. Aşılı fidelerden yetiştirilen patlıcanlardan *V. dahliae* izolatlarının elde edilmesi



Şekil 3.8. Antalya Aksu ilçesinde aşılı fidelerden yetiştirilen hastalıklı patlıcanlardan elde edilen *V. dahliae* izolatının misel, hif, konidiofor ve konidilerinin mikroskop altındaki görüntüsü



Şekil 3.9. Antalya Konyaaltı ilçesinde aşılı fidelerden yetiştirilen hastalıklı patlıcanlardan elde edilen bir *V. dahliae* izolatının misel, hif, konidiofor ve konidilerinin mikroskop altındaki görüntüsü





Şekil 3.10. *V. dahliae* fungusunu PDA üzerinde gelişen tek spor izolatlarından birisi

### 3.3. DNA Ekstraksiyonu

DNA çıkarmak için *V. dahliae*'nin tek spor izolatları üzerleri selofon zarla kaplı PDA ortamlarında 10-15 gün büyütülmüş ve gelişen fungus miselleri bir bisturi ile sıyrılarak steril ependorf tüplerine konulmuştur. Bu tüpler DNA çıkarma işlemi yapılana kadar  $-18^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında tutulmuştur. Örneklerden DNA ekstraksiyonu CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide) metodu veya DNeasy Plant Mini Kiti (Qiagen Inc., Valencia, CA). kullanılarak aşağıda tarif edildiği şekillerde yapılmıştır. CTAB metodu kullanarak DNA ekstraksiyonu Hamelin vd (2000) ve Catal vd (2010) da tarif edildiği gibi bazı değişiklikler yapılarak aşağıdaki şekilde yapılmıştır. Yaklaşık 100 mg taze fungus miseline 450 ml CTAB buffer (2 % CTAB; 1.4 M NaCl; 1% polyethylene glycol 8000; 20 mM EDTA; 1% 2-mercaptoethanol; 100 mM Tris-HCl, pH 8.0) eklenerek 2 ml ependorf tüpleri içinde homojen hale getirilinceye kadar mini el ezicileri ile ezilmiştir. Ekstraktlar kısa bir süre vorteksledikten sonra 1 saat süreyle  $65^{\circ}\text{C}$ 'de inkubasyona tabii tutulmuştur. İnkubasyonun ardından ekstraktlara 450 ml fenol: chloroform: isoamyl alcohol (25:24:1) eklenerek 10000 rpm hızda 5 dakika Sigma 1-14 model (Sigma Laborzentrifugen GmbH9., Germany) santrifujden geçirilmiştir. Tüplerin üst kısmındaki akışkan safha yeni bir tube nakledilmiş ve üzerine eşit oranda izopropanol alkol ilave edilerek DNA presipitasyonu sağlanmıştır. Bu tüpler 10000 rpm de 10 dakika santrifujden geçirildikten sonra tüplerin dibinde toplanan DNA pelletleri % 70'lik soğuk ethanolle yıkanmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutulan DNA peletleri üzerine 50 ml steril su ilave edilerek solüsyon haline getirilmiş ve buzdolabında  $-18^{\circ}\text{C}$ 'de PCR'a tabii tutuluncaya kadar tutulmuştur.

DNeasy Plant Mini Kit ekstraksiyonu bu kitin üreticisinin tarif ettiği şekilde ama bazı değişiklikler yapılarak aşağıdaki şekilde yapılmıştır (Catal vd 2010). Yaklaşık 100 mg taze misel 800 ml taze hazırlanmış CTAB bufferi içinde bir havanda iyice ezilmiştir. Elde edilen homojen misel solüsyonu ependorf tüblere nakledilmiş, içlerine

8 ml RNase ilave edilmiş ve 65 °C'de 1 saat inkubasyona tabii tutulmuştur. İnkubasyonu müteakiben tüpler 13000 rpm hızla çalışan santrifüje 5 dakika tabii tutulmuştur. Tüplerin üst kısmındaki solusyon (supernatant) QIA shredder minicolumn tüplere nakledilmiş ve bu tüpler yine 13000 rpm de 2 dakika santrifüjden geçirilmiştir. Tüplerde toplanan DNA içeren solusyondan 500 µl alınarak 300 µl soğuk % 95'lik etil alkolle iyice karıştırılmıştır. Bu karışım daha sonra DNeasy minicolumn tüplere nakledilip 1 dakika 13000 rpm de tekrar santrifüjden geçirilmiştir. Bu tüplerin içindeki zarlarda tutulan DNA peşpeşe 3 defa yıkamaya tabii tutulduktan sonra üzerlerine 50 µl elution bufferı ilave edilmiştir. Beş dakika oda sıcaklığında bekletilen tüpler en son olarak 13000 rpm de 1 dakika santrifüjden geçirilerek *V. dahliae* izolatlarının DNA miniprep ekstraktları elde edilmiştir. Her iki metodla elde edilen DNA ekstraktları polimeraze zincir reaksiyonunda (PCR) kullanılmaya kadar -20 °C'de buzdolabında saklanmıştır. Her iki metodla elde edilen DNA ekstraktlarının nitelik ve niceliği her bir ekstraktan 5 µl elektroforesis aletinde yürütülerek belirlenmiştir.

#### 3.4. Polimeraze Zincir Reaksiyonu (PCR) ile DNA Çoğaltılması

Tek spor izolatlarından elde edilen DNA ekstraktları *V. dahliae*'ye spesifik ve intergenik spacer (IGS) gen bölgelerinin çoğaltılması amacıyla PCR testlerine tabii tutulmuşlardır. *V. dahliae*'ye has markör genomik bölgenin çoğaltılmasında DB19 (5'-CGGTGACATAATACTGAGAG-3') ve DB22 (5'-GACGATGCCGATTGAACGAA-3') primerleri kullanılmıştır (Carder vd 1994, Qing vd 2006 ve 2008). İzolatların IGS bölgelerinin çoğaltılmasında ise VdIGSF1 (5'-GGGTCCTGTAAGCAGTAG-3') ve VdIGSRI (5'-GAGCCATTCGCAGTTTCG-3') primerlerinden yararlanılmıştır (Qin vd 2006, Maruthachalam vd 2010). Ayrıca *V. dahliae*'nin domatesteki ırk1 izolatlarına has primerler VdTr1 (5'-TGAAGTAGCCGATAGCTTTGTCTTGCCCGG-3') ve VdTr2 (5'-TGTCTGGATTAATCGCCGCAATAGAGACGC-3') bu çalışmada elde edilen izolatların bu ırk grubuna ait olup olmadığını tespit için kullanılmıştır (Usami vd 2007). PCR reaksiyonları 19 µl reagent karışımı ve 1 µl DNA ekstrakt olmak üzere toplamda 20 µl den oluşmuştur. PCR reagentlar ise en son reaksiyon karışımında 1x buffer (20 mM Ammonium sulfate; 75 mM Tris-HCl, pH 8.8; 0.01 % (v/v) Tween 20; Thermo Scientific, Lithuania); 2.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM her bir dATP, dTTP, dGTP ve dCTP ile 0.5 mM her bir primerden ve 0.5 birim Taq DNA polymerase enzimi içerecek şekilde hazırlanmıştır. PCR reaksiyonları MyGenie96 Thermal block model (Bioneer, San Diego, CA) thermocycler kullanılarak yapılmıştır. PCR protokolü DB19 ve DB22 primerleri için başlangıçta 94 °C 1 dakika denaturasyon, ardından 35 döngü 94 °C 1 dakika denaturasyon, 55 °C 1 dakika annealing ve 72 °C'de 1 dakika ve en sonunda 72 °C'de 10 dakika olacak şekilde uygulanmıştır (Qin vd 2006). VdIGSFI ve VdIGSRI primerleri için de benzer bir protokol uygulanmış ancak burda 35 döngülük kısımda annealing temperature 51 °C ve ektensiyon süresi 2 dakika olarak kullanılmıştır (Qin vd 2006, Maruthachalam vd 2010). Domates *V. dahliae* ırk1 primerleri VdTr1 ve VdTr2 için protokol koşulları 35 döngülük kısımda annealing 65 °C ve 72 °C extension süresi 1 dakika olarak uygulanmıştır (Usami vd 2007). Her PCR protokolünün tamamlanması sonunda tüpler thermocycler üzerinde 4 °C'de tutulmuştur. Elde edilen PCR ürünleri elektroforezde yürütülünceye kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

PCR ürünleri 1% TAE buffer (100 mM Tris, 12.5 mM sodium acetate ve 1 mM EDTA, pH: 8.0) içinde hazırlanan 1.5 % agarose jel (Sigma-Aldrich, USA) üzerinde 80 voltta 1 saat yürütülmüştür. Agarose jel içine katılmadan önce ethidium bromide

boyası ilave edilmiştir. PCR ürünlerinin büyüklüğünü belirlemek için her bir jel yürütülmesinde 1 kb DNA ladder (Thermo Scientific, Lithuania) standard olarak dahil edilmiştir. Elektroforezde yürütülen jeller Ultraviole ışık altında gözlemlenmiş ve digital sanger sequencing programı ile kayıt altına alınmıştır.

### 3.5 . DNA Dizilimlerinin Çıkarılması, Düzenlenmesi ve İzolatların Tanısı

Elde edilen PCR ürünlerinin nükleotid dizilimleri iki yönlü olarak yapılmıştır. Dizilimler BM laboratuvar sistemlerine hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Her iki bölgeninde DNA dizilimi PCR reaksiyonunda kullanılan primerler kullanılarak yapılmıştır. IGS bölgesinin diziliminde PCR da kullanılan primerlere ilave olarak nested PCR da kullanılan üçüncü primer VdIGSKF2 (5'-CAAGGTGGAAAGCTACCCG-3') kullanılmıştır (Qin vd 2006, Maruthachalam vd 2010). İzolatların DNA dizilimleri DNASTAR yazılım paketinde (DNASTAR Inc, Madison, WI) yer alan EditSeq, MegAlign ve SeqMan programları kullanılarak düzenlenmiş, peşpeşe sıralanmış (alignment) ve düzeltilmiştir. Her izolatın DNA dizilimi BLAST benzerlik programı kullanılarak gen bankası (NCBI, Bethesda, MD, USA) veri tabanında bulunan dizilimlerle karşılaştırılmıştır (Altschul vd 1990 ve 1997, Zhang ve Madden, 1997). Bu çalışmada elde edilen *V. dahliae* izolatlarına ait DNA dizilimler gen bankası veri tabanına girilmiş ve gen bankası ulaşım numaraları (accession) alınmıştır (Çizelge 2).

### 3.6. Fiogenetik Analizler ve Irkların Belirlenmesi

Elde edilen *V. dahliae* 'ye has markör genomik ve intergenic Spacer bölgelerinin DNA dizilimlerinin fiogenetik analizleri MEGA6 fiogenetik analiz programı kullanılarak Maximum Parsimony ve the tree bisection-reconnection branch swapping algorithm (TBR) metodları ile yapılmıştır (Swofford 2002, Tamura vd 2013). Fiogenetik ağaçlar her bir bootstrap değeri için 1000 tekerrür yapan neighbour joining metot kullanılarak üretilmiştir. *V. dahliae* izolatlarının hangi ırklara ait oldukları yine bu izolatların çalışmada söz konusu gen bölgelerinin dizilimlerinin Japonya'dan getirilen farklı ırkları temsil eden referans izolatların DNA dizilimleri ve gen bankası veri tabanlarında bulunan dünyanın değişik yerlerinden rapor edilen *V. dahliae* izolatlarının dizilimleri karşılaştırılarak belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. *V. Dahliae* İzolatlarının Elde Edilmesi

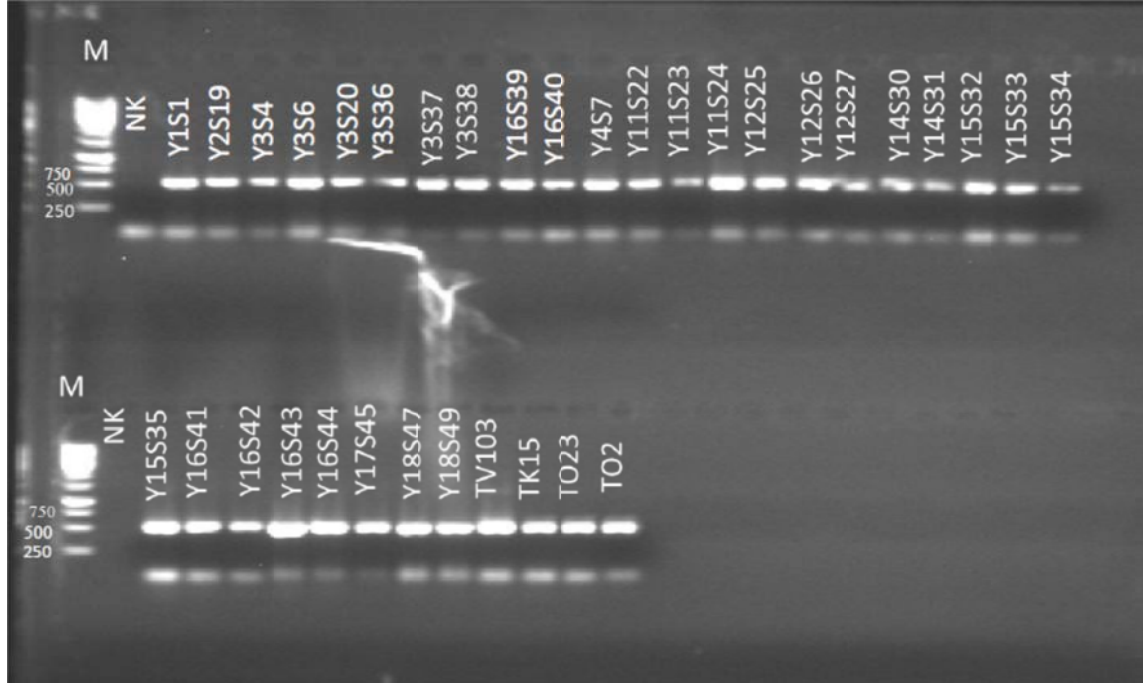
2012 ve 2013 yıllarında Antalya ili Aksu, Alanya, Finike, Gazipaşa, Konyaaltı, Kumluca, Manavgat ilçelerinde 20 farklı yerde 54 seradan 143 hastalıklı aşılı patlıcan örneği alınmış ve *V. dahliae* izolasyonunda kullanılmıştır (Çizelgeler 3.1 ve 3.2). Toplamda 11 farklı yerde (Y) bulunan 30 seradan (S) alınan örneklerden *V. dahliae* izole edilmiştir. Aksu ilçesinde 2 farklı yerden 7 farklı serada, Alanya ilçesinde 1 yerden 2 farklı serada, Gazipaşa ilçesinde 1 yerden 1 serada, Kumluca ilçesinde 2 farklı yerden 5 farklı serada, Konyaaltı ilçesinde 4 farklı yerde 9 farklı serada ve Finike ilçesinde 1 yerden 6 farklı serada *V. dahliae* saptanmıştır (Çizelge 4.1). Manavgat ilçesinde ziyaret edilen yer ve seralardan hastalığın olma ihtimalinin olduğu bir yerde tek bir seradan izolasyon yapılmış ama *V. dahliae* bulunamamıştır. Fungus 9 farklı, AGR 703-Faselis F1, AGR 703-Sicilia F1, LadyRod-Faselis F1, LadyRod-Köksal F1, Tera ARC-Faselis F1, Tera ARC-Sicilia F1, Tera ARC-Amedeo F1, Hawk-Sicilia F1 ve Yula F1-Amedeo F1 anaç-kalem kombinasyonlarında tespit edilmiştir (Çizelge 3.1 ve Çizelge 4.1). Her seradan izole edilen *V. dahliae* izolatının 5 tek spor izolatı yapılmıştır. Bu izolatlardan kültürde en hızlı gelişen bir tanesi moleküler analizlerde kullanılmıştır. Her izolatın *V. dahliae* olduğu mikroskop altında yapılan inceleme ve teşhisle teyit edilmiştir. Elde edilen izolatların DNA'sı başarılı bir şekilde çıkarılmış ve PCR çoğaltmalarında ve DNA dizilimlerinde kullanılmıştır. Geriye kalan 16 seradan toplanan hastalıklı olduğu varsayılan örneklerde *V. dahliae* bulunamamıştır.

