

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



ANTALYA İLİ ELMALI İLÇESİNDE ÖRTÜ ALTI DOMATES ÜRETİM
ALANLARINDA GÖRÜLEN *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEB.
İZOLATLARININ MOLEKÜLER TANISI

Hasan AKAR

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NİSAN 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANTALYA İLİ ELMALI İLÇESİNDE ÖRTÜ ALTI DOMATES ÜRETİM
ALANLARINDA GÖRÜLEN *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEB.
İZOLATLARININ MOLEKÜLER TANISI**

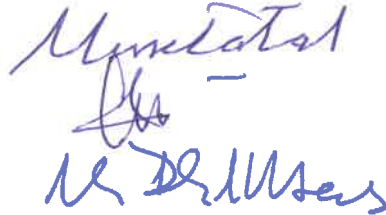
Hasan AKAR
BİTKİ KORUMA
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 22/04/2021 tarihinde jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mürsel ÇATAL (Danışman)

Doç. Dr. Cengiz İKTEN

Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ



ÖZET

ANTALYA İLİ ELMALI İLÇESİNDE ÖRTÜ ALTI DOMATES ÜRETİM ALANLARINDA GÖRÜLEN *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEB. İZOLATLARININ MOLEKÜLER TANISI

Hasan AKAR

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mürsel ÇATAL

Nisan 2021; 41 sayfa

Ülkemizin domates yetiştiriciliği yapılan alanlarında görülen *Verticillium dahliae* Kleb. fungusunun neden olduğu toprak kaynaklı *Verticillium* solgunluğu hastalığı üretimde ciddi kalite, verim ve ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Hastalık etmeninin ekonomik şekilde kimyasal mücadelesinin olmaması ve diğer kültürel mücadele yöntemlerinin hastalığı kontrol altına almada yetersiz olması sebebiyle hastalıkla mücadele de dayanıklı anaç kullanımı son zamanlarda oldukça yaygınlaşmıştır. Antalya ili Elmalı ilçesinde yayla seracılığı yapılan alanlarda da aşılı çeşitlerin dikimi yapılarak domates üretimi gerçekleştirilmektedir. Ancak son yıllarda aşılı çeşitlerde de hastalığın görülme sıklığının arttığı gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışmada *V. dahliae*'nin bölgede yaygın görülen muhtemel yeni ırklarının, vejetatif uyum guruplarının ve patotiplerinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamın da Antalya ili Elmalı ilçesinde örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan seralardan *Verticillium* solgunluğu gözlemlenen aşılı çeşitlerden her seradan 1 örnek alınarak 40 farklı seradan toplamda 40 örnek alınmıştır. Örnekler; Beaufort F₁, Arazi F₁, Superpro F₁, Armstrong F₁, Enpower F₁, Kinkong F₁ domates anaçlarından elde edilmiştir. Toplam 40 örnekten 29 *V.dahliae* izolatu elde edilmiştir.

Aşılı domates bitkilerinden elde edilen *V. dahliae* izolatları türe özgü DB19/DB22 pirimer çifti kullanılarak PCR testine tabi tutmuş *V. dahliae* oldukları teyit edilmiştir. Irkların belirlenmesinde ise ırk1 için VdAve1F/VdAve1R ve ırk2 için VdR2F/VdR2R, vejetatif uyum guruplarının belirlenmesi için DB19/Espdef01, INTND2F/INTND3R, INTND2F/INTND2R, INTND2F/MCR2B ve patotiplerin belirlenmesi için VDF/VDR, VNDF/VNDR pirimer çiftleri kullanılmıştır.

Yapılan bu tez çalışmasında Antalya ili Elmalı ilçesi örtü altı yayla seracılığı yapılan seralardan elde edilen izolatların PCR testlerinde tüm izolatların *V. dahliae* olduğu teyit edilmiştir. Elde edilen 29 izolattan 23 tanesi ırk 2 olarak belirlenmiş olup bölgede ırk2'nin baskın olduğu görülmüştür. Yine bölge üretim alanlarında Vejetatif Uyum Grubu VCG1A'nın yaygın olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda Elmalı domates seralarında *V.dahliae*'nin yaprak dökken (D) patotipinin ağırlıklı olarak bulunduğu belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Domates, Elmalı, PCR, *Verticillium*

JÜRİ: Doç. Dr. Mürsel ÇATAL

Doç. Dr. Cengiz İKTEN

Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ

ABSTRACT

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *VERTICILLIUM DAHLIAE* KLEB. ISOLATES FROM GREENHOUSE TOMATO PRODUCTION AREAS OF THE ELMALI DISTRICT IN ANTALYA

Hasan AKAR

MScThesis in Department of Plant Protection

Supervisor: Assoc. Prof. Mürsel ÇATAL

April 2021; 41 pages

Verticillium wilt caused by soil-borne fungus *Verticillium dahliae* Kleb. results in serious quality, yield and economic losses in tomato fruit production in tomato growing areas of Antalya province. Due to the unavailability of an effective and economical chemical control method and ineffectiveness of the available cultural practices to manage the disease, the use of tomato varieties grafted onto resistant rootstocks have recently become highly common practice in tomato production in the province. Currently, tomato is mainly produced from grafted varieties in the highland greenhouse tomato growing areas of the Elmalı district of Antalya, better known as Yayla Seracılığı. However, Verticillium wilt has been frequently observed in the grafted tomato growing greenhouses of the region in recent years. The goal of this thesis study is to identify and characterize the new races, vegetative compatibility groups and pathotypes of *V.dahliae* in the region by molecular methods.

For this purpose, more than 40 greenhouses were visited and one infected sample representing each greenhouse was collected from the grafted tomatoes displaying the symptoms of Verticillium wilt. The samples were obtained from the tomato varieties grafted onto Beaufort F₁, Arazi F₁, Superpro F₁, Armstrong F₁, Enpower F₁, Kinkong F₁ tomato rootstocks. Out of 40 samples, 29 *V.dahlia* isolates were recovered and purified for molecular studies.

All 29 isolates obtained from the grafted tomatoes were amplified with species-specific primer pair DB19/DB22 to confirm the identity of each isolate to *V.dahliae* in PCR amplifications. The primer pairs VdAve1F/VdAve1R and VdR2F/VdR2R were used to identify race1 and race2 isolates of the fungus. The pathotypes of each isolates were determined by amplifications with primer pairs VDF/VDR, VNDF/VNDR. The primer pairs DB19/Espdef01, INTND2F/INTND3R, INTND2F/INTND2R, INTND2F/MCR2B were employed to place the isolates into vegetative compatibility groups.

The results of the study confirmed that all 29 isolates obtained from the greenhouses of the Elmalı district belonged to fungus *V.dahliae*. Out of 29 isolates, 23 isolates were determined to be race 2, indicating that this race is dominant in the region. The analysis also showed that VCG1A was the most common vegetative compatibility

group (VCG) among the isolates from the tomato production areas of the district. The defoliating (D) pathotypes were dominant pathotypes in the tomato growing greenhouses of Elmalı district.

KEYWORDS: Tomato, Apple, PCR, Verticillium

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Mürsel ÇATAL

Assoc. Prof. Dr. Cengiz İKTEN

Assoc. Prof. Dr. Murat DİKİLİTAŞ

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması kapsamında Antalya ili Elmalı ilçesi örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda görülen *Verticillium* solgunluğu hastalığı etmeni *Verticillium dahliae*'nin ırkları, vejetatif uyum gurupları ve patotipleri PCR metodu yöntemiyle tespiti yapılmıştır.

Bu tez çalışmasının yapılmasının her aşamasında yardımlarını esirgemeyen yönlendirici bilgi ve birikimleriyle bana yol gösteren değerli danışman hocam Doç. Dr. Mürsel ÇATAL'a

Çalışma boyunca yardımlarını esirgemeyen çalışmama özverili bir şekilde yardımcı olan değerli araştırmacı Arş. Gör. Dr. Ahmet ÇAT'a

Çalışmamda maddi manevi her türlü desteği benden esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
2.KAYNAK TARAMASI	5
3.METARYAL VE METOT	14
3.1. Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması	14
3.2 <i>Verticillium dahliae</i> 'nin İzolasyonu	17
3.3 <i>Verticillium dahliae</i> DNA İzolasyonu.....	19
3.4 PCR (Polimerase Chain Reaction) ile DNA Çoğaltılması	20
3.5 Vejetatif Uyum Guruplarının Karakterizasyonu	23
4.BULGULAR VE TARTIŞMA	24
4.1. Bulgular	24
4.1.1. <i>V. dahliae</i> 'ya has genomik bölgenin çoğaltılması.....	24
4.1.2. <i>V. dahliae</i> 'nın Irk1 ve Irk2 'ye özgü genomik bölgenin çoğaltılması.....	25
4.1.3. <i>V. dahliae</i> 'nın patotiplerine özgü genomik bölgenin çoğaltılması.....	26
4.1.4. <i>V. dahliae</i> 'nın vejetatif uyum guruplarının belirlenmesine özgü bölgenin çoğaltılması.....	27
4.2. Tartışma.....	31
5. SONUÇLAR	34
6. KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum Antalya İli Elmalı İlçesinde Örtü Altı Domates Üretim Alanlarında Görülen *Verticillium dahliae* Kleb. İzolatlarının Moleküler Tanısı adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

22 /04/2021

Hasan AKAR



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

- Bp** : Baz çifti
°C : Santigrad derece
ml : Mili litre
mm : Milimetre
µl : Mikrolitre
kb : Kilo baz
d : Dakika

Kısaltmalar

- PDA** : Patates Dekstroz Agar
PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA : Deoksiribonükleik Asit
RAPD : Rastgele güçlendirilmiş polimorfik DNA
VCG : Vegetative Compatibility Group
IGS : Intergenik Spacer
RFLP : Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
D : Yaprak dökken
ND : Yaprak dökmeyen
AFLP : Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi
ISSR : Basit sekans tekrarları arası polimorfizmi
SSRs : Basit sekans tekrarları
IGS rDNA : Ribozomal DNA intergenik ayırıcı bölgesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bitkilerde <i>V.dahliae</i> hayat döngüsü.....	2
Şekil 1.2. Antalya Elmalı İlçesinde aşılı domates çeşitlerinde görülen <i>Verticillium dahliae</i> 'nin belirtileri	3
Şekil 3.1. <i>Verticillium dahliae</i> 'nin aşılı domates bitkilerinde başlangıçta meydana getirdiği tipik V şeklindeki yaprak sararma belirtileri	16
Şekil 3.2. <i>Verticillium dahliae</i> 'nin aşılı domates bitkilerinde alt yapraklardan başlayarak meydana getirdiği yaprak belirtilerinin ilerlemiş hali.....	17
Şekil 3.3. <i>Verticillium dahliae</i> 'nin aşılı domateslerde enfeksiyonu sonucu bitki iletim demetlerinde görülen kahverengi renk değişimi	17
Şekil 3.4. Mikoloji laboratuvarı <i>Verticillium dahliae</i> 'nin izolasyonu	18
Şekil 3.5. Hastalıklı aşılı domates çeşitlerinin dal ve gövdelerden alınan parçalardan <i>Verticillium dahliae</i> 'nin PDA ortamında gelişimi	18
Şekil 3.6. Klonlanan <i>Verticillium dahliae</i> 'nin PDA ortamında gelişimi	19
Şekil 3.7. Laboratuvar DNA izolasyon çalışmaları	20
Şekil 3.8. PCR analizlerinin yapıldığı PCR cihazı ve Jel görüntüleme cihazına ait görüntüler	23
Şekil 4.1. DB19/DB22 primer çifti kullanılarak <i>V. dahliae</i> 'ya has genomik bölgenin çoğaltılması	24
Şekil 4.2. <i>V. dahliae</i> 'nin Irk 1'ine özgü VdAve1F/ VdAve1R primer çifti ile çoğaltılması	25
Şekil 4.3. <i>V. dahliae</i> 'nin Irk2'ine özgü VdR2F/ VdR2R primer çifti ile çoğaltılması..	25
Şekil 4.4. Elmalı ilçesi izolatlarının <i>V. dahliae</i> 'nin yaprak dökken (D) patotipe özgü primer çifti VDF/VDR kullanılarak PCR çoğaltması	26
Şekil 4.5. Elmalı ilçesi izolatlarının <i>V. dahliae</i> 'nin yaprak dökmeyen (ND) patotipe özgü primer çifti VNDF/VNDR kullanılarak PCR çoğaltması.....	26
Şekil 4.6. <i>V. dahliae</i> izolatlarının DB19/ Espdef01 primer çiftleri kullanılarak vejetatif uyum guruplarının belirlenmesi	27
Şekil 4.7. <i>V. dahliae</i> izolatlarının INTND2F/INTND3R primer çiftleri kullanılarak vejetatif uyum guruplarının belirlenmesi	27

Şekil 4.8. *V. dahliae* izolatlarının INTND2F/INTND2R primer çiftleri kullanılarak vejetatif uyum guruplarının belirlenmesi28

Şekil 4.9. *V. dahliae* izolatlarının INTND2F/MCR2B primer çiftleri kullanılarak vejetatif uyum guruplarının belirlenmesi28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Antalya ili Elmalı ilçesinde domateste <i>Verticillium dahliae</i> ile enfekteli olduğu düşünülen bitkilerin izolat kodu, anaç, kalem ve örnek alım tarihleri	14
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan anaçların özellikleri.....	16
Çizelge 3.3. Çalışma da kullanılan markör ve primerler	20
Çizelge 4.1. Primerler ile PCR'da test edilen <i>V. dahliae</i> izolatlarının tablosu.....	29

1. GİRİŞ

Domates, dünya da en çok üretimi yapılan ürünlerin başında gelmekte, insan beslenmesinde ve gıda sanayisinde, dondurulmuş, konserve, salça, ketçap, turşu gibi çeşitli kullanım alanlarının olması sebebiyle önemli bir sebzedir (Abak,2011).

Anavatanı Güney Amerika olan domatesin (*Solanum lycopersicum L.*, *Lycopersicon lycopersicum L.* H. Karst., *Lycopersicon esculentum Mill.*) ilk olarak ülkemize gelişi 19. Yüzyılda Fransa ve Suriye üzerinden gelerek çukur ova bölgesinde yetiştirilmeye başlanmış ve daha sonra diğer bölgelere yayılım göstermiştir (Kaya ve ark., 2018; Karatoy, 2019).

Domates günümüzde sağlıklı bir beslenme için önemli sebzelerden biri olarak belirtilmektedir. Özellikle sera sebze yetiştiriciliğinde önemli olan domates, içerdiği B1, B6, A, C, vitaminlerinin yüksek olmasının yanı sıra likopen içeriğinin de yüksek olmasından dolayı insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Orman ve Kaplan 2004). İnsan sağlığı açısından domates yüksek likopen içeriği sayesinde kolon, prostat, göğüs, ağız kanseri riskini azaltmasının yanı sıra kalp damar hastalıklarına karşı koruyucu etkide bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca likopenin, kanın kolestrol değerini düşürdüğü cilt ve saçları güzelleştirdiği, beyin hücrelerinde yaşlanmayı yavaşlattığı, bağışıklık sistemini güçlendirdiği belirtilmektedir (Demir ve Akgun 2014).

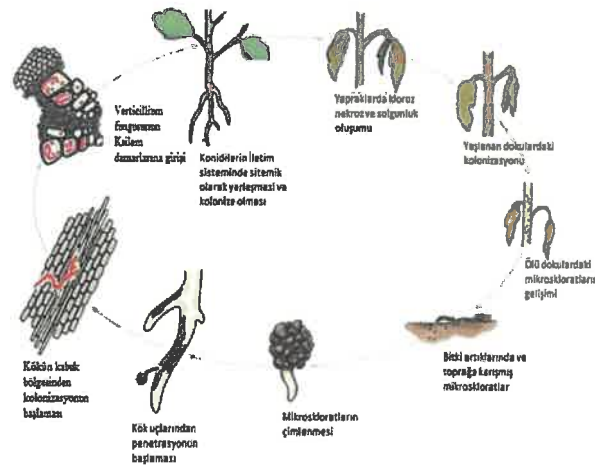
Domates üretimi her geçen yıl artış göstermektedir. İklim değişikliğine dayanıklı olması ve kolay yetiştirilebilir olması sebebiyle üretici tarafından tercih edilen domates, toplam ekiliş alanı, üretimi ve ticareti açısından da Türkiye’de yaş sebze gurubunun en önemli ürünlerinden birini oluşturmaktadır. Türkiye’de hemen hemen her yerde açıkta ve örtü altında sofralık ve sanayilik domates üretilmektedir. Özellikle Marmara, Ege ve Akdeniz bölgelerinde çok geniş alanda yetiştiricilik yapılmaktadır (Vural vd 2000). Dünya da en çok domates üretimi yapan ilk beş ülke ise sırasıyla Çin, Hindistan, Türkiye, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Mısır’dır. Domates üretiminde Türkiye 12 milyon 750 bin ton domates üretimi ile üçüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2017).

