

TEMMUZ 2014

Yüksek Lisans - Biyoloji Bölümü

AYŞEGÜL YAŞAR

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKDENİZ VE EGE BÖLGESİ'NDE *PISTACIA*
TÜRLERİNDE *ALTERNARIA* YANIKLIK
HASTALIĞININ KARAKTERİZASYONU VE EŞLEŞME
TİPİ ANALİZLERİ

BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYŞEGÜL YAŞAR
TEMMUZ 2014

**Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde *Pistacia* Türlerinde *Alternaria*
Yanıklık Hastalığının Karakterizasyonu ve Eşleşme Tipi
Analizleri**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Canan CAN

Ayşegül YAŞAR

Temmuz 2014

© 2014 [AYŞEGÜL YAŞAR]

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
ANA BİLİM DALI

Tezin Adı: Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde *Pistacia* Türlerinde *Alternaria* Yanıklık Hastalığının Karakterizasyonu ve Eşleşme Tipi Analizleri

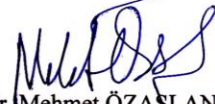
Öğrencinin Adı, Soyadı: Ayşegül YAŞAR

Tez Savunma Tarihi: 09.07.2014

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.


Fen Bilimleri Enstitüsü onayı
Doç. Dr. Metin BEDİR
FBE Müdürü

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

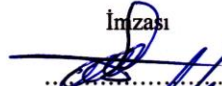
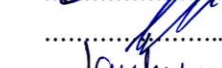
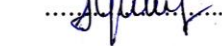

Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Canan CAN
Tez Danışmanı

Jüri Üyeleri (Ünvanı, ADI ve SOYADI)

1. Prof. Dr. Osman ERKMEN (Jüri Başkanı)
2. Prof. Dr. Canan CAN
3. Doç Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER

İmzası

.....

.....

.....

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

Ayşegül YAŞAR

ABSTRACT
CHARACTERIZATION AND MATING TYPE ANALYSES OF CAUSING
ALTERNARIA BLIGHT ON *PISTACIA* SPP GROWN IN THE
MEDITERRANEAN AND AEGEAN REGIONS

YAŞAR, Ayşegül

M.Sc. in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Canan CAN

July 2014, 80 pages

There are phytopathological factors that affect the yield and quality of wild *Pistacia* sp. and *Pistacia vera* L, which has a substantial proportion in our country's economy. In this study, reseach has been conducted to define with the intention of dealing with *Alternaria* spp. problem which has come out in the form of scald in fruits especially in recent years and caused to decrease in the quality of yield as well as drop of product.

It has been observed that the scald in fruits starts in May and June and continues in *Pistacia* sp. till September, which is the time of harvest. *Alternaria* spp. has heavily obtained from the isolation that is carried out from the leaves and fruit shell with symptoms of *Alternaria* blight (late and early). In the experiment of Patojenicity, 164 *Alternaria* spp. izolats have been inoculated with fruits of Ohadi and defined that they are virulence. The sequence analysis of mating type regions of *Alternaria* spp. isolates has been done and found out that the rates of *Mat1.1* and *Mat1.2* are close to each other.

There is no detailed study which has been carried on *Alternaria blight* in the types of *Pistacia* sp. in our country. This thesis study which deals with the factors of *Alternaria* blight for the first time will provide the basis for the studies that are planned to be carried out in the future.

Key Words: *Pictacia* spp., *Alternaria* spp., Characterization, Mating Type.

ÖZET

AKDENİZ VE EGE BÖLGESİ'NDE *PISTACIA* TÜRLERİNDE ALTERNARIA YANIKLIK HASTALIĞININ KARAKTERİZASYONU VE EŞLEŞME TİPİ ANALİZLERİ

YAŞAR, Ayşegül

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Canan CAN

Temmuz 2014, 80 sayfa

Ülkemiz ekonomisinde önemli bir paya sahip olan antepfıstığında (*Pistacia vera* L.) ve yabani *Pistacia* sp. türlerinde verim ve kalitesini etkileyen fitopatolojik etmenler bulunmaktadır. Bu çalışmada, özellikle son yıllarda meyvelerde kararma şeklinde meydana gelen ve verim kaybı ile beraber ürün kalitesinde azalmaya neden olan *Alternaria* spp. probleminin ortaya koyulması amacı ile çalışmalar yapılmıştır.

Meyvelerde kararmaların Mayıs-Haziran ayları itibarı ile başladığı ve *Pistacia* sp. hasat dönemi olan Eylül ayına kadar artan şekilde devam ettiği gözlemlenmiştir. *Alternaria* Yanıklık Hastalığı semptomları bulunduran meyve dış kabuklarından ve yapraklardan yapılan izolasyonlarda ağırlıklı olarak *Alternaria* spp. elde edilmiştir. Patojenisite denemelerinde 164 adet *Alternaria* spp. izolatu Ohadi çeşidinin meyvelerine inokule edilmiş ve virülens oldukları belirlenmiştir. *Alternaria* spp. izolatlarının eşleşme tipi bölgelerinin sekans analizleri yapılmış, Mat1.1 ve Mat1.2 oranları birbirine yakın bulunmuştur.

Pistacia sp. türlerinde *Alternaria* yanıklığı hastalığı üzerinde ülkemizde yapılmış detaylı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışması ile ilk kez ele alınan *Alternaria* yanıklığı hastalık etmenleri üzerinde bundan sonra yapılması planlanan çalışmalara temel teşkil edecektir.

Anahtar Kelimeler: *Pistacia* spp., *Alternaria* spp., Karakterizasyon, Eşleşme Tipi.

En kıymetli varlığım ailem ve rahmetli babaanneme...

TEŞEKKÜR

Akademik çalışmalarım ve eğitim sürecimde her türlü desteği sağlayan, özgür düşünme ve çalışma prensibini benimseten, bilgi ve deneyimleriyle çalışmalarına ışık tutan, üzerimde büyük emeği olan ve kendisiyle çalışmış olmaktan mutluluk duyduğum ve bu tezi başlammamda ve bitirmemdeki en önemli nedenim değerli danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Canan CAN'a,

Yükseklisans çalışmalarımı rahat bir şekilde sürdürebilmemde büyük etkisi olan, tüm olanakları sunan ve beni maddi olarak destekleyen 1120554 Nolu TUBİTAK Projesi'ne ve Proje Yürütücüsü Yrd. Doç. Dr. Hilal ÖZKILINÇ'a,

Çalışmalarımı rahatça yürütebildiğim Gaziantep Antepfıstığı Araştırma İstasyonu'na, Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne,

Maddi ve manevi desteğiyle her zaman yanımda olan kıymetli Hocam Arş. Gör. Dr. Feyza Nur KAFADAR'a, Fikir ve tecrübelerinden yararlandığım, tavsiyeleriyle her zaman beni doğruya yönlendiren, tezimi benimle birlikte sabırla okuyan bana vaktini ayıran değerli Hocam Arş. Gör. Derya İŞLER'e,

Çalışmalarımızda maddi ve manevi desteğinden dolayı Dr. Fatma KONUKOĞLU'na, bilgi ve tecrübelerini asla esirgemeyen, her daim sabırla yanımda olan Sayın Mehmet Ağah AKTAN'a, fikir ve tecrübeleriyle her zaman yardımcı olan, tez bulgularımın istatistik analizlerinin düzenlenmesi ve değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen, iyi bir bilim insanı olma yolunda yönlendiren ve desteklerinden dolayı her zaman minnettar olacağım ağabeyim Kamil SARPKAYA'ya,

Birlikte çalışmaktan zevk aldığım değerli arkadaşlarım Hatice POLATBİLEK, Nagihan ŞAHİN, Ayhan TURAN'a,

Tez yazım sürecimde nazımı çeken ve üniversite hayatımın bana kazandırmış olduğu en değerli hediyelerim Buğra Kağan SARPKAYA ve Ayşe KÜPELİKILINÇ'a

Maddi ve manevi desteklerinden güç aldığım, çalışmalarım sırasında her zaman yanımda olarak bana destek veren babam Hanifi YAŞAR, ağabeyim Ömür YAŞAR, kardeşim Mehmet Zeki YAŞAR'a, uzun ve meşakkatli tez çalışmalarım sırasında her zaman benim yanımda olan ve bu yoldan vazgeçmemem doğrultusunda fedakarca bana yön veren annem Zeynep YAŞAR'a, tez çalışmalarım sırasında ihmal ettiğim kız kardeşim Merve YAŞAR'a,

Tez çalışmam boyunca dualarını benden esirgemeyen rahmetli babaannem Zeynep YAŞAR'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum...

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT.....	vi
ÖZET.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
İÇİNDEKİLER	viii
TABLOLAR LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiv
SEMBOLLER ve KISALTMALAR LİSTESİ	xvi
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
1.1 <i>Pistacia</i> spp.'nin Kültür Tarihi	1
1.2 Sistematikteki Yeri.....	2
1.3 İnsan Beslenmesindeki Yeri ve Önemi	4
1.4 Türkiye'de <i>Pistacia</i> Türleri ve Yetiştiriciliği	5
1.5 Dünyada ve Türkiye'de Antep fıstığı Yetiştiriciliğinin Bugünkü Durumu....	8
1.6 <i>Pistacia</i> spp. Hastalıkları	10
1.7 <i>Pistacia</i> Türlerinde <i>Alternaria</i> Yanıklık Hastalığı	11
1.8 <i>Alternaria</i> spp.'de Eşleşme Tipi Genleri	15
BÖLÜM 2	17
KAYNAK ÖZETLERİ	17
2.1 Dünyada ve Ülkemizde <i>Pistacia</i> Türlerinin Üretimi ve Önemi	17
2.2 Dünya'da <i>Alternaria</i> Yanıklık Hastalığı Konusunda Yapılan Çalışmalar....	17
2.3 Antepfıstığı Hastalıkları	20
2.4 Antepfıstığında <i>Alternaria</i> Hastalıkları.....	21
BÖLÜM 3	26
MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1 Materyal	26
3.1.1 Fungus İzolatları.....	26
3.1.2 Fungus İzolasyonunda Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	26
3.2 Yöntem.....	27
3.2.1 Arazi çalışmaları	27
3.2.2 Meyve ve Yapraktan <i>Alternaria</i> spp. İzolasyonu	28
3.2.3 <i>Alternaria</i> spp. Tek Spor İzolasyonu	29
3.2.4 <i>Alternaria</i> spp. İzolatlarının Muhafazası	30
3.2.5 Patojenisite Çalışmaları.....	30
3.2.6 Koch' Postülatının Uygulanması.....	32

3.2.7 İstatistiki Analizler	32
3.2.8 <i>Alternaria</i> spp. Moleküler Analizleri	32
3.2.8.1 DNA İzolasyonu.....	32
3.2.8.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu Analizleri	33
3.2.8.3 PZR Protokolü.....	34
3.2.8.4 PZR Amplifikasyonu	34
3.2.8.5. Eşleşme Tipi (Mating Type) Analizleri	34
3.2.8.6 Agaroz Jel Elektroforezi	34
3.2.8.7 Bantların Görüntülenmesi	35
BÖLÜM 4	36
ARAŞTIRMA BULGULARI	36
4.1 Arazi Çalışmaları	36
4.2. <i>Alternaria</i> Yanıklık Hastalığı Etmeninin İzolasyonu	41
4.3 Fungal kültürlerde <i>Alternaria</i> spp.'nin Morfolojik ve Mikroskopik Teşhisi ...	41
4.4. Patojenisite Çalışmaları.....	44
4.5 <i>Alternaria</i> spp. İzolatlarının Eşleşme Tipi Analizleri.....	54
BÖLÜM 5	61
TARTIŞMA VE SONUÇ	61
KAYNAKLAR	71
EKLER.....	79
EK 1:	79
EK 2:	79
EK3:	79
EK 4:	80
EK 5:	80

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1 <i>Pistacia</i> spp. türlerinin Ege ve Akdeniz Bölgesi'ndeki Dağılımı.....	7
Tablo 1.2 Dünya'da Antepfıstığı Üretimi (Bin Ton)	10
Tablo 3.1 Çalışmada kullanılmış olan primerlerin dizileri ve bant büyüklükleri.....	40
Tablo 4.1 Ege ve Akdeniz Bölgeleri'nde çalışılan örnekler ve toplam izolat sayısı .	43
Tablo 4.2 Toplanan bitki örneği sayısının, <i>Alternaria</i> spp. izolatlarına oranı	44
Tablo 4.3 Patojenisitede kullanılan <i>Alternaria</i> spp. izolatları	53
Tablo 4.4 Moleküler analizlerde kullanılan izolatların eşleşme tipi dağılımı	65
Tablo 4.5 Çalışılan izolatların lokasyonlara göre eşleşme tiplerinin dağılımı	67
Tablo 4.6 Çalışılan izolatların toplandıkları döneme göre eşey tiplerinin dağılımı ..	68
Tablo 4.7 Çalışılan izolatların konukçularına göre eşleşme tiplerinin dağılımı.....	68