### 4.2. *V. Dahliae*'ye Has Markör Genomik Bölgesinin PCR'la Çoğaltılması

Antalya ilçesi örtüaltı alanlarında aşılı fidelerden yetiştirilen patlıcanlardan elde edilen *V. dahliae* izolatlarının bu türe has markör genomik bölgesi DB19/DB22 primer çifti kullanılarak PCR testlerinde çoğaltılmıştır. Yine Japonya'dan temin edilen ve ırk1 (TV103 ve T02) ve ırk2 (T023 ve TK15)'yi temsil eden domates izolatlarında karşılaştırma amacıyla PCR çoğaltmalarına dahil edilmişlerdir. Tüm izolatlar en az 4 defa PCR çoğaltmalarına tabii tutulmuştur. Şekil 4.1'de görüldüğü gibi çoğaltmalarda kullanılan 30 patlıcan izolatı ve 4 domates izolatı istikrarlı olarak 520 ila 550 baz arasında bir PCR ürünü vermişlerdir. Agaroz jel üzerinde oluşan bandların büyüklüğüne bakarak izolatları birbirinden ayırmak mümkün olmamıştır. Tüm PCR testlerinde negatif kontrol olarak kullanılan saf artık sudan herhangi bir ürün elde edilmemiştir.

Çizelge 4.1. *V. dahliae* türüne has markör genomik (SSMGS) ve ribosomal DNA internal transcribed spacer (IGS) bölgelerinin dizilimleri yapılan izolatlarla ilgili bilgiler

İzolat (Kod)	Yer (İlçe/Şehir/ülke)	Konukçu (Bitki)	SSMGS (bp)	SSMGS Genbank #	Seq Grup veya Irk	IGS (bp)	IGS Genbank #
Y1S1	Konyaaltı	Patlıcan	526	KJ826467	se2	-----	-----
Y2S19	Aksu	Patlıcan	526	KJ826468	se2	1414	KP012573
Y3S4	Finike	Patlıcan	542	KJ826469	seq4	1370	KP012574
Y3S6	Finike	Patlıcan	526	KJ826470	se2	1414	KP012575
Y3S20	Finike	Patlıcan	542	KJ826471	seq4	-----	-----
Y3S36	Finike	Patlıcan	526	KJ826472	se2	-----	-----
Y3S37	Finike	Patlıcan	526	KJ826473	se2	1414	KP012576
Y3S38	Finike	Patlıcan	526	KJ826474	se2	-----	-----
Y16S39	Aksu	Patlıcan	526	KJ826475	se2	-----	-----
Y16S40	Aksu	Patlıcan	526	KJ826476	se2	-----	-----
Y4S7	Kumluca	Patlıcan	526	KJ826477	se2	-----	-----
Y11S22	Konyaaltı	Patlıcan	526	KJ826478	se2	-----	-----
Y11S23	Konyaaltı	Patlıcan	526	KJ826479	se2	-----	-----
Y11S24	Konyaaltı	Patlıcan	526	KJ826480	se2	-----	-----
Y12S25	Konyaaltı	Patlıcan	526	KJ826481	se2	-----	-----
Y12S26	Konyaaltı	Patlıcan	526	KJ826482	se2	1414	KP012577
Y12S27	Konyaaltı	Patlıcan	526	KJ826483	se2	-----	-----
Y14S30	Konyaaltı	Patlıcan	526	KJ826484	se2	1414	KP012578
Y14S31	Konyaaltı	Patlıcan	542	KJ826485	seq4	1370	KP012579
Y15S32	Kumluca	Patlıcan	526	KJ826486	seq2	-----	-----
Y15S33	Kumluca	Patlıcan	542	KJ826487	seq4	1370	KP012580
Y15S34	Kumluca	Patlıcan	526	KJ826488	seq2	-----	-----
Y15S35	Kumluca	Patlıcan	526	KJ826489	seq2	-----	-----
Y16S41	Aksu	Patlıcan	526	KJ826490	seq2	-----	-----
Y16S42	Aksu	Patlıcan	526	KJ826491	seq2	-----	-----
Y16S43	Aksu	Patlıcan	526	KJ826492	seq2	-----	-----
Y16S44	Aksu	Patlıcan	526	KJ826493	seq2	-----	-----
Y17S45	Gazipaşa	Patlıcan	526	KJ826494	seq2	-----	-----
Y18S47	Alanya	Patlıcan	542	KJ826495	seq4	1391	KP012581
Y18S49	Alanya	Patlıcan	542	KJ826496	seq4	1391	KP012582
TV103	Tokyo/Japonya	Domates	526	KP012586	ırk1	1455	KP012583
TO2	Gunma/japonya	Domates	526	KP012587	ırk1	-----	-----
T023	Gunma/japonya	Domates	526	KP012588	ırk2	1447	KP012585
TK15	Kanagawa/Japonya	Domates	526	KP012589	ırk2	1396	KP012584



Şekil. 4.1. *V. dahliae* izolatlarının türe has markör genomik bölgesinin DB19/ DB22 primer çifti kullanılarak PCR’da çoğaltılması ve 1KB DNA merdiveni markör olarak kullanılması

#### 4.3. *V. Dahliae*’ye Has Markör Genomik Bölgesinin DNA Dizilimleri ve Analizleri

*V. dahliae* izolatlarından çoğaltılan türe has markör gen bölgesi PCR ürünlerinin tümü primerler DB19 ve DB22 kullanılarak çift yönlü olarak doğrudan dizilimlenmiştir. Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi, patlıcandan izole edilen izolatlardan 526 ve 542 baz olmak üzere iki farklı uzunlukta dizilim elde edilmiştir. Bu sonuç patlıcan izolatları arasında iki grubun olduğunu göstermektedir. Bu nedenle izolatlar grup 1 ve grup 2 olarak adlandırılmışlardır. Birinci grup içinde yer alan 24 aşılı patlıcan izolatı Y1S1, Y2S18, Y3S6, Y3S36, Y3S37, Y3S38, Y16S39, Y16S40, Y4S7, Y11S22, Y11S23, Y11S24, Y12S25, Y12S26, Y12S27, Y14S30, Y15S32, Y15S34, Y15S35, Y16S41, Y16S42, Y16S43, Y16S44, Y17S45 526 bazlık bir dizilime sahipken ikinci grupta yer alan 6 izolat Y3S4, Y3S20, Y14S31, Y15S33, Y18S47 ve Y18S49 542 bazlık bir dizilim vermişlerdir. Aksu ilçesinde 4 farklı yer 7 farklı seradan elde edilen izolatlardan 526 bazlık dizilim elde edilmiştir. Konyaaltı ilçesindeki 4 farklı yer ve 8 farklı seradan alınan izolatlardan 526 bazlık dizilim alınırken aynı yerdeki bir sera izolatından (Y14S31) 542 bazlık bir dizilim alınmıştır. Finike ilçesinde örneklenen tek bir yerdeki 4 seradan alınan izolatlar 526 bazlık 2 seradan alınan izolatlar ise 542 bazlık dizilim vermiştir. Kumluca ilçesinden 2 farklı yer ve 5 farklı seradan alınan tüm izolatlar 526 bazlık ürün vermiştir. Alanya ilçesinde aynı yerde 2 farklı seradan izolatların ikisinde 542 bazlık dizilim üretirken Gazipaşa ilçesinde tek bir seradan izole

edilen *V. dahliae* izolatu 526 bazlık üretmiştir. Domateste 2 farklı ırka ait her biri 2 farklı şehirden alınan 4 japon izolatu da 526 bazlık bir dizilim vermişlerdir.

Aşılı patlıcandan elde edilen iki farklı grupta yer alan 30 izolat ve domates ırk1 ve ırk2'yi temsil eden 4 izolatın DNA dizilim ile genbankası indirilen ve günümüze kadar belirlenen 7 farklı *V. dahliae* dizilim gruplarını (seq) temsil eden dizilimler SeqMan ve MegAlign programları kullanılarak alt alta dizilerek karşılaştırılmıştır (Şekil 4.2). Dizilimler ve karşılaştırmalar patlıcan grup 1 ve grup 2 arasında % 98 bir benzerlik olduğunu göstermiştir. Şekil 4.2 de görüleceği gibi iki grup arasında 84 (C/T), 98 (G/C), 179 (C/T), 235 (T/C), 240 (T/C), 254 (C/T), 290 (A/C), 378 (T/A), 395 (G/A) ve 425'inci (G/T) nükleotid yerlerinde baz değişikliği (substitution) ve sadece 167 (-/C)'inci nükleotid yerinde baz eksikliği (deletion) tespit edilmiştir. Yine grup 1'den farklı olarak grup 2'de 314 ila 315 bazlar arasında 15 bazlık (GAGCGTGTGGCAGCC) bir ilave (insertion) bulunmuştur. Alt alta dizilimlerde 526 bazlık dizilime sahip 24 grup 1 patlıcan *V. dahliae* izolatu ile 1 domates ırk1 ve 2 ırk2 izolatları % 100 lük bir benzerlikle dizilim gruplarından seq2 yani zeytin izolat grubu içinde yer almıştır. Domates ırk1 izolatu TV103'de % 99 luk bir benzerlikle bu grup içinde yer almıştır. DNA dizilim uzunluğu 542 olan *V. dahliae* izolatlarının hepsi yine % 100 benzerlik ile seq4 yani pamuk izolat grubu içine girmiştir.

Patlıcan izolatları domatesteeki ırk1 ve ırk2 ile karşılaştırılınca grup 1 izolatlarının ırk1 izolatları TO2 ve TV103'e sırasıyla % 100 ve % 99 benzerlik gösterirken grup 2 izolatları % 98 ile % 97'lik bir benzerlik sergilemişlerdir. Yine grup 1 patlıcan izolatları DNA dizilimleri domates ırk2 izolatları TO23 ve TK15 dizilimlerine %100 benzerken grup 2 izolatları % 98 benzemişlerdir.

Y17S45	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Seq2	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y16S44	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y16S43	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y16S42	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y16S41	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y15S35	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y15S34	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y15S32	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y14S30	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y12S27	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y12S26	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y12S25	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y11S24	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y11S23	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y11S22	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y4S7	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y16S40	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y16S39	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y3S38	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y3S36	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y3S37	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y3S6	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y2S19	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60
Y1S1	CGGTGACATAAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCCTCGGTCGCGC	60

Şekil. 4.2. *V. dahliae* izolatlarının DB19 ve DB22 primerleri ile elde edilen DNA dizilimlerinin alt alta dizilmiş hali

Şekil. 4.2.'nin devamı

```

Seq1          CGGTGACATAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCGGTCGCGC 60
Seq7          CGGTGACATAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCGGTCGCGC 60
Seq3          CGGTGACATAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCGGTCGCGC 60
Y18S49       CGGTGACATAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCGGTCGCGC 60
Seq5          -----AGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCAGTCGCGC 39
Y3S4         CGGTGACATAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCGGTCGCGC 60
Y3S20        CGGTGACATAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCGGTCGCGC 60
Y14S31       CGGTGACATAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCGGTCGCGC 60
Y15S33       CGGTGACATAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCGGTCGCGC 60
Y18S47       CGGTGACATAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCGGTCGCGC 60
Seq4         CGGTGACATAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCGGTCGCGC 60
Seq6         CGGTGACATAATACTGAGAGAGGAAGCATGCGACAGGAGCGATGAGCCCCTCGGTCGCGC 60
.            *****

Y17S45       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Seq2         CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y16S44       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y16S43       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y16S42       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y16S41       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y15S35       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y15S34       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y15S32       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y14S30       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y12S27       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y12S26       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y12S25       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y11S24       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y11S23       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y11S22       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y4S7         CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y16S40       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y16S39       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y3S38       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y3S36       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y3S37       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y3S6         CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y2S19       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y1S1         CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Seq1         CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGTAGTGGCAAGCGTGCATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Seq7         CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Seq3         CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGCAGTGGCAAGCGTGGATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y18S49       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGTAGTGGCAAGCGTGCATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Seq5         CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGTAGTGGCAAGCGTGCATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 99
Y3S4         CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGTAGTGGCAAGCGTGCATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y3S20        CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGTAGTGGCAAGCGTGCATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y14S31       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGTAGTGGCAAGCGTGCATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y15S33       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGTAGTGGCAAGCGTGCATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Y18S47       CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGTAGTGGCAAGCGTGCATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Seq4         CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGTAGTGGCAAGCGTGCATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
Seq6         CGACTTCGTCCCGAGCTCTGAAGTAGTGGCAAGCGTGCATGTCGGCGAGTTTGGCATGTT 120
*****

Y17S45       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Seq2         TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y16S44       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y16S43       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y16S42       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y16S41       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y15S35       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y15S34       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y15S32       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y14S30       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y12S27       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y12S26       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y12S25       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y11S24       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y11S23       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y11S22       TAGCATCCCCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179

```

Devamı arkada



Şekil. 4.2.'nin devamı

```

Y11S22 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y4S7 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y16S40 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y16S39 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y3S38 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y3S36 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y3S37 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y3S6 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y2S19 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y1S1 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Seq1 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTTCCCTGCACGGGTCCCG 180
Seq7 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Seq3 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTT-CCCTGCACGGGTCCCG 179
Y18S49 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTTCCCTGCACGGGTCCCG 180
Seq5 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTTCCCTGCACGGGTCCCG 159
Y3S4 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTTCCCTGCACGGGTCCCG 180
Y3S20 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTTCCCTGCACGGGTCCCG 180
Y14S31 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTTCCCTGCACGGGTCCCG 180
Y15S33 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTTCCCTGCACGGGTCCCG 180
Y18S47 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTTCCCTGCACGGGTCCCG 180
Seq4 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTTCCCTGCACGGGTCCCG 180
Seq6 TAGCATCCCGCTCGTCATGGGTTTCGGCAACTCCAGCAAAGTTCCCTGCACGGGTCCCG 180
*****

Y17S45 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Seq2 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y16S44 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y16S43 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y16S42 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y16S41 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y15S35 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y15S34 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y15S32 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y14S30 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y12S27 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y12S26 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y12S25 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y11S24 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y11S23 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y11S22 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y4S7 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y16S40 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y16S39 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y3S38 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y3S36 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y3S37 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y3S6 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y2S19 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y1S1 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Seq1 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 240
Seq7 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Seq3 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 239
Y18S49 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 240
Seq5 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 219
Y3S4 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 240
Y3S20 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 240
Y14S31 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 240
Y15S33 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 240
Y18S47 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 240
Seq4 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 240
Seq6 CAGCTTTCTGGTTCAGATGGGCGCGGGCCTGAAGAATATGCGGCAGTCTATCGACTATGT 240
*****

Y17S45 TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA 299
Seq2 TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA 299
Y16S44 TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA 299
Y16S43 TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA 299
Y16S42 TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA 299
Y16S41 TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA 299