İnsan besini olarak tüketilen, tarım alanlarında üretilen gıda endüstrisi gibi yerlerde kullanılıp önemi büyük olan domateste; fungal, bakteriyel ve viral kökenli bir çok hastalık etmeni olup ekonomik olarak önemli derecede verim kayıplarına sebep olmaktadır (Karaca ve Saygılı, 1982). Açık ve örtü altı domates yetiştirilen alanlarda fungal hastalıkların neden olduğu kayıplar çok ciddi boyutlara ulaşabilmektedir. Bu fungal hastalık etmenleri arasında kök çürüklüğüne sebep olan *Verticillium* ve *Fusarium* solgunluğu, beyaz çürüklük, gri küf, erken yaprak yanıklığı, yaprak küfü, külleme ve mildiyö hastalıkları yer almaktadır. Tüm dünya da üretilen ürünlerin her yıl ortalama %14’ü fungal hastalıkların sebep olduğu kayıplardır (Agarwal ve Sinclair 1987; Agrios 1997). Toprak kökenli bir fungus olan *Verticillium dahliae*’nın 40 farklı familyadan 200 kadar bitki türünü hastalandırdığı bildirilmiştir (Isaac, 1967).

Zeytin, sert çekirdekli meyve türleri, badem, antep fıstığı, asma, berberis, akçaağaç, atkestanesi, karaağaç, böğürtlen, karpuz, çilek, pamuk, bamyas, şerbetçiotu, domates, biber, patlıcan, ayçiçeği, begonya, gül, yabancı otlar başta olmak üzere çok geniş bir konukçu dizisi vardır (Web 1).

Melouk (1992) tarafından 1816'da ilk kez tanımlanan *Verticillium* cinsi *Deuteromycotina* alt bölümü ve *Hypomyces* sınıfına yerleştirilmiştir. Ülkemizde hastalık ilk defa İyriboz (1941) tarafından 1941 yılında Manisa Kırkağaç'ta tespit edilmiştir. Karaca vd. (1971) ise etmenin *Verticillium dahliae* Kleb. olduğunu bildirmişlerdir.

Hastalık etmeni *V. dahliae* hassas bitkilerde kötü yapıli toprak koşullarında ve düşük toprak sıcaklığında ortaya çıkmaktadır. Hastalık etmeni 25-28 °C gibi sıcaklıklarda ve sulanan alanlarda iyi gelişim göstermektedir. Fungus kışı bitki artıklarında misel olarak geçirmekle birlikte mikroskleroti adı verilen dayanıklı yapılar sayesinde toprakta canlılığını 10 yıldan fazla koruyabilmektedir. Mikrosklerotiler uygun konukçu varlığında kökten gelen salgıları algılayarak çimlenerek bitki köklerine doğrudan penetrasyon yoluyla ya da yaralardan girmektedir. Kök de kolinize olan fungus buradan iletim demetlerine ksileme geçerek sistemik olarak ilerlemektedir (Agrios 2005, Koike vd 2007). Hastalık etmenin ksileme ulaşmasından sonra oluşan konider bitki diğer aksamlarına taşınmakta ve ksilem de sınırlı kalmaktadır. Konidiler floeme geçiş yapamazlar. Etmen ksilem de gelişerek tyloses, jel ve sakız gibi yapı ve maddeler oluşturarak ksilemin tıkanmasına neden olmaktadır (Schnathorst, 1981).



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

Hastalık etmeninin domates bitkisindeki' belirtileri iletim demetlerinde kahverengi renk değişikliği şeklinde görülür, özellikle kurak koşullarda yapraklar pörsüyerek solarlar, alt yaprakların uç kısımları sararır ve bitki boyunda farklılık görülür. Yaprakların bir kısmı yeşil kalırken diğer kısmı solmuş olarak görülür. Yaprak ayasında kahverengi ve kül grisi lekeler bulunur. Yaprak sapları yeşilliğini uzun süre muhafaza etse de sağlıklı gibi görünen bitkilerinde gövdeleri kesildiğinde gövdede kahverengi renk değişikliği görünür. Hasta olan bitkilerde yan kök oluşumu gözlenir. Hasta bitkilerde ölümler nadir olarak görülse de alt yaprakların tamamı kuruduğu için verim büyük ölçüde düşmektedir.



Şekil 1.2. Antalya Elmalı İlçesi serlarında aşılı domates çeşitlerinde görülen *Verticillium dahliae*'ninyapraktaki belirtileri

Hastalık etmeninin toprak kaynaklı olması hastalıkla mücadelede her hangi bir kimyasal etkili ve ekonomik olmayışı sebebiyle bir çok araştırmacı bu hastalıkla mücadelenin zor olduğunu rapor etmişlerdir (Wilhelm vd., 1974; El-Zik, 1985; Godoy vd., 1995; Biçici ve Kurt, 1998; Moshirabadi vd., 2000; Gencer vd., 2001; Karademir vd., 2009). Hastalıkla mücadelede dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi, yabancı otlarla mücadele, sulama zamanının iyi ayarlanması, ekim nöbeti ve dengeli gübreleme yapmak gibi yöntemler önerilmektedir (Wilhelm vd., 1974; Schnathorst ve Cooper, 1975; El-Zik, 1985; Erdoğan vd., 2006).

Hastalık etmeni *Verticillium dahliae*'nin genetik çeşitliliğini belirlemek için daha önceki çalışmalarda AFLP, ISSR, RAPD, IGsr DNA, RFLP, IGS rDNA, SSRs (Pramateftaki vd. 2000; Collado-Romero vd. 2006,2009; Atallah vd. 2010; Erdoğan vd. 2013; Gharbi vd. 2014, 2015; ELSharawy vd. 2015) moleküler analiz yöntemleri kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmada da hastalık etmeninin moleküler tanısında daha önceki birçok çalışmada kullanılan spesifik pirimer çiftleri kullanılarak PCR testi yapılmıştır. Tür teşhisinde DB19/DB22 pirimerleri (Carder vd 1994, Qing vd 2006 ve 2008), etmenin bilinen iki ırkının tespitinde VdAve1F/ VdAve1R (Jonge vd. 2012),

VdR2F/ VdR2R (Short vd. 2014) ırklara özgü spesifik pirimerler, patotiplerin tespitinde VDF/VDR ve VNDF/VNDR (Perez-Artes vd. 2000) pirimerleri, vejetatif uyum guruplarının belirlenmesinde DB19/Espdef01 (Mercado-Blanco vd. 2003), INTND2F/INTND3R (Collado-Romero vd. 2009), INTND2F/INTND2R(Mercado-Blanco vd 2001), INTND2F/MCR2B (Collado-Romero vd.2009) pirimerleri kullanılmıştır.

Bu amaçla Antalya ili Elmalı ilçesinde örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda görülen *Verticillium dahliae* Kleb izolatlarının PCR analiz yöntemi ile teşhis ve tanısı'nın yapılması gerekli ıslah çalışmalarının ve mücadele olanaklarının geliştirilmesi ve çeşitlendirilmesi açısından büyük önem arz etmektedir.

2. KAYNAK TARAMASI

Korolev vd. (2000) İsrail’ de 47 farklı alanda yaptıkları çalışmada *V. dahliae*’nın 13 konukçusundan toplamda 565 izolat elde etmişlerdir. Elde edilen izolatlardan 158 tane izolat VCG2B, 378 tane izolat VCG4B ve 28 izolat ise VCG2A olarak belirtilmiştir. Bir izolat ise heterokaryon kendine uyumsuz olarak belirlenmiştir. VCG2B izolatlarının %92 İsrail’in kuzey kesiminde, VCG4B izolatlarının ise %90’ İsrail’in güney kesiminde belirlenmiştir. VCG2A ise coğrafi olarak iki VCG arasında dağılmıştır. Aynı VCG izolatlarının diğer izolatlardan birbirine benzer koloni, mikrosklerot, sıcaklık tepkimelerine sahip olduklarını ve kısmen aynı patojenisiteye sahip olduklarını belirtmişlerdir. Pamuk ve patlıcan bitkileri kullanılarak test edilen 60 izolat arasında farklı patotipler tanımlanmıştır. Farklılık olarak VCG2A’daki tüm izolatlar ve %86’sı VCG4B’deki izolatlar pamukta zayıf ila orta semptomlara patlıcanda ise orta ve şiddetli semptomlara sebep olmuştur. Buna karşılık VCG2B’deki tüm pamuk izolatları şiddetli yaprak semptomlarına, bodurluğa ve ölümlere neden olmuştur. Patlıcanda ise zayıf ila orta dereceli semptomlara neden olmuştur.

Dobinson vd. (2000) Yaptıkları çalışmada Kuzey Amerika’nın çeşitli bölgelerinden toplanan ve daha önce VCG 4A ve VCG 4B vejetatif uyumluluk gurubu olarak bilinen 46 *V. dahliae* izolatı moleküler markır kullanılarak karakterize etmişlerdir. Çalışmada karakterize edilen VCG 4A izolatlarının bir tanesi hariç diğer hepsi alt türe özgü tekrar eden DNA sekansı E18’den yoksundur. Geri kalan izolatların tümü ise nükleer rDNA ve Trp1 lokuslarındaki Restriksiyon fragment uzunluğu polimorfizmleri (RFLP) ile ayırt edilmiştir. VCG 4B izolatlarının E18 RFLP’leri ise daha önceden domates tarlalarından elde edilen *V. dahliae* VCG 4B izolatları ile benzer bulunmuştur. Çalışmada moleküler yöntemlerle elde edilen verilerin patatesten *V. dahliae* izolatlarının tespiti ve sınıflandırılmasında faydalı olacağı belirtilmiştir.

Bahat vd. (2003) Kaliforniya’nın orta kıyılarında solmuş biber tarlalarında yaptıkları çalışmada 67 tane *V. dahliae* izolatı elde etmişlerdir. Elde edilen izolatlar dan %67’sinin VCG2’ye %22’sinin VCG4’e %11’nin ise yeni bir VCG olarak adlandırılan VCG6’ya ait olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan çalışmada *V. dahliae* izolatlarının patojenitesi için 1 aylık dolmalık biber ve domates fideleri kullanılmıştır. VCG2, VCG4 ve VCG6’ya ait biber izolatları oldukça patojenik bulunmuştur.

İzolatlara ait moleküler karakterizasyon için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tabanlı rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) tekniği kullanılmış ve *V. dahliae* biber izolatlarının %95’inde bu izolatlar arasında küçük farklılıklar ortaya konmuştur. VCG6’ya ait izolatlarda ise benzersiz polimorfik bant desenleri gözlemlenmiştir.

Collins vd. (2005) yaptıkları çalışmayla elde ettikleri *V. dahliae* izolatlarına polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi yaparak incelemişlerdir. Çalışmada *V. dahliae*’nın yaprak dökken (D) ve yaprak dökmeyen (ND) patotiplerini belirlemek için INTD2f/r ve INTND/r primer çiftleri kullanılmıştır. Çalışmada ayrıca *V. dahliae*’ya

özgü DB19/DB22 pirimer çifti kullanılmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlar *V. dahliae* izolatlarının bilinen biyolojik ve moleküler özellikleriyle karşılaştırılmıştır. DB19/DB22 pirimer çifti kullanılarak yapılan PCR testlerinde ürünlerin 5 farklı sekans dizilim gurubu ortaya çıkarılmıştır. İspanyadan elde edilen yaprak dökücü (D) izolatlar ile İspanya'dan ve ABD'den elde edilen yaprak dökmeleyen (ND) izolatlar 4'üncü sekans dizilim gurubuna dahil edilmiştir.

Bellahcene vd. (2005) zeytin ağaçlarında yaptıkları çalışmada Cezayir'in kuzey batısından ve Kabylie bölgelerinden 18, Fransa'dan 4, Suriye'den 3 *V. dahliae* izolatı elde edilerek vejetatif uyumluluklarını belirlemek için nitrat kullanmayan mutantlarla tamamlama testleri kullanılmıştır. Elde edilen izolatların fenotipine dayanılarak üç tip mutant elde edilmiştir. Elde edilen mutantların %71,6 nit1, %16,6 nitM ve %11,8 nit3 olarak tespit edilmiştir. Heterokaryon oluşturma yeteneklerine dayanarak, elde edilen tüm zeytin izolatları tek bir vejetatif uyum gurubunda toplamışlardır.

Dane (2007) yaptığı çalışmada Erzurum ilinin ilçelerinden patates yetiştiriciliği yapılan alanlardan elde edilen *V. dahliae* izolatlarının patojenitelerini ve vejetatif uyum guruplarını tespit etmek amacıyla bu çalışmayı yapmıştır. Yapılan çalışmada 111 *V. dahliae* izolatı elde edilmiştir. Elde edilen izolatlardan toplamda 240 mutant oluşturulmuştur. Bu mutantların 69'u NitM, 171'i Nit1 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada izolatların vejetatif uyum guruplarını tespit etmek için elde edilen mutantların test izalasyonlarıyla eşleştirilmiş ve 77 tane izolatın VCG4A, 34 tane izolatın ise VCG2B olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada Marfona çeşidi kullanılarak vejetatif uyum guruplarının patojenisitelerini belirlemek için daldırma metodu kullanılmış ve iki vejetatif gurup'da da hastalık şiddeti açısından fark görülmemiştir. Aynı zamanda yapılan bu çalışmayla ilk kez VCG4A'nın Türkiye'de bulunduğu tespit edilmiştir.

Dinler (2007) 2004-2005 yıllarında Aydın ili ve ilçelerinde pamuk yetiştiriciliği yapılan alanlarda yaptığı çalışmada pamuk bitkilerinden toplamda 47 adet *V. dahliae* izolatı elde etmiştir. Çalışmada *V. dahliae*'nin patojenisite çalışmaları Acala SJ2 pamuk çeşidinde yapılmış ve izolatların %3.83 -100 arasında değişmiştir.

Çalışma sonun da elde edilen 54 mutant *V. dahliae*'nin 38'i VCG2B iken, 6'sı VCG2B ile kuvvetli ve VCG1 ile zayıf, 5' i VCG 2B ve VCG1 ile kuvvetli, 2'si VCG2A ile kuvvetli, 1'i VCG1 ile kuvvetli ve VCG2B ile zayıf, 1'i VCG2B ve VCG4B ile zayıf, 1'i ise VCG2B ile zayıf heterokaryosis olduğu tespit edilmiştir.

Göre, (2007) 2003-2004 yılları arasında Ege bölgesinde pamuk yetiştiriciliği yapılan alanlardan toplamda 101 adet *V. dahliae* izolatı elde etmiştir. Elde edilen izolatların vejetatif uyum guruplarını belirlemek için izolatların nit mutantları arasındaki heterakaryon oluşum izlenerek test edilmiştir. Elde edilen izolatlardan 33'ü VCG2B'ye, 12'si VCG2A'ya 4 tanesi VCG4B ve 46 tanesi VCG1 olarak tespit edilmiştir. Kalan izolatlar nit mutantı olamamaları sebebiyle vejetatif uyum gurup bu açısından test

edilememiştir. Çalışmada elde edilen izolatlar Acala SJ-1 ve Deltapine 15-21 pamuk çeşitlerinde patojenisite açısından değerlendirilmiş ve VCG2 ve VCG4B izolatları pamuk bitkisinde zayıf ve şiddetli semptomlara sebep olmuştur. VCG1 ise pamuk bitkilerinde bodurluğa, yaprak dökülmesine ve solgunlaşarak ölümlere sebep olmuştur. Bu çalışma ile Türkiye’de VCG1’in bilinen ilk raporudur.