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 <i>Pistacia</i> türlerinin genel meyve görünümü.....	8
Şekil 1.2 Son 50 yılda (1961-2011) ülkemizin Antepfıstığı Üretimi	11
Şekil 1.3 Meyve ve yapraklarda <i>Alternaria</i> yanıklık lezyonları	16
Şekil 3.1 <i>Alternaria</i> yanıklık semptomu gösteren bitki kısımları.....	32
Şekil 3.2 Tek spordan geliştirilen <i>Alternaria</i> spp. koloni morfolojileri	34
Şekil 3.3 Yaprak ve Ohadi meyvesinde patojenisite çalışması.	36
Şekil 3.4 Patojenisite testindeki meyvelerin değerlendirilmesi	36
Şekil 3.5 DNA izolasyonu hazırlık aşaması	39
Şekil 4.1 <i>P. vera</i> 'da görülen <i>Alternaria</i> yanıklık semptom çeşitleri	45
Şekil 4.2 <i>Pistacia</i> sp.'de <i>Alternaria</i> yanıklık semptomları	46
Şekil 4.3 Hastalık semptomu gösteren <i>Pistacia</i> spp. kısımları.....	47
Şekil 4.4 Ege Bölgesi izolatlarından <i>Alternaria</i> yanıklığı gösteren yapraklar.....	48
Şekil 4.5 <i>Alternaria</i> spp. izolatlarının PDA ortamındaki koloni morfolojileri.....	49
Şekil 4.6 <i>Alternaria</i> spp. kolonilerinin petri görüntüleri	50
Şekil 4.7 <i>Alternaria</i> spp. kolonilerinin ışık mikroskopundaki görüntüleri.....	51

Şekil 4.8 Farklı olgunluktaki <i>Alternaria</i> spp. konidileri.....	51
Şekil 4.9 Işık mikroskopunda <i>Alternaria</i> spp. konidi ve hif yapıları	52
Şekil 4.10 Patojenisitede meyve izolatlarının yapraklarda oluşturduğu lezyonlar	56
Şekil 4.11 Koch' Postülatı uygulanması	56
Şekil 4.12 Akdeniz Bölgesi uzun yıllar yağış miktarı ve ortalama sıcaklık grafiği ..	57
Şekil 4.13 Ege Bölgesi uzun yıllar yağış miktarı ve ortalama sıcaklık grafiği.....	57
Şekil 4.14 Akdeniz Bölgesi lokasyonları 7 ve 14.gün Hastalık Şid. Ortalamaları	58
Şekil 4.15 Ege Bölgesi lokasyonları 7 ve 14.gün Hastalık Şiddeti Ortalamaları	59
Şekil 4.16 Akdeniz ve Ege Bölgeleri'nde hastalık şiddetinin kıyaslaması	60
Şekil 4.17 Akdeniz B.'nden toplanan <i>Pistacia</i> spp.'de hastalık şiddeti oranları	61
Şekil 4.18 Ege B.'ndeki toplanan <i>Pistacia</i> spp.'de hastalık şiddeti oranları	62
Şekil 4.19 Farklı yüksekliklerdeki <i>Pistacia</i> türlerinde hastalık şiddeti oranları	63
Şekil 4.20 Konukçularına göre hastalık şiddeti kıyaslaması (%) grafiği.....	64
Şekil 4.21 <i>MAT1-1</i> PCR analizi sonucu oluşan bantların elektroforez görüntüsü .	69
Şekil 4.22 <i>MAT1-2</i> PCR analizi sonucu oluşan bantların elektroforez görüntüsü	70
Şekil 4.23 Ege ve Akdeniz Bölgesi'nin lokasyonları <i>Mat1.1</i> ve <i>Mat1.2</i> bantları	70

SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
A	Adenin
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
bç	Baz çifti
bp	Baz pair (Baz çifti)
C	Sitozin
cm	Santimetre
cm ²	Santimetrekare
dH ₂ O	Distile su
ddH ₂ O	Çift Distile Su
dk	Dakika
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
EtBr.	Ethidium Bromide
FAO	Food and Agricultural Organization
G	Guanin
g	Gram
GAP	Güneydoğu Anadolu Projesi
ITS	Internal Transcribed Spacer (Internal Ara Bölgeler)
kb	Kilo baz
L	Litre
M	Metre
MAT	Mating Type
mg	miligram
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
ml	Mililitre
mM	Milimolar
NaOCl	Sodyum hipoklorit
ng	Nanogram

°C	Santigrat derece
PDA	Patates Dekstroz Agar
PDB	Potato Dextrose Broth
pmol	Pikomolar
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	Random Amplified Polimorphic DNA (Rastgele Çoğaltılmış olimorfik DNA)
rDNA	Ribozomal Deoksiriboz Nükleik Asit
RFLP	Restriction Fragment Lenght Polimorphism (Sınırlayıcı Enzim Parça Uzunluk Polimorfizmi)
rpm	Revolution per minute (Dakikadaki devir sayısı)
sdH ₂ O	Steril distile su
sp.	Tür
spp.	Türler
TAE	Tris, Asetik asit, EDTA
TE	Tris-EDTA
U	Unite
UV	Ultra-viyole (Mor ötesi)
V	Volt
vb	Ve benzeri
µm	Mikrometre
%	Yüzde
µM	Mikromolar

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Türkiye'nin *Pistacia* türlerinin gen merkezi üzerinde yer alması ve ülkemizin ekolojik koşullarının *Pistacia* spp. yetiştiriciliği için uygun olması antep fıstığının gerek üretimi, gerekse dış satım kapasitesi yönünden ülkemizin önemli ihraç ürünlerinden birisi olmasını sağlamıştır (Onay,2012; Oruç, 2003; Satıl,1995).

Pistacia türleri ülkemizin hangi bölgesinde olursa olsun o bölgenin en kötü durumundaki toprağa sahip alanlarda özellikle diğer kültür bitkilerinin yetişemediği veya yetiştiriciliğinin ekonomik olarak yapılamadığı kıraç, taşlık, eğimli arazileri en iyi değerlendiren bitki olması nedeniyle önemini daha da arttırmaktadır (Onay,2012; Satıl, 1995).

Yabani *Pistacia* türlerinin aşılınmasıyla ve çöğür dikimi ile tesis edilen yeni bahçelerde önemli bir tarım ürünümüz olan antep fıstığının verim ve kalitesinin arttırılması yönünde etkili tedbirler alınmaya çalışılmaktadır. *Pistacia* spp. üreticiliğini yapan kişilerin özellikle tarımsal mücadele, gübreleme, budama, çeşit ve anaç konusundaki bilgilerinin çok yetersiz olduğu belirlenmiştir (Onay, 2012). Bu bilgi yetersizliği ile yapılan gübreleme, sulama, ilaçlama, budama işlemleri bitkiye hastalıkların bulaşmasını kolaylaştırmaktadır. Hastalıkların bitkiye bulaşması ise verimi düşürmekte, kaliteyi azaltmaktadır. Bununla birlikte Dünya pazarında gerilemelere sebep olmaktadır (Satıl,1995). Örneğin; Türkiye, Dünya antep fıstığı üretiminde on yıl önce İran'dan sonra ikinci sırada yer alırken son yıllarda ABD'den sonra üçüncü sıraya düşmüştür (Oruç, 2003).

1.1 *Pistacia* spp.'nin Kültür Tarihi

Pistacia türleri günümüzde, 30–45 güney-kuzey paralelleri arasında ve genellikle kuzey yarım kürede, mikro klima alanlarında yetiştirilmektedir (Arpacı vd., 1999; Aksoy vd., 2002).

Pistacia türlerinden biri olan antep fıstığı (*Pistacia vera* L.)'nın kültüre alınması çok eskilere dayanmaktadır. Hindistan'ın kuzeyi, Afganistan, Tacikistan ve Pakistan'ı kapsayan; Orta Asya Gen Merkezi ve Anadolu, Kafkasya, İran ve Türkmenistan'ı içine alan; Yakın Doğu Gen Merkezi olmak üzere iki gen merkezi bulunmaktadır (Vavilov, 1951).

Antep fıstığı üretimi Batı Asya'dan doğuya kadar uzanır. Tarihi çağlardan bu yana antepfıstığı dünyada tüketilmekte ve değerli bir ürün olarak bilinmektedir. Hatta dini inanışlarda da değerli bir meyve olarak görülmüş ve İncil'de (Genesis-Yaratılış 43:11) bu durum anlatılmıştır (Caruso, 2005).

Antep fıstığı Türkiye'de ilk defa Güneydoğu Anadolu'da Etiler zamanında kültüre alınmış olup, M.S. birinci yüzyılda Suriye Valisi Vitellus tarafından Roma'ya götürülmüştür. Buradan Afrika ve diğer Avrupa ülkelerine yayılmış ve daha o çağlarda kral sofralarına girmiş olması, iyi kültür çeşitlerinin bulunduğunu ve meyve değerinin uzun yıllardır bilindiğini göstermektedir (Özbek, 1978). Tarihi süreçte Roma İmparatorluğunun yükselişi döneminde Akdeniz ülkeleri temel olmak kaydıyla İran, Irak, Türkiye, Yunanistan, Tunus ve İtalya'da üretim yaygınlaşmıştır (Fabbri ve Valenti, 1998; Kaşka, 2005). 20. Yy'da ise Kaliforniya ve Arizon yoğun üretim başlamış (Michailides vd., 1995), Avustralya (Facelli vd., 2005) ve Güney Afrika gibi ülkelerde yetiştirilmeye başlanmıştır (Jooste, 2000).

1.2 Sistematikteki Yeri

Antep fıstığı kültür ve yabani formları *Plantae* (bitkiler) âleminin *Magnoliophyta* (kapalı tohumlular) bölümünde yer almaktadır. *Magnoliopsida* (iki çenekliler) sınıfının *Sapindales* takımına ait olan bu tür *Anacardiaceae* (sakız ağacıgiller) familyası *Pistacia* cinsinin meyve ağacı ve süs bitkisi olarak değer kazanan bu cinsin 11 türü vardır (Özbek, 1978).

Türkiye'de Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde *Pistacia vera* L., *Pistacia khinjuk* , *Pistacia terebinthus* L., Akdeniz ve Güneydoğu Ege Bölgesinde; *P. vera*, (az miktarda) *P. terebinthus*, *Pistacia atlantica*, *Pistacia palestina*, *Pistacia mutica* ve *Pistacia lentiscus* melezleri yaygın olarak bulunmaktadır. *Pistacia* türleri periyodisite eğilimi olan bir türlerdendir (Bilgen, 1973). Bu türler arasında gruplama yapılırken yaprak, çiçek, meyve ve gelişme durumları dikkate alınmaktadır. *Pistacia* türlerinde

yapraklar birleşiktir. Bu yapraklardaki yaprakçık sayısı 1-20 arasında değişebilmektedir.

Pistacia sp. sistematikteki yeri şu şekildedir (Özbek, 1978):

Kingdom: Plantae

Division: Phanergamae

Subdivision: Angiospermae

Classis: Dicotyledoneae

Subclassis: Choripetales

Order: Sapindales

Familia: Anacardiaceae

Genus: *Pistacia*

Species: *Pistacia vera.*, *P. terebinthus*, *P. lentiscus*, *P.khinjuk*, *P.atlantica* *P. mutica*

Pistacia cinsi bitkileri şu şekilde sınıflandırılmıştır (Zohary, 1952).

1.Lenticella grubu

-*Pistacia mexicana* (Meksika Sakızı)

-*Pistacia texana* (Teksas Sakızı)

2-Lentiscus grubu

-*Pistacia lentiscus* (Mezdeki Sakızı)

3-Butmela grubu

-*Pistacia atlantica* (Atlantik Sakızı)

-*Pistacia mutica*

4-Terebinthus grubu

-*Pistacia terebinthus* L. (Melengiç)

-*Pistacia khinjuk* Stocks (Buttum)

-*Pistacia vera* L. (Antepfıstığı, Kuş Fıstığı)

-*Pistacia palaestina* Boiss (Filistin Sakızı)

-*Pistacia chinensis* Bge (Çin Sakızı)

1.3 İnsan Beslenmesindeki Yeri ve Önemi

Antep fıstığı lezzetli ve besin elementlerince oldukça zengin bir meyvedir. Protein ve diğer elementlerce zengin oluşu, antepfıstığını daha cazip hale getirmektedir. 100 gram Antepfıstığı sıfır kolesterol içermektedir. Ayrıca 100 gramında; 500 mg fosfor, 1020 mg potasyum, 136 mg kalsiyum, 158 mg magnezyum, 5 mg E vitamini, 7 mg C vitamini 0,62 mg vitamin B1, 0,20 mg B2 ve 1,45 mg nikotinamid bulundurmaktadır (Anonim, 2003).