```

Sekil. 4.2.'nin devamı

Y15S35	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y15S34	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y15S32	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y14S30	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y12S27	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y12S26	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y12S25	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y11S24	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y11S23	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y11S22	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y4S7	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y16S40	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y16S39	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y3S38	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y3S36	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y3S37	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y3S6	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y2S19	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Y1S1	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Seq1	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	300
Seq7	TCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATAAGGTCCATA	299
Seq3	CCTCGAGGGAGGCTCAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATGAGGTCCATA	299
Y18S49	CCTCGAGGGAGGCTTAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATGAGGTCCATA	300
Seq5	CCTCGAGGGAGGCTTAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATGAGGTCCATA	279
Y3S4	CCTCGAGGGAGGCTTAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATGAGGTCCATA	300
Y3S20	CCTCGAGGGAGGCTTAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATGAGGTCCATA	300
Y14S31	CCTCGAGGGAGGCTTAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATGAGGTCCATA	300
Y15S33	CCTCGAGGGAGGCTTAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATGAGGTCCATA	300
Y18S47	CCTCGAGGGAGGCTTAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATGAGGTCCATA	300
Seq4	CCTCGAGGGAGGCTTAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATGAGGTCCATA	300
Seq6	CCTCGAGGGAGGCTTAAGTTAACTACGGCACTAAAGGGTCAGCCAGGTATGAGGTCCATA	300
	***** . *****	
Y17S45	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Seq2	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y16S44	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y16S43	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y16S42	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y16S41	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y15S35	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y15S34	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y15S32	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y14S30	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y12S27	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y12S26	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y12S25	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y11S24	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y11S23	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y11S22	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y4S7	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y16S40	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y16S39	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y3S38	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y3S36	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y3S37	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y3S6	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y2S19	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y1S1	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Seq1	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCACCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	345
Seq7	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCACCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	359
Seq3	TCCAACACGAGCTG-----GAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	344
Y18S49	TCCAACACGAGCTGGAGCGTGTGGCAGCCGAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	360
Seq5	TCCAACACGAGCTGGAGCGTGTGGCAGCCGAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	339
Y3S4	TCCAACACGAGCTGGAGCGTGTGGCAGCCGAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	360
Y3S20	TCCAACACGAGCTGGAGCGTGTGGCAGCCGAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC	360

Devamı arkada

Şekil. 4.2.'nin devamı

```

Y14S31      TCCAACACGAGCTGGAGCGTGTGGCAGCCGAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC 360
Y15S33      TCCAACACGAGCTGGAGCGTGTGGCAGCCGAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC 360
Y18S47      TCCAACACGAGCTGGAGCGTGTGGCAGCCGAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC 360
Seq4        TCCAACACGAGCTGGAGCGTGTGGCAGCCGAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC 360
Seq6        TCCAACACGAGCTGGAGCGTGTGGCAGCCGAGTCTCAGCTTCTTCTATGACCTCGTCTGC 360
*****_*****          *****

Y17S45      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Seq2        ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y16S44      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y16S43      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y16S42      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y16S41      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y15S35      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y15S34      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y15S32      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y14S30      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y12S27      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y12S26      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y12S25      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y11S24      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y11S23      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y11S22      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y4S7        ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y16S40      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y16S39      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y3S38       ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y3S36       ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y3S37       ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y3S6        ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y2S19       ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Y1S1        ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 404
Seq1        ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGTGACTGTCGAGCACCTCGGCCATCGCA 405
Seq7        ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGAGACTGTCGAGCACCTCAGCCATCGCA 419
Seq3        ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGAGACTGTCGAGCACCTCAGCCATCGCA 404
Y18S49      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGAGACTGTCGAGCACCTCAGCCATCGCA 420
Seq5        ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGAGACTGTCGAGCACCTCAGCCATCGCA 399
Y3S4        ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGAGACTGTCGAGCACCTCAGCCATCGCA 420
Y3S20       ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGAGACTGTCGAGCACCTCAGCCATCGCA 420
Y14S31      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGAGACTGTCGAGCACCTCAGCCATCGCA 420
Y15S33      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGAGACTGTCGAGCACCTCAGCCATCGCA 420
Y18S47      ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGAGACTGTCGAGCACCTCAGCCATCGCA 420
Seq4        ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGAGACTGTCGAGCACCTCAGCCATCGCA 420
Seq6        ATCCAGTAGTATCTTATATACATGACAGCGATGAGACTGTCGAGCACCTCAGCCATCGCA 420
*****:*****_*****

Y17S45      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Seq2        GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y16S44      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y16S43      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y16S42      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y16S41      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y15S35      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y15S34      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y15S32      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y14S30      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y12S27      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y12S26      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y12S25      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y11S24      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y11S23      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y11S22      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y4S7        GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y16S40      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y16S39      GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y3S38       GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y3S36       GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y3S37       GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y3S6        GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y2S19       GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463
Y1S1        GG-TCAGTGCTATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAAGA 463

```

Şekil. 4.2.'nin devamı

Seq1	GG-TCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	464
Seq7	GG-TCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	478
Seq3	GG-TCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	463
Y18S49	GG-TCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	479
Seq5	GG-TCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	458
Y3S4	GG-TCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	479
Y3S20	GG-TCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	479
Y14S31	GG-TCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	479
Y15S33	GG-TCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	479
Y18S47	GG-TCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	479
Seq4	GG-TCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	479
Seq6	GGGTCAGTGCATATGGGAATTAATGGGATTATATCGTCAACAAAAATATCAGCATTAAGA	480
	** *****	
Y17S45	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Seq2	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y16S44	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y16S43	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y16S42	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y16S41	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y15S35	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y15S34	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y15S32	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y14S30	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y12S27	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y12S26	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y12S25	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y11S24	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y11S23	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y11S22	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y4S7	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y16S40	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y16S39	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y3S38	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y3S36	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y3S37	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y3S6	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y2S19	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y1S1	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Seq1	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	524
Seq7	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	538
Seq3	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	523
Y18S49	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	539
Seq5	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAA-----	501
Y3S4	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	539
Y3S20	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	539
Y14S31	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	539
Y15S33	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	539
Y18S47	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	539
Seq4	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	539
Seq6	AGACTAACATTTTTAATAATGGAACAGTAGTCCCACGAGGAAATTCGTTCAATCCGCATC	540
	*****	
Y17S45	GTC	526
Seq2	GTC	526
Y16S44	GTC	526
Y16S43	GTC	526
Y16S42	GTC	526
Y16S41	GTC	526
Y15S35	GTC	526
Y15S34	GTC	526
Y15S32	GTC	526
Y14S30	GTC	526
Y12S27	GTC	526
Y12S26	GTC	526
Y12S25	GTC	526
Y11S24	GTC	526
Y11S23	GTC	526
Y11S22	GTC	526
Y4S7	GTC	526

Y16S40	GTC 526
Y16S39	GTC 526
Y3S38	GTC 526
Y3S36	GTC 526
Y3S37	GTC 526
Y3S6	GTC 526
Y2S19	GTC 526
Y1S1	GTC 526
Seq1	GTC 527
Seq7	GTC 541
Seq3	GTC 526
Y18S49	GTC 542
Seq5	---
Y3S4	GTC 542
Y3S20	GTC 542
Y14S31	GTC 542
Y15S33	GTC 542
Y18S47	GTC 542
Seq4	GTC 542
Seq6	GTC 543

Şekil. 4.2. *V.dahliae* izolatlarının DB19 ve DB22 primerleri ile elde edilen DNA dizilimlerinin alt alta dizilmiş hali

#### 4.4. *V. Dahliae*'ye Has Markör Genomik DNA Dizilimlerinin Filogenetik Analizi

Filogenetik analizlerde Antalya ilçeleri seralarından izole edilen 30 patlıcan ve japonya'dan getirilen 2 ırk1 ile 2 ırk 2 domates izolatlarının yanı sıra dünyanın değişik yerlerinde farklı bitkilerden elde edilen *V. dahliae* izolatlarının genbankası veritabanında mevcut *V. dahliae*'ye has tüm markör genomik DNA dizilimleri kullanılmıştır. Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi analizde Almanya, İngiltere, İspanya, İtalya, İsveç, Yunanistan gibi Avrupa ülkelerinin yanı sıra ABD, Çin ve İsrail'den *V. dahliae*'nin patates, biber, karnabahar, lahana, turp, enginar, kolza, pamuk, kanola, zeytin, badem, çilek, akçaağaç ve papatya bitkilerinden elde edilen 46 izolatının DNA dizilimlerinden yararlanılmıştır. Filogenetik analizler Tamurai-Nei modele (Tamurai ve Nei 1993) dayanan Maksimum Benzerlik Metodu (Maximum Likelihood Method) kullanılarak yapılmıştır. En yüksek log benzerliğine sahip filogenetik soy ağacı (-9491.1397) seçilmiştir (Şekil 4.3). Aynı grup içindeki izolatların ve grupların birbirlerine benzerlik yüzdeleri ağacın dallarında gösterilmiştir. Heuristik arama için başlangıç ağaçları Komşuların Birbirine Yakınlık Metodu (Neighbor-Joining Method) Maksimum Bileşik Benzerlik yaklaşımı (Maximum Composite Likelihood-MCL) kullanarak tahmin edilen bir ikili uzaklıklar matrixine uygulayarak elde edilmiştir. Toplamda 79 izolata ait DNA dizilimleri analize dâhil edilmiştir. En son veride toplam 543 pozisyon bulunmaktadır. Şekil 4.3'de görüldüğü gibi *V. dahliae*'ye has markör genomik DNA dizilimleri kullanılarak yapılan filogenetik analizlerde de Antalya seralarından elde edilen 30 aşılı patlıcan izolatının birbirinden tamamen ayrı iki farklı filogenetik grup içinde yer almışlardır. Sekans benzerlik analizlerinde olduğu gibi yine 24 patlıcan izolatı (Y1S1, Y2S18, Y3S6, Y3S36, Y3S37, Y3S38, Y16S39, Y16S40, Y4S7, Y11S22, Y11S23, Y11S24, Y12S25, Y12S26, Y12S27, Y14S30, Y15S32, Y15S34, Y15S35, Y16S41, Y16S42, Y16S43, Y16S44, Y17S45) birinci grupta yer

almışlardır. Seq7'yi temsil eden patates ırkında patlıcan 1. grubuna yakın dallanmıştır. Diğer 6 izolat ise (Y3S4, Y3S20, Y14S31, Y15S33, Y18S47 ve Y18S49) ikinci grupta toplanmışlardır. *V. dahliae*'ye has markör genomik DNA dizilim gruplarından Seq2'yi temsil eden zeytin izolatı ile Seq3'ü temsil eden karnabahar izolatı ve Japon domates ırk2 izolatı TK15 bu grup içinde yer almıştır. Japon domates ırk 1 izolatı TO2 ve ırk 2 izolatı TO23 farklı bir dal üzerinde ayrı bir grup içinde birlikte yer almışlardır. Bununla birlikte bu izolatlar patlıcan 1. grubuna patlıcan 2. grubundan ve domates ırk 1 izolatı TV103 den daha yakın akraba çıkmışlardır. İkinci grupta yer alan 6 izolat Seq4'ü temsil eden pamuk izolatı ile aynı dal üzerinde toplanmıştır. Yine Seq1'i temsil eden pamuk ve seq6'yı temsil eden biber izolatlarında patlıcan ikinci grubuna daha yakın bulunmuşlardır. Japon domates ırk1 izolatı TV103 ve Çizelge 4.2'de yer alan ve değişik bitkilerden elde edilen 40 izolat patlıcan gruplarından uzak dallar üzerinde değişik gruplarda yer almışlardır. Bu sonuçlar aşılı patlıcan izolatlarının ırk2 içinde olma ihtimallerini yüksek olduğunu göstermektedir.

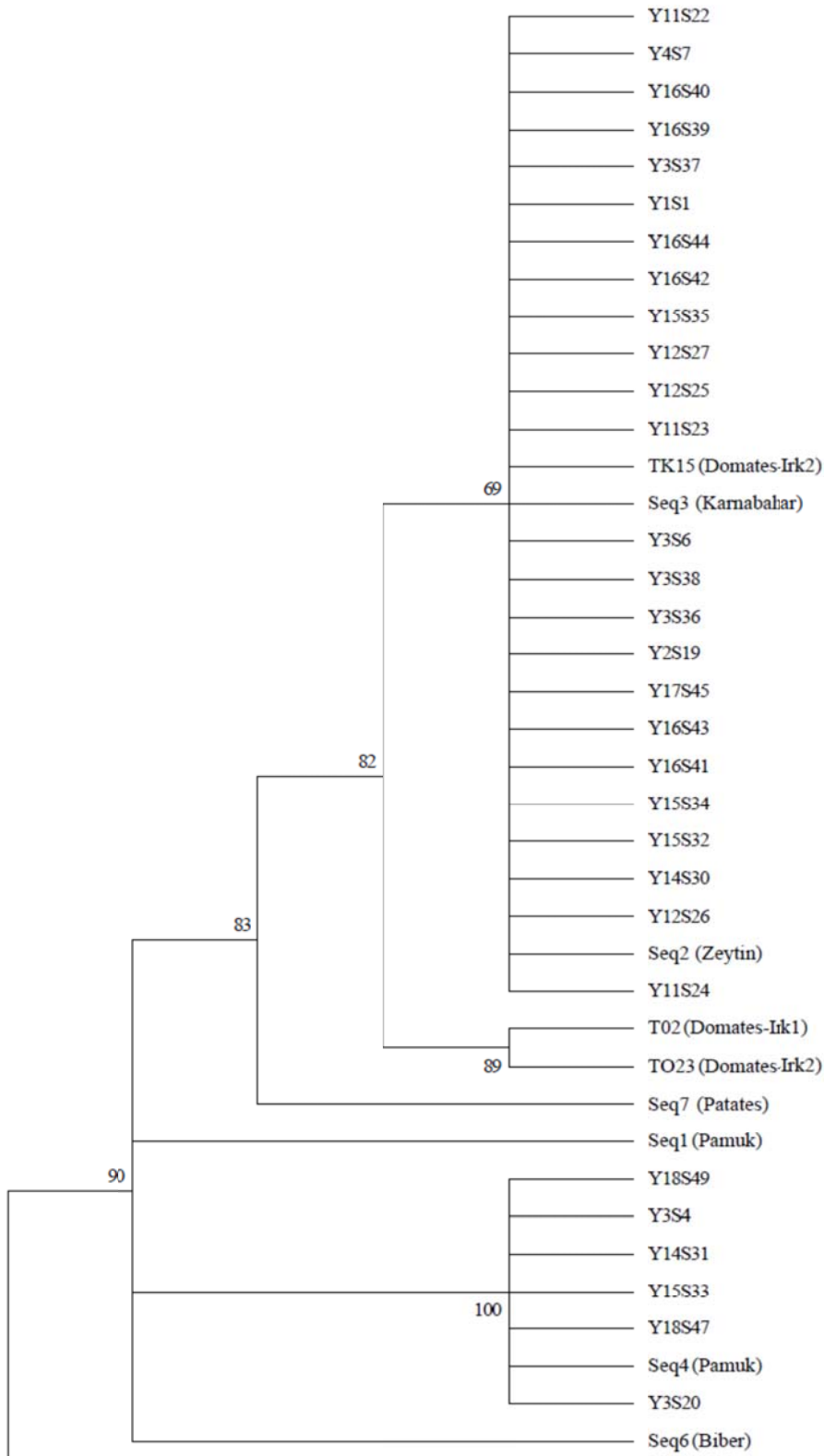
Çizelge 4.2. Filogenetik analizler için gen bankasından indirilen izolatlar