Hayes vd. (2007) 2004 yılında 107, 2005 yılında 22 marul çeşidi üzerinde yaptıkları çalışmada *V. dahliae* ile enfekteli marul tarlalarında hassas ve dirençli çeşitlerde hastalık şiddetini belirlemiştir. Çalışmada direnç açısından değerlendirme yapmak için 1rk1 ve 1rk2 izolatları 16 marul çeşidi üzerinde test yapılmıştır. Yapılan testlemede önemli farklılıklar gözlemlenmiştir. Duyarlı çeşitlerde hastalık şiddeti yetiştirme dönemi boyunca artmış dirençli çeşitlerde ise sabit kalmıştır. Yapılan testlemelerde hastalık 1rk’a göre değişiklik göstermiştir. Testlemede kullanılan 7 çeşit 1rk1’e dirençliyken çeşitlerin hepsi 1rk2’ye hassas olarak tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmayla marulda *V. dahliae* karşı ıslah çalışmalarına katkı sağlanmıştır.

Sanei vd. (2008) çalışmada 1993 ve 2005 yılları arasında *V. dahliae* ile enfekteli olan kültür bitkileri ve yabancı otlar İran’ın farklı bölgelerinden toplanmıştır. Farklı bölgelerden ve konukçulardan elde edilen toplam 548 adet *V. dahliae* izolatı elde edilmiştir. Elde edilen 548 izolat nitrat kullanmayan (nit) mutantlar kullanılarak vejetatif uyum gurupları belirlenmiştir. İzolatların %51.1’i VCG4B’ye %25.9’u VCG2A’ya ve %23’ü VCG1 olarak tespit edilmiştir.

Collado-Romero vd. (2009) araştırmacılar yaptıkları araştırmada enginar bitkilerini enfekte eden *V. dahliae* izolatının ve vejetatif uyum guruplarının tespit ve tanımlamasını amaçlamışlar ve bu amaçla nested multiplex PCR yöntemini geliştirmişlerdir. Çalışmada öncelikli olarak izolatların hepsi DB19/DB22 *V. dahliae*’ya has pirimer çiftleri tarafından test edilmiş, daha sonra VCG’ların tespiti için PCR markörleri ile VCG’lar arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmada VCG1A veya VCG2B izolatlarının tespiti için 334 bazlık markör, VCG2A veya VCG4B izolatları için 688 bazlık markör ve VCG2B izolatları için 688 ve 964 bazlık markörlerden yararlanılmıştır. Çalışmada iç içe geçmiş PCR testleri ile *V. dahliae* ve VCG’ların tespit ve tanımlaması yapılmıştır.

Korolev vd. (2009) İsrail’de domates üretimi yapılan 16 bölgede yaptıkları çalışmada 3 VCG ve 2 fizyolojik ırkı belirlemek için toplamda 76 tane *V. dahliae* izolatı elde etmişlerdir. Elde edilen izolatlardan 55 izolat VCG4B’ye 18 izolat VCG2A’ya 2 izolat VCG2B olarak tanımlanmış olup 1 izolat ise kendine uyumsuz olarak belirlenmiştir. Fizyolojik ırkları belirlemek için iki domates çeşidi kullanılmış ve kullanılan çeşitlerden Cv.604, 1rk1’ e direnç geni Ve genine sahipken, Rehovot13 ise 1rk1 ve 1rk2’ye duyarlıdır. VCG2A ve VCG2B izolatları, Ve geni olmayan duyarlı çeşidi güçlü bir şekilde etkilemiş ve 1rk1’e karşılık gelmiştir. VCG4B izolatları ise her iki çeşitte de güçlü bir şekilde etkileyerek 1rk2’ye karşılık gelmiştir.

Yaprak dökme benzeri (DL) ve yaprak dökme (ND) patotipler ise domateste hafif ve hiçbir semptomu sebep olmamıştır. Domates’deki ırk1 ve ırk2 izolatları pamuğa (Acala SJ2) hafif agresif ve yaprak dökme (ND) patotipi olarak belirlenmiştir. VCG2A ve VCG4B tarafından temsil edilen sırasıyla ırk1 ve ırk2 fizyolojik ırklar karpuz, patlıcan, bamyaya ve ayçiçeğinde bezer patojenite’ye sahip iken, VCG2B’ye ait iki ırk1 izolatı patlıcan, karpuz ve ayçiçeğinde yüksek agresiflik göstermiştir.

Collado-Romero vd. (2010) araştırmacılar vejetatif uyum guruplarına ait *V. dahliae* izolatlarının hibrit orjinini VCG3’de yaptıkları bu çalışmada rapor etmişlerdir. Çalışmada *V. dahliae* VCG3 izolatlarının çoklu aktin (Act), b-tubulin (b-tub), kalmodulin (Col) ve histon3 (H3) içeren genlerinin farklılık barındırdığını belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmada yapılan filogenetik analizler ITS-1 ve ITS-2, PCR markörleri *V. dahliae* VCG3 izolatlarının VCG1B ile henüz tanımlanmamış ebeveynler arasındaki hibridizasyon dan kaynaklı olduğunu göstermiştir.

Jimenez-Diaz vd. (2011) yaptıkları çalışmada İspanyanın güneyinde Endülüs’te zeytin yetiştiriciliği yapılan 5 ilden 65 meyve bahçesinden 433 zeytin ağacından 637 adet *V. dahliae* izolatı elde etmişlerdir. Elde edilen izolatların %78’i VCG1A, %19.8 VCG2A, %1.4 VCG4B, %0.6 VCG2B ve 1 izolatında heterokaryon olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada 637 izolat polimeraz zincir reaksiyon (PCR) kullanılarak moleküler patotipleme yapılmıştır. Yapılan testlemede VCG1A izolatlarının yaprak dökme (D) patotipinde olduğu VCG2A, VCG2B ve VCG4B izolatlarının ise yaprak dökme ND patotipinde olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda Endülüs’deki *V. dahliae* genetik çeşitliliğinin zeytin bahçeleri arasında VCG’ların ve sekans dizilerinin dağılım ve yaygınlığı VCG1A’nın yaygın olmadığı illerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Genç, (2012) yaptığı çalışmada çilek yetiştiriciliği yapılan Erzurum ve Erzincan illerinden çilek bitkisinden elde ettiği *V. dahliae* izolatlarının vejetatif uyum guruplarını belirlemiştir. Çalışmada toplamda 202 adet *V. dahliae* izolatı elde edilmiştir. Elde edilen *V. dahliae* izolatlarının 782’si nit1 ve 99 nitM olarak sınıflandırılmış ve toplamda 881 adet mutant elde edilmiştir. Elde edilen bu mutantların test izalasyonlarıyla eşleştirilmesi sonucu *V. dahliae* izolatlarının %6,4’ü VCG 2A, %15,8’i VCG 4B ve %73,4’ü VCG 4B olarak tespit edilmiştir. Kalan %4,4’lük kısımdaki izolatların ise vejetatif uyum gurupları tespit edilememiştir. Bu çalışmayla çilek bitkisinde Türkiye de ilk kez *V. dahliae*’nin vejetatif uyum gurupları tespit edilmiştir.

Papaionnou vd. (2013) Girit, Yunanistan'da yaptıkları çalışmada elde edilen 84 *V. dahliae* izolatının vejetatif uyum guruplarını (VCG), mating tipi, morfolojik/fizyolojik karakterizasyon ve farklı konukçularda (Domates, Biber, Patlıcan ve Şalgam) patojenisite testi yaparak karakterize etmişlerdir. Çalışmada domates te *V. dahliae* ırk 2'nin ırk 1'in yerini aldığı ve duyarlı çeşitlerde daha virülene olduğu belirlenmiştir. Elde edilen izolatlarda VCG2A, VCG2B ve VCG4B gurupları tespit edilmiştir. PCR testlerinde Tr1/Tr2 markörleri VCG4B gurubu dışında domateste patojenik ırklar arasında güvenle kullanılacağı, Tm5/Tm7 ve 35-1/35-2 markörleri ise domateste patojenik izolatların tespit edilmesinde başarılı olmuştur. Çalışmada ITS2 bölgesindeki tek bir nükleotid polimorfizmi ve iki yeni moleküler markör M1 ve M2 VCG'lar 2A, 2B ve 4B'nin hızlı ve doğru belirlenmesi ve gelecekte çalışmalarda verimli analizler için kullanılabilir olduğu tespit edilmiştir.

Short vd. (2014) yaptıkları çalışmada *V. dahliae* ait domates ve marul bitkileri üzerinde iki patojenik ırk tanımlanmasına rağmen ırk1 tanımlamak için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi tanımlanmasına rağmen ırk2'yi pozitif tanımlamak için bir test yoktur. Her biri ırk1 ve ırk2 olan *V. dahliae* izolatlarının genom dizileri kullanılarak pirimerleri belirlenmiştir. İrklar arasındaki polimorfizmlere dayanarak bilinen ırkın referans izolatları üzerinden bir pirimer çifti tasarlanmış ve test edilmiştir. Bu pirimer çifti, VdR2F (ACTTAACGAAAGCATGCGC)-VdR2R (CTTGACTTGCCGGCTCC) tüm ırk2 izolatlarında tutarlı şekilde 256 bp ürün vermiştir. Çalışmada 340 ıspanak fidesinden toplamda 677 *V. dahliae* izolatının DNA'sı ırk1'e ait pirimer çifti ve ırk2'ye özgü VdR2F-VdR2R pirimer çifti ile amplifiye olmayan izolatlardan PCR ile DNA taraması yapılmıştır. Doğrulama yapmak için ıspanak tohumlarından rasgele seçilmiş 53 izolatla iki farklı marul hattı aşılansız patojenisite ve virülansları sera koşullarında değerlendirilmiştir. Farklı çeşitlerdeki reaksiyonlar PCR verilerini desteklemiştir. Daha sonra her iki ırka özgü pirimerler kullanılarak Kaliforniya dan bitkiler üzerinde araştırma yapılmış ve tüm enginar izolatları ırk1 ve tüm domates izolatları ırk2 olduğu belirlenmiştir. Kaliforniya da marul, biber ve çilek izolatları ile dört ülkeden ikisinde gelen ıspanak tohumlarında her iki ırk da tespit edildikçe pamuk, nane, zeytin ve patateste sadece ırk2'yi tespit etmişlerdir.

Carneros vd. (2014) yaptıkları çalışmada ayçiçeğinde *Verticillium* solgunluğuna sebep olan *V. dahliae*'nin genetik ve moleküler özelliklerini belirlemek için enginar, pamuk ve zeytin ağacını enfekte eden *V. dahliae* izolatları moleküler belirteç olarak kullanılmıştır. Bu amaçla Arjantin ve İspanyada ayçiçeği yetiştiriciliği yapılan alanlardan izolatlar toplanarak analiz edilmiştir. VCGs referans suşları ile ayçiçeğinden elde edilen izolatların nit mutantları belirlenmiştir. *V. dahliae*'nin moleküler karakterizasyonu, yaprak dökücü (D) ve yaprak dökmeyen (ND) patotipleri ve VCG'ların tanısı pirimer çiftleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. *V. dahliae*'nin nit mutantları ile referans suşları arasındaki testlemeler ayçiçeğinden elde edilen izolatların VCG2B'ye ait olduğunu göstermiştir.

Moleküler analizde ayçiçeğini enfekte eden *V. dahliae* izolatlarının enginar ve pamukta patojen olan *V. dahliae*'nın yaprak dökme (ND) izolatları ile aynı moleküler yapıya sahip olduğu belirlenmiştir.

Koç, (2014) yaptığı çalışmada Antalya ili ve ilçelerinde aşılı patlıcan yetiştiriciliği yapılan alanlarda patlıcan da solgunluğa sebep olan *V. dahliae* izolatlarının moleküler yöntemleri kullanarak tespit ve tanısını yapmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen izolatlardan türe has genomik (SSMG) ve ribozomal DNA intergenik spacer (IGS) bölgeleri polimeraz zincir reaksiyon (PCR)'nun da çoğaltılarak DNA dizilimleri belirlenmiştir. Çalışmada, *V. dahliae* ile enfekteli 30 aşılı patlıcan ve ırk1 ve ırk2'yi temsil eden 4 domates izolatı DB19/DB22 primerleri kullanılarak PCR'da 520 ile 550 bazlık ürün elde edilmiştir. IGS bölgesi primer çifti VdIGSF1/VdIGSF2 kullanılarak 10 patlıcan ve 3 domates izolatında 1800 ile 2000 baz arasında ürün elde edilmiştir. Çalışmada, *V. dahliae*'ya özgü gen bölgesi dizi analizleri 24 patlıcan izolatının 526 bazlık, 6 patlıcan izolatının ise 542 bazlık iki farklı gurubu temsil eden bir dizilime sahip olduğu belirlenmiştir. Gurup 1 ve gurup 2 olarak adlandırılan bu izolatlar *V. dahliae*'nin dünyadaki bu zamana kadarki bilinen 7 seq gurubundan seq2 ve seq4 içerisinde yer aldığı belirlenmiştir. Çalışmada birinci grup daki izolatlar domates ırk2 izolatlarına yakın grup içine girerken ikinci guruptakiler domates izolatlarından ayrı bir grup içinde yer almıştır. 30 patlıcan izolatı üzerinde domates ırk1'e has primer çifti PCR testi yapılmış ve ırk1 olmadığı belirlenmiştir. Çalışma sonunda Antalya ili ve çevresindeki ilçelerde *V. dahliae*'nin patlıcanda genetik olarak iki farklı izolat gurubunun olduğu ve yapılan analizlerde her iki grup içindeki izolatların ırk1 olmadığı ve birinci gruptaki izolatların ırk2 olabileceği belirlenmiştir.

Ping Hu vd. (2015) yaptıkları çalışmada pamukta *V. dahliae*'nin ırk ve patotiplerini belirlemek için Çin, İsrail, Türkiye ve Amerika Birleşik Devletlerinde pamuk yetiştirilen alanlardan toplamda 137 adet *V. dahliae* izolatı elde etmişlerdir. Çalışmada, *V. dahliae*'nin yaprak dökme patotipini belirlemek için DF/DR, yaprak dökme patotipi belirlemek için ise NDF/NDR primerleri kullanılmıştır. Irkları belirlemek için ırk1 için VdAve1F/VdAve1R, ırk2'yi belirlemek için VdR2F/VdR2R primerleri kullanılmıştır. Primerler polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) metodu kullanarak test edilmiştir. Çalışmada yaprak dökme olarak genotiplenen izolatların %97.2'si ırk2 olarak, yaprak dökme olarak genotiplenen izolatların %90.8'i ırk1 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada sonuçları doğrulamak için dirençli FM 2484B2F, kısmen dirençli CA4002 ve duyarlı 98M 2983 pamuk çeşitleri kullanılmış olup her biri PCR ile karakterize edilen 10 izolat ile aşılanmıştır. Altı adet yaprak dökme ve ırk2 izolatı (GH1005, GH1021, HN, XJ2008, XJ592 ve referans izolat Ls17), dört adet yaprak dökme ve ırk1 izolatı (GH1015, GH1016, GH1020 ve referans izolat Ls16) tespit edilmiştir. Ls17 dışındaki tüm yaprak dökme ve ırk2 izolatları 98M-2983 ve CA4002' de yaprak dökümüne sebep olmuş, izolat Ls17 ise yalnızca 98M-2983'de yaprak dökümüne neden olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada yaprak dökmeyen ve ırk 1 izolatları ise 98M-2983'te yaprak dökmeden solgunluk belirtisine sebep olmuştur. Yapılan çalışma sonucunda 1rk1 yaprak dökmeyen 1rk2 ise yaprak dökme popülasyonlara karşılık gelmiştir.

Strausbaugh vd. (2016) yaptıkları çalışmada Idaho'da 2007-2008 yıllarında şeker pancarında *Verticillium* solgunluğu gösteren 40 pancar tarlasından 10 kök solgunluk gösteren bitkiden toplamda 106 adet *V. dahliae* izolatı elde etmişlerdir. Elde edilen izolatların hepsinin MAT1-2 mating tipinde olduğu belirlenmiştir. İzolatlardan değerlendirmeye alınan 93 izolatın %95'i VCG4A, %3'ü VCG2B, %1'i VCG4B ve %1'i uyumsuz olarak tespit edilmiştir. Çalışmada değerlendirmeye alınan VCG4A izolatlarının tümü *cox3* ile *nad6* ve *cox1* ile *rnl* lokuslarının sekansına bağlı olarak aynı mitokondriyal haploid tipine sahip olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonunda monohikari şeker pancarı çeşidi potojeniste açısından test edilmiş ve diğer gruplara göre VCG4A izolatları daha fazla yaprak semptomuna sebep olduğu sonucuna varılmıştır.