Antep fıstığı çoğunlukla kabuklu bir şekilde taze olarak tüketilirken şekerleme, fırınlanmış yiyecekler, eczacılıkta (öksürük şurubu yapımı) ve dondurma yapımında ise işlenmiş olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra ilaç olarak (diş ağrısını gidermek gibi) geleneksel kullanımları da vardır. Meyve kabuğu Hindistan'da dericilikte boyama ve tabaklama işlemleri için kullanılırken, reçinesi ise Avrupa ve Ortadoğu'da bir kan pıhtılaştırıcı etken olarak kullanılır. *Pistacia* türleri karaciğerde sert ve kanserli tümör tedavisinde, apseler, dolaşım yetersizliği ve diğer tıbbi problemlerde de ilaç olarak kullanılmaktadır (Onay, 2012).

Milat'tan önceki yıllardan beri birçok ülkede *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. vera* yapraklarından reçine ve meyvelerinden drog (ilaç etkili madde) olarak yararlanılmıştır. *Pistacia lentiscus* günümüzde de ilaç ve gıda sanayinin önemli bir hammaddesidir (Boztok, 2007).

P. lentiscus'un gövde ve dallarından yaralama ile "Mastik" adı verilen ve bileşiminde rezin ve uçucu yağ (%1-2) taşıyan damla sakızı elde edilir. Sakız ağacından elde edilen sakız birçok amaç için kullanılmaktadır. Bunlar arasında doğal ciklet olarak, içkilere aroma vermek, sakız yağı elde etmek, parfüm yapımı, diş macunu yapımı, cila yapımı, gıda sanayii ve tıbbi amaçlar sayılabilir (Taşkın, 2005).

P. terebinthus, *Pistacia* türleri içinde yağ üretiminde kullanılan bir türdür. Yapraklarında, böcekler tarafından meydana getirilen mazılar, ipek kumaşların boyanmasında, şaraba renk vermede ve tütün maddesi olarak kullanılmaktadır. Günümüzde birçok yabancı meyve alternatif ve modern tıpta kullanılmakta; bu bağlamda, üriner antiseptik, peptik ülserin tedavisinde ve güneş çarpmasına karşı menengiç yapraklarından faydalanılmaktadır (Gültekin, 2008).

1.4 Türkiye'de *Pistacia* Türleri ve Yetiştiriciliği

Ülkemiz, *Pistacia* cinslerinin gen merkezidir ve antep fıstığına anaç olabilecek *Pistacia* türleri, tabii florada bol miktarda bulunmaktadır. Son istatistiklere göre antep fıstığı yetiştiriciliği 56 ilimize yayılmıştır (Tekin vd., 2001).

Türkiye'de yabancı antep fıstığı türleri olarak, *P. terebinthus*., *P. vera*., *P. khinjuk* ve *P. atlantica* kullanılmaktadır. Ülkemizde bulunan antep fıstığı anaçları arasında, *P. terebinthus* sayı bakımından ön sıralarda yer almaktadır. Bunu sırasıyla; *P. vera*, *P. khinjuk*, melez türler ve *P. atlantica* izlemektedir (Bilgen, 1968). Ülkemizdeki yabancı türlerin hemen hemen hepsi aşılabilir niteliktedir (Ulusaraç, 1989). *P. lentiscus* hariç diğerleri antep fıstığına anaç olarak değerlendirilebilmektedir (Tekin vd., 2001).

Ülkemizin değişik bölgelerinde *Pistacia* türlerinin asırlık ağaçlarına rastlamak mümkün olmaktadır. İzmir, Urla ve Çeşme'de taç genişliği 15 m'ye varan atlantik Sakızı ağaçlarına rastlanıldığı gibi, Mersin'in Mut ilçesi, Adana'nın Karaisalı ilçesi, Denizli ve Muğla'da 100 yıllık veya daha fazla yaşlarda Atlantik sakızlarına da rastlanmaktadır. Kahramanmaraş, Pazarcık ve Türkoğlu ilçelerinde Melengiç ve hibrit diyebileceğimiz Atlantik sakızı veya Buttum ağaçlarına veya bunların melezleri olan ağaçlara rastlanılmaktadır (Arpacı ve Açar, 2012).

Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde yetişen *Pistacia* cinsleri denizden uzak iç kesimlerde, meyilli ve kıraç alanlarda yetişmektedir. Bununla birlikte Adana ve çevresinde deniz seviyesinde de rastlanıldığı gibi, 950 metre yüksekliklerde de *P. atlantica* ağaçlarına rastlanılmaktadır (Arpacı vd., 1997).

Ülkemizde *Pistacia* kültür ve yabancı türlerinin bulunduğu bölgelerin dağılımı tabloda gösterilmektedir (Bilgen, 1973).

Tablo 1.1 *Pistacia* türlerinin Ege ve Akdeniz Bölgesi'ndeki dağılımı (Bilgen, 1973).

Güneydoğu Anadolu Bölgesi	<i>Pistacia vera</i> L. (Antepfıstığı) <i>Pistacia terebinthus</i> L. (Melengiç) <i>Pistacia khinjuk</i> Stocks (Buttum) <i>Pistacia hibritleri</i>
Akdeniz ve Güneydoğu Ege Bölgesi	<i>Pistacia vera</i> L. (Az miktarda) <i>Pistacia mutica</i> <i>Pistacia atlantica</i> Desf. (Atlantik Sakızı) <i>Pistacia terebinthus</i> L. <i>Pistacia lentiscus</i> (Mezdeki Sakızı) <i>Pistacia palaestina</i> Boiss (Filistin Sakızı)
Geçit Bölgeler (Kuzey Akdeniz-Orta Anadolu, İç Ege)	<i>Pistacia vera</i> L. (Az miktarda) <i>Pistacia mutica</i> <i>Pistacia terebinthus</i> L. <i>Pistacia khinjuk</i> Stocks

Türkiye'de antep fıstığı yetiştiriciliği iki şekilde yapılmaktadır. Birincisi *Pistacia* türlerinin bulunduğu alanların aşılama ile antep fıstığı üretimine kazandırılması, ikincisi ise plantasyon oluşturulan antep fıstığı bahçeleridir. Yabani antep fıstığı türlerinden *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, *P. atlantica* ve *P. palaestina* Anadolu'da yaygın olarak bulunmaktadır ve aşılansakültür antep fıstığı bahçelerine dönüştürülmektedir (Konukoğlu vd., 2014).

P. vera, anavatanı Güneydoğu Anadolu'dur ve ağaç ve ağaçcık şeklinde büyür ve kışın yapraklarını döker. Ülkemizde, plantasyonlarda en çok *P. vera* tohumlarından üretilen yozlar kullanılmaktadır (Ayfer, 1964; Tekin vd., 2001).

P. lentiscus, diğer kültür bitkilerinin yetiştirilmesine uygun olmayan dağlık yamaç arazilerde de çok iyi yetişebilmektedir. Bu şekilde söz konusu arazilerden yararlanılması sayesinde bölgede yaşayan üreticilerin ekonomik açıdan güçleneceği düşünülmektedir (Boztok, 2007). Mezdeki sakızı, Akdeniz florasının herdem yeşil tipik bir çalıdır. Bunun *Chia* varyetesinden mezdeki sakızı veya damla sakızı denilen sakız imal edilir (Ayfer, 1964; Tekin vd., 2001).

P. atlantica, yeryüzünde yayılma alanı en geniş *Pistacia* türüdür. Kuzey Afrikadan Kırım'a kadar yayılış gösterir. Ülkemizde ise, Akdeniz ve Ege Bölgelerinde sık rastlanmaktadır. *P. atlantica* bu bölgelerde *P. mutica* ile birlikte yetişmektedir. antep fıstığı için iyi bir anaçtır (Ayfer, 1964; Tekin vd., 2001).

P. khinjuk, memleketimizde Siirt Buttumu ismiyle tanınır. Kışın yapraklarını döker. Doğu Anadolu ve İran'da yaygındır. Kuru koşullarda yapılan çalışmalarda üzerine aşıl原因 çeşitleri geliştirme ve taç oluşturma bakımından *P. atlantica* ve *P. vera*' ya göre daha iyi sonuç vermektedir (Ulusaraç, 1992).

P. terebinthus, ülkemizde hem nemli ve bol yağışlı akdeniz ikliminde, hem de kurak ve az yağışlı kara ikliminde yetişerek yüksek bir adaptasyon yeteneği gösterir. Akdeniz florasının tipik çalılardan biridir ve *P. khinjuk* gibi antep fıstığının iyi anaçlarından birini temsil eder (Tekin vd., 2001).



Şekil 1.1 *Pistacia* türlerinin genel meyve görünümü A) İzmir-Çeşme *P. lentiscus* çalısı, B) Manisa-Selendi *P. vera* örneği, C) İzmir-Aliaga *P. atlantica* örneği, D) Hatay-İskenderun *P. terebinthus* örneği.

1.5 Dünyada ve Türkiye'de Antep fıstığı Yetiştiriciliğinin Bugünkü Durumu

Dünyada sert kabuklu meyveler üretimine bakıldığında antepfıstığı; kaju fıstığı (%31), badem (%27), ceviz (%22) ve fındıktan (%10) sonra % 8'lik oranla 5. sırada yer alır (Anonim, 2011).

Pistacia türlerinin üretimi ve verimi için yağış ve sıcaklık önemlidir. *Pistacia* türleri sığ topraklarda kurak bölgelerde yetişmesine rağmen, optimum verim için doğru zamanlı sulama ve gübreleme gereklidir. Ayrıca, hastalıktan kaynaklanan kayıpları azaltmak amacıyla, bu hastalık gelişimine katkıda bulunan abiyotik ve biyotik faktörleri göz önünde bulundurmak gerekmektedir (Kanber vd., 2004).

A.B.D'de antep fıstığı yetiştiriciliği, düzenli ve geniş bir araştırma neticesinde başlamıştır. 1930'lu yıllarda İran ve Orta Doğu'da seleksiyon yapılarak yeni çeşit ıslahına başlanmış, 1960'lı yıllarda elde edilen çeşit ve anaçlarla 1970'li yıllarda devletinde desteklemesi sonucu sulu koşullarda çok büyük antep fıstığı bahçeleri (5-10bin dekar) tahsis edilmiştir. (Tekin vd., 2001).

Ülkemizde antep fıstığı  retimi Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yoğunlaşmış, son yıllarda özellikle Ege Bölgesi'nde yaygınlaşmış ve geniş bir üretim alanı bulmaya başlamıştır. Türkiye Tablo 1.2' de gösterildiği gibi Antepfıstığı (*P.vera*) yetiştiriciliğinde lider ülkelerden birisi konumunda olup ortalama 120.000 ton/yıl üretim ile İran ve Amerika Birleşik Devletleri'nden sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Anonim, 2012).

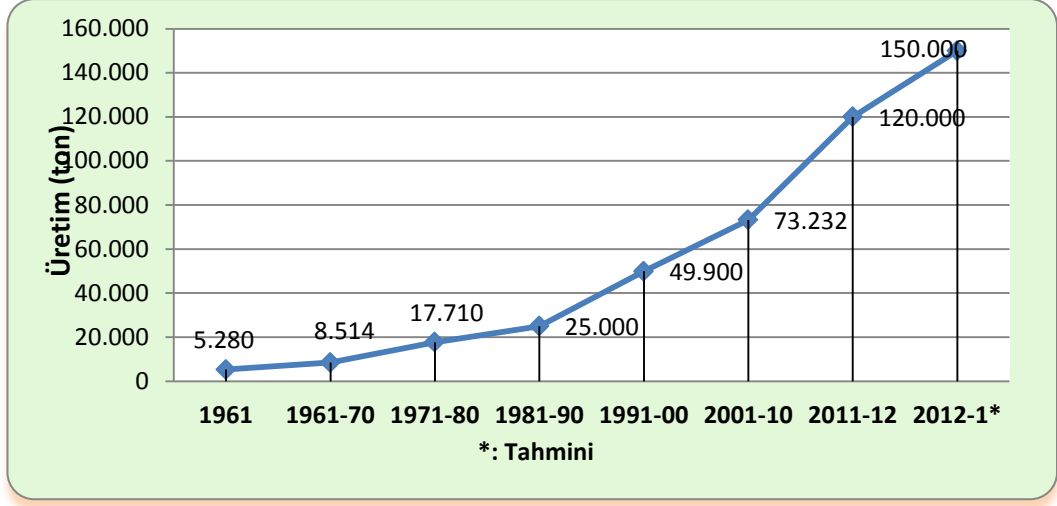
A.B.D. ise günümüzdeki  retimiy le ülkemizi geçmiş, dünyada ikinci büyük üretici konumuna gelmiştir. Bu hızlı gelişmeyi; yetiştiriciliğini sulu koşullarda, nematodlara ve hastalıklara dayanıklı anaçlarla, verimli ve kaliteli tek  eşit le yapmıştır. Standardizasyon, pazarlama ve tanıtım organizasyonunun iyi yapılmış olması da katkı sağlamıştır. A.B.D.'de çoğunlukla damla sulama sistemi kullanılmakta olup uygun ve yeterli gübreleme yapılmaktadır. Tüm tedbirlerin alınması sayesinde 25-30 yaşlarındaki bir ağaçtan ortalama 16-18 kg ürün alınabilmektedir (Allemann, 2008). Ülkemizde ise kuru koşullarda ağaç başına ortalama verim 3-4 kg civarındadır (Tekin vd., 2001).