<b>İzolat (Kod)</b>	<b>Yer (İlçe/Şehir/ülke)</b>	<b>Konukçu (Bitki)</b>	<b>SSMGS Genbank #</b>
9802 (seq5)	ABD	Turp	AF363243
MD73	Almanya	Kanola	AF363244
1	ABD	Turp	AF363245
855	Almanya	Kolza	AF363246
90-02	ABD	Lahana	AF363247
MD71	Almanya	Papatya	AF363249
332	İngiltere	Çilek	AF363250
MD80	Almanya	Karnabahar	AF363251
V136I	İspanya	Zeytin	AF481966
V138I	İspanya	Pamuk	AF481967
V135I	İspanya	Zeytin	AF481968
V143I	İspanya	Zeytin	AF481969
V152I	İspanya	Zeytin	AF481970
V144I	İspanya	Zeytin	AF481971
V153I	İspanya	Zeytin	AF481972
V180I	İspanya	Pamuk	AF481973
V213I	İspanya	Pamuk	AF481974
V177I	İspanya	Pamuk	AF481975
V217I	İspanya	Pamuk	AF481976
V176I (3M-1)	İspanya	Pamuk	AF481977
V001 (V390)	İspanya	Badem	AF481978
V402I (V016)	İspanya	Enginar	AF481980
V403I (V017)	İspanya	Enginar	AF481981
V404I (V018)	İspanya	Enginar	AF481982
V407I (V021)	İspanya	Enginar	AF481983
V408 (V022)	İspanya	Badem	AF481984
V279I (cot40)	İsrail	Pamuk	AF481985
V294I (cot92)	İsrail	Pamuk	AF481986
V302I (cot117)	İsrail	Pamuk	AF481987
V308I (cot129)	İsrail	Pamuk	AF481988
77	İtalya	Zeytin	AF481989
Fv343	İtalya	Badem	AF481990
190	İtalya	Zeytin	AF481991
Vd128	Almanya	Karnabahar	AF481992
VdCa147a	ABD	Biber	AF481993
Vd1	İsveç	Karnabahar	AF481994
90-10	ABD	Karnabahar	AF481995
1990-1	ABD	Akçaağaç	AF481996
3	İngiltere	Kanola	HQ702377

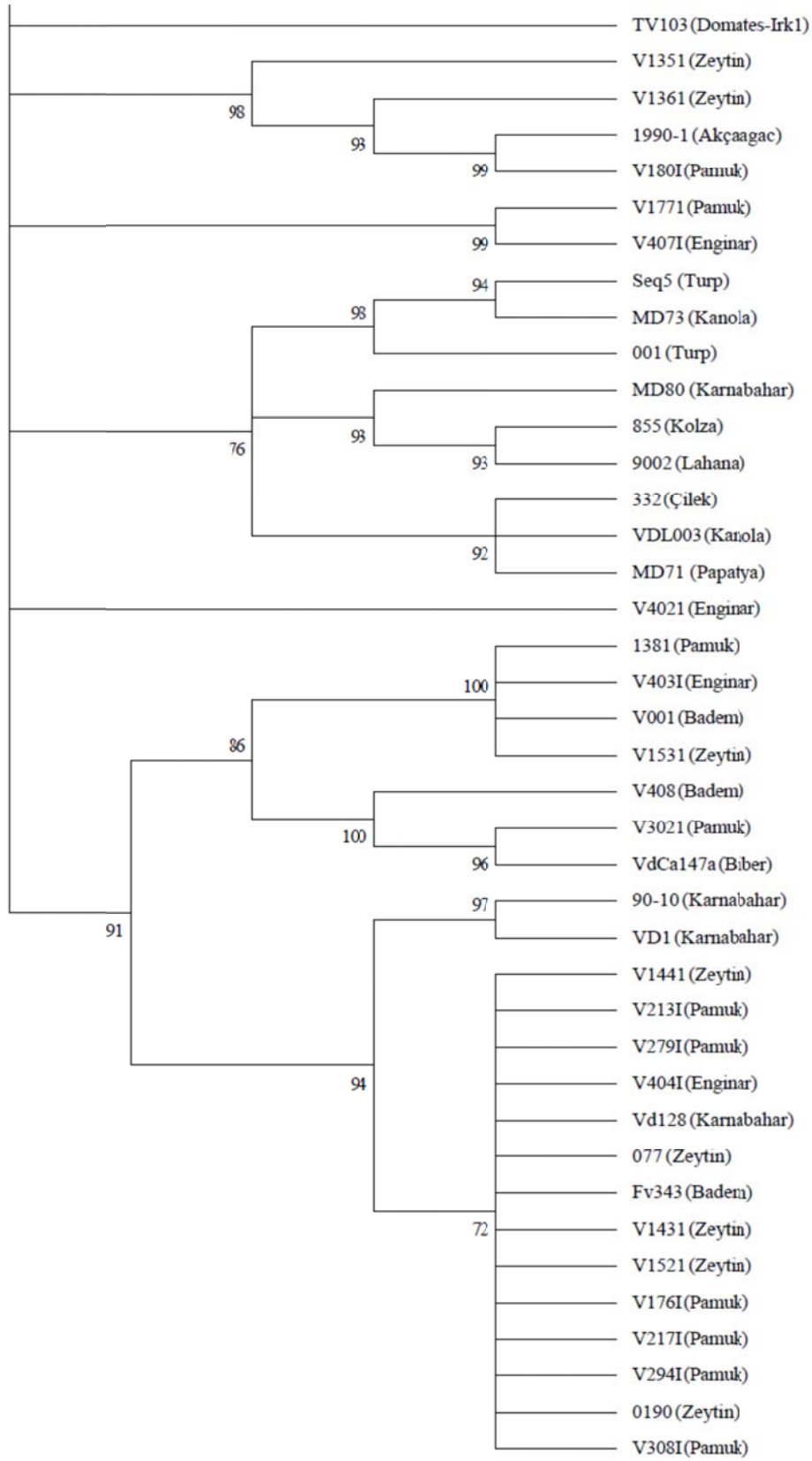
Çizelge 4.2.'nin devamı

<b>İzolat (Kod)</b>	<b>Yer (İlçe/Şehir/ülke)</b>	<b>Konukçu (Bitki)</b>	<b>SSMGS Genbank #</b>
V357I (seq1)	Çin	Pamuk	DQ266246
V803I (seq2)	İspanya	Zeytin	DQ266247
V599I (seq3)	ABD	Karnabahar	DQ266248
V640I (seq4)	Yunanistan	Pamuk	DQ266249
70-21 (seq6)	ABD	Biber	DQ266244
131-M (seq7)	ABD	Patates	DQ266245





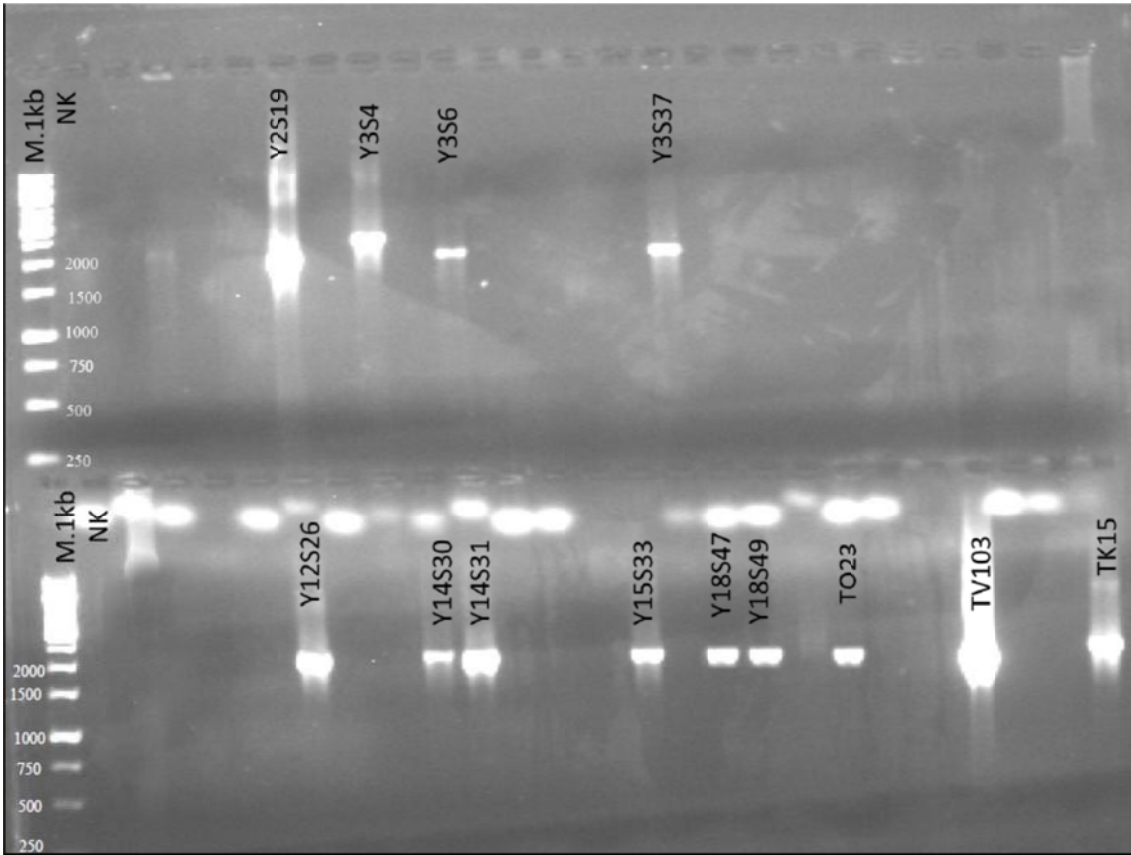
Şekil. 4.3. *V.dahliae* izolatlarının türe has markör genomik DNA (SSMGS) dizilimlerinin filogenetik analizi



Şekil. 4.3.'ün devamı

#### 4.5. İntergenic Spacer Bölgesinin PCR'la Çoğaltılması

Antalya ilçesi örtüaltı alanlarında aşılı fidelerden yetiştirilen patlıcanlardan elde edilen *V. dahliae* izolatlarının ribosomal DNA intergenic spacer bölgeleri primer çifti VdIGSFI/VdIGSF2 kullanılarak PCR testlerinde çoğaltılmıştır. Yine Japonya' dan temin edilen ve ırk1 (TV103 ve T02) ve ırk2 (T023 ve TK15)' yi temsil eden domates izolatlarında karşılaştırma amacıyla PCR çoğaltmalarına dahil edilmişlerdir. Tüm izolatlar en az 4 defa PCR'a tabii tutulmuştur. Şekil 4.3'de görüldüğü gibi çoğaltmalarda kullanılan 30 patlıcan izolatından 10 tanesinden istikrarlı PCR ürünü elde edilmiştir. Domates izolatlarından ırk1'i temsil eden TV103 ve ırk 2' yi temsil eden T023 ve TK15 izolatlarından PCR ürünü alınmıştır. En az 4 defa ve 3 tekrarlı PCR çoğaltmalarında 20 patlıcan ve 1 domates ırk1 izolatı (T02)' ndan PCR ya çok zayıf yada hiç ürün elde edilememiştir. Başarı ile çoğaltılan izolatlardan patlıcan izolatı Y3S4 dışında hepsinden aynı büyüklükte yaklaşık 1800 bazlık bir ürün elde edilmiştir. İzolat Y3S4 2000 baz civarında ürün vermiştir. PCR testlerinde negatif kontrol olarak kullanılan saf sudan herhangi bir ürün elde edilmemiştir.



Şekil. 4.4. *V. dahliae* IGS bölgesinin primer çifti VdIGSFI ve VdIGSR1 ile PCR'da çoğaltılması

#### 4.6. İntergenic Spacer Bölgesinin DNA Dizilimleri

*V. dahliae* 'nın 10 patlıcan ve 3 domates izolatlarından çoğaltılan IGS bölgesi PCR ürünlerini primer VdIGSF1 ve VdIGSF2 kullanılarak doğrudan dizilimlenmiştir. Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi, patlıcan izolatları Y2S19, Y3S6, Y3S37, Y12S26, Y14S30'dan 1414, Y3S4, Y14S31, Y15S33'den 1370, Y18S47 ile y18S49'dan ise 1391 bazlık kaliteli DNA dizilimi elde edilmiştir. Domates izolatları TV103'den 1455, TO23'den 1447 ve TK15'den de 1396 bazlık kaliteli DNA dizilimi alınmıştır.

Patlıcandan elde edilen ve PCR'da başarı ile çoğaltılan 10 *V. dahliae* ve 3 domates izolatının DNA dizilimleri SeqMan ve MegaAlign programları kullanılarak alt alta dizilerek karşılaştırılmıştır (Şekil 4.5). Karşılaştırmalar IGS sekansı bakımından da patlıcan izolatlarının iki gruba ayrıldığı göstermiştir. İzolatlar Y3S6, Y12S19, Y12S26, Y14S30 ve Y3S37 hemen hemen % 100'lük bir IGS DNA dizilimi ile A grubu içinde yer alırken izolatlar Y3S4, Y14S31, Y15S33, Y18S47 ve Y18S49 % 100'lük bir benzerlikle B grubu içinde yer almışlardır. A grubu içindeki izolatlar arasında sadece 1347. nükleotid yerindeki bir bazlık (C/T) değişikliği tespit edilmiştir. A ve B grubu arasındaki sekans benzerliği % 88 civarında kalmıştır.