Usami vd. (2017) Japonya'da domates anaçları üzerinde yaptıkları çalışmada *V. dahliae*'nin direnç geni *Ve1* geni taşıyan anaçları üzerinde yapılan patojenisteye göre *V. dahliae*'nin ırklarını 1rk1 ve 1rk2 olarak belirlemişlerdir. 1rk2 ye dirençli ticari çeşitler bulunmamakla birlikte 1rk2'ye dirençli anaç çeşitleri Aibou ve Ganbarune- Karis anaçlarının yetiştiriciliği yapılmış ve yapılan patojenisteye testleri bu anaçların 1rk2'nin bazı izolatlarına dirençli olduğunu göstermiştir. Bu dayanıklılığın F2 popülasyonlarındaki direnç ayırımına dayalı olarak V2 ile gösterilen tek dominant lokus tarafından kontrol edildiği belirtilmiştir. Çalışmada 1rk2'nin bazı izolatlarının ise direnci kırdığı tespit edilmiş ve bu sebeple çalışmada 1rk2 iki ırka ayrılmıştır. Bu ırklar 1rk2 (Aibou' da patojenik olmayan) ve 1rk3 (Aibou' da patojenik) olarak belirtilmiştir. Çalışmada 70 ticari domates tarlasından 45'inde 1rk3 olarak tespit edilirken geriye kalan 25 tarlada ise 1rk2'nin yaygınlığı tespit edilmiştir.

Rafei vd. (2018) İran'da yaptıkları çalışmada 78 *V. dahliae* izolatının genetik yapılarını belirlemek için mating tipi, tek nükleotid polimorfizmleri ve mikrosatellitler genotiplendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre mating tipine özgü primerler kullanılarak 78 izolatın tümünde MAT 1-2 mating tipi belirlenmiştir. Klonal soyları belirlemek için yapılan tek nükleotid polimorfizmi analizleri ve 10 mikro uydu lokusu genotiplerine dayanılarak yapılan analizlerin sonuçlarına göre dört izolat dışındaki tüm izolatlar VCG2B olarak belirlenirken diğer 4 izolat ise VCG4B olarak belirlenmiştir.

Zong vd. (2019) yaptıkları çalışmada Çin'de yoğun pamuk üretim yapılan 3 bölgeden 28 farklı pamuk yetiştiriciliği yapılan alanlardan toplam 74 adet *V. dahliae* izolatı elde etmişlerdir. Çalışmada pamuk bitkilerinden elde edilen *V. dahliae* izolatlarının ırkları, patotipleri, vejetatif uyum grupları (VCG) ve genetik çeşitliliğin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada izolatları PCR, amplifiye parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP) ve ara basit sekans tekrarı (ISSR) analizleri yapılmıştır. Ayrıca

çalışmada ırkları belirlemek için ırk 1 için VdA ve 1F/ VdAve 1R (de Jonge vd. 2012) pirimer çifti, ırk2 için VdR2F/VdR2R (Short vd. 2014) pirimer çifti kullanılmıştır. Patotipleri belirlemek için yaprak dökken (D) patotipi için VDF/VDR pirimerleri, yaprak dökmeleyen patotip (ND) için VNDF/VNDR pirimerleri kullanılmıştır (Perez-Ares ve ark.200). Vejetatif uyum gruplarını için tespit etmek için ise DB19/espdef01 (Mercado-Blanco ve ark. 2003), INTND2F/INTND3R (Collado-Romero vd. 2009), INTND2F/INTND2R (Mercado-Blanco vd. 2001), INTND2F/MCR2B (Collado-Romero vd. 2009) primer çiftleri kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 74 izolattan 60 izolat yaprak dökken (D) patotipi olarak belirlenirken 74 izolattan 70 izolat ise ırk 2 olarak belirlenmiş olup vejetatif uyum grupları arasında ise VCG1A izolatları baskın gelmiştir.

Dung vd. (2019) yaptıkları çalışmada uçucu yağ için yetiştiriciliği yapılan ticari nane bitkilerinin üretimini tehdit eden *Verticillium* solgunluğu hastalığına sebep olan *V. dahliae* patojeninin popülasyonların da bulunan fenotipik ve genotipik çeşitlilik belirlenmiştir. Oregon'daki nane yetiştiriciliği yapılan tarlalardan ve Amerika Birleşik Devletlerinin diğer üretim bölgelerinden toplanan izolatların fenotipik ve genetik çeşitlilik kapsamını sekanslama yoluyla ve mating tipi, vejetatif uyum grubu ve patojenik ırk için de PCR testleri yapılmıştır. Çalışmada izolatların ortak bir genetik grup olduğu sonucuna varılmış ve izolatların %83 VCG2B'ye ait olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada izolatların mating tipi, MAT lokusundaki genotipe göre tanımlanmıştır. Tüm izolatlar MAT 1-2 ve ırk 2 olarak karakterize edilmiştir. Yapılan çalışmanın sonucuna göre düşük seviyelerde genetik çeşitliliğe ve konukçuya uyarlanmış popülasyonlar da düşük bir cinsel rekombinasyon riski taşıdığı sonucuna varılmıştır.

Baroudy vd. (2019) Lübnan'da patates tarlalarında ve zeytin bahçelerinde yaptıkları çalışmada patates ve zeytin ağaçlarından toplam 203 adet *V. dahliae* izolatı elde etmişlerdir. Elde edilen izolatların tür, ırk ve mating tipi 13 mikro marker kullanılarak belirtilmiştir. Patates izolatlarından biri hariç tüm izolatlar *V. dahliae* olarak tespit edilmiştir. Patates izolatlarının %12.1'i ırk1, %83.2'si ırk2, zeytinde ise %55.1'i ırk1, %43.6'sı ırk 2 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen izolatlardan dört izolat dışında diğer izolatların hepsi üç multi lokus haploid genotipi ile temsil edilen MAT1-2 olduğu sonucuna varılmıştır. Araştırma sonucunda Lübnan'da *V. dahliae*'nin ırk1 ve ırk2 popülasyonlarının hakim olduğu ve yeni hastalık yönetimi önlemlerinin alınması gerektiği belirtilmiştir.

Tok vd. (2020) yaptıkları çalışmada Türkiye'de bamya yetiştiriciliği yapılan 8 ilden farklı alanlardan hastalık belirtisi gösteren bamya bitkilerinin vasküler dokularından izalasyon yaparak 44 adet *V. dahliae* izolatı elde etmişlerdir. Elde edilen izolatlar arasındaki heterokaryon genetik ilişkiyi belirlemek için *V. dahliae*'nin nitrat kullanmayan (nit) mutantları kullanılmıştır. Çalışmada elde edilen 44 *V. dahliae* izolatının vejetatif uyum gurupları 6 tanesi VCG1A (%13.6), 9 tanesi VCG2A (%20.5)

ve 29 tanesi VCG2B (%65.9) olarak tespit edilmiştir. Çalışmada VCG1A'nın yaprak dökken (D), VCG2B'nin kısmi yaprak dökken ve VCG2A'nın ise yaprak dökme (ND) patotipi olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar VCG'ların virülens düzeyinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmada yerel genotiplerin Çorum, Hatay has ve Şanlıurfa hem yaprak dökken (D) hem de kısmi yaprak dökken (PD) patotiplerine karşı en düşük duyarlılığı göstermiştir. Belirlenen VCG'lar içerisinde en virülenti yaprak dökken D patotipinin VCG1A'sının olduğu ve bamya üretiminin devam edebilmesi için yeni dirençli genotiplerin geliştirilmesi gerektiği belirtilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

Bu tez çalışması Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Mikoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması

Çalışma kapsamında Antalya ili Elmalı ilçesi ve köylerinde ağustos ve eylül ayları arasında örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda arazi çalışması yapılmıştır. Bu kapsamda örtü altı yetiştiriciliği yapılan domates bitkilerinde *Verticillium* solgunluğu ile enfekteli olduğu düşünülen farklı anaç ve domates çeşitlerinden örnekler toplanmıştır.

Hastalıklı domates bitkilerinden örnekler domateste *Verticillium* solgunluğu belirtileri gözlenerek toplanmıştır. Bu örnekler, hastalığın domates bitkisinde alt yaprakların uç kısımlarından içeriye doğru V şeklinde sararması şeklinde başlayarak devam eden solgunluk belirtileri ile bu bitkilerin gövdeleri enine ve boyuna kesilerek iletim demetlerinde kahverengi renk değişikliği gösteren bitkilerden alınmıştır.

Hastalıklı domates bitkilerinden örnek alınırken bitkilerin kök boğazı üzerinden 15-20 cm uzunluğunda gövde parçaları steril makas ile kesilerek naylon poşetlere konmuştur. Örnek alınan her hastalıklı bitkiye izolat kodu ve örnek alınan domates bitkisinin anaç ve kalem bilgileri ile tarihler not edilmiştir.

Bu amaçla her bir seradan bir örnek alınarak 40 farklı seradan 40 örnek elde edilmiş ve toplanan örnekler naylon poşet içinde *V. dahliae* izolasyonu yapmak için bitki koruma bölümü mikoloji laboratuvarına getirilmiştir. Hastalıklı bitki örnekleri izolasyon çalışması yapıncaya kadar 4°C sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1. Antalya ili Elmalı ilçesinde domateste *Verticillium dahliae* ile enfekteli olduğu düşünülen bitkilerden toplanan örneklerin izolat kodu, anaç, kalem ve örnek alım tarihleri

İzolat kodu	Anaç	Kalem	Tarih
Vd1	Arazi	Stil	15.08.2019
Vd2	Beaufort	Alberty	15.08.2019
Vd3	Superpro	Torry	15.08.2019
Vd4	Beaufort	Torry	15.08.2019
Vd5	Armstrong	Bigmec	15.08.2019
Vd6	Beaufort	Alberty	15.08.2019
Vd7	Enpower	Torry	15.08.2019
Vd8	Beaufort	Ancha	15.08.2019
Vd9	Beaufort	Ancha	15.08.2019
Vd10	Armstrong	Stil	15.08.2019

Çizelge 3.1'in devamı

Vd11	Beaufort	Torry	15.08.2019
Vd12	Superpro	Torry	29.08.2019
Vd13	Superpro	Torry	29.08.2019
Vd14	Superpro	Torry	29.08.2019
Vd15	Beaufort	Ancha	29.08.2019
Vd16	Kingkong	Torry	29.08.2019
Vd17	Beaufort	Torry	29.08.2019
Vd18	Armstrong	Alberty	05.09.2019
Vd19	Arazi	Torry	05.09.2019
Vd20	Beaufort	Torry	05.09.2019
Vd21	Beaufort	Alberty	05.09.2019
Vd22	Beaufort	Ancha	05.09.2019
Vd23	Superpro	Torry	05.09.2019
Vd24	Kingkong	Torry	05.09.2019
Vd25	Arazi	Stil	06.09.2019
Vd26	Arazi	Stil	06.09.2019
Vd27	Terazi	Turan	06.09.2019
Vd28	Beaufort	Ancha	06.09.2019
Vd29	Beaufort	Ancha	06.09.2019
Vd30	Terazi	Turan	06.09.2019
Vd31	Arazi	Stil	23.09.2019
Vd32	Beaufort	Alberty	23.09.2019
Vd33	Beaufort	Ancha	23.09.2019
Vd34	Superpro	Torry	23.09.2019
Vd35	Terazi	Turan	23.09.2019
Vd36	Armstrong	Stil	23.09.2019
Vd37	Enpower	Torry	23.09.2019
Vd38	Enpower	Torry	23.09.2019
Vd39	Kingkong	Torry	23.09.2019
Vd40	Superpro	Torry	23.09.2019
Kontrol olarak kullnailan izolotlar			
TK23 ırk1			
TO022 ırk2			

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan anaçların üretici firma, hastalık etmenleri ve nematodlara dayanıklılık özellikleri

Anaç	Üretici firma	Dayanıklılık özellikleri
Beaufort	Antalya Tarım	ToMV, Fol:0.1, For, Pl, Va, Vd, Ma, Mi, Mj
Arazi	Syngenta	Ff: A-E, Fol:1.2, For, Pl, Va-Vd:1, Ma, Mi, Mj, ToMV:0.1
Superpro	Vilmorin Tohumculuk	ToMV, Fol:0.1, V:0, For, M, Pl
Armstrong	Syngenta	Ff: A-E, Fol:1.2, For, Pl, Va-Vd:1, Ma, Mi, Mj, ToMV:0.2
Enpower	Nunhems	Va, Vd, Fol:1.2.3, For, ToMV, Ma, Mi, Mj, Pl, Pst
Kingkong	Rjik Zwaan	ToMV:0.2, Fol:1.2, For, Pl, Va-Vd:0, Ma, Mi, Mj

*ToMV :*Tomato mosaic virus*, Fol: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, For: *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, Pl: *Corky root rot*, Va: *Verticillium albo-atrum*, Vd: *Verticillium dahliae*, Ma: *Meloidogyne arenaria*, Mi: *Meloidogyne incognita*, Mj: *Meloidogyne javanica*, Ff A-E: *Fulvia fulva group*, M: *Nematodos*, Pst: *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*



Şekil 3.1. *Verticillium dahliae*'nın aşılı domates bitkilerinde başlangıçta meydana getirdiği tipik V şeklindeki yaprak sararma ve yanıklık belirtileri



Şekil 3.2. *Verticillium dahliae*'nin aşılı domates bitkilerinde alt yapraklardan başlayarak meydana getirdiği belirtilerinin ilerlemiş hali



Şekil 3.3. *Verticillium dahliae*'nin aşılı domateslerde enfeksiyonu sonucu bitki iletim demetlerinde görülen kahverengi renk değişimi

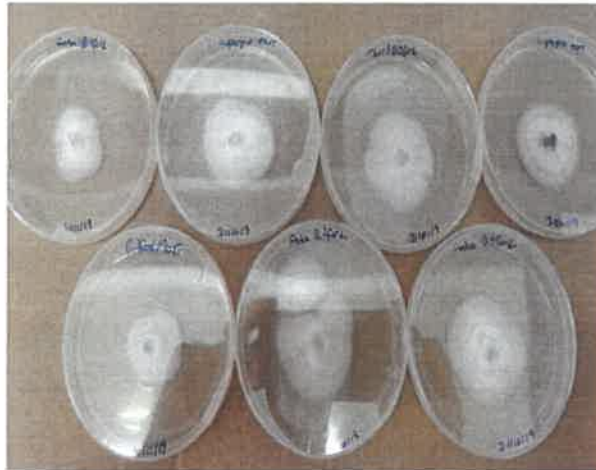
3.2. *Verticillium dahliae*'nin izolasyonu

Hastalık belirtisi gösteren aşılı domates bitkilerinden *Verticillium dahliae*'nin saf kültürlerini elde etmek için enfekteli dal ve gövdelerden alınan 1-1.5 cm uzunluğundaki parçalar hastalık belirtisi gösteren ve göstermeyen dokuların sınırından steril bistüri yardımıyla kesilerek alınan parçaların yüzey sterilizasyonu yapmak için önce 45 saniye %70 etanol ve daha sonra 2 dakika %0.5 sodyum hipoklorit solüsyonu içine konulup çıkarılarak yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Daha sonra sterilize edilen parçalar steril bir su içinde durulandıktan sonra steril bir kâğıt havlu üzerinde kurutulmuştur. Kurutulan parçalar tekrar steril bir bistüri yardımıyla 3-4 mm'lik parçalar halinde kesilmiştir.