Tablo 1.2 Dünya'da antep fıstığı üretimi (Bin Ton) (Anonim, 2012).

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
ÜLKELER								
TÜRKİYE	30.0	60.0	110.0	73.4	120.1	110.6	128.0	112.000
İRAN	190.0	190.0	250.0	315.5	192.3	260.0	446.0	-
ABD	157.0	140.0	107.9	188.7	126.1	150.0	213.0	-
SURİYE	39.0	60.0	73.2	52.1	52.6	55.0	57.3	-
YUNANİSTAN	8.5	9.5	8.2	8.1	8.1	8.0	9.0	-
İTALYA	2.5	2.4	1.0	2.8	2.0	3.0	1.6	-
AFGANİSTAN	2.0	3.0	2.4	3.6	2.5	3.3	3.0	-
ÇİN	32.0	34.0	36.0	38.0	40.0	39.5	48.7	-
TUNUS	0.8	0.8	2.7	2.5	2.5	2.5	2.6	-
TOPLAM	466.6	501.2	593.3	686.6	548.4	634.1	912.0	-

Antep fıstığı Araştırma Enstitüsü tarafından 20-25 yıl önce Ege Bölgesi'nin değişik bölgelerinde (Aydın, Muğla, Manisa-Yuntdağı, İzmir-Bergama), Akdeniz Bölgesi'nde; (Mersin-Senir) gibi yörelerde özellikle yabancı türler üzerine aşılama yapılmış, ancak ekonomik olarak yetiştiricilik yaygınlaşmamıştır. Sadece Mersin-Senir, Aydın-Sultanhisar, Manisa-Yuntdağı gibi çok küçük mikro klimalarda ekonomik olarak yetişebilmektedir (Tekin vd., 2001).

Ülkemizde antep fıstığı yetiştiriciliği çok eski zamanlardan beri yapılmasına rağmen üretim istenilen seviyeye ulaşamamıştır. Bunun nedeni yetiştiriciliğin tamamen kuru koşullarda ve çoğunlukla kıraç, taşlık ve meyilli arazilerde yapılmasıdır. İran ve A.B.D. dışındaki üretici ülkelerde de yetiştirme koşulları Türkiye'nin yetiştirme koşullarına benzemektedir. İran ve A.B.D'deki yetiştiriciliğin tamamı sulı koşullarda ve verimli taban arazilerde yapılmaktadır (Tekin vd., 2001).



Şekil 1.2 Son 50 yılda (1961-2011) ülkemizin antep fıstığı üretimi (FAO, 2011).

Ülkemizin antep fıstığı üretiminin son 50 yılda geldiği nokta Şekil 1.1'de verilmiştir (TUİK, 2012). Görüldüğü gibi 1961 yılında 5280 ton olan üretim, düzenli artışlarla 2012 yılında 150 bin tona ulaşmıştır. Yıllık olarak izlendiğinde periyodisite, kuraklık veya düşük sıcaklıklar nedeniyle inişli çıkışlı üretim gerçekleşse de 10 yıllık dilimler halinde bakıldığında her 10 yılda %80'e yakın artış görülmektedir. Genç bahçelerin devreye girmesi, üretimin yapıldığı alanların çoğunluğunda gübreleme, budama, tozlayıcı sorunun çözülmesi, kontrollü mücadele, sulamanın büyük oranda yapılması hem periyodisitenin keskinliğini azaltmış hem de toplam ürün artışına büyük katkı sağlamıştır.

1.6 *Pistacia* spp. Hastalıkları

Dünyada antep fıstığında çok sayıda fırsatçı bitki patojeni bildirilmiştir. Bu bitki patojenleri viral, bakteriyel ve fungal kaynaklı etmenlerdir (Funk, 2005). Bunlar içerisinde fungal etmenler en önemli grubu oluşturmakta ve dünyada antep fıstığı üretimi yapılan alanlarda gelişme koşulları, yayılış zamanı, genetik yapısı açısından farklılıklar göstermektedir. Yetiştiricilik şartları ve üretimi yapılan meyve grupları arasındaki bu farklılık, dünyada antepfıstığı üretimi yapılan ülkeler arasındaki hastalıklar açısından da önemli düzeyde çeşitliliğe neden olmaktadır. Örneğin; Genellikle sulu şartlarda ve yuvarlak grubu meyvelerle üretimin yapıldığı İran ve ABD de görülen hastalıklar ile kuru şartlarda ve genel olarak Uzun grubu meyvelerle üretimin yapıldığı ülkemiz şartlarında fungal hastalıklar arasında farklılık bulunmaktadır (Dinç, 1983).

Ülkemizde görülen *Pistacia* spp. hastalıkları geniş kapsamlı olarak kök, yaprak ve meyve hastalıkları olarak gruplandırılmıştır (Dinç, 1983). *Phytophthora* spp.'nin etmen olduğu *Phytophthora* kök çürüklüğü, antep fıstığı ağaçlarının kökboğazı ve gövde kısımlarında çürüme ve zamk akıntısı oluşturarak ağacın tamamını etkiler. *Fusarium* spp.'nin bulaşması genellikle topraktan olup *Fusarium* kök çürüklüğüne neden olur. *Fusarium* spp. zayıf ve küçük ağaçlarda solgunluk oluşturur *Uromyces terbenthi* (D.C) Wint, *Pistacia* spp. türü bitkilerin yaprak ve yaprak saplarında pas hastalığını yapan bir fungustur. Yaprak ve yaprak saplarında kahverengi-siyah renkte lekeler meydana getirip yaprakların kurummasına ve meyve veriminin düşmesine neden olur (Tekin vd., 2001). antep fıstığı yapraklarında ve sulanan alanlarda meyvelerde de rastlanan külleme (mildiyö) hastalığının etmeni *Phyllactinia guttata* Wallr. Lev. patojen fungusudur. *Verticillium* spp. yapraklarda sararma ve dal kurumalarıyla karakterize olan, asıl zararı kök ve gövdede gerçekleştiren kurumlara neden olan fungal bir hastalıktır. (Turan, 1990; Dinç, 1983). *Septoria* yaprak ve meyve leke hastalığı (*Septoria pistacina*) gibi hastalıkların yaygın ve zararlı olduğunu bildirilmiştir (Tatlı vd., 1995). Meyve kararmasına ilişkin yapılan çalışmalarda *Aspergillus niger*, *Aspergillus* sp. *Cladosporium* sp. *Ulocladium* sp. *Penicillium* sp.'nin Ohadi Siirt ve Uzun meyvelerinde kararmalara neden olduğu belirtilmiştir (Konukoğlu vd., 2009).

1.7 *Pistacia* Türlerinde *Alternaria* Yanıklık Hastalığı

Dünyada *Alternaria* sp. antep fıstığında ilk kez 1974 yılında Mısır'da rapor edilmiştir (Wasfy vd., 1974). *Alternaria* spp. oldukça yaygın bir fungus olmakla beraber bitki ve toprak dahil birçok alandan izole edilebilir (Rotem, 1994).

Alternaria'nın bugüne kadar belirlenen bir çok önemli türü bulunmakta olup sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir;

Kingdom: Fungi

Phylum: Ascomycota,

Subphylum: Pezizomycotina,

Class: Dothediomycetes,

Subclassis: Pleosporomycetidae

Order: Pleosporales

Family: Pleosporaceae

Genus: *Alternaria* Ness, 1816 (Mycobank, 2013).

Fungusların bu grubunun taksonimisini daha kompleks hale getiren, belirli türlerde net bir şekilde ortaya konulamayan orta özelliklere sahip sayısız özelliklerin olmasından kaynaklanmaktadır (Simmons ve Robert, 1993).

Alternaria spp. tarım ürünlerinde ve bahçe bitkilerinde verimi ve kaliteyi düşüren önemli bir fitopatolojik etmendir (Pryor ve Michailidies, 2002). Son yıllarda yetiştiriciliği yapılan bir çok bitkide epidemiy yaptığından dolayı, yeni mücadele yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, genetik yapısının ve fizyolojik özelliklerinin tanımlanması önem arz etmektedir

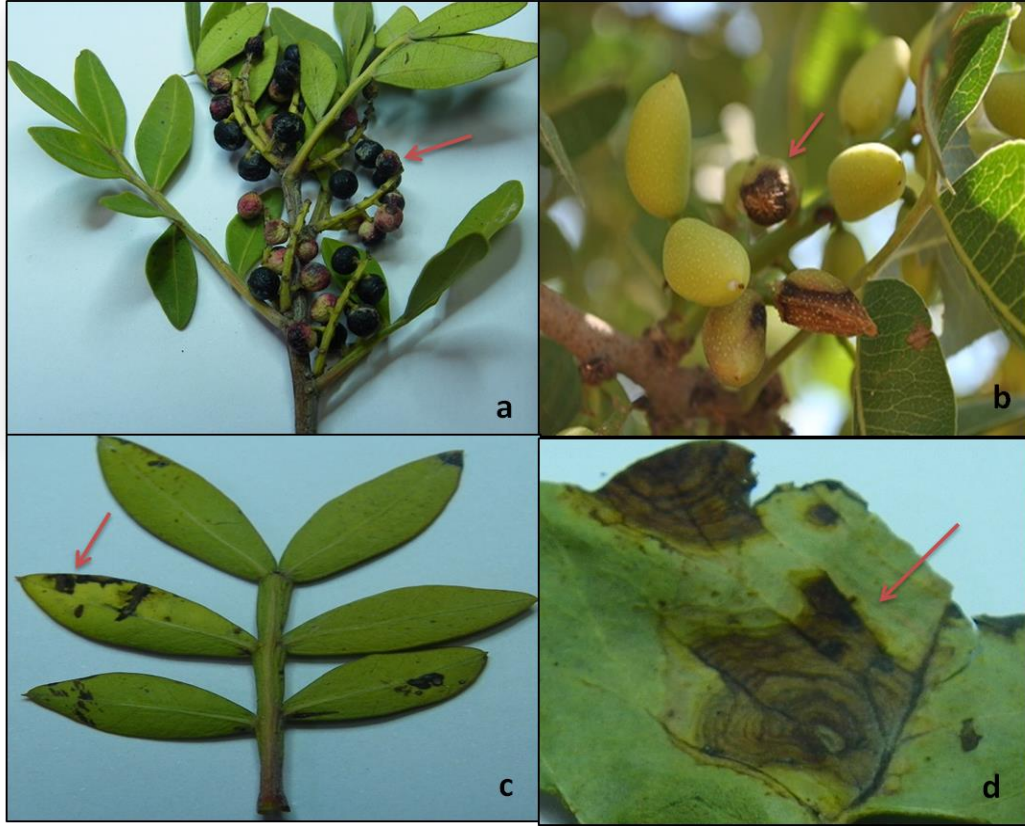
Alternaria spp. endofit olmamakla beraber asimptomatik bitki dokusunda da hayat döngülerinin bir kısmını geçirebilmektedir. Sağlıklı bitki dokusunda çevresel şartlar değişinceye ve bitki içerisinde çeşitli fizyolojik değişikliklere duyarlı hale gelinceye kadar, latent olarak hayatta kalabilmekte ve uygun şartlar altında patojenik olmaktadır. Bu özellik sahip oldukları spor yapılarının dayanıklı olmasından kaynaklanmaktadır (Michailides vd., 1995).

Alternaria cinsi fungusların en az 30 µm uzunluğunda olan spor yapıları, zincirlenmiş olarak açık yeşilden siyaha kadar değişebilen el bombası şeklindeki dictyospor yada konidileri ile tanımlanmaktadır (Kendrick, 2000). Konidi zincirleri az veya çok dallanmış, enine ve boyuna çapraz septaların ve çıkıntı yapmış uçların varlığıyla bilinmektedir (Simmons, 1996). Konidiler rüzgar aracılığıyla kolaylıkla yayılabilmektedir (Rotem, 1994; Michailides vd., 1995). Ayrıca 24 saat içinde konukçu üzerinde yerleşebilmekte, kolonize olmakta ve daha sonra sekonder konidi üretimini başlatmaktadır (Rotem, 1994). *Alternaria* spp konidilerinin varlığından dolayı kararan yapraklar, sezon sonuna doğru düşmekte ve bahardaki primer infeksiyonların ana kaynağını oluşturmaktadır (Rotem, 1994). Ayrıca hasat sonrası depolama sırasında da meyve üzerinde simptomlar gelişmeye devam etmektedir (Prusky, 1996).