A ve B grubunda yer alan patlıcan izolatları domates ırk1 izolatı TV103 ve ırk2 izolatları TO23 ve TK15 ile de karşılaştırılmışlardır. Patlıcan A grubundaki izolatların domates ırk1 izolatı TV103'e benzerliği bu grubun 494-495 bazlar arasında sahip olduğu 144 bazlık bir ilave (insertion) nedeniyle % 88 civarında kalmıştır. Patlıcan B grubundaki izolatların domates ırk1 izolatı TV103'e benzerliğide yine 494-495 bazlar arasında sahip olduğu 95 bazlık bir ilave (insertion) dizilim ve 605-606 bazları arasında 63 bazlık eksik (deletion) dizilim dolayısı ile % 79 olmuştur. Yine bu ırk ile B grubu arasında en az 5 yerde baz farklılığı bulunmuştur. A grubundaki izolatların domates ırk2 izolatlarına benzerliği % 95 iken B grubundakilerin benzerliği % 79 olmuştur.

```
Y15S33      --ATCTGCTGAGGGTAAGCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 58
Y3S4       --ATCTGCTGAGGGTAAGCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 58
Y14S31     --ATCTGCTGAGGGTAAGCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 58
Y18S47     --ATCTGCTGAGGGTAAGCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 58
Y18S49     --ATCTGCTGAGGGTAAGCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 58
TV103      TGATCTGCTGAGGGTA-GCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 59
Y12S26     -GATCTGCTGAGGGTA-GCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 58
Y14S30     -GATCTGCTGAGGGTA-GCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 58
Y3S6       -GATCTGCTGAGGGTA-GCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 58
Y3S37     -GATCTGCTGAGGGTA-GCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 58
Y2S19     -GATCTGCTGAGGGTA-GCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 58
TK15       -GATCTGCTGAGGGTA-GCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 58
TO23       CGATCTGCTGAGGGTA-GCCCTACTTCGCCTCGATTTCCTCGATAACCCGGCACCTAGTG 59
           *****

Y15S33     CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 118
Y3S4       CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 118
Y14S31     CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 118
Y18S47     CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 118
Y18S49     CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 118
TV103      CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 119
```

Şekil. 4.5. *V. dahliae* izolatlarının IGS DNA dizilimlerinin alt alta dizilmiş hali

Şekil. 4.5.'in devamı

Y12S26 CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 118  
Y14S30 CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 118  
Y3S6 CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 118  
Y3S37 CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 118  
Y2S19 CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 118  
TK15 CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 118  
T023 CCGCGATATGGAGGGGTTGAGATGGGTAGAGGGGAAGGCGGAGGAGGGGGGAAGAGAGA 119  
\*\*\*\*\*  
Y15S33 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 178  
Y3S4 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 178  
Y14S31 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 178  
Y18S47 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 178  
Y18S49 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 178  
TV103 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 179  
Y12S26 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 178  
Y14S30 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 178  
Y3S6 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 178  
Y3S37 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 178  
Y2S19 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 178  
TK15 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 178  
T023 GCGAGAGTCCGCACTCAGCGCCTTGCTCTAGCGACCTCGCCGCTATGTCGCCGCGTTTTTC 179  
\*\*\*\*\*  
Y15S33 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 238  
Y3S4 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 238  
Y14S31 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 238  
Y18S47 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 238  
Y18S49 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 238  
TV103 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 239  
Y12S26 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 238  
Y14S30 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 238  
Y3S6 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 238  
Y3S37 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 238  
Y2S19 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 238  
TK15 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 238  
T023 GCTGTGCGTTGCAAGGCAGACGCCGCTGTACGGCCGCTACGGCGTCCGCTGCCGCGGA 239  
\*\*\*\*\*  
Y15S33 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 298  
Y3S4 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 298  
Y14S31 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 298  
Y18S47 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 298  
Y18S49 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 298  
TV103 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 299  
Y12S26 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 298  
Y14S30 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 298  
Y3S6 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 298  
Y3S37 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 298  
Y2S19 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 298  
TK15 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 298  
T023 CTACGCGCCTGCGGCGCGGGATCTTTTCAGGGGGCCCTCTGGGGCCCGAAAGATTTTTTTT 299  
\*\*\*\*\*  
Y15S33 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 358  
Y3S4 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 358  
Y14S31 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 358  
Y18S47 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 358  
Y18S49 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 358  
TV103 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 359  
Y12S26 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 358  
Y14S30 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 358  
Y3S6 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 358  
Y3S37 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 358  
Y2S19 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 358  
TK15 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 358  
T023 TCTCAATTCCCGGTTAGTGGTCTCTGAGAGTGGCCAGAGACAGCCCCAAGTCTACCAT 359  
\*\*\*\*\*  
Y15S33 CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 418  
Y3S4 CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 418

Şekil. 4.5.'in devamı

```

Y14S31      CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 418
Y18S47      CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 418
Y18S49      CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 418
TV103       CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 419
Y12S26      CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 418
Y14S30      CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 418
Y3S6        CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 418
Y3S37       CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 418
Y2S19       CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 418
TK15        CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 418
T023        CTATGGAGGTGGTGGGGTTTTTGGCGTCAAGGTGGAAAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 419
*****

Y15S33      TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 478
Y3S4        TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 478
Y14S31      TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 478
Y18S47      TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 478
Y18S49      TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 478
TV103       TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 479
Y12S26      TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 478
Y14S30      TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 478
Y3S6        TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 478
Y3S37       TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 478
Y2S19       TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 478
TK15        TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 478
T023        TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 479
*****

Y15S33      CTACCCGGGAATTGG----- 493
Y3S4        CTACCCGGGAATTGG----- 493
Y14S31      CTACCCGGGAATTGG----- 493
Y18S47      CTACCCGGGAATTGG----- 493
Y18S49      CTACCCGGGAATTGG----- 493
TV103       CTACCCGGGAATTGG----- 494
Y12S26      CTACCCGGGAATTGG-----ACCAGTTTGGAGCTGGCAGCTACCCG 520
Y14S30      CTACCCGGGAATTGG-----ACCAGTTTGGAGCTGGCAGCTACCCG 520
Y3S6        CTACCCGGGAATTGG-----ACCAGTTTGGAGCTGGCAGCTACCCG 520
Y3S37       CTACCCGGGAATTGG-----ACCAGTTTGGAGCTGGCAGCTACCCG 520
Y2S19       CTACCCGGGAATTGG-----ACCAGTTTGGAGCTGGCAGCTACCCG 520
TK15        CTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGACCAGTTTGGAGCTGGCAGCTACCCG 538
T023        CTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGACCAGTTTGGAGCTGGCAGCTACCCG 539
*****

Y15S33      -AAATTTGGAGAACGGATTTTG-----GTGAGTTGGC----- 524
Y3S4        -AAATTTGGAGAACGGATTTTG-----GTGAGTTGGC----- 524
Y14S31      -AAATTTGGAGAACGGATTTTG-----GTGAGTTGGC----- 524
Y18S47      -AAATTTGGAGAACGGATTTTG-----GTGAGTTGGC----- 524
Y18S49      -AAATTTGGAGAACGGATTTTG-----GTGAGTTGGC----- 524
TV103       -GAGCT-----AC-----CCG-----G-GAATTGG----- 512
Y12S26      GGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 580
Y14S30      GGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 580
Y3S6        GGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 580
Y3S37       GGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 580
Y2S19       GGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAGCTACCCGGGAATTGGACCAGT 580
TK15        GGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAGCTACCCGGGAATTGG----- 592
T023        GGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAGCTACCCGGGAATTGG----- 593
* * * * *

Y15S33      -----
Y3S4        -----
Y14S31      -----
Y18S47      -----
Y18S49      -----
TV103       -----
Y12S26      TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 640
Y14S30      TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 640

```

Devamı arkada

Şekil. 4.5.'in devamı

```

Y3S6      TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 640
Y3S37     TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 640
Y2S19     TTTGAGGCTGGCAGCTACCCGGGAGTTGGCTGAAAAACGACCAAGTCGGACACCTTGGAG 640
TK15      -----GAG 595
T023      -----GAG 596

Y15S33    -----TGAAAAAACGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 579
Y3S4      -----TGAAAAAACGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 579
Y14S31    -----TGAAAAAACGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 579
Y18S47    -----TGAAAAAACGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 579
Y18S49    -----TGAAAAAACGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 579
TV103     -----ACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 549
Y12S26    CTACCCGGGAATTGGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 692
Y14S30    CTACCCGGGAATTGGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 692
Y3S6      CTACCCGGGAATTGGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 692
Y3S37     CTACCCGGGAATTGGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 692
Y2S19     CTACCCGGGAATTGGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 692
TK15      CTACCCGGGAATTGGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 647
T023      CTACCCGGGAATTGGACCAAGTCAGACATCTGGGAGCTACCCTGGAATTGGGAGCTACCC 648
                **** * ** **** * * * * * * * * * *

Y15S33    -----GGGAATTGGGAGCTACCCGGGAAT 603
Y3S4      -----GGGAATTGGGAGCTACCCGGGAAT 603
Y14S31    -----GGGAATTGGGAGCTACCCGGGAAT 603
Y18S47    TGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAAT 639
Y18S49    TGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAAT 639
TV103     -----GAAAAACGACCAAGTCGGACAC 571
Y12S26    -----GAAAAACGACCAAGTCGGACAC 714
Y14S30    -----GAAAAACGACCAAGTCGGACAC 714
Y3S6      -----GAAAAACGACCAAGTCGGACAC 714
Y3S37     -----GAAAAACGACCAAGTCGGACAC 714
Y2S19     -----GAAAAACGACCAAGTCGGACAC 714
TK15      -----GAAAAACGACCAAGTCGGACAC 669
T023      -----GAAAAACGACCAAGTCGGACAC 670
                *** ** * * * * *

Y15S33    -TGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 662
Y3S4      -TGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 662
Y14S31    -TGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 662
Y18S47    -TGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 698
Y18S49    -TGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 698
TV103     CTTGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 631
Y12S26    CTTGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 774
Y14S30    CTTGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 774
Y3S6      CTTGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 774
Y3S37     CTTGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 774
Y2S19     CTTGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 774
TK15      CTTGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 729
T023      CTTGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAGACGAATTCGCCGATTCC 730
                * *****

Y15S33    TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAGCGTATCGTCCT 722
Y3S4      TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAGCGTATCGTCCT 722
Y14S31    TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAGCGTATCGTCCT 722
Y18S47    TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAGCGTATCGTCCT 758
Y18S49    TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAGCGTATCGTCCT 758
TV103     TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAACGATATCGTCCT 691
Y12S26    TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAACGATATCGTCCT 834
Y14S30    TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAACGATATCGTCCT 834
Y3S6      TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAACGATATCGTCCT 834
Y3S37     TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAACGATATCGTCCT 834
Y2S19     TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAACGATATCGTCCT 834
TK15      TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAACGATATCGTCCT 789
T023      TCCACCACCAGGCCGTTTCCCGTTACTCTTCTTAGTGCCTGGAAAGAACGATATCGTCCT 790
                *****

Y15S33    TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTGGCTTTCA 782
Y3S4      TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTGGCTTTCA 782
Y14S31    TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTGGCTTTCA 782
Y18S47    TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTGGCTTTCA 818

```

Şekil. 4.5.'in devamı

Y18S49	TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTTGGCTTTCA	818
TV103	TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTTGGCTTTCA	751
Y12S26	TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTTGGCTTTCA	894
Y14S30	TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTTGGCTTTCA	894
Y3S6	TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTTGGCTTTCA	894
Y3S37	TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTTGGCTTTCA	894
Y2S19	TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTTGGCTTTCA	894
TK15	TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTTGGCTTTCA	849
T023	TAGTATATTTCACTCTTAAAAGTACTATATATACTTGAACGCTATTTGTTTTGGCTTTCA	850
	*****	
Y15S33	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	842
Y3S4	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	842
Y14S31	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	842
Y18S47	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	878
Y18S49	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	878
TV103	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	811
Y12S26	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	954
Y14S30	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	954
Y3S6	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	954
Y3S37	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	954
Y2S19	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	954
TK15	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	909
T023	AGAGTCTGCTTGCGGTGCACTAGTATTTCCTATTGAGTTTCTGGGCCGAAATCCTACCACG	910
	*****	
Y15S33	CCACCTAACGTCAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	902
Y3S4	CCACCTAACGTCAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	902
Y14S31	CCACCTAACGTCAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	902
Y18S47	CCACCTAACGTCAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	938
Y18S49	CCACCTAACGTCAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	938
TV103	CCACCTAACGTTAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	871
Y12S26	CCACCTAACGTTAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	1014
Y14S30	CCACCTAACGTTAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	1014
Y3S6	CCACCTAACGTTAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	1014
Y3S37	CCACCTAACGTTAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	1014
Y2S19	CCACCTAACGTTAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	1014
TK15	CCACCTAACGTTAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	969
T023	CCACCTAACGTTAGAAGGCCTAGCGAAATACATTGCAATCGAATAGGCACACTCAGATT	970
	*****	
Y15S33	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	962
Y3S4	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	962
Y14S31	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	962
Y18S47	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	998
Y18S49	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	998
TV103	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	931
Y12S26	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	1074
Y14S30	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	1074
Y3S6	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	1074
Y3S37	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	1074
Y2S19	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	1074
TK15	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	1029
T023	ACCCATATGGCCGGTCTGTCATCGCTGCAGCAGCGTTGGGGCGGCCGTGGTGGTGGAAATCG	1030
	*****	
Y15S33	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAATCTGGAGGCGC	1022
Y3S4	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAATCTGGAGGCGC	1022
Y14S31	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAATCTGGAGGCGC	1022
Y18S47	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAATCTGGAGGCGC	1058
Y18S49	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATTGGGAATCTGGAGGCGC	1058
TV103	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATCGGGAATCTGGAGGCGC	990
Y12S26	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATCGGGAATCTGGAGGCGC	1134
Y14S30	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATCGGGAATCTGGAGGCGC	1134
Y3S6	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATCGGGAATCTGGAGGCGC	1134
Y3S37	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATCGGGAATCTGGAGGCGC	1134

Devamı arkada



Şekil. 4.5.'in devamı

Y2S19	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATCGGGAATCTGGAGGCGC	1134
TK15	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATCGGGAATCTGGAGGCGC	1089
T023	AGGTTGTGGCGAGCTACCCGGGAATTGGGAGCTACCCGGGAATCGGGAATCTGGAGGCGC	1090
	*****	
Y15S33	CGACGACCCTCAGAACGGCGCAGGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1082
Y3S4	CGACGACCCTCAGAACGGCGCAGGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1082
Y14S31	CGACGACCCTCAGAACGGCGCAGGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1082
Y18S47	CGACGACCCTCAGAACGGCGCAGGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1118
Y18S49	CGACGACCCTCAGAACGGCGCAGGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1118
TV103	CGACGACCCTCAGAACGGCGCAGG-CGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1049
Y12S26	CGACGACCCTCAGAACGGCGCATGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1194
Y14S30	CGACGACCCTCAGAACGGCGCATGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1194
Y3S6	CGACGACCCTCAGAACGGCGCATGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1194
Y3S37	CGACGACCCTCAGAACGGCGCATGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1194
Y2S19	CGACGACCCTCAGAACGGCGCATGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1194
TK15	CGACGACCCTCAGAACGGCGCAGGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1149
T023	CGACGACCCTCAGAACGGCGCAGGGCGGCTGCAGCCACTGGGGCATGCGTGGGCACCTG	1150
	*****	
Y15S33	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1142
Y3S4	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1142
Y14S31	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1142
Y18S47	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1178
Y18S49	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1178
TV103	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1109
Y12S26	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1254
Y14S30	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1254
Y3S6	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1254
Y3S37	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1254
Y2S19	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1254
TK15	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1209
T023	TGGCCATTTGGCAGAGTTGGTTCGGTGTGAGCCACGAAAAAGTTGCCAAAATCCGTTCT	1210
	*****	
Y15S33	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1202
Y3S4	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1202
Y14S31	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1202
Y18S47	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1238
Y18S49	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1238
TV103	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1169
Y12S26	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1314
Y14S30	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1314
Y3S6	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1314
Y3S37	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1314
Y2S19	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1314
TK15	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1269
T023	CCAAATTTTCCCATAGTCAGAGTGGGGCCCCACCAAAAAAGATCAACGACTTTCGGCTG	1270
	*****	
Y15S33	CAGCGGCGTGCCACCAAAAA-CAGGACCCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1261
Y3S4	CAGCGGCGTGCCACCAAAAA-CAGGACCCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1261
Y14S31	CAGCGGCGTGCCACCAAAAA-CAGGACCCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1261
Y18S47	CAGCGGCGTGCCACCAAAAAACAGGACCCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1298
Y18S49	CAGCGGCGTGCCACCAAAAAACAGGACCCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1298
TV103	CAGCGGCGTGCCACCAAAAA-CAGGACCCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1228
Y12S26	CAGCGGCGTGCCACCAAAAA-CAGGACTCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1373
Y14S30	CAGCGGCGTGCCACCAAAAA-CAGGACTCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1373
Y3S6	CAGCGGCGTGCCACCAAAAA-CAGGACTCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1373
Y3S37	CAGCGGCGTGCCACCAAAAA-CAGGACCCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1373
Y2S19	CAGCGGCGTGCCACCAAAAA-CAGGACCCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1373
TK15	CAGCGGCGTGCCACCAAAAA-CAGGACCCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1328
T023	CAGCGGCGTGCCACCAAAAA-CAGGACCCAGGGTATGTAAGAAGGGGAAAGCGAAAGCA	1329
	*****	
Y15S33	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTTTTCAGTAATGAGAATCCGCCGAACACTGTTCC	1321
Y3S4	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTTTTCAGTAATGAGAATCCGCCGAACACTGTTCC	1321
Y14S31	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTTTTCAGTAATGAGAATCCGCCGAACACTGTTCC	1321
Y18S47	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTTTTCAGTAATGAGAATCCGCCGAACACTGTTCC	1358
Y18S49	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTTTTCAGTAATGAGAATCCGCCGAACACTGTTCC	1358