Kesilen parçalar daha önce otoklav'da 120 °C sıcaklıkta sterilize edilmiş ve bakteri gelişmesini engellemek için ampicilin antibiyotiği ilave edilmiş ve Petri kaplarına dökülmüş Patates Dekstroz Agar besi ortamına, her Petriye 3-4 parça gelecek şekilde ekim gerçekleştirilmiştir. Daha sonra ekimi yapılan Petrilerde fungusun gelişimi için Petriler 20-24°C 7-10 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonda gelişen fungusun misel kolonilerinin uç kısımlarından kare şeklinde steril bistüri yardımıyla hif parçaları alınmış ve yeniden PDA ortamına ekim yapılmıştır. Ekilen hif parçaları Petrilerde PDA ortamında 7-10 gün tekrar büyütülerek yeni saf kültürler elde edilmiştir. Elde edilen yeni saf kültürlerden tek spor izolatları elde edilmiş ve gliserol içerisinde tüplerde muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.4. Mikoloji laboratuvarında *Verticillium dahliae*'nin izolasyonu



Şekil 3. 5. Hastalıklı aşılı domates çeşitlerinin dal ve gövdelerden alınan parçalardan *Verticillium dahliae*'nin PDA ortamında saf kültürlerin gelişimi

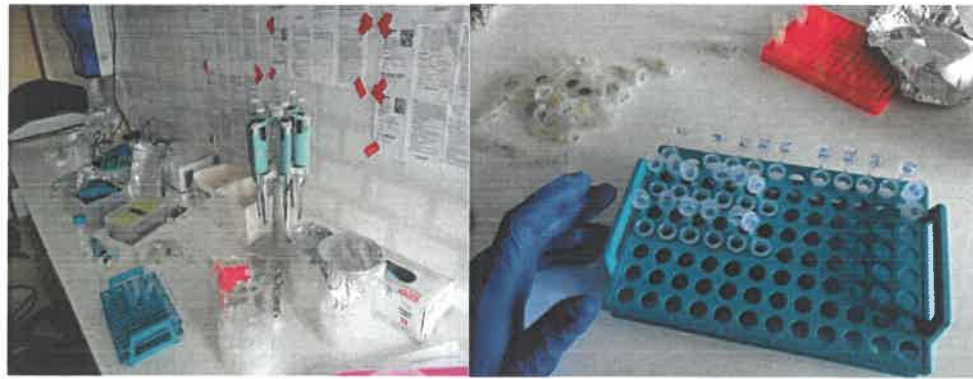


Şekil 3.6. *Verticillium dahliae*'nın PDA ortamında gelişimi

3.3. *Verticillium dahliae* DNA izolasyonu

DNA izolasyonu için *V. dahliae*'nin PDA ortamında geliştirilen tek spor izolatlarının uç kısımlarından kare şeklinde steril büstiri ile kesilen parçalar üzeri sellofon zar ile kaplı PDA ortamına ekilmiştir. 10-15 gün içerisinde sellofonlu PDA üzerinde gelişen fungus miselleri büstiri yardımıyla sıyrılarak 1.5 ml'lik steril Epondorf tüpleri içerisine konmuştur. Bu tüpler DNA izolasyonu yapıncaya kadar -18°C 'de buzdolabında saklanmıştır. Tüplerdeki misel örneklerinden DNA ekstraksiyonu için CTAB cetyl trimethyl ammonium bromide) metodu veya DNeasy Plant Mini Kiti (Qiagen Inc., Valencia, CA). kullanılarak aşağıda belirtildiği şekilde yapılmıştır. CTAB metodu kullanarak DNA ekstraksiyonu için Doyle ve Doyle (1987) tarafından rapor edilmiş olan metot kullanılmıştır. Bu metoda göre 200 ml CTAB ve 300 mikrolitre β -merkaptolanol olacak şekilde solüsyonu hazırlanmış ve steril Epondorf tüplerin içerisinde bulunan ve yaklaşık olarak 100 mg taze misel üzerine 150 makrolitre hazırlanan solüsyon eklenerek pestle çubuk yardımıyla iyice ezilmiştir. Pestle yardımıyla ezilmiş olan taze misel dokularının üzerine yine 300 mikrolitre daha solüsyon eklenip biraz daha ezildikten sonra 2 saat 65°C 'de inkübasyona tabii tutulmuştur. Sıcaklığın düşmesi için 1.5-2 saat beklenmiş ve daha sonra 450 mikro litre 24:1 oranında kloroform:isoamilalkol eklenip tüpler yavaş bir şekilde ters düz edilmiştir. Bu işlemin ardından tüpler 20 dakika 14000 rpm santrifüj tabii tutulmuştur. Santrifüj den sonra oluşan orta faza pipet ucu değiştirilmeden üst faz dikkatlice alınmış ve alınan üst faz yeni bir Epondorf tüpüne konmuş ve 300 mikro litre 24:1 oranında kloroform:isoamilalkol eklenip epondorf tüpleri ters düz edilmiş ardından 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra oluşan üst faz tekrar yeni bir tüpe alınmıştır. Yeni tüplere alınan üst faz kadar aynı oranda (1:1) isopropanol eklenmiş ve bir gece -20°C 'de bekletilmiş ve -20°C 'de bir gece bekletilip alınan örnekler 14000 rpm'de 20 dakika soğutmalı santrifüje tabii tutulmuştur.

Yapılan santrifüj işleminden sonra pelete zarar vermeden süpernatant yavaş bir şekilde boşaltılmıştır. Daha sonra DNA pelletinin üzerine 500 makrolitre %70'lik soğuk etanol konmuş ve 10 dakika soğutmalı santrifüje tabi tutulmuştur. Yapılan santrifüj işleminden sonara üst faz dikkatli bir şekilde dökülerek 500 makrolitre soğuk etanol eklenmiş ve tekrar 10 dakika soğutmalı santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Soğutmalı santrifüj yapıldıktan sonra tüplerdeki üst faz dökülmüş ve DNA pelleti içeren Epondorf tüpleri kurumaya bırakılmıştır. Kurumaya bırakılan tüpler iyice kuruduktan sonra tüplere 100 mikrolitre steril saf su eklenerek pellet suya geçinceye kadar oda sıcaklığında 2-4 saat beklenmiş, daha sonra izole edilen DNA'lar herhangi bir işleme tabi tutulana kadar -20°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.7. Laboratuvarında DNA izolasyon çalışmaları

3.4. Polimerase Chain Reaction (PCR) ile DNA Çoğaltılması

Çizelge 3.3.Çalışmada kullanılan markör ve pirimerler

Marker	Primerler 5'→3'	Kaynak
DB19	CGGTGACATAATACTGAGAG	(Carder vd. 1994)
DB22	GACGATGCGGATTGAACGAA	
VdAve1F	AAGGGGTCTTGCTAGGATGG	(Jonge vd. 2012)
VdAve1R	TGAAACACTTGTCCTCTTGCT	
VdR2F	ACTTAACGAAAGCATGCGC	(Short vd. 2014)
VdR2R	CTTGACTTGCCGGCTCC	
VDF	CATGTTGCTCTGTTGACTGG	(Perez-Artes vd. 2000)
VDR	GACACGGTATCTTTGCTGAA	
VNDF	CAGGGGATACTGGTACGAGACG	

Çizelge 3.3'ün devamı

VNDR	ATGAGTATTGCCGATAAGAACA	(Perez-Artes vd. 2000)
Espdef01	TGAGACTCGGCTGCCACAC	(Mercado-Blanco vd. 2003)
DB19	CGGTGACATAATACTGAGAG	
INTND3R	AAATAGCCGAGGCCACGCATAGCA	(Collado-Romero vd. 2009)
INTND2F	CTCTTCGTACATGGCCATAGATGTGC	
INTND2R	CAATGACAATGTCCTGGGTGTGCCA	(Mercado-Blanco vd. 2001)
INTND2F	CTCTTCGTACATGGCCATAGATGTGC	
MCR2B	CTCCTTGGGGCCAGCGTGTA	(Collado-Romero vd. 2009)
INTND2F	CTCTTCGTACATGGCCATAGATGTGC	

Çalışmada elde edilen tüm *V. dahliae* izolatları dokuz çift pirimer kullanılarak karakterize edilmiştir. Elde edilen izolatların *V. dahliae* türü ait olduğunu belirlemek için daha önceki çalışmalarda belirtilen *V. dahliae*' ya has genomik bölgenin çoğaltılmasında kullanılan DB19ve DB22 pirimerleri kullanılmıştır (Carder vd 1994, Qing vd 2006 ve 2008). PCR karışımı buffer (10X) 1,5 µl, MgCl₂(25 mM) 1.2 µl, dNTP (25 mM) 0.12 µl, İleri (forward) primer (10 µM) 1 µl, geri (reverse) primer (10 µM) 1 µl, Taq DNA polimeraz (5U/µl) 0.15 µl, genomik DNA (100 ng/µl) 1 µl, ddH₂O 9.03 µl ile toplamda 15 µl den oluşturulmuştur. PCR protokolü ise 95 °C, 3 d, 1 döngü olarak başlangıç aşamasının ardından 35 döngü de 94 °C 1 d, 54 °C 1d ve 72 °C 1dk koşulları sağlanarak 1 döngü 72 °C 6 d ile sonlandırılmıştır.

Elde edilen *V. dahliae* izolatlarının ırklarının belirlenmesi için ırk1'e özgü VdAve1F/ VdAve1R (Jonge vd. 2012) primerleri ırk 2 için ise VdR2F/ VdR2R (Short vd. 2014) pirimerleri kullanılmıştır. PCR karışımı buffer (10X) 1.5 µl, MgCl₂(25mM) 1.2 µl, dNTP (25 mM) 0.12 µl, İleri (forward) primer (10 µM) 1 µl, geri (reverse) primer (10 µM) 1 µl, Taq DNA polimeraz(5U/µl) 0.15 µl, genomik DNA (100 ng/µl) 1 µl, ddH₂O 6.03 µl ile toplamda 15 µl den oluşturulmuştur. PCR protokolü ise daha önceki DB19/DB22 primerleri kullanılarak yapılan protokol kurallarına uyulmuş farklı olarak başlangıç aşamasının ardından 35 döngüde 94 °C 1 dk sonra VdAve1F/ VdAve1R primer çiftleri için 62°C 1dk, VdR2F/ VdR2R primer çifti için 64 °C 1d sıcaklıkları uygulanmış daha sonra her iki ırk için 72 °C 1d koşulları sağlanarak 1 döngü 72 °C 6 d ile sonlandırılmıştır.

Çalışmada *V. dahliae* izolatlarının patotiplerini belirlemek için yaprak dökken (D) VDF/VDR ve yaprak dökmeyen (ND) için VNDF/VNDR (Perez-Artes vd. 2000) primerleri kullanılmıştır.

PCR içeriği ise buffer (10X) 2.5 µl, MgCl₂(25mM) 2 µl, dNTP (25 mM) 0.2 µl, İleri (forward) primer (10 µM) 1 µl, geri (reverse) primer (10 µM) 1 µl, Taq DNA polimeraz (5U/µl) 0.15 µl, genomik DNA (100 ng/µl) 1 µl, ddH₂O 7.15 µl ile toplamda 15 µl olarak hazırlanmıştır.

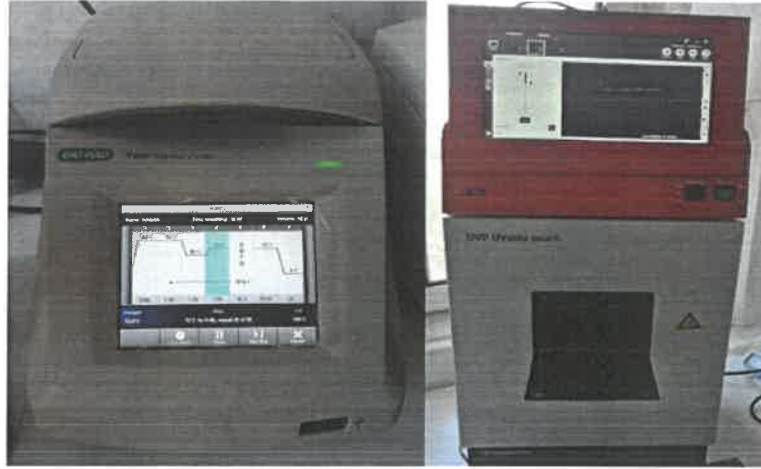
PCR protokolü ise 94 °C, 5 d, 1 döngü olarak başlangıç aşamasının ardından 35 döngü de 94 °C 1 d, ve ardından VDF/VDR piriimerleri için 61 °C 1 d, VNDF/VNDR pirimer çifti için 58 °C 1 d, sıcaklıkları uygulanmış daha sonra her iki patotip için 72 °C 1 d koşulları sağlanarak 1 döngü 72 °C 10 d ile sonlandırılmıştır. Patotipler belirlemek için kullanılan VDF/VDR pirimer çifti 548 bazlık PCR ürünü verirken, VNDF/VNDR ise 1410 bazlık PCR ürünü vermektedir.

Çalışmada *V. dahliae* izolatlarının vejetatif uyum guruplarını belirlemek için ise dört farklı pirimer çifti DB19/ Espdef01 (Mercado-Blanco vd. 2003), INTND2F/ INTND3R (Collado-Romero vd. 2009), INTND2F/ INTND2R (Mercado-Blanco vd. 2001), INTND2F/ MCR2B (Collado-Romero vd. 2009) kullanılmıştır. PCR içerikleri ise buffer (10X) 2.5 µl, MgCl₂(25mM) 2 µl, dNTP (25 mM) 0.2 µl, İleri (forward) primer (10 µM) 1 µl, geri (reverse) primer (10 µM) 1 µl, Taq DNA polimeraz(5U/µl) 0.15 µl, genomik DNA (100 ng/µl) 1 µl, ddH₂O 7.15 µl ile toplamda 15 µl olarak hazırlanmıştır.

PCR protokolleri ise 94 °C, 5 d, 1 döngü olarak başlangıç aşamasının ardından 35 döngü de 94 °C 1 d, 60 °C 1d ve 72 °C 1 d koşulları sağlanarak 1 döngü 72 °C 10 d ile sonlandırılmıştır.

DB19/ Espdef01 pirimer çiftleri VCG1A, VCG1B ve VCG2B izolatlarına özgü amplifiye edilmiş 334 bazlık PCR ürünü vermekte, INTND2F/ INTND3R pirimer çiftleri VCG2A, VCG4B ve VCG2B izolatlarına özgü spesifik amplifiye edilmiş 688 bazlık PCR ürünü vermekte, INTND2F/ INTND2R pirimer çiftleri ise VCG2A, VCG2B ve VCG4B izolatlarına özgü amplifiye edilmiş 824 bazlık PCR ürünü vermekte ve INTND2F/ MCR2B pirimerleri ise VCG2B izolatlarına özgü spesifik amplifiye edilmiş 964 bazlık PCR ürünü vermektedir.

PCR testi yapılan izolatların elde edilen PCR ürünlerini görüntüleyebilmek için jel elektroforezi uygulaması yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri % 1,5., Agarose jel üzerinde 80 voltta 1 saat yürütülmüştür. Agarose jel %1 TAE buffer (100 mM Tris, 12.5 mM sodium acetate ve 1 mM EDTA, PH: 8.0) ile hazırlanmış ve Agarose jel katılmasından hemen önce içine ethidium bromide boyası eklenmiştir. PCR ürünlerinin büyüklüklerini tespit edebilmek için 1 kb DNA Ladder kullanılarak her bir jel yürütmesi yapılmıştır. Elektroforezde yapılan jel yürütme işleminden sonra jeller ultraviole ışık altında jel görüntüleme cihazında görüntülenerek kayıt altına alınmıştır.



Şekil 3. 8. PCR analizlerinin yapıldığı PCR cihazı ve Jel görüntüleme cihazına ait görüntüler

3.5. Vejetatif Uyum Guruplarının Karakterizasyonu

Antalya ili Elmalı ilçesinde örtü altı domates üretimi yapılan alanlardan elde edilen *V. dahliae* izolatlarının vejetatif uyum gurupları daha önceden Zong vd (2019) tarafından yayınlanan yayında olduğu gibi belirlenmiştir. VCG belirlemek amacıyla kullanılan pirimerler ile PCR testi yapıldıktan sonra Jel görüntüleme cihazında elde edilen 334 bp ve 548 bp görüntü alınan izolatlar VCG1A izolatları, jel görüntüleme hem 688bp hem de 824 bp görüntü veren izolatlar VCG2A veya VCG4B izolatları, jel görüntüleme 688 bp, 824 bp ve 964 bp görüntü veren izolatlar VCG2B, 824 bp görüntü veren izolatlar ise VCG6 olarak belirlenmiştir.