Alternaria spp.'nin böcekler veya mekanik yaralanmalar ile oluşan açıklıklardan bitki içerisine girebilmekte ve fırsatçı patojenler olarak enfeksiyonlara yol açmaktadırlar (Ferguson vd., 2005; Mila vd., 2005). Tohum örtüsü altındaki miselyumlar veya tohumu kaplayan sporlarla birlikte tohumun enfeksiyonu bu patojenlerin esas dağılım kaynağı olmaktadır. Patojen *Alternaria* türlerinin spor ve miselyum yapıları enfekte olmuş bitki artıklarında, tohumların içinde veya yüzeyinde varlığını sürdürebilmektedir. Yağmurlu bir dönem sonrası havadaki serbest nemin artması ve uygun toprak koşulları altında fungus bitki artıkları üzerinde gelişimini devam ettirerek spor oluşturmakta ve bu sporlar rüzgar ile havada taşınmakta, enfeksiyon oluşturacağı bitki yüzeyine ulaşmaktadır. Sporların konukçu bitki yüzeyinde çimlenebilmesi ve enfeksiyon oluşturabilmesi için yeterli miktarda serbest nem koşulları sağlanmış ise sporlar konukçu dokusuna penetre olup enfeksiyonu başlatmaktadır. Sporum bitkiye penetrasyonu doğrudan, stomalarla veya bitki yüzeyinde herhangi bir yaralanma varsa yaralı kısımdan olabilmektedir (Agrios, 1997). Aynı zamanda yeterli yaz sıcaklarının yaşanmadığı, 800 m'.nin üstündeki yüksekliklerde, bitki, yaprak ve meyve enfeksiyonlarına hassas olmaktadır (Ferguson vd., 2005; Mila vd., 2005). Yine, kuvvetli rüzgarların da genç ağaçlara zarar verdiği ve bu şekilde fırsatçı patojenlerin girişini kolaylaştırdığı bilinmektedir (Ferguson vd., 2005). Doğru fungusit uygulaması yapılmaksızın bitki budamaları da benzer şekilde potansiyel patojen giriş kapıları açmaktadır (Michailides ve Morgan, 2004). Ayrıca fungusitlerin yanlış kullanımı, doğru miktar ve konsantrasyonda uygulanmaması da etkili bir koruma sağlayamamaktadır. Aşırı sulamayı tolere edemeyen *Pistacia* türleri, *Alternaria* spp. gibi fırsatçı patojenlere karşı duyarlı hale gelmektedir (Peever vd., 1999; Kirnak vd., 1999).

Hastalık, yapraklar üzerinde köşeli ya da dairesel siyah lekeler şeklinde görülmektedir (Kurt, 2012). Fungal spor üretiminden kaynaklanan siyah bir merkez, klorotik bir halka ile çevrelenmiş geniş nekrotik lekeler şeklinde görülmekte ve bu lekeler daha sonra birleşerek tüm yaprağı kaplamaktadır (Michailidies vd., 1997; Michailides, 2005). Yaprak enfeksiyonları genellikle bahar ve yaz döneminde oluşmakta; yaz sonu ve sonbaharda gelişmekte, yaprağın canlılığını kaybetmesine yol açması sonucu erken yaprak dökülmelerine sebep olmaktadır (Kurt, 2012; Pryor ve Michailides, 2002; Hong vd., 2006).

Meyve simptomları ise, olgunlaşmamış meyvenin kabuklarında 1mm genişliğinde küçük siyah nekrotik lekeler şeklinde belirir ve olgunlaşmış meyvede hem küçük (1-2mm) hem de büyük (5mm) lekeler bir arada görülür (Kurt, 2012). Meyve lezyonları genellikle kırmızı bir halka ile çevrilidir ve meyve olgunlaştıkça, meyve fizyolojik olarak geliştikçe bu lezyonların birkaçı genişler, meyve dış kabuğuna penetre olur ve lezyonlar meyve iç kabuğunu da etkiler. Bu durum *Pistacia* meyvesinin altında kabuğun boyanmasına neden olur ve çekirdek kısmının da miselleri ile çürütürerek ürün kalitesinin azalmasına yol açar (Kurt, 2012; Michailides, 2005; Pryor ve Michailides, 2002). Meyve endokarpının etkilenmesi, kabuk üzerinde patojen kaynaklı renk bozulmalarına ve erken çıtlama durumunda çekirdeğin infekte olmasına yol açmaktadır (Doster ve Michailides, 1999).



Şekil 1.3 Meyve ve yapraklarda Alternaria Yanıklık lezyonları. a) *P.lentiscus* meyvesinde Alternaria yanıklık lezyonları, b) *P.vera* meyvesinde Alternaria yanıklık lezyonları, c) *P.lentiscus* yaprağında Alternaria Yanıklık lezyonları, d) *P.vera*'da Alternaria spp.'nin oluşturduğu klorotik lezyonlar.

Meyve ve yaprakta görülen lezyonların sebebi Alternaria yanıklık hastalığı olarak adlandırılmaktadır. A.B.D'nin Kaliforniya eyaletinde Alternaria Yanıklık Hastalığı etmeni *Alternaria alternata* A. *arborescens*, A. *tenuissima* ve A. *infectoria* olarak

kaydedilmiştir. Hastalığın yaygın olarak görüldüğü A.B.D.'de hastalık Ağustos-Eylül aylarında 'geç yanıklık' olarak ortaya çıkmaktadır ve hem yapraklarda hem de meyvelerde görülmektedir (Pryor ve Michailidies, 2002; Michailides, 2005).

Ülkemizde ise bu problem sadece meyvelerde görülmektedir ve hastalık Mayıs sonu-Haziran başında ortaya çıkmaktadır. Bu dönemde ortaya çıkan hastalık 'Erken Yanıklık' olarak adlandırılmaktadır. Yetiştiricilik koşullarının farklılığı ve hastalığın ortaya çıkış zamanında görülen farklılıklar, ülkemizdeki Antepfıstığı'nda *Alternaria* probleminin diğer ülkelerin hastalık yapısından farklı olduğunu göstermektedir. Son yıllarda ülkemizde antepfıstığı üretim alanlarında ve yabani *Pistacia*'ların bulundukları lokasyonlarda da *Alternaria* spp önemli fitopatolojik sorun haline gelmeye başlamıştır.

1.8. *Alternaria* spp.'de Eşleşme Tipi Genleri

Alternaria gibi eşeyli üreme evresi bilinmeyen funguslarda klasik sınıflandırma anomorfik özellikler dikkate alınarak yapılmaktadır. Bu durumda fungusun sınıflandırılması tamamen morfolojik gözleme dayalı olduğu için hata yapma olasılığı da artmaktadır. Funguslarda fenotipe dayalı birçok hatalı sınıflandırma mevcuttur (Reynolds ve Taylor, 1992). Bu tür karışıklıkları önlemede günümüzde moleküler yöntemler ağırlıklı olarak kullanılmaktadır.

Alternaria cinsi eşeysiz türleri içermektedir ve eşeyli üreme gösteren türleri *Lewia* cinsine dahil edilmektedir (Simmons, 2007). Bununla beraber, eşeysiz üreme gösteren türlerinde de eşey tipi ile ilgili genlerin bulunmaktadır (Arie vd., 2000; Berbee vd., 2003). Eşey tipi genleri fungal türlerin biyolojisi ve evriminde önemli roller oynamaktadır. Klonal çoğalma beklentisine rağmen bu genlerin dağılım durumu da patojenik varyasyon adına önemlidir. Eşeysiz olarak çoğalan çeşitli fungal türlerde eşey tipini belirleyen *MAT* lokusu PZR ile çoğaltılarak eşey tipi dağılımları ortaya çıkarılmaktadır (Arie vd., 2000; Berbee vd., 2003). Birçok aseksüel fungusta yüksek genotipik varyasyon bulunmaktadır (Taylor vd., 1999).

Moleküler teknikler, fenotipe dayalı hatalı sınıflandırma karışıklıklarını önlemede özellikle PZR temelli tekniklerin kullanılması, büyük bir avantaj sağlamaktadır. Genelde moleküler teknikler hızlı, spesifik, hassas ve daha güvenilir olup, özel kolaylıkla yorumlanabilir. PZR bağlı yöntemler özgüllük ve duyarlılığının yüksek

olması nedeniyle funguslarda türlerin, ırkların ve izolatların teşhisinde ve sınıflandırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. PZR aracılığı ile elde edilen bilgiler sayesinde mevcut taksonlar için spesifik oligonükleotid primerlerin tasarlanması mümkün hale gelmiştir (Dieffenbach vd., 1993). Bu amaçla funguslarda tür ayrımlarını güvenilir bir şekilde belirlemek ve tür içi/türler arası genetik ilişkileri göstermek üzere çeşitli gen bölgelerinin dizi analizlerine ait verilerin kullanılması bilgilendirici olmaktadır. Bu genlerin baz dizileri fungus türüne ve ırklarına göre spesifiktir. Bu baz dizileri arasındaki farklılık türleri, ayrı tür içerisinde coğrafik ırkları ve izolatları ayırt etmede kullanılmaktadır.

Ülkemizde *Pistacia* türlerinde *Alternaria* yanıklığı şimdiye kadar sadece kültürü yapılan çeşitlerin meyvelerinde görülmüştür, yabani *Pistacia* türlerinde hastalığın araştırılması ve yapraklarda olup olmadığının kontrol edilmesi gerektiği düşünülmektedir. Bu amaçla doğal ekosistemde yer alan ve ülkemizde yaygın olarak bulunan yabani ve kültür *Pistacia* türlerinin yaprak ve meyvelerinde hastalığa yol açan *Alternaria* türlerinin var olup olmadığı anlaşılması amaçlanmıştır.

Bu tez çalışması Türkiye'de Akdeniz (Antalya, Mersin, Kahramanmaraş, Hatay) ve Ege Bölgesi'nde (Manisa, İzmir, Denizli, Kütahya, Aydın) yabani ve kültür Antepfıstığına ait *Alternaria* spp. populasyonlarının eşey tipi dağılımını belirlemek, ve bu eşey tiplerinin oranını ortaya çıkarak eşey tipleri üzerindeki seçilimi hakkında fikir vermesi açısından önemlidir. Eşey tiplerinin ve dağılımlarını belirlenmesi popülasyon yapılarını anlamak ve yorumlamak üzere oldukça bilgilendirici olacaktır.

Çalışma sonuçları Ege ve Akdeniz Bölgeleri ve ülkemiz için ilk raporları teşkil etmesi; patojene ait populasyonların çok yönlü araştırma sonuçlarını sunması ve moleküler düzeyde tanıtması adına önem taşımaktadır. Konak-patojen ortak gelişimi ve evrimleşmesi dikkate alındığında, *Alternaria* spp.'de orjini olabilen alanlara ait populasyonların araştırılması, *Alternaria* spp.'nin evrim analizlerine ve bu konudaki bilimsel literatüre önemli katkılar sağlayacaktır. Ayrıca ülkemizdeki etmen/etmenlerin patojenik yapısı hakkında bir araştırma mevcut değildir ve hastalık patojenisitesi bilinmemektedir. Sunulan tez çalışmasında hem yabani hem de kültürü yapılan Antepfıstığı türlerinde geniş bir örnekleme alanında arazi çıkışları yapılmış, örneklenen izolatlar üzerinde hastalıkla ilgili etmenlerin patojenik açıdan tanımlanması ve hastalık yoğunluğunun araştırılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Dünyada ve Ülkemizde Pistacia Türlerinin Üretimi ve Önemi

Woodroof (1967), *Pistacia* türleri *Anacardiaceae* familyası içerisinde yer aldığını ve Batı Asya ve Ortadoğu kesimleri orijin alanları olduğunu bildirmiştir.

Michailides vd. (1995), Facelli vd., (2005), Swart ve Blodgett, (1998), 20. yy.'da A.B.D.'nin Kaliforniya ve Arizona eyaletlerinde, Avustralya'da ve son 15 yıldır Güney Afrika'da da kültürünün yapılmaya başlandığını bildirilmiştir.