TV103	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTCTTTTCAGTAATGAGAATCCGCCGAACACTGTTCC	1288
Y12S26	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTCTTTTCAGTAATGAGA-----	1414
Y14S30	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTCTTTTCAGTAATGAGA-----	1414
Y3S6	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTCTTTTCAGTAATGAGA-----	1414
Y3S37	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTCTTTTCAGTAATGAGA-----	1414
Y2S19	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTCTTTTCAGTAATGAGA-----	1414
TK15	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTCTTTTCAGTAATGAGAATCCGCCGAACACTGTTCC	1388
T023	GAACCCGGGCGGGCGCCTCAGTGCCTCTTTTCAGTAATGAGAATCCGCCGAACACTGTTCC	1389
	*****	

Şekil. 4.5. *V. dahliae* izolatlarının IGS DNA dizilimlerinin alt alta dizilmiş hali

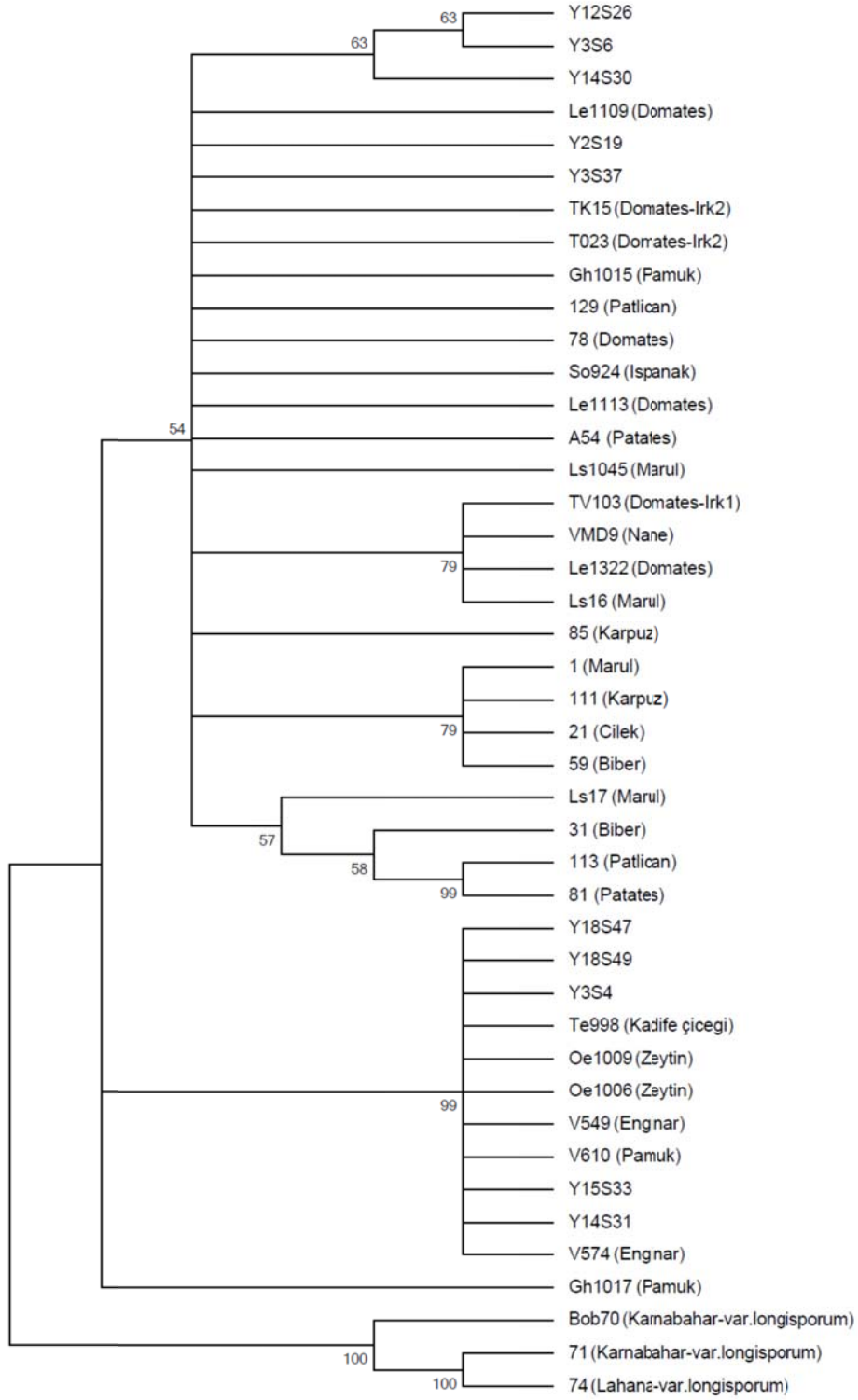
#### 4.7. İntergenic Spacer (IGS) Bölgesinin DNA Dizilimlerinin Filogenetik Analizi

Filogenetik analizlerde Antalya ilçeleri seralarından izole edilen 10 patlıcan ve Japonya'dan getirilen 1 ırk1 ile 2 ırk2 domates izolatlarının yanı sıra genbankası veritabanından indirilen 26'sı ABD ve 4'ü İspanya'dan olmak üzere toplam 42 *V. dahliae* izolatının IGS bölgesinin DNA dizilimleri kullanılmıştır. Ribosomal IGS DNA dizilimleri gen bankasından indirilen izolatlarla ilgili bilgiler Çizelge 4.3'de verilmiştir. Bu dizilimler çoğunluğu domates, biber, patlıcan, patates, marul, ıspanak, lahana, enginar, karpuz gibi sebzeler olmak üzere pamuk, zeytin, çilek, nane ve kadife çiçeği gibi değişik bitkilerden izole edilen izolatlardan elde edilmiştir. Bu izolatlar aynı zamanda patlıcandan elde edilen ve IGS DNA dizilimlerine göre A ve B diye 2 gruba ayrılan izolatların gen bankası Blast programı ile yapılan benzerlik karşılaştırmalarında patlıcan izolatlarına en yakın izolatları temsil etmektedir. Filogenetik analizler yine General Time Reversible Modeline (Nei ve Kumar 200) dayanan Maksimum Benzerlik Metodu (Maximum Likelihood Method) kullanılarak yapılmıştır. En yüksek log benzerliğine sahip filogenetik soy ağacı (-6040.7615) seçilmiştir (Şekil 4.6). Aynı grup içindeki izolatların ve farklı grupların birbirlerine benzerlik yüzdeleri ağacın dallarında gösterilmiştir. Heuristik arama için başlangıç ağaçları Komşuların Birbirine Yakınlık Metodu (Neighbor-Joining Method) Maksimum Bileşik Benzerlik yaklaşımı (Maximum Composite Likelihood-MCL) kullanarak tahmin edilen bir ikili uzaklıklar matrixine uygulayarak elde edilmiştir. Toplamda 43 izolata ait DNA dizilimleri analize dâhil edilmiştir. En son veride toplam 2145 pozisyon bulunmaktadır. Şekil 4.6 de görüldüğü gibi filogenetik analizler bu izolatların 3 farklı gruba ayrıldığını göstermektedir. *V. dahliae* IGS DNA dizilimleri kullanılarak yapılan benzerlik analizlerinde olduğu gibi Antalya seralarından elde edilen ve analizi yapılan 10 aşılı patlıcan izolatının birbirinden tamamen ayrı iki farklı filogenetik grup içinde yer almışlardır. Aşılı patlıcan izolatları Y3S6, Y12S26, Y14S36, Y2S19, Y3S37 A grubu içinde yer almışlardır. Japon domates ırk2 izolatları T023 ve TK15 A grubu izolatları ile ağacın aynı dalı üzerinde toplanmışlardır. Aşılı patlıcan izolatları Y3S4, Y14S31, Y15S33, Y18S47 ve Y18S49 ise A grubundan tamamen uzakta bir dal üzerinde B grubunda toplanmışlardır. Japon ırk1 izolatu A grubuna B den daha yakın bulunmuştur. Çizelge 4.3'de görülen domates, patlıcan, ıspanak, patates, marul, karpuz, biber gibi sebzelerden alınan izolatların hepsi ve bir pamuk izolatu A grubunda yer alan aşılı patlıcan izolatlarına daha akraba bulunmuşlardır. Aşılı patlıcan B grubu izolatları

ise çizelge 4.3’de görülen sebze dışındaki pamuk, zeytin, enginar ve kadife çiçeği gibi bitkilerden alınan izolatlarla daha yakın bulunmuşlardır. Analize dahil edilen ve karnabahardan 2 lahanadan 1 izolatla temsil edilen *V. dahliae* var. *longisporum* izolatları ayrı bir dal üzerinde C grubu olarak adlandırılan 3. gruba girmişlerdir.

Çizelge 4.3. Filogenetik analizde kullanılmak amacıyla IGS DNA dizilimleri gen bankası veritabanından indirilen dünyanın değişik yerlerinden ve değişik bitkilerden elde edilen *V. dahliae* izolatları

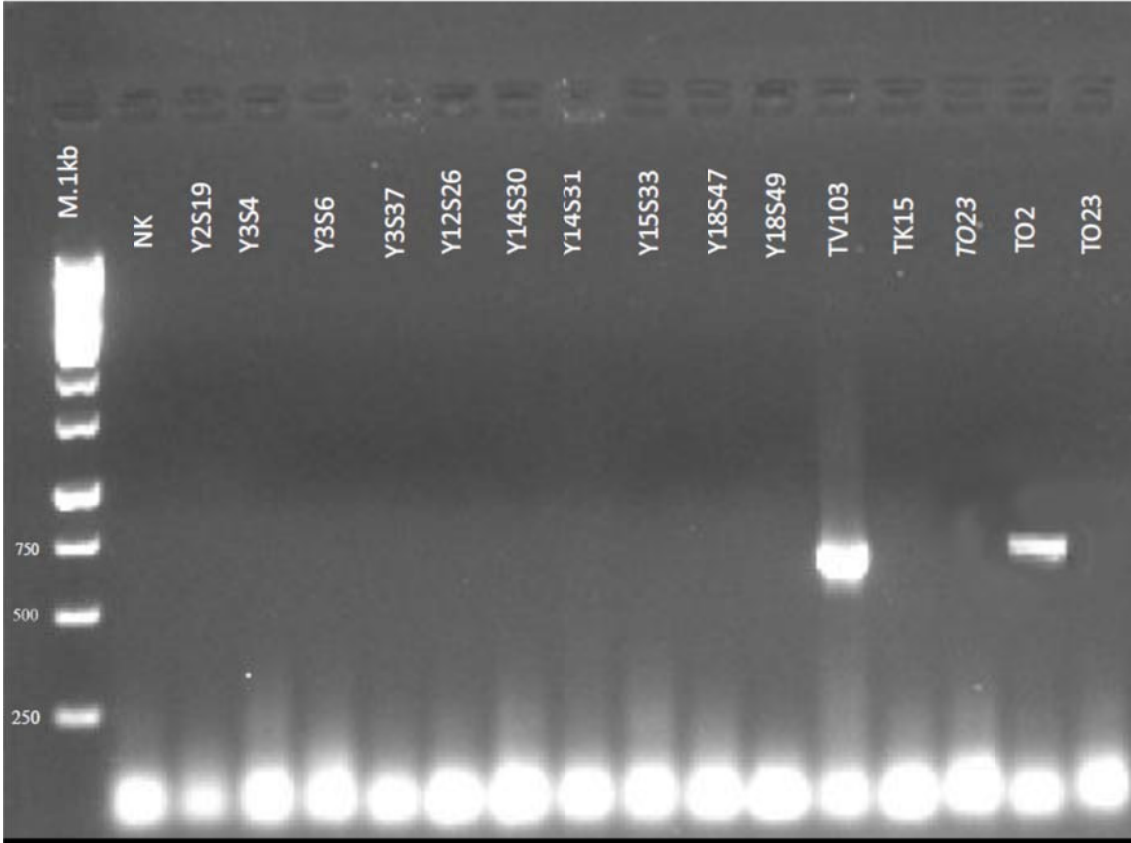
<b>İzolat (Kod)</b>	<b>Yer (İlçe/Şehir/ülke)</b>	<b>Konukçu (Bitki)</b>	<b>IGS Genbank #</b>
Ls16	ABD	Marul	FJ931476
Ls17	ABD	Marul	FJ931477
Le1109	ABD	Domates	FJ931494
Le1113	ABD	Domates	FJ931498
Te998	ABD	Kadife Çiçeği	FJ931509
Oe1006	ABD	Zeytin	FJ931514
Oe1009	ABD	Zeytin	FJ931517
Gh1015	ABD	Pamuk	FJ931523
Bob70	ABD	Karnabahar	FJ931529
Gh1017	ABD	Pamuk	FJ937777
Le1322	ABD	Domates	GU461642
Ls1045	ABD	Marul	GU814185
So924	ABD	Ispanak	GU814189
VMD9	ABD	Nane	KF296267
V549	İspanya	Enginar	KF296285
V574	İspanya	Enginar	KF296289
V610	İspanya	Pamuk	KF296291
A54	İspanya	Patates	KF296298
71	ABD	Karnabahar	DQ165188
74	ABD	Lahana	DQ165189
59	ABD	Biber-Bell	DQ165195
31	ABD	Biber-Chilli	DQ165198
129	ABD	Patlıcan	DQ165204
113	ABD	Patlıcan	DQ165205
1	ABD	Marul	DQ165207
81	ABD	Patates	DQ165230
21	ABD	Cilek	DQ165233
78	ABD	Domates	DQ165236
85	ABD	Karpuz	DQ165240
111	ABD	Karpuz	DQ165241



Şekil. 4.6. *V. dahliae* izolatlarının IGS bölgesinin filogenetik analizi

#### 4.8. *V. Dahliae* İzolatlarının Irk1'e Has Primerler ile Çoğaltılması.

Antalya ilçelerinde yetiştirilen aşılı patlıcanlardan elde edilen izolatların tamamı domateste ırk1'e has olduğu belirtilen primer çifti VdTR1/VdTR2 ile en az 3 tekerrürlü PCR testlerinde çoğaltılmışlardır. Şekil 4.7'de görüldüğü gibi primer çifti aşılı patlıcan izolatlarından hiçbirinde de beklenen 680 bazlık PCR ürününü vermemiştir. Primerler Japon domates ırk2 izolatları TK15 ve T023 den de herhangi bir PCR ürünü çoğaltmamışlardır. Japon domates ırk1 izolatları TV103 ve T02 ise bu ırka has primerlerle beklenildiği gibi 680 bazlık PCR ürününü vermiştir. Bu sonuçlar aşılı patlıcanlardan elde edilen izolatların ırk1'e ait olmadığını ve ırk2 veya diğer henüz tanımlanmamış *V. dahliae* ırklarına ait olabileceğini göstermiştir.