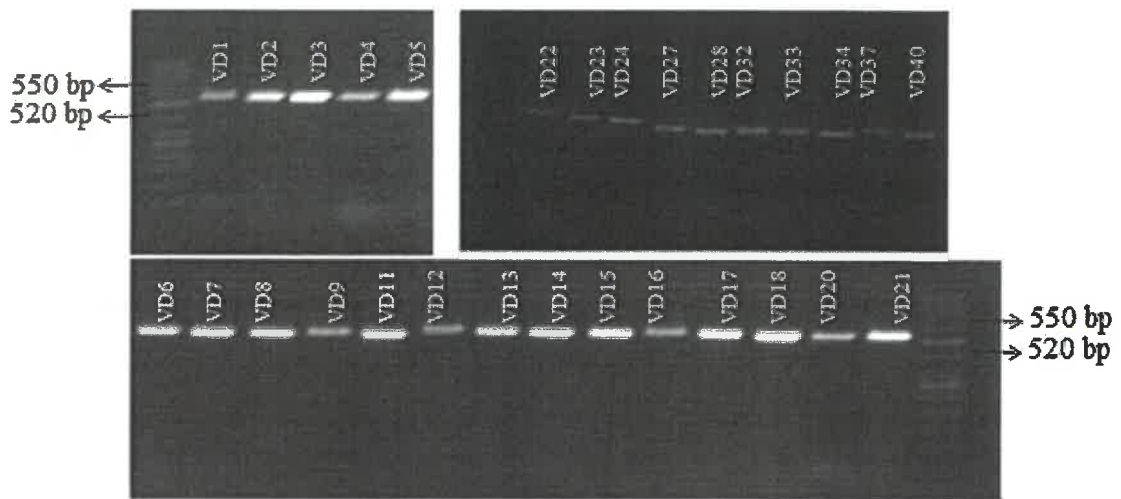
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

Çalışma kapsamında 2019-2020 yılları arasında Antalya ili Elmalı ilçesinde örtü altı aşılı domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda görülen *V. dahliae*'nin toplamda 40 farklı seradan farklı anaç ve kalem çeşitleri seçilerek toplamda 40 adet izolat toplanmış ve izolasyonda kullanılmıştır. Yapılan izolasyon çalışmalarında 11 izolattan *V. dahliae* izole edilememiş ve çalışmaya geriye kalan 29 izolat ile devam edilmiştir. Çalışmada Arazi- Stil F1, Arazi-Torry F1, Beauford- Alberty F1, Beauford-Ancha F1, Beauford-Torry F1, Superpro- Torry F1, Enpower- Torry F1, Armstrong- Bigmec F1, Armstrong-Stil F1, Armstrong- Alberty F1, Kingkong-Torry olmak üzere 6 farklı anaç ve 6 farklı kalem kombinasyonunda *V. dahliae* hastalığı tespit edilmiştir. Çalışmada 29 farklı seradan toplanarak elde edilen izolatların moleküler tespitinin yapılabilmesi için PDA ortamında geliştirilen *V. dahliae* tek spor izolatları'nın laboratuvarında CTAB metodu kullanarak DNA ekstraksiyonu yapılmış ve izolatlar PCR testine tabi tutulmuştur.

4.1.1. *V. dahliae*'ya has genomik bölgenin çoğaltılması

Çalışma kapsamında Antalya ili elmalı ilçesinde 29 farklı seradan elde edilen 29 izolattın *V. dahliae*'ya has genomik bölgenin çoğaltılması için DB19/DB22 primer çifti kullanılmıştır. Şekil 4.1 de görüldüğü gibi 29 izolattın PCR çoğaltmalarında 520 ila 550 baz arasında ürün vermiştir. Bu sonuçlar Elmalı izolatlarının *V. dahliae* olduğunu teyit etmiştir. Bununla birlikte PCR bandlarına bakarak bu izolatların birbirinde ayırte edilmesi mümkün olmamıştır.



Şekil 4.1. DB19/DB22 primer çifti kullanılarak *V.dahliae*'ye has genomik bölgenin çoğaltılması. *V. dahliae* elmalı izolatları (VD1-VD40). 1kb DNA ladder markörü çoğaltmalarda kullanılmıştır

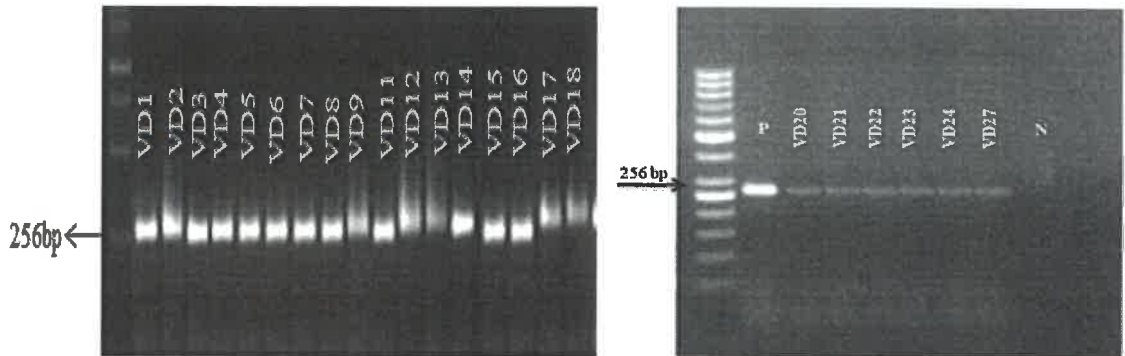
4.1.2. *V. dahliae*'nin Irk1 ve Irk2' ye özgü genomik bölgenin çoğaltılması

Çalışma kapsamında Antalya ili elmalı ilçesinde örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan 29 farklı seradan elde edilen 29 izolatu Irk' larının belirlenebilmesi için ırklara özgü primer çiftleri kullanılmıştır.



Şekil 4.2. *V. dahliae*'nin Irk 1'ine özgü VdAve1F/ VdAve1R primer çifti ile çoğaltılması. *V. dahliae* elmalı izolatlari (VD1-VD40). P: Pozitif kontrol. N: Negatif kontrol. 1kb DNA ladder markörü çoğaltmalarda kullanılmıştır

Çalışmada *V. dahliae*'nin Irk 1'inin belirlenebilmesi için Irk 1'e özgü VdAve1F/ VdAve1R primer çifti kullanılarak PCR testi yapılmıştır. Şekil 4.2' de görüldüğü gibi bu çoğaltmalarda *V. dahliae* elmalı izolatlariında hiçbir band elde edilmiştir. Bu sonuçlar elmalı izolatlariının *V. dahliae* irk1'ine ait olmadığını göstermiştir. Japonyodan getirilen ve pozitif kontrol olarak kullanılan TK23 kodlu irk1 izolatu ise pozitif kontrol olarak kullanılmış ve 900 bazlık PCR ürünü vermiştir.

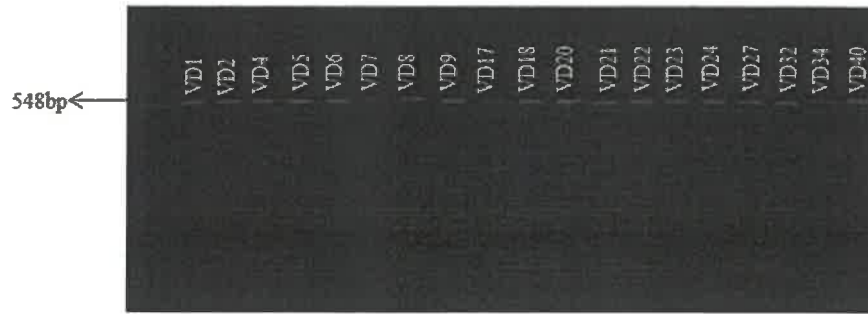


Şekil 4.3. *V. dahliae*'nin Irk2'ine özgü VdR2F/ VdR2R primer çifti ile çoğaltılması. *V.dahliae* elmalı izolatlari (VD1-VD40). P: Pozitif kontrol. N: Negatif kontrol. 1kb DNA ladder markörü çoğaltmalarda kullanılmıştır

Çalışmada kapsamında *V. dahliae*'nin Irk 2 izolatlarının belirlenebilmesi için Irk 2'ye özgü VdR2F/VdR2R pirimer çifti kullanılarak PCR testi yapılmıştır. Japonyadan getirilen TO022 kodlu izolat pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Şekil 4.3 de görüldüğü gibi Elmalı ilçesinden toplanan 29 izolattan 23'ü PCR çoğaltmalarında istikrarlı bir şekilde 256 bazlık PCR ürün vermiştir. Bu sonuçlar 23 izolatın *V.dahliae*'ye ait olduğunu göstermiştir.

4.1.3. *V. dahliae*'nin patotiplerine özgü genomik bölgenin çoğaltılması

Yapılan çalışma kapsamında Antalya ili elmalı ilçesinde örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan 29 seradan elde edilen 29 izolatın patotiplerinin tespit edilebilmesi için patotiplere özgü pirimer çiftleri kullanılmıştır.



Şekil 4.4. Elmalı ilçesi izolatlarının *V. dahliae*'nin yaprak dökken (D) patotipe özgü primer çifti VDF/VDR kullanılarak PCR çoğaltması. 1kb DNA ladder markörü çoğaltmalarda kullanılmıştır

Çalışmada *V. dahliae*'nin yaprak dökken (D) patotip izolatlarının belirlenebilmesi için 29 izolatta yaprak dökken patotipe özgü pirimer çifti VDF/VDR kullanılarak PCR testi yapılmış. Şekil 4.4 de görüldüğü gibi 19 izolatta 548 bazlık PCR ürünü jel görüntüleme cihazında başarılı bir şekilde görülmüştür.

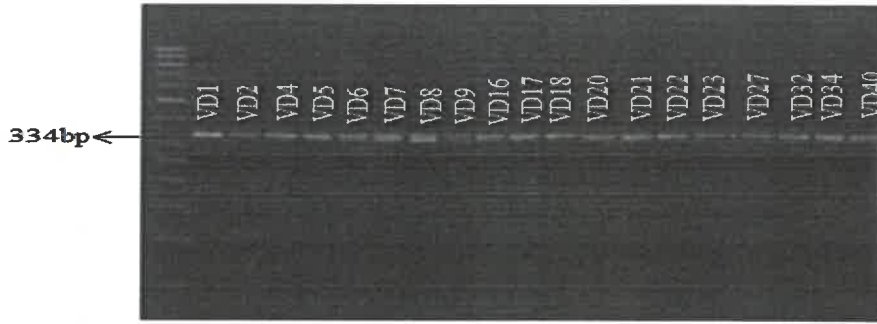


Şekil 4.5. Elmalı ilçesi izolatlarının *V. dahliae*'nin yaprak dökme (ND) patotipe özgü primer çifti VNDF/VNDR kullanılarak PCR çoğaltması. 1kb DNA ladder markörü çoğaltmalarda kullanılmıştır

Çalışmada *V. dahliae*'nin yaprak dökme (ND) patotip izolatlarının belirlenebilmesi için elde edilen 29 izolat yaprak dökme patotipe özgü genomik bölgenin çoğaltılmasında kullanılan primer çifti VNDF/VNDR kullanılarak PCR testine tabi tutulmuş. Şekil 4.5 de görüldüğü gibi 10 izolatta patotipe özgü 1410 bazlık PCR ürünü jel görüntüleme cihazında başarılı bir şekilde görülmüştür.

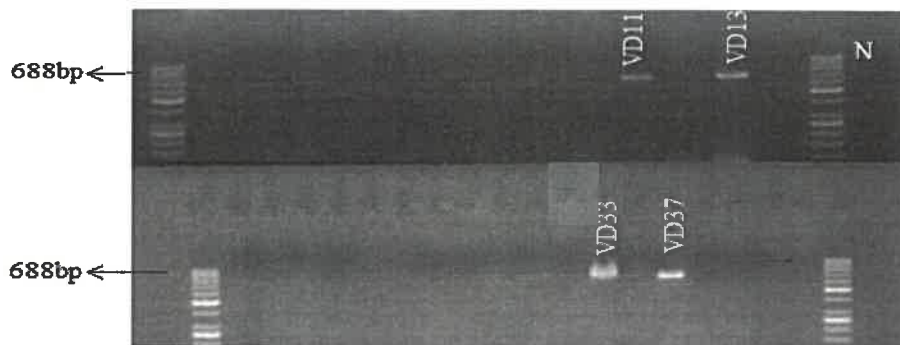
4.1.4. *V. dahliae*'nin vejetatif uyum gruplarının belirlenmesine özgü bölgenin çoğaltılması

Çalışmada Antalya ili elmalı ilçesinde örtü altı aşılı domates yetiştiriciliği yapılan alanlardan elde edilen *V. dahliae*'nin 29 izolatının vejetatif uyum gruplarının belirlenmesi için DB19/Espdef01, INTND2F/INTND3R, INTND2F/INTND2R, INTND2F/MCR2B primer çiftleri kullanılarak PCR testine tabi tutulmuştur.



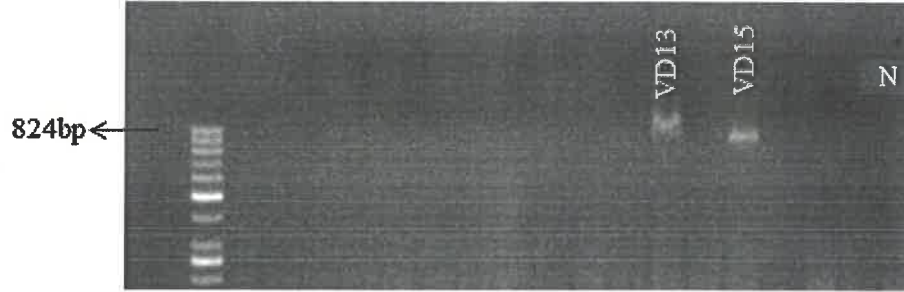
Şekil 4.6. *V. dahliae* izolatlarının DB19/ Espdef01 primer çiftleri kullanılarak vejetatif uyum gruplarının belirlenmesi. 1kb DNA ladder markörü çoğaltmalarda kullanılmıştır

Elde edilen 29 *V. dahliae* izolatlarının vejetatif uyum gruplarının belirlenmesinde ilk olarak DB19/Espdef01 primer çiftleri kullanılmış ve şekil 4.6 da görüldüğü gibi 19 izolatta 334 bazlık PCR ürünü jel görüntüleme cihazında tutarlı bir şekilde elde edilmiştir.



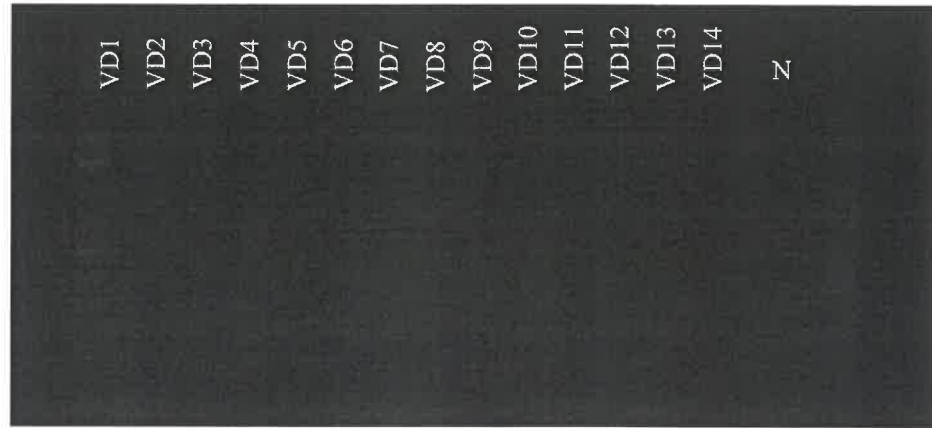
Şekil 4.7. *V. dahliae* izolatlarının INTND2F/INTND3R primer çiftleri kullanılarak vejetatif uyum gruplarının belirlenmesi. 1kb DNA ladder markörü çoğaltmalarda kullanılmıştır

Elde edilen 29 *V. dahliae* izolatının vejetatif uyum guruplarının belirlenmesinde INTND2F/INTND3R pirimer çiftleri kullanılmış ve şekil 4.7 de görüldüğü gibi 4 *V. dahliae* izolatın' da 688 bazlık PCR ürünü jel görüntüleme cihazında başarılı bir şekilde elde edilmiştir.



Şekil 4.8. *V. dahliae* izolatlarının INTND2F/INTND2R primer çiftleri kullanılarak vejetatif uyum guruplarının belirlenmesi. N: Negatif kontrol. 1kb DNA ladder markörü çoğaltmalarda kullanılmıştır

Elde edilen 29 *V. dahliae* izolatının vejetatif uyum guruplarını belirlemek için INTND2F/INTND2R pirimerleri kullanılarak yapılan PCR testlerinde Şekil 4.8' de görüldüğü gibi 2 izolatta 824 bazlık PCR ürünü elde edilmiştir.