Arpacı ve Açar (2012), tarafından yapılan araştırma, Türkiye'de GAP bölgesinde sulu koşullarda 1994 ile 2012 tarihleri arasında uygun Antepfıstığı anaç ve dikim aralıklarını belirlemek için yapılmıştır. *P. vera*, *P. khinjuk*, *P. atlantica* ve *P. terebinthus* fidanları anaç olarak kullanılmıştır. Deney bahçesi 7x2, 7x4 ve 7x6 m aralıklarla kurulmuş ve beş ağaçlar içeren üç tekrarlı deneme kurulmuştur. Ekimden 2 yıl sonra 'Siirt' çeşidi anaçlar üzerine aşılanmıştır. Anaçlar 'gölge hacmi, kök çapı, gölge genişliği, meyve verme durumu gibi özellikleri değerlendirilmiştir. Aşılamada en yüksek başarı *P. vera*' da alınırken en düşük başarı *P. atlantica*'dan elde edildi. Kök gelişimi ve gölge genişliğinde en iyi büyüme *P. atlantica* elde edilirken zayıf büyüme *P. terebinthus* elde edilmiştir. *P. terebinthus* üzerine aşılanmış ağaçlarda çiçek tomurcuklanması ve ürün verme diğerlerinden daha erken bir zamanda gerçekleşmiştir.

2.2 Dünya'da Alternaria Yanıklık Hastalığı Konusunda Yapılan Çalışmalar

Satıl (1995), yabancı Antepfıstığı türlerinin Doğu Anadolu, Doğu Akdeniz'in ve İç Anadolu'nun bazı illeri dışında Türkiye'de oldukça geniş bir yayılıma sahip olduğunu belirlemiştir. Türkiye'de bulunan *Pistacia* sp. türlerini *Pistacia terebinthus* L., *P. vera* L., *P. khinjuk* Stocks., *P. atlantica* Desf., *P. lentiscus* L. ve *P. eurycarpa* Yalt. olarak bildirmiştir.

Üstüner (1996), mandarin ve altıntop hibridi olan *Minneola tangelo* mandarin çeşidinde kahverengi leke hastalığının oluşumu ve bu hastalığın çeşitli kimyasallarla önlemesi üzerine bir çalışma yapmıştır. İnfekteli *Mineola tangelo* yapraklarından iki *Alternaria* spp. izolatu tespit edilmiş ve yapılan patojenite testleri sonucunda bu izolatlardan birinin yüksek düzeyde infeksiyon oluşturduğunu gözlemlemiştir.

Morris vd. (1999), Kaliforna'daki tarla domateslerinden alınan 228 örnekten %76'sında *Alternaria* erken yanıklığı hastalığına neden olan patojenin *Alternaria alternata* olduğunu belirlemişlerdir. RAPD analizleri ile test edilen 69 izolat arasında yüksek oranda genetik çeşitliliğin var olduğunu ortaya çıkarmışlardır. 137 RAPD DNA markırlarından sadece 34 tanesinin bütün izolatlar için monomorfik olduğunu ve iki grup arasındaki genetik benzerliğin ise %50 olduğunu saptamışlardır. Siyah küf simptomlarını oluşturan *Alternaria* türünün genetik olarak *A. alternata*'nın olduğu belirlenmiş ve test edilen 10 izolattan 2'sinde bu patojen izole edilmiş ve domatesteki gövde hastalığına ise sadece bir izolat neden olmuştur.

Mckay vd. (1999), keten bitkisinde ciddi bir sorun olan *A. linicola* ile *A. solani* arasındaki akrabalık ilişkisini ortaya koymak için patojenlerin rDNA'sının ITS1 bölgesini PCR ile çoğaltmışlar ve baz dizilerini karşılaştırmışlardır. Her iki türe ait ITS1 bölgesinin baz dizilerinin benzer olduğunu, *A. linicola*'nın aslında *A. solani*'nin form specialisi olduğunu ve farklı tür olarak sınıflandırılmaması gerektiğini ileri sürmüşlerdir.

Erkılıç vd. (1999), tarafından yapılan bir çalışmada ülkemizde Çukurova bölgesinden toplanan 35 *A. alternata* f.sp. *citri* izolatının iprodione'a karşı duyarlılıkları test edilmiştir. Testlenen izolatlardan 5 tanesinin iprodione'a karşı önemli ölçüde dayanıklılık kazandığı belirtilmiştir. Ancak dayanıklılık kazanan izolatlar birkaç kez fungusit bulummayan ortama aktarılınca, dayanıklılığın ortadan kalktığını görmüşlerdir.

Timmer vd. (2000), tarafından Florida'da yürütülen bir çalışmada, *Minneola tangelo* bahçesine bırakılan tuzak bitkilerdeki infeksiyonlara çevresel faktörlerin etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar yağış, yaprak ıslaklığı ve sıcaklığın, spor uçuşu ve infeksiyonlarla pozitif ilişkili olduğunu göstermiştir.

Laemmle (2001), dünya çapında *Alternaria* spp. türlerinin yol açtığı hastalıklar çok yaygın olduğunu ve bu fungusun süs bitkileri ve yabani otlar, elma, çin lahanası, brokoli, havuç, patates, domates, karnıbahar ve turunçgiller gibi pek çok bitki türünde önemli kayıplara yol açtığını bildirmiştir.

Swart (2003), *Alternaria* cinsinin birçok tarımsal üründe sorun olduğu ve hastalık yaptığını bildirmişlerdir.

Broggi vd. (2007), Arjantin'de Entre Rios eyaleti'nde yapılan mikolojik bir araştırmada, soya fasulyesi, taze toplanmış ve saklanan buğday tohumları üzerinde *Alternaria alternata* yaygınlığını incelemişlerdir. İzolasyon frekansları-sıklığı *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* ve diğer funguslara ait türlerin nispi yoğunluğu hesaplanmıştır. *Alternaria alternata*'nın süpürge darısı, pirinç, soya fasulyesi, taze ve hasat buğdayından izole edilen en önemli fungus türü olduğunu rapor etmişlerdir.

Reis vd. (2007), tarafından turunçgil türlerinin patojene duyarlılığı ile ilgili yapılan bir çalışmada, Fairchild, Nova, Fortune hibritlerinin doğal infeksiyonlara duyarlı oldukları; ancak doğada dayanıklı olan bazı çeşitlerde de yapay inokulasyonların hastalığa neden olabildiği görülmüştür.

Kurt vd. (2007), tarafından son yıllarda Türkiye'de Trabzon hurmasının (*Diospyros kaki* L.), hasat sonu çürüklüğü belirtileri ve lezyonları ana üretim bölgelerinden biri olan Hatay'da, uzun depolama sırasında gözlenmiştir. Lezyonlu doku parçaları yüzeysel sterilizasyona tabii tutulduktan sonra PDA (Patates Dekstrozu Agar) besiyerine ekilmiş ve 24°C'de 7gün inkübe edilmiştir. Koloni morfolojileri, konidioforlar ve miselyumları incelenmiş ve Keissler'in morfolojik özelliklerine göre bu patojen *Alternaria alternata* olarak tespit edilmiştir.

Rodrigues vd. (2010), Brezilya'da patates (*Solanum tuberosum*) ve domates (*S. lycopersicum*) üzerinde erken yanıklığa sebep olan *Alternaria tomatophila* ve *A. grandis* funguslarının yaygınlığını incelemişler ve *A. solani* fungusunu patatesten erken yanıklığa neden olan bir fungus olarak bildirmişlerdir. Patatesten izole edilen *A. grandis* fungusları domates bitkisine, domatesten izole edilen *Alternaria tomatophila* izolatları patates bitkisine verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonrası

A. tomatophila ve *A.grandis* arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir.

Pavon vd. (2010) *Alternaria* türleri için spesifik olan Alt a1 genini çoğaltmayı hedefleyen PCR çalışması yapmışlardır. Bu çalışma ile *Alternaria alternata* , *Alternaria porri*, *Alternaria radicina* ve *Alternaria infectoria* türlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Analiz 2 aşamada gerçekleştirilmiştir. Bunlardan ilk PCR analizinde kullanılan primerler (Dir5cAlta 1-Inv4Alt a 1 ve 18 sfweu- 18 srveu) *Alternaria* cinslerini saptamaktadır. İkinci adım seminested PCR yöntemi ile *Alternaria* türlerinin belirlenmesidir. Dizayn edilen primer çiftlerinin spesifikliği çeşitli *Alternaria* kültürleri DNA'sından belirlenmiştir. Çalışılan yöntem hem patojen organizma kültüründe hem de infekteli domates özünde (yaklaşık olarak 102 CFU/ml) gerçekleştirilmiştir. PCR analizleri sonucunda, çürümüş domates örneklerinden elde edilen türün %100'ü *A. alternata* türü olarak ve diğer infekteli domates dokularının %8 'inde *A. alternata* türünün DNA' sının varlığı belirlenmiş, fakat tahıl bitkilerinin %36,4'ünde ise *A. infectoria* türüne ait DNA baz dizileri belirlenmiştir.

Nowicki vd. (2012), *Alternaria* yanıklığı hastalığının *Brassicaceae* familyasında *Alternaria* yanıklığı simptomlarının farklı *Alternaria* türleri tarafından oluşturulduğunu bildirmişler ve hastalığın kontrolünde uygulanabilir metod olarak hastalığa dirençli *Brassicaceae* çeşitlerinin geliştirilmesi gerektiğini savunmuşlardır. Ancak son derece dayanıklı genetik kaynaklarının bulunmasından dolayı *Brassica* türleri üzerinde hastalığa dayanıklı çeşitleri bildirememişlerdir. Kuvvetli çapraz uyumsuzluk, baskın gen etkileşimleri, ve brassica türleri arasında kromozom sayısı farklılığı gibi sebeplerden dolayı kültür formlarına yabani türlerin *Alternaria* spp. direnç genlerinin transferini yapmak zorlaşmış ve bu konuda yapılan transgenik çalışmalar başarısız olmuştur.

2.3 Antepfıstığı Hastalıkları

Dinç (1983), tarafından ülkemizde görülen Antepfıstığı hastalıklarını geniş kapsamlı olarak bildirilmiştir. Antepfıstığı hastalıklarını yaprak, meyve ve kök hastalıkları olarak gruplandırmıştır.

IPGRI (The International Plant Genetic Resources Institute) tarafından yayınlanan “Descriptors for Pistachio” kitabında, antepfıstığında 69 fungal etmenin gözlemlendiği, bunlardan 27 adedinin ise hastalık meydana getirdiği belirtilmektedir.

Tatlı vd. 1995 yılında GAP' ın devreye girmesi ile Pas (*Uromyces terebenthi*) Mildiyö (*Phylactinia gutta*) ve Kök çürüklüğü (*Nematospora coryli*, *Alternaria* sp.) Septoria yaprak ve meyve leke hastalığı (*Septoria pistacina*) gibi hastalıkların yaygın ve zararlı olduğunu bildirmişlerdir.

Danisti vd. (2001), antep fıstığı üzerinde çeşitli hastalıklar tespit edilmiş olup bunlardan bazıları önemli hasara sebep olmaktadır. Fungal hastalıkların listesi Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde fıstık yetiştiricileri tarafından belirlenmektedir. Antepfıstığında önemli hasara neden olan altı hastalık vardır. Bunlar; Septoria yaprak lekesine neden olan *Septoria pistaciarum*, Verticillium Solgunluğuna neden olan *Verticillium dahlia* Kleb., küllemeye neden olan *Phyllactinia angulata* (E. S. Salmon), kök ve kök çürüklüğü neden olan *Phytophthora* spp. ve *Fusarium equiset* (Cardo) Sacc.; stigmatomycosis'e sebep olan *Nematospora coryli* Peglion and *Aureobasidium pullulans* (deBary) G. Arnaud, Aspergillus Yanıklık Hastalığına sebep olan *Aspergillus niger* ve diğer *Aspergillus* spp. türleridir.

Konukoğlu vd. (2009), meyve kararmasına ilişkin yapmış oldukları çalışmada *Aspergillus niger*, *Aspergillus* sp. *Cladosporium* sp. *Ulocladium* sp. *Penicillium* sp.'nin Ohadi Siirt ve Uzun meyvelerinde kararmalara neden olduğunu belirlemişlerdir.

2.4 Antepfıstığında *Alternaria* Hastalıkları

Wasfy vd (1974), tarafından hastalık ilk olarak Mısır'da rapor edilmiştir. Michailides ve Morgan (1995) tarafından 1985'te Kaliforniya/A.B.D.'de, Swart ve Blodgett (1998) tarafından Güney Afrika'da ve Ash ve Lanoiselet (2001) tarafından Avustralya'da bildirilmiştir.

Rotem (1994), konidinin, 24 saat içinde konukçu üzerinde yerleşebilmekte, kolonize olmakta ve daha sonra sekonder konidi üretimini başlatmakta olduğunu ve konidilerin rüzgar aracılığıyla kolaylıkla yayılabildiğini bildirmiştir. *Alternaria* spp. konidilerinin varlığından dolayı kararan yapraklar, sezon sonuna doğru düştüğünü ve bahardaki primer enfeksiyonların ana kaynağını oluşturduğunu ve konidilerin kış

boyunca, toprakta, düşen yaprak üzerinde, dormant halde kalmakta olduğunu rapor etmiştir.