Şekil. 4.7. Bazı *V. dahliae* izolatlarının domates ırk1'e özel primer çifti VdTR1 ve VdTR2 ile PCR'da çoğaltılması

## 5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında Antalya ilinde özellikle aşılı fidelerden yetiştirilen patlıcanlarda son zamanlarda ciddi kayıplara yol açan *Verticillium solgunluk* hastalığı etmeni fungus *Verticillium dahliae* ele alınmıştır. *V. dahliae*'da son zamanlarda belli bir düzeyde de olsa eşeyli rekombinasyonun olduğu sanılmasına rağmen fungusun arazi popülasyonlarının klonal bir yapıya sahip olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle patojenin popülasyonlarının genetik çeşitliliği ve yapısının bilinmesi hastalığın tahmininde, dayanıklı çeşitler geliştirilmesi ve kullanılmasında, ve uygun ekim nöbeti yoluyla kontrolünde ana bir faktördür. Dünyanın değişik yerlerindeki araştırmacılar farklı bitkilerden elde edilen izolatlarla *V. dahliae*'de genetik çeşitliliği moleküler yöntemler kullanılarak çalışmışlardır (Collado-Romero vd 2006, 2008; Collins vd 2005; Jiménez-Díaz vd 2006). Bu nedenle Antalya'nın değişik ilçelerinde *Verticillium solgunluğu* gösteren patlıcanlardan elde edilen *V. dahliae* izolatları arasında genetik farklılığın olup olmadığını tespit etmek, fungusun bölgedeki yaygın popülasyon grup ve ırk yapısını belirlemek ve yaygın kullanılan bazı moleküler markörlerin hastalık etmeninin farklı popülasyon gruplarını ve ırklarını tespit etmedeki etkinliklerini belirlemek bu çalışmanın ana hedeflerini oluşturmuştur. Bu amaçla bu hastalık etmeni ile yapılan çalışmalarda yaygın kullanılan *V. dahliae*'ye has markör genomik DNA ve ribosomal DNA intergenik spacer (IGS) bölgelerinden yararlanılmıştır (Pramafteftaki vd 2000, Collins 2005, Qin vd 2006, Maruthachalam vd 2010). Her iki markörle yapılan DNA dizilim analizleri ve filogenetik analizler Antalya bölgesinde yetiştirilen aşılı patlıcanlarda *V. dahliae*'nin genetik olarak farklı 2 grubunun olduğunu göstermektedir.

Hem mikroskopik incelemeler hemde *V. dahliae*'ye has markör genomik bölge primer çifti DB19/DB22 ile yapılan PCR çoğaltmaları ve elde edilen ürünlerin DNA dizilimleri Antalya bölgesinde 6 ilçede 11 farklı yerden alınan 30 farklı seradan elde edilen 30 izolatin *V. dahliae* olduğunu kesin olarak teyit etmiştir. Bu izolatlar 5 farklı anaç ve 4 kalem çeşidinin 9 kombinasyonundan oluşan hastalıklı aşılı patlıcan bitkilerinden alınmıştır (Çizelge 3.1.1 ve Çizelge 4.3.1). Buda *V. dahliae*'nin anaç veya kalem ayrımı yapmaksızın tüm aşılı fideden yetiştirilen patlıcanlarda hastalığa neden olduğunu göstermektedir. Aynı ilçe içinde farklı yer ve seralardaki değişik anaç-kalem kombinasyonlarından *V. dahliae*'nin izole edilmeside bunu ispatlamaktadır. Buda Antalya bölgesi seralarında yetiştirilen aşılı patlıcanların *V. dahliae* enfeksiyonlarına karşı toleranslı olduklarını ama tamamen dayanıklı olmadıklarını açıkça göstermektedir.

DB19/DB22 primer çifti ile yapılan *V. dahliae*'ye has markör genomik bölgesinin DNA dizilimleri Antalya bölgesinde fungusun 526 ve 542 bazlık dizilime sahip iki farklı popülasyonunun olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde daha önceki bir çok çalışmada da *V. dahliae* izolatları DB19 ve DB22 primerleri ile çoğaltılıp elde edilen PCR ürünlerinin büyüklük ve DNA dizilimleri bu izolatları farklı gruplara ayırmada yaygın olarak kullanılmıştır (Mercado-Blanco vd 2003; Collins vd 2005; Collado-Romero vd 2006, 2008, 2010; Jiménez-Díaz vd 2011). Bununla birlikte bu çalışmaların her birinde elde edilen PCR ürünlerinin büyüklüğü ve gruplandırılmaları farklı olmuştur. Mercado-blanco vd (2003)'de fungusun pamuk ve zeytin izolatlarının 523 ve 539 bazlık iki farklı gruba sahip olduklarını göstermişlerdir. Bunlardan 523 bazlık diziliminin fungusun yaprak dökmeyen (ND) ve 539 bazlık dizilimin ise yaprak dökken (D) patotiplerine ait olduğunu ve özellikle yaprak dökken izolatların zeytinliklerde şiddetli ve yıkıcı olduğunu belirtmişlerdir. Collins vd ( 2005) değişik bitkilerden alınan

*V. dahliae* izolatlarından 530 ve 550 baz büyüklüğünde iki farklı uzunlukta DNA dizilimi ile seq1, seq2, seq3, seq4 seq5 olmak üzere 5 farklı DNA dizilim (seq) grubu belirlemişlerdir. Collado-Romero vd (2006 ve 2008) *V. dahliae* izolatlarından 523 ve 539 bazlık iki farklı uzunlukta DNA dizilimi ile seq1, seq2, seq4 ve seq7 olmak üzere 3 farklı dizilim grubu elde etmiştir. Collado-Romero vd (2009) yine *V. dahliae* izolatlarından 526 ve 543 bazlık 2 farklı DNA dizilimi elde etmiştir. Collado-Romero vd (2010) *V. dahliae*'ye has DNA bölgesinden 543 bazlık ilk defa rapor edilen seq6 olarak isimlendirirken yeni bir dizilim grubunda ortaya çıkarmıştır. Jiménez-Díaz vd (2011) *V. dahliae*'nin zeytinden elde ettikleri izolatlarından 523 ve 539 bazlık iki farklı uzunlukta DNA dizilimine sahip olduğunu ve seq1, seq2 ve seq4 grupları içinde yer aldığını saptamışlardır. Gerek DNA dizilim analizleri gerekse filogenetik analizler aşılı patlıcan izolatlarından elde edilen 526 ve 542 bazlık ürünlerin daha önce yukardaki çalışmalarda belirlenen 7 farklı DNA dizilim grubundan ikisininin içine girdiğini göstermektedir. Toplam 24 aşılı patlıcan izolatı 526 bazlık DNA dizilimi ile seq2 grubu içine 6 izolat ise 542 bazlık dizilimle seq4 grubu içine girmişlerdir (Şekil 4.3). Antalya bölgesinde *V. dahliae*'nin bu gruplardan başka DNA dizilim grupları (seq1, seq3, seq5, seq6, seq7) içinde yer alan patlıcan dışında domates, biber, salatalık, marul, pamuk, zeytin gibi bölgede yoğun olarak yetiştirilen bitkileri enfekte eden izolatlarının bulunması muhtemeldir. Yine bölgede patlıcan üreten daha fazla yer ve seralarda yapılacak hastalık survey ve izolasyonlarının patlıcanda bu çalışmada bulunan 2 dizilim grubu dışındaki grupları çıkarıp çıkarmayacağı merak konusu olabilir. *V. dahliae*'nin diğer gruplarının varlığının belirlenmesi için bölgede özellikle tarla ve seralarda yetiştirilen aşılı ve aşısız patlıcanlardan daha fazla izolasyon ve karakterizasyon çalışmalarının yapılmasına ihtiyaç vardır.

Seq2 grubunun zeytin seq4 grubunda pamuk izolatları ile temsil edildiğini ve aşılı patlıcanlardan alınan izolatların bu izolatlara daha yakın olduğu düşünüldüğünde *V. dahliae*'nin Antalya bölgesinde hâlihazırda yaygın olarak yetiştirilen zeytin ve geçmişte yetiştirilen pamuktan patlıcana geçmiş olabileceğini akla getirmektedir. Bununla birlikte dünyanın değişik bölgelerinde zeytin ve pamuktan elde edilen birçok diğer izolatın bu seq grubu içinde yer almadığı düşünülünce bu ihtimalin zayıf olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada Antalya bölgesi izolatlarının Japon domates ırkları ve biber seq6 izolatlarına daha yakın olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Gerek DNA gerekse filogenetik analizler yakından incelendiğinde patlıcan izolatlarının özellikle birinci grup içinde yer alanların ırk2 olabileceği ihtimalini güçlendirmektedir. *V. dahliae*'nin domates ırk1'ine has primerler VdTr1/VdTr2 ile yapılan PCR çoğaltmalarında patlıcan izolatlarından herhangi bir ürün alınamaması bu ihtimali daha da kuvvetlendirmektedir. Yine patlıcan örneklerinin toplandığı seraların çoğunda dönüşümlü olarak veya aynı anda domates ve biberinde yetiştirildiğini göz önünde bulundurulunca *V. dahliae*'nin domates ve biberden patlıcana geçme olasılığında güçlendirmektedir.

*V. dahliae*'ye has markör genomik DNA analizleri *V. dahliae*'nin aşılı patlıcandan alınan izolatlarını gruplara ayırmada oldukça etkili olduğu bu çalışmada gösterilmiştir. Bununla birlikte bu markörün fungusun izolatlarını kesin olarak ırklara ayırmada daha fazla etkili olmadığını göstermektedir.

Bu tez çalışmasında aşılı patlıcanlardan elde edilen izolatların IGS bölgelerinin DNA dizilim ve filogenetik analizleride bu izolatları iki gruba ayırarak *V. dahliae*'ye

has markör genomik bölge analizlerini teyit etmiştir. Aşılı patlıcan izolatlarının IGS bölgelerinin analizleri bu izolatlar arasında birbirinden tamamiyle farklı 2 grubun bulunduğunu açığa çıkarmıştır (Şekil 4.6). Buda *V. dahliae*'nin patlıcan izolatları arasındaki genetik çeşitliliğinde diğer bitkilerdeki izolatlar arasında bulunduğu gibi yüksek olduğunu göstermiştir (Pramafteftaki vd 2000, Qin vd 2006, Maruthachalam vd 2010). Patlıcan izolatlarına yakın diğer bitkilerden alınan 30 izolat dahil edilerek yapılan IGS bölgesi analizleri izolatlar arasında 3 grubun olduğunu göstermiştir. Maruthachalam vd (2010)'de *Verticillium dahliae* izolatlarının IGS rDNA dizilimlerinin filogenetik analizlerinde 3 ana grup belirlemiştir. Qin vd 2006'da IGS bölgesi filogenetik analizlerin *V. dahliae*'nin haçlıgiller dışındaki bitkilerden elde edilen izolatlarını 4 alt gruba ayırdığını belirtmiştir. Şekil 4.6'da görüldüğü gibi patlıcan A grubu izolatlarının çoğunlukla sebze izolatları ile aynı grupta yer alması fungusun patlıcana örneklerinin alındığı Antalya ilçelerinde yaygın yetiştirilen domates, biber ve marul gibi bitkilerden geçmiş olabileceğine işaret etmektedir. Patlıcan B grubu izolatlarının çoğunlukla zeytin ve pamuk izolatları ile aynı grupta yer alması da bu bitkilerin fungusun patlıcan ve diğer sebzelere geçmesinde bir rolü olabileceğini göstermektedir.

IGS bölgesinin filogenetik analizleri patlıcan A grubu izolatlarının domates ırk2 içinde olduğunu göstermektedir. Aşılı patlıcan B grubu içinde yer alan izolatların ise ırk1 ve ırk2 dışında farklı bir ırk içinde yer alma ihtimalinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte IGS analizi ırk1 ve ırk2'yi kesin olarak birbirinden ayırmada etkili olmamıştır. Maruthachalam vd (2010)'de IGS bölgesinin bu fungusun ırklarını belirlemede yetersiz kaldığını ve ırk1 ve ırk2 dahil pamuk, zeytin ve marul izolatlarının aynı grup(1) içinde yer aldığını belirtmiştir. Bu çalışmada yapılan analizlerde de 1 pamuk izolatu A grubu içinde yer alırken diğer pamuk ve özellikle zeytin izolatları B grubunda yer almıştır.

*V. dahliae*'nin domates ırk1'ine has primer çifti VdTr1/VdTr2 kullanarak yapılan PCR analizlerinde aşılı patlıcandan alınan 30 izolatın hiçbirinden beklenen PCR ürününün elde edilememesi bu izolatların ırk1 olmadığını kesin olarak göstermektedir. Maruthachalam vd (2010) bu primer çiftinin domates ırk1 izolatlarını ırk2'den % 100 oranında ayırdığını belirtmişlerdir. Bu sonuç *V. dahliae*'nin aşılı patlıcan izolatlarının ırk2 veya diğer tanımlanmamış ırk gruplarına ait olabileceğini göstermektedir.