Şekil 4.9. *V. dahliae* izolatlarının INTND2F/MCR2B primer çiftleri kullanılarak vejetatif uyum guruplarının belirlenmesi. N: Negatif kontrol 1kb DNA ladder markörü çoğaltmalarda kullanılmıştır

Elde edilen 29 *V. dahliae* izolatının vejetatif uyum guruplarını belirlemek için bu kez INTND2F/MCR2B primerleri kullanılarak yapılan PCR testlerinde Şekil 4.9'da görüldüğü gibi hiçbir ürün elde edilememiştir. Hiçbir izolat beklenen 964 bazlık PCR ürününü vermemiştir.

Çizelge 4.1. Primerler ile PCR'da test edilen *V. dahliae* izolatlarının tablosu

İzolat	<i>V. dahliae</i>	Irk 1	Irk 2	D	ND	DB19/ Espdef 01	INTND2F/ INTND2R	INTND2F/ INTND3R	INTND2F/ MCRB	VCG
VD 1	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 2	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 3	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
VD 4	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 5	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 6	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 7	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 8	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 9	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 11	+	-	+	-	+	-	-	+	-	VCG2A, VCG2B veya VCG4B
VD 12	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
VD 13	+	-	+	-	+	-	+	+	-	VCG2A veya VCG4B
VD 14	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
VD 15	+	-	+	-	+	-	+	-	-	VCG6
VD 16	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 17	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 18	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 20	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 21	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 22	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 23	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 24	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
VD 27	+	-	+	+	-	+	-	-	-	VCG1A

Çizelge 4.1.'in devamı

VD 28	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
VD 32	+	-	-	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 33	+	-	-	-	+	-	-	+	-	VCG2A, VCG2B veya VCG4B
VD 34	+	-	-	+	-	+	-	-	-	VCG1A
VD 37	+	-	-	-	+	-	-	+	-	VCG2A, VCG2B veya VCG4B
VD 40	+	-	-	+	-	+	-	-	-	VCG1A

4.2.Tartışma

Yapmış olduğumuz çalışma ile Antalya ili Elmalı ilçesinde örtü altı aşılı domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda domates bitkilerinde son yıllarda ciddi verim ve ekonomik kayıplara sebep olan toprak kökenli *Verticillium* solgunluğu hastalığı etmeni *Verticillium dahliae* fungusunun ırkları, patotipleri ve vejetatif uyum gurupları elde edilen izolatların PCR testine tabi tutulmasıyla belirlenmiştir.

Carder vd. (1997) yaptıkları çalışmayla *V. dahliae* türüne has DB19 ve DB22 pirimerlerini geliştirmişlerdir. Yaptığımız çalışmada da elde edilen 29 izolat DB19 ve DB22 pirimerleri ile PCR testine tabi tutulmuş ve tüm izolatlarda kullanılan pirimerlere özgü jel görüntüleme cihazında PCR ürünü elde edilmiştir.

Hayes vd. (2007) yaptıkları çalışmada marul bitkilerinde görülen *V. dahliae* hastalığının ırklarına karşı sera testleri yapmışlardır. 16 çeşit üzerinde yapılan çalışmada 7 çeşit dışındaki diğer 9 çeşit ırk1'e duyarlı iken ırk 2 için yapılan sera testlerinde tüm çeşitler ırk 2'ye duyarlı bulunmuştur. Yaptığımız çalışmada da Elmalı'da domates yetiştiriciliğinde kullanılan anaçların (Arazi, Beauford, Superpro, Enpower, Armstrong, Kingkong) ırk1'e dirençli olduğu bilinmektedir. Elde ettiğimiz izolatlarda ırk1 için kullanılan primerler ile yapılan PCR testlerinde izolatların hiçbirinden jel görüntü cihazında görüntü alınamamış ve ırk 2 için kullanılan primerlerle yapılan PCR testinde ise çizelge 4.1'de belirtildiği gibi 29 izolattan 23 tanesinde jel'de görüntü alınarak Hayes ve arkadaşlarının marulda yaptıkları çalışmaya benzerlik göstererek ırk 2 baskın bulunmuştur.

Dane (2007) Ülkemizde Erzurum ilinde yatığı çalışmada patates yetiştiriciliği yapılan alanlarda görülen *V. dahliae* hastalığının vejetatif uyum guruplarını belirlemek için elde edilen 111 izolat üzerinde yaptığı çalışmada 77 izolatı VCG4A ve 34 izolat ise VCG2B olduğunu belirlemiştir. Yapılan bu çalışma Antalya ili Elmalı ilçesinde yatığımız çalışmayla farklılık göstermektedir. Erzurum'da yapılan çalışmada VCG4A yaygınlık gösterirken Elmalı'da yaptığımız çalışmada 29 izolattan 19 izolatın VCG1A olarak belirlenmesiyle baskın gurubun VCG1A olduğu tespit edilmiştir.

Korolev vd. (2009) İsrail'de domates bitkilerinde yaptıkları çalışmada *V. dahliae* ile enfekteli domateslerden elde edilen 76 adet *V. dahliae* izolatının ırklarını ve vejetatif uyum guruplarını belirlemişlerdir. Çalışmada 55 izolat VCG4B izolatı diğer gruplara göre daha yaygın görülürken ırkları belirlemek için iki domates çeşidi kullanılmış VCG2A ve VCG2B izolatları Ve geni taşımayan çeşitleri çok güçlü bir şekilde etkileyerek ırk1'e karşılık gelirken VCG4B izolatları ise her iki çeşidi de etkileyerek ırk 2 olarak tanımlanmıştır. Antalya ili Elmalı daki yapılan çalışmada çizelge 4.1'de belirtildiği gibi toplam 29 *V. dahliae* izolatından 23 izolat ırk 2 olarak PCR metodu ile belirlenmiş ve ırk 2 olarak tespit edilen izolatların 15 tanesi VCG1A, 1 tanesi VCG6 olarak tespit edilirken 2 izolatın ise VCG2A, VCG2B ve VCG4B olabileceği belirlenmiştir. Korolev ve vd (2009) yaptığı çalışmada VCG4B ve ırk2 yaygınlık

gösterirken Elmalıda yapılan çalışmada ise VCG1A ve ırk 2 yaygın olarak belirlenmiş olup iki çalışma arasındaki benzerlik ve farklılıklar ortaya konmuştur.

Derviş vd. (2010) 2003-2008 yılları arasında ülkemizde *V. dahliae*'nin önemi, patojen çeşitliliği ve zeytin çeşitlerinin duyarlılığı üzerinde yaptıkları PCR'a dayalı moleküler çalışmada VCG1A'nın Manisa, Aydın, Kahramanmaraş, İzmir, Muğla, Denizli, Gaziantep, Mardin ve Balıkesir de hastalık insidansı VCG2A ve VCG4B den daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Hatay, Osmaniye, Bursa da ise VCG2A ve VCG4B yaygın olarak bulunmuş ve bu illerde bu iki grubun hastalık insidansı daha yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışma sonucunda da çizelge 4.1'de belirtildiği gibi VCG1A daha yaygın olarak tespit edilmiş ve VCG1A'nın yaprak dökme (D) patotip, VCG2A ve VCG4B'nin ise yaprak dökmemeyen (ND) patotipe sahip olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonuçlarıyla bu tez çalışmasındaki sonuçlar karşılaştırıldığında her iki çalışma da VCG1A'nın yaygın olarak bulunması ve yaprak dökme patotip olarak belirlenmesi dolayısıyla her iki çalışma sonuçları birbiriyle örtüşmektedir.

Short vd. (2014) Yaptıkları çalışmada daha önceden tanımlanan *V. dahliae*'nin ırk1'ine özgü PCR da tanımlanan primeri'nin olmasına rağmen ırk2'ye özgü PCR'da tanımlanan primeri olmaması dolayısıyla her biri ırk1 ve ırk2 olan *V. dahliae* izolatlarının genom dizileri kullanılarak ırk2'ye özgü primer belirlenmişlerdir. Primerlerin belirleme aşamasında bilinen ırkın referans izolatları üzerinden primer çifti tasarlanmıştır. Bu primer çifti VdR2F/VdR2R olarak belirlenmiş olup bu primer çifti tüm ırk2 izolatlarında tutarlı bir şekilde 256 bp amplicon vermiştir. Antalya ili Elmalı ilçesinde yapılan bu çalışmada domates bitkilerinden elde edilen *V. dahliae* ırk2 izolatlarının belirlenmesinde de short ve arkadaşları tarafından tasarlanan VdR2F/VdR2R primerleri kullanılmış ve primerlere özgü 256 bazlık 23 izolatta PCR ürünü elde edilmiştir.

Rafei vd. (2018) İran'da yaptıkları çalışmada toplamda 78 adet *V. dahliae* izolatu elde etmişler ve elde edilen *V. dahliae* izolatlarının genetik çeşitliliğini tespit etmek için yapılan çalışmada klonal soyları için yapılan tek nükleotid polimorfizmi analizleri ve 10 mikro uydu lokusu genotiplerine dayalı analiz sonuçlarına göre 74 izolat VCG2B geriye kalan 4 izolat ise VCG4B olarak tespit edilmiştir. Elmalıda yapılan bu çalışmada ise VCG'ların belirlenmesinde VCG'lara özgü primerler kullanılarak PCR analizleri yapılmış ve çizelge 4.1'de gösterildiği gibi 29 izolattan 19 izolat VCG1A, 1 izolat VCG6, 4 izolat VCG2A, VCG2B veya VCG4B olabileceği tespit edilmiş ve geriye kalan 5 izolattan sonuç alınamamıştır. Her iki çalışmada da VCG'ların belirlenmesinde farklı yöntemler kullanılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Zong vd. (2019) Çin'de pamuk bitkisinde *V. dahliae* hastalığının ırklarını, patotiplerini ve vejetatif uyum gruplarını tespit etmek için 74 izolat üzerinde yaptıkları moleküler çalışmada 60 izolat yaprak dökme patotip, 70 izolat ırk2 ve vejetatif uyum

guruplarını belirlemek için yapılan testlerde ise VCG1A baskın gelmiştir. Yaptığımız çalışmada ise çizelge 4.1’de görüldüğü gibi 29 izolattan 19 tanesi yaprak dökken patotip, 23 tanesi ırk2 ve vejetatif uyum gurupların dan VCG1A baskın gelmiş ve Çin’deki yapılan çalışmayla benzerlik göstermektedir.

Dung vd. (2019) Oregon’daki nane yetiştiriciliği yapılan tarlalardan ve Amerika Birleşik Devletlerinin diğer nane üretimi yapılan bölgelerinden *V. dahliae* ile enfekteli nane bitkilerinden elde edilen izolatların ırkları belirlemek için daha önceden geliştirilmiş ırk1 (VdAv1F/VdAve1R) ve ırk2’ye (VdR2F/VdR2R) özgü primerler kullanılarak belirlenmiştir (Short ve vd 2014; Usami ve vd 2008). Yapılan çalışmaya benzer olarak bu tez çalışmasında da domates bitkilerinden elde edilen izolatlar aynı primerler kullanılarak PCR testi yapılmış ve ırk1 ve ırk2 tespit edilmiştir. Irkların belirlenmesinde yapılan her iki çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş ırk2 yaygın görülen ırk olarak belirlenmiştir. Dung ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada elde edilen izolatların çiftleşme tipleri ise daha önceden geliştirilmiş ve yayınlanmış olan mültipleks PCR analizi kullanılarak belirlenmiştir (Usami ve vd 2009). İzolatların VCG belirlenmesinde ise elde edilen izolatların nitrat kullanmayan mutantları oluşturulmuş (Weiland ve vd 2018; Joaguim ve Crowe 1990) tarafandan belirtildiği gibi VCG tesleri yapılmış ve izolatların %83’ü VCG2B olarak tespit edilirken yapılan çalışmadan farklı olarak bu tez çalışmasında VCG belirlenmesinde DB19/Espdef01(Mercado-Blanco et al. 2003), INTND2F/INTND3R (Collado-Romero et al.2009), INTND2F/INTND2R (Mercado-Blanco et al. 2001), INTND2F/MCR2B (Collado-Romero et al.2009) primer çiftleri ile PCR testi yapılarak belirlenmiş ve yaklaşık izolatların çizelge 4.1’de belirtildiği % 66’sı VCG1A olarak tespit edilerek her iki çalışmada da farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Tok vd. (2020) Ülkemizde 8 ilde yaptıkları çalışmada *V. dahliae* ile enfekteli bamyta bitkilerinden 44 adet izolat elde etmişler ve elde edilen izolatların vejetatif uyum gurupları ve patotipini tespit etmeyi amaçlamışlardır. Yapılan çalışma sonucunda VCG1A’nın yaprak dökken patotip olduğu VCG2B’nin kısmi yaprak dökken, VCG2A’nın ise yaprak dökmeyen patotip olduğu sonucuna varılmıştır. Çizelge 4.1’de belirtildiği gibi Antalya ili Elmalı ilçesinde yaptığımız bu çalışmada da VCG1A gurubuna bamyta bitkileri üzerinde yapılan çalışmaya uygun olarak VCG1A gurubuna giren izolatlar yaprak dökken patotipler olduğu VCG2A, VCG2B, VCG4B ve VCG6 uyum guruplarına giren izolatların ise yaprak dökmeyen izolatlar olduğu belirlenmiştir. Bamyta bitkileri üzerinde yapılan çalışmada VCG2B uyum gurubu yaprak dökmeyen patotip yaygınlık gösterirken yaptığımız çalışmada VCG1 uyum gurubu ve yaprak dökken patotipin yaygın olduğu tespit edilerek farklı sonuçlar elde edilmiştir.

6. SONUÇLAR

Domates bitkisi dünyada olduğu gibi ülkemizde de örtü altı yetiştiriciliği yapılan bitkiler içinde üretimi en çok yapılan çeşitler arasındadır. İnsan beslenmesinde de önemli bir yere sahip olan domates içerdiği B1, B6,A, C vitaminlerinin yüksek olmasının yanı sıra likopen içeriğinin de yüksek olması sebebiyle insan sağlığını tehlikeye atan hastalılara karşı koruyucu etki göstermektedir. Domates insan beslenmesinde ve gıda sanayisinde dondurulmuş konserve, salça, ketçap, turşu gibi çeşitli kullanım alanları vardır.

Örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda bitki hastalık etmenleri içerisinde bakteriler, virüsler ve funguslar önemli verim ve ekonomik kayıplara sebep olmuştur. Domates bitkilerini hastalandıran fungal hastalıklar içerisinde özellikle külleme, mildiyö, erken yaprak yanıklığı, yaprak küfü gibi hastalıkların yanı sıra toprak kökenli solgunluk hastalıkları içerisinde *Fusarium* ve *Verticillium* solgunluğu hastalıkları da yer almaktadır.

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemiz Antalya ili örtü altı yayla seracılığı yapılan elmalı ilçesi domates üretim alanlarında da son yıllarda toprak kökenli *Verticillium* solgunluğu hastalığı giderek önemini arttırmakta ve ciddi ekonomik ve verim kayıplarına sebep olmaktadır. Hastalık etmeninin toprak kaynaklı olması kimyasal mücadelenin hastalık etmenine karşı yeterli derecede etkili ve ekonomik olamaması diğer kültürel mücadele yöntemlerinin ise hastalığı kontrol altına almada yetersiz olması sebebiyle hastalık etmenine karşı mücadelede genelde dayanıklı anaçlar tercih edilmektedir.

Elmalı örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda hem verim artışını sağlayarak birim alandan daha fazla verim elde etmek hem de toprak kökenli patojenlere karşı aşılı domates çeşitleri tercih edilmektedir. Son yıllarda üreticilerden gelen şikayetler arazi gözlemlerimizde aşılı domates çeşitlerinde *V. dahliae*'nin yaygınlığının giderek artmakta ve ciddi kayıplara sebep olduğu görülmektedir. Yapılan bu tez çalışmasında da *V. dahliae* ırk1'e karşı dayanıklı olan anaçlarda da hastalığın görülmesi üzerine *V. dahliae* genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışma kapsamında Antalya ili elmalı ilçesinde örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan her seradan bir izolat alınarak çizelge 3.1'de görüldüğü gibi toplam da 40 izolat elde edilmiştir. Yapılan izolasyon çalışmalarında 11 izolattan *V. dahliae* elde edilememiş ve çalışmaya kalan 29 izolat ile devam edilmiştir. Yürütülen çalışmada çizelge 3.2'de özellikleri belirtilen Beaufort, arazi, Superpro, Armstrong, Enpower, Kinkong anaçlarından elde edilen 29 izolatın tümü *V. dahliae* olarak belirlenmiştir.