Michailides vd. (1995), antep fıstığında *Alternaria* sorunu 1985 yılında, Kaliforniya’da tespit edilmiş ve hastalık “*Alternaria late blight*” olarak isimlendirilmiştir.

Michailides vd. (1995), lentisel kaynaklı bu lezyonlar kabukta lekelenmelere ve endokarpın bozulmasına yol açabileceğini savunmuşlardır.

Michailides vd. (1993-1995), Kaliforniya’da antepfıstığında *Alternaria* yanıklığının bakır hidroksit ve bakır oksit ile başarılı bir şekilde kontrol edildiği bildirilmiştir. Benomyl ile *Alternaria* spp.’nin neden olduğu meyve kararmalarında azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı zamanda fungusitlerin yanlış kullanımı, doğru miktar ve konsantrasyonda uygulanmaması da etkili bir korumayı sağlayamadığını bildirmişlerdir. Bakır hidroksit ve benomyl, A.B.D.’de Antepfıstığında *Alternaria* yanıklığı’na karşı tescillenmiştir.

Michailides ve Morgan (1995), antep fıstığında *Alternaria* yanıklığının azoxystrobin ile de başarılı bir şekilde kontrol edilebildiğini rapor etmişlerdir. Ancak daha sonra Ma ve Michailides, (2004), bu fungusite karşı dirençli *Alternaria* izolatlarının varlığını bildirmişlerdir.

Prusky (1996), ise hasat sonrası depolama sırasında da meyve üzerinde *Alternaria* spp. belirtilerinin gelişebildiği bildirilmiştir. Böylece fungusun, konukçu üzerinde de latent durumda kalabildiği ortaya çıkmıştır.

Simmons (1996), *Alternaria* spp. türlerini konidi şekli ve büyüklüğüne göre farklı türler gruplandırmıştır.

Arie vd. (1997), Ascomycetes grubu funguslarda eşleşme tipi genlerinin PZR amplifikasyonu klonlanması üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Birçok türden eşleşme tipi genlerini elde etmek için PZR temelli yaklaşımlar rapor edilmiştir ve aseksüel türlerin de MAT taşıdığı belirlenmiştir.

Pryor vd. (1998), dört yıl boyunca muhafaza ettikleri kuru topraktan *Alternaria* spp. izole edebilmişlerdir.

Doster ve Michailides (1999), kabuktaki lekelerin enfeksiyonun bir ölçüsü olduğunu ve bu nedenle atılması gerektiğini savunmuşlardır. Fıstığın sert kabuğunda meydana gelen lekelerin büyüklüğü ve fazlalığı hastalık şiddetini gösterdiğini ve bu tür meyvelerde kalitenin düştüğünü rapor etmişlerdir.

Evans vd. (1999), *Alternaria* spp.'nin yaprak dökülmelerine, fıstık kalitesinde düşüşe, infekteli çekirdekte erken çatlama ve kabuklarda kararmalara yol açtığını bildirmişlerdir.

Doster ve Michailides (1999), meyve endokarpının etkilenmesinin, kabuk üzerinde patojen kaynaklı renk bozulmalarına ve erken çatlama durumunda ise çekirdeğin infekte olmasına yol açmakta olduğu bildirmiştir.

Kirnak vd. (1999), antep fıstığı, aşırı sulamayı tolere edemediği için, fazla sulama uygulamasının ağacın *Alternaria* spp. gibi fırsatçı patojenlere daha duyarlı hale gelmesine yol açtığını rapor etmiştir.

Arie vd. (2000), *Fusarium oxysporum* ve *Alternaria alternata* patojenik fungusların mating type genlerinin belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada, *A. alternata* primerlerinden amplifiye edilen iki DNA fragmentinin (AaFS3 ve AaM1-6) sekans analizini yapmışlardır. Bu analizler *MAT1-1* idiomorfunun (1906 bp) alfa kutusu motifinin proteini kodladığını ve *MAT1-2* idiomorfunun da (2220 bp) HMG (yüksek mobilite grup) kutusu motifinin proteini kodladığını göstermiştir.

Pryor ve Michailides (2001), fıstıklarda *Alternaria* geç yanıklığına neden olan *Alternaria* izolatlarının morfolojik, patojenik ve moleküler karakterizasyonu belirlemek için Kaliforniya'da beş farklı bahçeden infekteli fıstık dokularından *Alternaria* izolatlarını saflaştırmışlar ve denemeye aldıkları tüm izolatların koloni morfolojilerinin karakterizasyonlarını ve spor ölçümlerini yapmışlardır. İzolatların moleküler karakterizasyonunu belirlemek amacıyla PCR temelli metodlardan RAPD ve RFLP analizleri kullanmışlardır. Morfolojik özelliklere dayanarak, fıstıklardan izole edilen *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. arborescens* türlerinin *A. infectoria* türüne çok benzemesinden dolayı kesin bir tür ayırımına gidememişlerdir. Fakat *Alternaria infectoria* türünün izolatları ile yapılan RFLP verileri ve RAPD analizleri, *infectoria* türünün *alternata* türüne ait gen dizilerine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Ancak ITS baz dizi verilerini karşılaştırdıkları zaman *infectoria* türünün diğer türlerden farklı bir

filogenetiğe sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Pryor ve Michailides (2002), yüzey sterilizasyonuna tabi tutukları asimptomatik çiçek ve yaprak kısımlarından *Alternaria* spp. izole edebildiklerini rapor etmişlerdir. Böylece belirtiler gelişmeye başlamadan önce patojen varlığını ortadan kaldırmak için en etkin çözüm olarak fungusitler uygulanmaktadır. *Alternaria* spp.'nin ağaç bitkilerinde kimyasal kontrolü hakkında çeşitli raporlar bildirilmiştir.

Milgroom ve Peever (2002), patojene karşı uygun kontrol stratejilerinin geliştirilmesinde, patojen popülasyon yapısının bilinmesi, genetik ve patojenik varyasyonun ortaya çıkarılması, hastalık epidemiyolojisinin anlaşılmasının son derece önemli ve gerekli olduğunu savunmuşlardır.

Swart (2003), *Alternaria* konidilerinin antep fıstığı bahçelerinde kurulan spor tuzaklarına yıl boyunca yakalandığını tespit etmişlerdir.

Hong ve Pryor (2004), *Alternaria* spp.'nin böcekler veya mekanik yaralanmalar ile oluşan açıklıklardan bitki içerisine girebildikleri ve sekonder patojenler olarak enfeksiyonlara yol açtıklarını bildirmiştir.

Michailides ve Morgan (2004), doğru fungusit uygulaması yapılmaksızın bitki budamalarının *Alternaria* spp. patojenlerine giriş kapıları açtığını ve patojen kolonizasyonuna çeşitli çevresel faktörlerin de etkisi olduğunu savunmuşlardır.

Michailides ve Morgan (1995-2004), patojeni hem hastalıklı hem de sağlıklı yaprak ve meyve dokularından izole edilebilmişlerdir. *Alternaria* spp. endofit olmamakla beraber asimptomatik bitki dokusunda da hayat döngülerinin bir kısmını geçirebilmektedir. *Alternaria* spp. sağlıklı bitki dokusunda çevresel şartlar değişinceye ve bitki içerisinde çeşitli fizyolojik değişikliklerle duyarlı hale gelinceye kadar latent olarak hayatta kalabileceğini ve uygun şartlar varolunca patojenik olabileceğini bildirmişlerdir.

Ferguson vd. (2005), tarafından kuvvetli rüzgarların da genç ağaçlara zarar verdiği ve bu şekilde fırsatçı patojenlerin girişini kolaylaştırdığı tarafından rapor edilmiştir. Ayrıca, yeterli yaz sıcaklarının yaşanmadığı, 800 m'nin üstündeki yüksekliklerde, bitki, yaprak ve meyve enfeksiyonlarına hassas olduğunu rapor etmişlerdir.

Konukoğlu vd. (2009), tarafından Türkiye’de Antepfıstığında meyve kararmaları ve yanıklık şeklinde ortaya çıkan problemin *Alternaria* cinsine ait fungal patojenler tarafından meydana getirildiği bildirilmiş ve etmenlerin detaylı bir şekilde karakterize edilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışma 2013 yılında Haziran-Nisan ayları arasında Gaziantep Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü laboratuvarı ve Antep fıstığı Araştırma İstasyonu, Bitki Hastalıkları laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1.1 Fungus İzolatları

Bu çalışmada, Alternaria yanıklık hastalığına neden olan *Alternaria* spp, Ege ve Akdeniz Bölgesi'nden kültürü yapılan antep fıstığı (*P. vera*) ve yabani *Pistacia* türlerinden (*P. terebinthus*, *P. lentiscus*, *P. khinjuk*, *P. atlantica*, *P. mutica*) izole edilmiştir. Alternaria yanıklığı gösteren bitki örnekleri, kültürü yapılan antep fıstığı ve yabani antep fıstığının doğal olarak yetiştikleri (yabani türlerin bulundukları alanlardan) lokasyonlardan alınmıştır. Bitkinin meyve ve yaprak kısımlarından elde edilen *Alternaria* spp. izolatları bu çalışmada kullanılmıştır.

3.1.2 Fungus İzolasyonunda Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Fitopatoloji laboratuvarlarında kullanılan rutin araç-gereç ve ekipmanlar çalışmalarda kullanılmıştır. Fungus kültürlerinin hazırlanması, geliştirilmesi ve muhafazası işlemlerinde steril kabin (Bilser, Ankara), otoklav (Hirayama HV-50L), hassas terazi (Dikomsan, KD-TBC), mikrodalga fırın (Arçelik, Türkiye), inkübatör (Foc 225 IVelp Scientifica), buzdolabı (Profilo, Türkiye), ışık mikroskobu, fotoğraf makinası (Kodak EasyShare Z980 DigitalCamera), pens, steril özeler, bisturi, mezür, beher, erlen, PDA (Merck), PDB (Acumedia), antibiyotik (100 mg/L streptomisin sülfat) (Sigma), NaOCI ve Tween 20 (0,5 ml/L) için manyetik karıştırıcı (İsotex,

Almanya), Thoma lamı (İsolab), whatman kağıdı (Sigma), gliserol (Sigma), NaCl (Sigma), drierit (Sigma), otoklav (Hirayama HV-50L, Japonya), derin dondurucu (- 20°C) (Samsung, Türkiye) ve derin dondurucu (- 80°C) (Hettich Freezer, Almanya).

Moleküler analizlerde, derin dondurucu (- 20°C) (Samsung, Türkiye) ve derin dondurucu (- 80°C) (Hettich Freezer, Almanya), orbital çalkalayıcı (Nüve), havan ve havan eli, sıvı nitrojen, soğutmalı santrifüj (Hettich, Almanya), vorteks (İka, Genius 3, Almanya), Tris Base (Sigma), HCl (Sigma), NaCl (Sigma), SDS (Sigma), EDTA (Sigma), NaOH (Merck) kloroform (Merck), izoamil alkol (Merck), Etanol (%70 ve %95) (Sigma), ddH₂O, Glasiyel asetik asit (Sigma), DNA konsantrasyon cihazı (Nanodrop, Maestronano, A.B.D), PCR cihazı (Proflex, A.B.D), agaroz (Bioshop), agaroz jel elektroforezi (Cleaver, İngiltere), jel görüntüleme cihazı (Vilber Lourmat, Fransa), 1,5 ml'lik, 2 ml'lik ependorf, 0,2 ml'lik PCR tüpleri (Ependorf, Almanya), 1000 µl'lik, 100 µl'lik ve 10 µl'lik pipetör (Thermo) ve mikropipet uçları (Ependorf, Almanya), 10XTaq PCR bafır (abm), 25 mM MgCl₂ (abm), Taq DNA Polimeraz (abm), dNTP (100 mM, 25 µmol, dGTP, dATP, dCTP, dTTP) (Thermo), Primer (3'-5'), 6X Loading dye (abm), Etidyum bromür ve 100 bp DNA Ladder (abm, 500 ul) kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Arazi çalışmaları

Arazi çalışmaları, Ege ve Akdeniz Bölgesi'nden *Alternaria* yanıklık hastalığının başlangıç zamanı olan (erken dönem) Mayıs-Haziran ayları ve hastalığın ileri dönemleri olan (geç dönem) Ağustos-Eylül aylarında olmak üzere iki kez yapılmıştır. *Alternaria* yanıklığı gösteren bitki örnekleri, kültürü yapılan antep fıstığı ve yabani *Pistacia* türlerinin doğal olarak yetiştikleri (yabani türlerin bulundukları alanlardan) lokasyonlardan alınmıştır. Bu lokasyonlardan alınan meyve ve yaprak örnekleri Ege Bölgesi İzmir (Aliağa, Bergama, Dikili, Çeşme, Ödemiş, Beydağ, Kemer), Aydın (Yenipazar, Hacıköseler), Kütahya (Emet, Simav), Denizli (Güney, Hasköy), Manisa (Seledi, Demirci, Osmançalı, Karakılınçlı, Kozaklar, Küçükbelen, Ortaköy) illerinden, Akdeniz Bölgesi'nde ise Hatay (Merkez, İskenderun), Mersin (Gülнар, Erdemli, Aydıncık, Silifke, Mut), Antalya (Alanya, Gazipaşa), Kahramanmaraş (Pazarcık) illerinden temin edilmiştir. *Alternaria* ile bulaşık bitkilerin yaprak, ve

meyve dokularından örnek alınmak üzere seçilmiş ve kodlanarak örnekleme zarfları içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen şüpheli bitki doku örnekleri mümkün olduğu kadar kısa sürede değerlendirilmeye alınmıştır. 48 saat içinde patojen izolasyonları aşaması gerçekleştirilmeye çalışılmış, değerlendirilmesi yapılamayanlar ise patojen izolasyonu yapıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

3.2.2 Meyve ve Yapraktan *Alternaria* spp. İzolasyonu

Alternaria spp. patojen izolasyonu için, bitkinin *Alternaria* yanıklık belirtileri gösteren, hastalık etmeni ile bulaşık olduğundan şüphelenilen meyve ve yaprak kısımları kullanılmıştır.