## 6. SONUÇ

Patlıcan Antalya bölgesi örtüaltı alanlarda yaygın olarak yetiştirilen ekonomik değeri yüksek olan sebzelerin başında gelmektedir. Tüm dünyada olduğu gibi Antalya'da da patlıcan üretimini tehdit eden unsurların başında toprak kökenli fungus *V. dahliae*'nin neden olduğu Verticillium solgunluğu olduğu aşıkardır. Bu nedenle 2000'li yılların başından itibaren üreticiler bu hastalığa dayanıklı olduğu varsayılan anaçlar üzerine aşılınmış çeşitleri ile patlıcan üretimi yoluna gitmişlerdir. Bununla birlikte son zamanlarda özellikle 2011-2012 yılları arasında böyle aşılı fidelerden yetiştirilen patlıcanlarda Verticillium solgunluğu'nun çok ciddi zararlanmalara sebep olduğu gerek üreticilerden gelen şikâyet gerekse örtüaltı alanlarında yaptığımız gözlemlerde görülmüştür. Aşılı patlıcanlarda ortaya çıkan bu durumun *V. dahliae*'nin Antalya bölgesindeki hâlihazırda mevcut ırklarının çok saldırgan olmasındanmi yoksa fungusun yeni ırklar geliştirmesindenmi kaynaklandığı sorularını akla getirmiştir. Yine fungusun bu saldırgan ırklarının patlıcana bölgede halihazırda yetiştirilen domates, biber, hıyar, marul, zeytin ve pamuk gibi bitkilerden geçmiş olabileceğide ihtimal içinde düşünülmüştür. Bu sorulara cevap vermek *V. dahliae*'nin Antalya bölgesindeki populasyon yapısını ve genetik çeşitliliği ortaya çıkarmakla mümkündür. *V. dahliae*'nin populasyon ve ırk yapısının bilinmesi patojenin bölgedeki yayılma mekanizmasını açığa çıkarmada ve patlıcanlarda hastalığı kontrol etmek için hastalık idare taktik ve stratejileri geliştirilmesi bakımından büyük öneme sahip olduğu açıktır. *V. dahliae*'nin patlıcandaki ırklarını teşhis etmek ve birbirinden ayırmak sebzelerde konukçu dayanıklılığını ve dayanıklı çeşit kullanmayı hedef alan ıslah programları içinde kritik öneme sahiptir. *V. dahliae*'nin populasyon ve genetik çeşitliliğini ortaya çıkarmak ve patojenin belli bir tarla, lokasyon veya bölgeden izole edilen izolatlarının diğer ürünlere virulensliklerini tahmin etmek üreticilere ekim nöbeti için hangi ürünlerin uygun olup olmadığını tavsiye ederken yardımcı olması açısından önemlidir.

Bu tez çalışmasında Antalya il ve ilçelerinde aşılı fideden yetiştirilen patlıcanlardan elde edilen *V. dahliae* izolatları bu fungusu has markör genomik (SSMG) ve intergenik spacer (IGS) bölgelerinin DNA dizilim ve filogenetik analizleri ile ırka has PCR analizleri yapılarak tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. Hem markör genomik hemde IGS bölgesi analizleri *V. dahliae*'nin patlıcanlarda Antalya ili ve ilçelerinde 2 farklı populasyonunun olduğunu açıkça göstermektedir.

Markör genomik bölgesi analizleri aşılı patlıcan izolatlarının *V. dahliae*'nin günümüze kadar belirlenmiş 7 seq gurubundan ikisi olan seq2 ve seq4 içinde yer aldığını göstermektedir. Aşılı patlıcan izolatlarının zeytin Seq2 ve pamuk seq4 grupları içine girmektedir. Markör genomik bölge filogenetik analizleri kesin olmamakla birlikte seq2 grubunun patlıcan izolatlarının domates, patates, biber ve karnabar gibi sebzelerden alınan izolatlara daha yakın olduğunu göstermiştir. Yine bu analizler seq4 grubu içinde yar alan izolatları ise sebze ile pamuk arasında olduğunu da işaret etmiştir. Öte yandan İntergenik spacer (IGS) bölge filogenetik analizleride patlıcan izolatlarının A ve B olmak üzere 2 farklı grupta yoğunlaştığını ve A grubundakilerin özellikle sebze izolatları B grubundakilerin ise zeytin ve pamuk izolatları ile bir arada toplandığını daha belirgin olarak göstermektedir. Yine filogenetik analizler markör genomik grup1 (seq2) ile IGS A grubu izolatlarının domates rık2 izolatına daha yakın olduğunu göstermektedir. Markör genomik grup2 (seq2) ile IGS B grubunun ise domatesin ır1 ve ırk2 dışında başka bir ırk olabileceğini göstermektedir. *V. dahliae*'nin domates ırk1'ine

has primerlerle yapılan PCR analizleride aşılı patlıcan izolatlarının ırk1 olmadığını göstermiştir.

Sonuç olarak gerek markör genomik gerekse intergenic spacer analizide patojenin patlıcana hem bölgede patlıcanla sık sık nöbetli olarak ekilen sebzelerden hemde hâlihazırda yetiştirilen zeytin ve geçmişte ekilen pamuktan geçmiş olacağını göstermektedir. *V. dahliae*'nin Antalya bölgesinde zeytin, pamukla beraber domates, patlıcan, marul, hıyar gibi patlıcan dışındaki sebzelerden izolatlarının elde edilmesi ve aşılı patlıcan izolatları ile moleküler ve patojenisite testleri kullanarak karşılaştırılması bu konuya daha netlik kazandıracaktır. Yine patojenin patlıcan izolatlarının ırk2'ye veya başka yeni bir ırka ait olup olmadıklarının değişik bitkilerde yapılacak patojenisite testleri ile belirlenmesi gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

- AGRIOS, G.N. 2005. Plant Pathology, 5th Edition, Elsevier Academic Press, Burlington, Mass.
- ALTSCHUL, S.F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E.W. & LIPMAN, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.*, 215:403-410.
- ALTSCHUL, S.F., MADDEN, T. L., SCHÄFFER, A. A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W. & LIPMAN, D. J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*, 25:3389-3402.
- ANONİM, 2009. Örtüaltı patlıcan yetiştiriciliği. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Yayını, Türkiye.
- ANONİM, 2011. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) statistics. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Erişim: 15.05.2014.
- ANONİM, 2013. Türkiye İstatistik Kurumu Bitkisel Üretim veritabanı 2013 verileri. <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>. Erişim: 15.05.2014.
- ANONİM, 2014. USDA, NRCS. 2014. The PLANTS Database (<http://plants.usda.gov>, 14 May 2014). National Plant Data Team, Greensboro, NC 27401-4901 USA.
- BAŞAY, S. 2006. Patlıcan (*Solanum melongena l.*) da *Verticillium dahliae kleb.*'e dayanıklı hatların geliştirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*, ss:15-55, Bursa.
- BAŞAY, S., ŞENİZ, V., TEZCAN, H. 2001. Reactions of selected eggplant cultivars and lines to *Verticillium* wilt caused by *Verticillium dahlia* Kleb. *African Journal of Biotechnology Vol*, 10(18), pp, 3571-3573, Bursa.
- BHAT, R.G., SMITH, R.F., KOIKE, S. T., WU, B.M., SUBBARAO, K. V. 2003. Characterization of *Verticillium dahlia* isolates and wilt epidemics of pepper. *Plant Dis*, 87:789-797.
- BLESTOS, F., THANASSOULOPOULUS., OUPAKIAS. D. 2003. Effect of Grafting on GrowthYield, and *Verticillium* Wilt of Eggplant. *Hortscience*, 38(2) : 183-186.
- CARDER, J.H., MORTON, A., TABRETT, A.M., AND BARBARA, D.J. 1994. Detection and differentiation by PCR of subspecific groups within two *Verticillium* species causing vascular wilts in herbaceous hosts. Pages 91-97 in: *Modern Assays for Plant Pathogenic Fungi*. A. Schots, F.M. Dewey, and R. Oliver, eds. CAB International, Oxford.
- CATAL, M., ADAMS, G.C., and FULBRIGHT, D.W. 2010. Evaluation of resistance to Rhabdocline needlecast in Douglas fir variety Shuswap, with quantitative polymerase chain reaction. *Phytopathology*, 100 (4):337-344.

- CHIEJ, R. 1984. Encyclopaedia of Medicinal Plants. Mac Donald, Edinburgh.
- COLLADO-ROMERO, M., JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M., AND MERCADO-BLANCO, J. 2010. DNA sequence analysis of conserved genes reveals hybridization events that increase genetic diversity in *Verticillium dahliae*. *Fungal Biol*, 114:209-218.
- COLLADO-ROMERO, M., MERCADO-BLANCO, J., OLIVARES-GARCÍA, C., AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 2008. Phylogenetic analysis of *Verticillium dahliae* vegetative compatibility groups. *Phytopathology*, 98:1019-1028.
- COLLADO-ROMERO, M., MERCADO-BLANCO, J., OLIVARES-GARCIA, C., VALVERDE-CORREDOR, A., AND JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M. 2006. Molecular variability within and among *Verticillium dahliae* vegetative compatibility groups determined by fluorescent amplified fragment length polymorphism and polymerase chain reaction markers. *Phytopathology*, 96:485-495.
- COLLINS, A., MERCADO-BLANCO, J., JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M., OLIVARES, C., CLEWES, E., AND BARBARA, D.J. 2005. Correlation of molecular markers and biological properties in *Verticillium dahliae* and the possible origins of some isolates. *Plant Pathol*, 54:549-557.
- DOIJODE, S.D. 2001. Seed storage of horticultural crops. Page 157. CRC Press.
- GARIBALDI, A., MINUTO, A., GULLINO M.L. 2005. Verticillium Wilt Incited by *Verticillium dahliae* in Eggplant Grafted on *Solanum torvum* in Italy. *Plant Disease*, 89:777. 2-777. 2.
- GILARDI, G.I., GULLINO, M.L., and GARIBALDI, A. 2013. Critical aspects of grafting as a possible strategy to manage soil-borne pathogens. *Scientia Horticulturae*, 149: 19-21.
- HAMELIN, R.C., BOURASSA, M., RAIL, J., DUSABENYAGASANI, M., JACOBI, AND LAFLAMME, G. 2000. PCR detection of *Gremmeniella abietina*, the causal agent of *Scleroderris* canker of pine. *Mycological Research*, 104 (5): 527-532.
- HEALE, J.B., AND KARAPAPA, V.K. 1999. The verticillium threat to Canada's major oilseed crop: Canola. *Can. J. Plant Pathol*, 21:1-7.
- JABNOUN-KHIAREDDINE, H., DAAMI-REMADI, M., AYED, F., EL MAHJOUR, M. 2007. Incidence and distribution of *Verticillium dahliae* races infecting tomato in Tunisia. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 2: 63-70.
- JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M., MERCADO-BLANCO, J., OLIVARES-GARCIA, C., COLLADO-ROMERO, M., BEJARANO-ALCÁZAR, J., RODRIGUEZ-JURADO, D., GIMÉNEZ-JAIME, A., GARCIA-JIMÉNEZ, J., AND ARMENGOL, J. 2006. Genetic and virulence diversity in *Verticillium dahliae* populations infecting artichoke in eastern-central Spain. *Phytopathology*, 96:288-298.

- JIMÉNEZ-DIAZ, R.M., OLIVARES-GARCIA, C., LANDA, B.B., JIMÉNEZ-GASCO, M.M., NAVAS-CORTÉS, J.A. 2011. Region-Wide Analysis of Genetic Diversity in *Verticillium dahliae* Populations Infecting Olive in Southern Spain and Agricultural Factors Influencing the Distribution and Prevalence of Vegetative Compatibility Groups and Pathotypes. *Phytopathology*, 101: 304-315.
- KARAPAPA, V.K., BAINBRIDGE, B.W., AND HEALE, J.B. 1997. Morphological and molecular characterization of *Verticillium longisporum* comb. nov., pathogenic to oilseed rape. *Mycol. Res*, 101:1281-1294.
- KING, S.R., DAVIS, A.R., LIU, W., and LEVI, A. 2008. Grafting for Disease Resistance. *Hortscience*, 43 (6): 1673-1676.
- KOIKE, S.T., GLADDERS, P., and PAULUS, A.O. 2007. Vegetable Disease. Manson Publishing.
- MARUTHACHALAM, K., ATALLAH, Z.K., VALLAD, G.E., KLOSTERMAN, S.J., HAYES, R.J., DAVIS, R.M., SUBBARAO, K.V. 2010. Molecular variations among isolates of *Verticillium dahliae* and polymerase chain reaction based differentiation of races. *Phytopathology*, 100:1222-1230.
- MERCADO-BLANCO, J., RODRIGUEZ-JURADO, D., PARRILLA-ARAUJO, S., JIMENEZ-DIAZ, R.M. 2003. Simultaneous detection of the defoliating and nondefoliating *Verticillium dahliae* pathotypes in infected olive plants by duplex, nested polymerase chain reaction. *Plant Disease*, 87: 1487-1494.
- NAVAS-CORTES, J.A., LANDA, B.B., MERCADO-BLANCO, J., TRAPERO-CASAS, J.L., RODRIGUEZ-JURADO, D., AND JIMENEZ-DIAZ, R.M. 2008. Spatiotemporal analysis of spread of *Verticillium dahliae* pathotypes within a high treedensity olive orchard in southern Spain. *Phytopathology*, 98:167-180.
- NEI, M., KUMAR, S. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. *Oxford University Press*, Newyork.
- PRAMATEFTAKI, P.V., ABTIBUOU, P.P., AND TYPAS, M.A. 2000. The complete DNA sequence of the nuclear ribosomal RNA gene complex of *Verticillium dahliae*: intraspecific heterogeneity within the intergenic spacer region. *Fungal Genet. Biol*, 29:19-27.
- ROBB, J., MOUKHAMEDOV, R., HU, X., PLATT, H., AND NAZAR, R.N. 1993. Putative subgroups of *Verticillium albo-atrum* distinguishable by PCR based assays. *Physiol. Mol. Plant Pathol*, 43:423-436.
- SWOFFORD, D.L. 2002. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony. Version 4.0 Beta. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts.

- TAMURA, K., NEI, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10:512-526
- TAMURA, K., STECHER, G., PETERSON, D., FİLİPSKİ, A., KUMAR, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
- QIN, Q.-M., VALLAD, G.E., WU, B.-W., SUBBARAO, K.V. 2006. Phylogenetic analyses of phytopathogenic isolates of *Verticillium* spp. *Phytopathology*, 96:582-592.
- QIN, Q.-M., VALLAD, G.E., SUBBARAO, K.V. 2008. Characterization of *Verticillium dahlia* and *V.tricorpus* isolates from lettuce and artichoke. *Plant Dis*, 92:69-77.
- USAMI, T., ISHIGAKI, S., TAKASHINA, H., MATSUBARA, Y., AMEMIYA, Y. 2007. Cloning of DNA fragments specific to the pathotype and race of *Verticillium dahliae*. *Gen. Plant Pathol*, 73:89-95.
- VALLAD, G.E., QIN, Q.-M., GRUBE, R., HAYES, R.J., SUBBARAO, K.V. 2006. Characterization of race-specific interactions among isolates of *Verticillium dahlia* pathogenic on lettuce. *Phytopathology*, 96:1380-1387.
- YILDIRIM, H. 2008. Hatay İli Patlican Üretim Alanlarından Elde Edilen Fusarium Oxysporum ve *Verticillium dahliae* izolatları içerisinde Genetik Çeşitlilik. Yüksek Lisans tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay.
- ZHANG, J. & MADDEN, T.L. (1997). Power BLAST: A new network BLAST application for interactive or automated sequence analysis and annotation. *Genome Res*, 7:649-656.

## ÖZGEÇMİŞ



Ünver Talha KOÇ, 1985 yılında Antalya'nın Serik İlçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Serik ilçesi okullarında tamamladı. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde Lisans öğrenimine 2005 yılının eylül ayında başladı ve 2010 yılının haziran ayında Ziraat Mühendisi ünvanı olarak mezun oldu. Yüksek Lisans öğrenimine ise 2010 yılı güz döneminde başladı. Aynı zamanda 2011 yılında atandığı Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Manavgat İlçe Müdürlüğü'nde çalışmaya başladı. 2012 yılında "Mango Bitkisinin Yetiştiricilik Anlamında Manavgat Açısından Adaptasyonunun Araştırılması" projesinde yer aldı. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'ndan 2014 yılında Yüksek Ziraat Mühendisi ünvanı olarak mezun olmuştur.