İzolatların ırklarını belirlemek için yapılan PCR testlerinde çizelge 4.1'de gösterildiği gibi 29 izolattan 23 tanesi ırk 2 olarak belirlenmiş olup bölgede ırk2'nin baskın olduğunu, vejetatif uyum gurupları ve patotipler için yapılan PCR testlerinde ise VCG1A ve yaprak dökken patotipin bölge de daha baskın olduğunu söylemek mümkündür.

Yapılan çalışma sonucunda bölgede yaygın olarak kullanılan Beaufort, Arazi, Superpro, Armstrong, Enpower, Kinkong anaçlarının *V. dahliae* ırk 2'ye karşı dayanıklı olmadığı ve bölgede ırk 2'nin daha baskın olduğu belirlenmiş olup hastalık ile mücadelede ırk 2'ye karşı gerekli mücadele stratejileri ve ıslah çalışmalarının geliştirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

- Anonim 1: <http://www.titizagrogrup.com.tr/beaufort.html> (Son erişim tarihi: 11.14.2020)
- Anonim 2: <http://www.syngenta.com.tr> (Son erişim tarihi: 11.14.2020)
- Anonim 3: <https://www.vilmorin.com.tr/a%C5%9F%C4%B1-anac%C4%B1/superprofl>(Son erişim tarihi: 11.14.2020)
- Anonim 4: <http://www.nunhems.com>(Son erişim tarihi: 11.14.2020)
- Anonim 5: <https://www.rijkszwaan.com.tr> (Son erişim tarihi: 11.14.2020)
- Anonim 6: <https://www.sorhocam.com/konu.asp?sid=135&verticillium-solgunlugu-hastaligi-verticillium-dahliae.html> (Son erişim tarihi: 10.23.2020)
- Anonim7:http://www.bitkisagligi.net/Domates_Verticillium_Hastalik_Etmenleri.htm(Son erişim tarihi: 10.23.2020)
- Anonim 8: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.06.16.154641v1.abstract>(Son erişim tarihi: 10.23.2020)
- Abak, K. 2011. Türkiye’de Domatesin Dünü, Bugünü ve Yarını http://www.turktob.org.tr/dergi/makaleler/dergi17/TTOB_Dergi17_WEB-8_13.pdf (Son erişim: 12.15.2020)
- Agrios, George N. 1997. Vascular wilts caused by *Ascomycetes* and imperfect fungi. *Plant Pathology* 4th edition pp 342-346.
- Agarwal, V.K., Ve Sinclair J.B., 1987. Principles of Seed Pathology. V., 1, CPC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- AGRIOS, G.N. 2005. *Plant Pathology*, 5th Edition, Elsevier Academic Press, Burlington, Mass.
- Biçiç, M., Kurt, G. 1998. Etiology, Gncidence and Prevalence of Cotton Wilt Disease and Strains of The Wilt Pathogen in Çukurova. World CottonResearch Conference, 6-12 September, Athens, Greece
- Bellahcene,M., Fortas, Z., Fernandez, D. and Nicole, M.(2005) Vegetative compatibility of *Verticillium dahlia* isolated from olive trees (*Olea europea* L.) in Algeria *African Journal of Biotechnology* Vol. 4 (9), pp. 963-967
- Bhat, R. G., Smith, R. F., Koike, S. T., Wu, B. M., and Subbarao, K. V. 2003. Characterization of *Verticillium dahliae* isolates and wilt epidemics of pepper. *Plant Dis.* 87:789-797
- Baroudy, F.,Putman, A.I.,Habib,W. Puri, K.D., Subbarao, K. V., Nigro, F.2019.Genetic Diversity of *Verticillium dahliae* Populations From Olive and Potato in Lebanon, *Plant Disease*, 103:656-667
- Carneros –García, A.B., -Ruiz – García, R. and Ruiz –Molinero, L. (2014). Genetic and Molecular Approach to *Verticillium dahliae* Infecting Sunflower. *HELIA*. 37(61): 205–214

- Carl A. Strausbaugh, Imad A. Eujayl & Frank N. Martin (2016) Pathogenicity, vegetative compatibility and genetic diversity of *Verticillium dahliae* isolates from sugar beet, *Canadian Journal of Plant Pathology*, 38:4, 492-505
- Collado-Romero, M. Berbegal, M. Jimenez-Diaz, R.M. Armengol, J. ve Mercado-Blanco, J. (2009) A PCR-based 'molecular tool box' for in planta differential detection of *Verticillium dahliae* vegetative compatibility groups infecting artichoke. *Plant Pathol* 58:515–526
- 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.
- 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
- Demir, H. ve Akgun, I.H., 2014. Domatesin sağlık açısından önemi ve besin değeri. *Hasad*, 353, 38-40
- Dung, J. K. S., Knaus, B. J., Fellows, H. S., Grünwald, N. J., & Vining, K. J. (2019). Genetic Diversity of *Verticillium dahliae* Isolates from Mint Detected with Genotyping by Sequencing. *Phytopathology*. doi:10.1094/phyto-12-18-0475-r
- Dane, E. 2007. Erzurum İlinde Patates (*Solanum tuberosum* L.) Bitkisinden İzole Edilen *Verticillium dahliae* Kleb.'nin Vejetatif Uyum Gururpları ve Patojeniteleri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 56 s.
- Dinler, H. 2007. Aydın İli'nde Pamuk Alanlarından Elde Edilen *Verticillium dahliae* Kleb. İzolatlarının Vejetatif Uyum Gruplarının (vcgS) Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, 60 s
- Dobinson, K. F., Harrington, M. A., Omer, M., and Rowe, R. C. 2000. Molecular characterization of vegetative compatibility group 4A and 4B isolates of *Verticillium dahliae* associated with potato early dying. *Plant Dis*. 84:1241-1245
- de Jonge R, van Esse HP, Maruthachalam K, et al, 2012. Tomato immune receptor Ve1 recognizes effector of multiple fungal pathogens uncovered by genome and RNA sequencing. *PNAS*, 109 (13): 5110–5115
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19:11-15
- Dervis, S., Mercado-Blanco, J., Erten, L. vd. 2010. Türkiye'de zeytinin *Verticillium solmasi*: ilgili zeytin çeşitlerinin hastalık önemi, patojen çeşitliliği ve duyarlılığı üzerine bir araştırma. *Eur J Plant Pathol* 127, 287–301
- El-Zik, K.M. 1985. Integrated Control of *Verticillium Wilt* of Cotton. *Plant Disease*, 1025-1032
- Erdoğan, O., Sezener, V., Özbek, N., Bozbek, T., Yavaş, İ., Ünay, A. 2006. The effects of *Verticillium Wilt* (*Verticillium dahliae* Kleb.) on cotton yield and fiber quality. *Asian Journal of Plant Science*, 5: 867-870.

- FAO, 2019. FAO' nun 2017 verileri Webpage:<http://www.fao.org/faostat/en/verileri#data/QC/visualize> (Son erişim tarihi 25. 12. 2020)
- Godoy, A., Palomo, G., Garcia, C. 1995. Performance of New Cotton Cultivars on *Verticillium dahliae* Kleb. Infested Soils at the Comarca Lagunera, Mexico, Proceedings Beltwide Cotton Conference, 498-500
- Gencer, O., Mert, M., Kurt, ğ. 2001. Bazı Pamuk hat ve çeşitlerinin solgunluk hastalığına (*V.dahliae* Kleb.) tepkisi ile bunların tarımsal ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. IV. Tarla Bitkileri Kongresi, 17-21 Eylül 2001, Tekirdağ, 193-197
- Göre, M.E. 2007. *Verticillium dahliae*'nin bitkisel uyumluluğu ve patojenitesi Türkiye'nin ege bölgesinden izole edilmiştir. *Phytoparasitica* 35, 222–231
- Genç, T. 2012. Erzurum ve Erzincan İllerinde Çilek Bitkilerinden İzole Edilen *Verticillium dahliae* Kleb.'nin Vejetatif Uyum Gurupları, Patojenitesi Ve Biyolojik Mücadelesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, 127 s.
- Hu, X.-P., Gurung, S., Short, D. P. G., Sandoya, G. V., Shang, W.-J., Hayes, R. J., Davis, R. M., and Subbarao, K. V. 2015. Nondefoliating and defoliating strains from cotton correlate with races 1 and 2 of *Verticillium dahliae*. *Plant Dis.* 99:1713-1720
- Hayes, R. J., Vallad, G. E., Qin, Q.-M., Grube, R. C., and Subbarao, K. V. 2007. Variation for resistance to *Verticillium wilt* in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Plant Dis.* 91:439-445.
- Isaac, I. 1967. Speciation in *Verticillium* *Annual Review of Phytopathology* s.201- 22
- Jimenez-Diaz, R. M., Olivares-Garcia, C., Landa, B. B., Jimenez-Gasco, M. M., and Navas-Cortes, 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.J
- Joaquim, TR and Crowe, RC. 1990. Reassessment of vegetative compatibility relationships among strains of *Verticillium dahliae* using nitrate-nonutilizing mutants. *Phytopathology* 80:1160-1166
- Karaca, D., A. Karcılıoğlu, and S. Ceylan. 1971. Wilt disease of cotton in the Ege Region of Turkey. IN. *Turkish Phytopath.* 1: 4-11.
- Karatoy, S. 2019. Tatlı Mısır İle Farklı Sırik Domates Tiplerinin Karışık Yetiştiriciliğinin Verim Ve Kalite Üzerine Etkileri. Yüksek lisans tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, 45 sayfa
- Kaya, Y., Al-Remi, F., Arvas, Y. E., ve Durmuş, M., 2018. Domates bitkisi ve in vitro mikro çoğaltımı (Tomato plant and its in vitro micropropagation). *Journal of Engineering Technology and Applied Sciences*, 3(1), 55-73.
- Karaca, İ. Saygılı, H., 1982. Batı Anadolu'nun bazı illerinde domates ve biberde görülen bakteriyel hastalıkların oranı, etmenleri ve konukçu çeşitlerinin duyarlılığı üzerine araştırmalar, 182-192. III. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 12-15 Ekim, Adana

- Karademir E., Karademir Ç., Ekinçi R., Bars A. ve Çelik İ. 2009. Solgunluk Hastalığı (*V. dahliae* Kleb.) Etmenine Karşı F5 Pamuk Hatlarının Reaksiyonlarının Belirlenmesi. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, 15-18 Temmuz 2009, Van, s179.
- Korolev, N., Katan, J., and Katan, T. 2000. Vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae* in Israel: Their distribution and association with pathogenicity. *Phytopathology* 90:529-536.
- Korolev, N., Katan, T. and Katan, J. 2009. Physiological Races and Vegetative Compatibility Groups Among *Verticillium Dahliae* Isolates From Tomato in Israel. *Acta Hortic.* 808, 57-64
- Moshirabadi, H., Janlou, M., Gajar, A. 2000. The Study of *Verticillium Wilt* In Preliminary Variety Trials and Common Variety Trials. The Interregional Cooperative Research Network on Cotton. A Joint Workshop and Meeting of the All Working Groups, 20-24 September, 99-100, Adana-TURKEY.
- Mercado-Blanco. J, Rodriguez-Jurado. D. and Perez-Artes E et al (2001) Detection of the nondefoliating pathotype of *Verticillium dahliae* in infected olive plants by nested PCR. *Plant Pathol* 50:609–619
- Mercado-Blanco. J., Rodriguez-Jurado. D., and Parrilla-Araujo S et al (2003) Simultaneous detection of the defoliating and nondefoliating *Verticillium dahliae* pathotypes in infected olive plants by duplex, nested polymerase chain reaction. *Plant Dis* 87:1487–1494
- Melouk, H.A. 1992. Methods for Research on Soil-Borne Phytopathogenic Fungi. (L.L.Singleton, J.D. Mihall, C.M. Rush eds. Aps St. Paul) *Verticillium*. 175 -177 p.
- Orman, Ş. Kaplan, M. Sönmez, S. Bozkurt, H. A. 2004. Effect Of Elemental Sulphur On Microelement Nutrition Of Cucumber Grown In A Calcareous Soil, Proceedings Of The International Soil Congress On Natural Resource Management For Sustainable Development, 7-10 Haziran, Erzurum, pp. 42-48
- Perez-Artes. E., Garcia-Pedrajas,MD., Bejarano-Alcazar vd. 2000. Differentiation of cotton-defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* by RAPD and specific PCR analyses. *Eur J Plant Pathol* 106:507–517
- Papaioannou, I.A., Ligoixakis, E.K., Vakalounakis, D.J. vd. 2013. Phytopathogenic, morphological, genetic and molecular characterization of a *Verticillium dahliae* population from Crete, Greece. *Eur J Plant Pathol* 136, 577–596
- Rafiei, V., Banihashemi, Z., Bautista-jalon, L.S., Jimenez-Gasco, M.D.J., Gillian Turgeon, B., and Milgroom, G.M. 2018. Population Genetics of *Verticillium dahliae* in Iran Based on Microsatellite and Single Nucleotide Polymorphism Markers. *Phytopathology*, 108:780-788
- Schnathorst, W.C., Cooper, J.R. 1975. Anomalies in Field and Greenhouse Reaction of Certain Cotton Cultivars in Fected with *Verticillium dahliae*. In Proc. Beltwide Cotton Prod. Conf., 6-8 January, New Orleans, National Cotton Council, Memphis, p. 148-149

- Sanei, S. J. and Waliyar, F. and Razavi, S. I. and Okhovvat, S. M. 2008. Vegetative compatibility, host range and pathogenicity of *Verticillium dahliae* isolates in Iran. *International Journal of Plant Production*, 2 (1). pp. 37-46
- Short, D. P. G., Gurung, S., Maruthachalam, K., Atallah, Z. K., and Subbarao, K. V. 2014. *Verticillium dahliae* race 2-specific PCR reveals a high frequency of race 2 strains in commercial spinach seed lots and delineates race structure. *Phytopathology* 104:779-785.
- Schnathorst, W. C., 1981. Life cycle and epidemiology of *Verticillium*. *Fungal wilt diseases of plants*, 82 p.
- Tok, F. M., Dervis, S., Yetisir, H. 2020. Vegetative Compatibility and Virulence Diversity of *Verticillium dahliae* from Okra (*Abelmoschus esculentus*) Plantations in Turkey and Evaluation of Okra Landraces for Resistance to *V. dahliae*. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 89(2), 303–314
- Usami, T., Momma, N., Kikuchi, S., Watanabe, H., Hayashi, A., Mizukawa, M., Yoshino, K., and Ohmori, Y. 2017. Race 2 of *Verticillium dahliae* infecting tomato in Japan can be split into two races with differential pathogenicity on resistant rootstocks. *Plant Pathology*, 66, 230–238
- Usami, T., Itoh, M., and Amemiya, Y. 2008. Mating type gene MAT1-2-1 is common among Japanese isolates of *Verticillium dahliae*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 73:133-137
- Usami, T., Itoh, M., and Amemiya, Y. 2009. Asexual fungus *Verticillium dahliae* is potentially heterothallic. *J. Gen. Plant Pathol.* 75:422-427
- Vural, H., Eşiyok D. ve Duman, İ., 2000, Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme), Ege Üniversitesi Basımevi, 440s, Bornova, İzmir.
- Wilhelm, S., Sagen, J.E., Tietz, H. 1974. Resistance to *Verticillium Wilt* in cotton: source, techniques of identification inheritance trends and resistance potential of Multiplene Cultivars. *Phytopathology*, 64: 924-931
- Weiland, J. E., Benedict, C., Zasada, I.A., Scagel, C. R., Beck, B.R., Davis, A., Graham, K., Peetz, A. Martin, R. R., Dung, J. K. S., Gaige, A. R., and Thiessen, L. 2018. Late-summer disease symptoms in Western Washington red raspberry fields associated with cooccurrence of *Phytophthora rubi*, *Verticillium dahliae*, and *Pratylenchus penetrans*, but not Raspberry bushy dwarf virus. *Plant Dis.* 102:938-947
- Zhang, W., Ren, Y., Zhang, H. vd. 2019. Genetic variations of prevailing *Verticillium dahliae* isolates from cotton in China. *J Plant Pathol* 101, 565–578

ÖZGEÇMİŞ

Hasan AKAR

hasanakar07akdeniz@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2018-2021	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 2013-2016	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Antalya