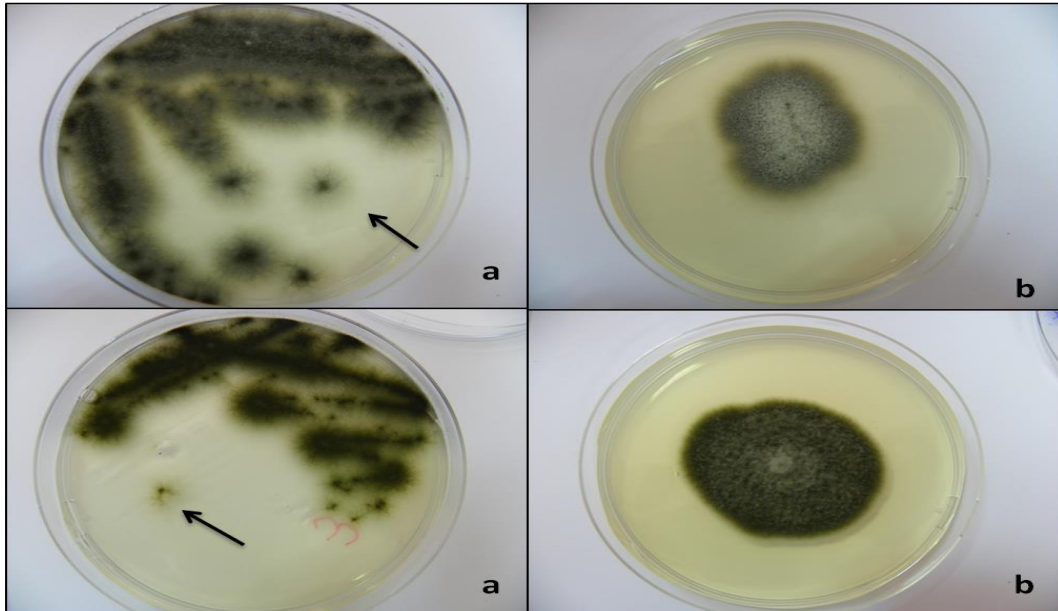
Şekil 3.1 *Alternaria* yanıklık belirtisi gösteren bitki kısımları.

Alternaria spp. türleri ile infekteli olduğu veya olabileceğinden şüphelenilen hastalıklı bitki örneklerinin, yarısı infekteli yarısı sağlam dokudan olacak şekilde 3-5 cm² büyüklüğünde doku parçaları kesilmiştir. Kesilen örnekleme materyali ilk olarak çeşme suyunda yıkanarak tozdan arındırılmış ve steril kabin içerisine alınmıştır. Daha sonra, örnekler yüzey sterilizasyonu için Tween-20 (1ml/l) eklenmiş %3'lik NaOCl çözeltisinde 5 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda sterilantın uzaklaştırılması için 3 kere sdH₂O ile durulama işlemi yapılmıştır (Pryor ve Michailidies, 2002). Örnekler steril kurutma kâğıtlarının arasına alınarak, kurutulmak üzere 1-1,5 saat boyunca steril kabin içerisinde bekletilmiştir. Kuruyan bitki örnekleri steril pens

yardımıyla alınarak her bir besi yerinde 3 adet olacak şekilde genel besi yeri olan PDA'ya ekilmiştir. Kültürler 23-25 °C sıcaklık ve beyaz floresan ışığın sağlandığı inkübatörlerde 3-5 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası koloni morfolojisi ve konidilerin özellikleri dikkate alınarak (Simmon,2007), *Alternaria* spp.'ye ait olduğu belirlenen farklı koloniler yeni bir PDA ortamına aktarılmıştır. 3-5 gün sonunda gelişen fungus kolonilerinde *Alternaria* spp. tek spor izolasyonları gerçekleştirilmiştir (Can vd., 2003; Dolar 2006).

3.2.3 *Alternaria* spp. Tek Spor İzolasyonu

Moleküler çalışmaların hassasiyeti *Alternaria* spp.'e ait tek spordan gelişen kolonilerin kullanılmasını gerektirmektedir. Bu amaçla spor oluşturmuş fungal kültür yüzeyinden öze ile alınan sporlar yeni bir PDA ortamına yayma yapılarak aktarılmış ve 24 saat 23±2 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen örnekler ışık mikroskopunda (x10) ve ters mikroskopta (x10) incelenerek tek spordan gelişen hifler işaretlenmiştir. Daha sonra steril bistüri yardımıyla, işaretlenen yerden küçük bir parça alınmış ve gelişmek üzere PDA ortamına aktarılmıştır. PDA ortamına alınan örnekler bir sonraki çalışma da kullanılmak üzere 23±2 °C'de inkübasyona bırakılmıştır (Can vd., 2003; Dolar 2006).



Şekil 3.2 Tek spordan geliştirilen *Alternaria* spp. koloni morfolojileri (a) Yayma yapılmış 2günlük *Alternaria* spp. kolonileri, (b) Tek spordan geliştirilen *Alternaria* spp. kolonisi.

3.2.4 *Alternaria* spp. İzolatlarının Muhafazası

Saf kültür olarak çoğaltılan örneklerin muhafazası için iki farklı yöntem uygulanmıştır. İlk yöntemde, 500 µl gliserol stok (Ek 2) içeren eppendorf tüplerine gelişen kolonilerin uç büyüme noktalarından, 3-5 küçük parça konularak -80 °C'de saklanmıştır. Diğer yöntemde ise, saf kültürler PDA ortamının üzerine yerleştirilmiş Whatman kâğıdında geliştirilmiştir. Bunun için gelişen örneklerden steril bistüri yardımıyla küçük bir parça alınıp, steril Whatman kâğıdı üzerine ekilmiş ve gelişmek üzere 23±2 °C'de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda üzerinde fungus gelişen Whatman kâğıdı steril pens yardımıyla ortamdaki çekilerek alınmış ve steril petri kaplarında kurutulmuştur. Kurutulan izolatlar steril kağıt zarfların içerisine konularak -20 °C'de saklanmıştır (Can vd., 2003; Dolar 2006).

3.2.5 Patojenisite Çalışmaları

Patojenisite çalışması için, Siirt ve Uzun çeşitlerine göre patojenlere karşı daha hassas olduğu saptanan Ohadi çeşidi kullanılmıştır (Konukoğlu vd., 2014). Patojenisite çalışmalarında yaprak orijinli izolatlar için yaprak, meyve orijinli izolatlar için meyve kullanılmıştır. İnokulasyonların yapılacağı yapraklar yaklaşık 5-8 cm çapında; herhangi bir simptom gözlenmeyen genç yapraklardan, meyveler ise; üzerinde herhangi bir lezyon bulunmayan meyvelerden seçilmiştir. İnokulasyon için 10-15 günlük PDA da geliştirilmiş *Alternaria* spp. kültürlerinden spor süspansiyonları hazırlanmış ve 1x10⁶konidi/ml konsantrasyondaki patojen konidi süspansiyonları kullanılmıştır. Konidi süspansiyonu, meyve ve yaprak yüzeyleri iyice ıslanıncaya kadar (her bir plastik kaba ortalama 30 ml spor süspansiyonu) bir el spreyi ile püskürtülmüştür. Kontrol grubu meyvelerine ise 30 ml steril saf su verilmiştir. Bu çalışmada inokulasyonlar 5 tekrarlı olacak şekilde 2 kez deneme kurulmuştur. İnokulasyonu takiben yaprak ve meyveler plastik kapaklı kaplara yerleştirilmiş ve 24°C'de 12 saat aydınlık/12 saat karanlık periyodunun uygulandığı iklimlendirme odaları veya kabinlerinde 7 gün inkübasyona bırakılmıştır.

7 günlük ve 14 günlük inkübasyon sonrası toplamda iki kez deneme materyallerinde oluşan lezyon boyutları ölçülmüş ve değerlendirme için 1-4 skalası (1: lezyon yok, 2: lezyonlar<1 mm, 3:1<lezyonlar<5mm, 4: lezyonlar>5 mm) kullanılmıştır (Zhou vd., 1999). Skala değerleri sonucu hastalık şiddeti Tawsend-Heuberger formülü

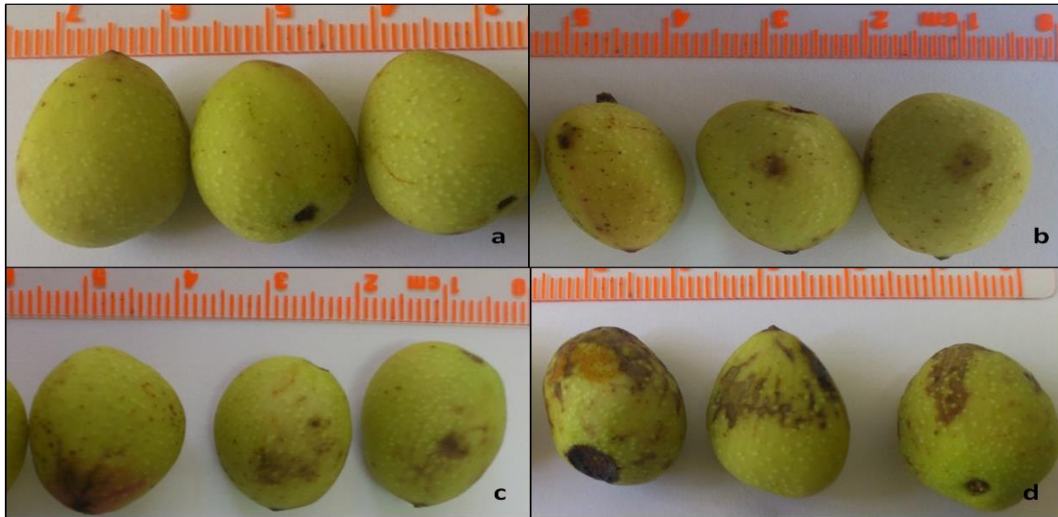
kullanılarak hesaplanmıştır (Karman, 1971). Böylece elde edilen izolatların patojen olup/olmadığı testlenmiştir.

$$\% \text{ Hastalık şiddeti} = \Sigma \frac{(\text{Skala değeri} \times \text{Bitki sayısı})}{\text{Toplam Bitki Sayısı} \times \text{En Yüksek Skala Değeri}} \times 100$$

(Townsend ve Heuberger, 1943).



Şekil 3.3 Yaprak ve Ohadi meyvesinde patojenisite çalışması.



Şekil 3.4 Patojenisite testindeki meyvelerin (1-4 skalasına göre) değerlendirilmesi a) 1 skolası: lezyon yok, sağlıklı meyve (kontrol grubu), b) 2 skolası: hastalık belirtileri <1mm, c) 3 skolası: hastalık belirtileri 1<lezyonlar<5mm, d) hastalık belirtileri >5 mm.

3.2.6 Koch' Postülatının Uygulanması

Alternaria spp. izolatlarının patojenik açıdan doğrulanması amacıyla Koch postülatı uygulanmıştır. Buna göre patojenisite çalışması sonucu gelişen lezyonlu kısımlar tekrar PDA ortamına ekilerek, lezyonlu kısımların *Alternaria* spp. tarafından meydana getirilmiş olup/olmadığı testlenmiştir.

3.2.7 İstatistikî Analizler

Tesadüf Parseli Deneme Desenine göre kurulan patojenisite çalışması sonucu Townsend ve Heuberger formülü kullanılarak elde edilen hastalık şiddeti verileriyle, JMP programı kullanılarak istatistiksel yapılmıştır.

3.2.8 *Alternaria* spp. Moleküler Analizleri

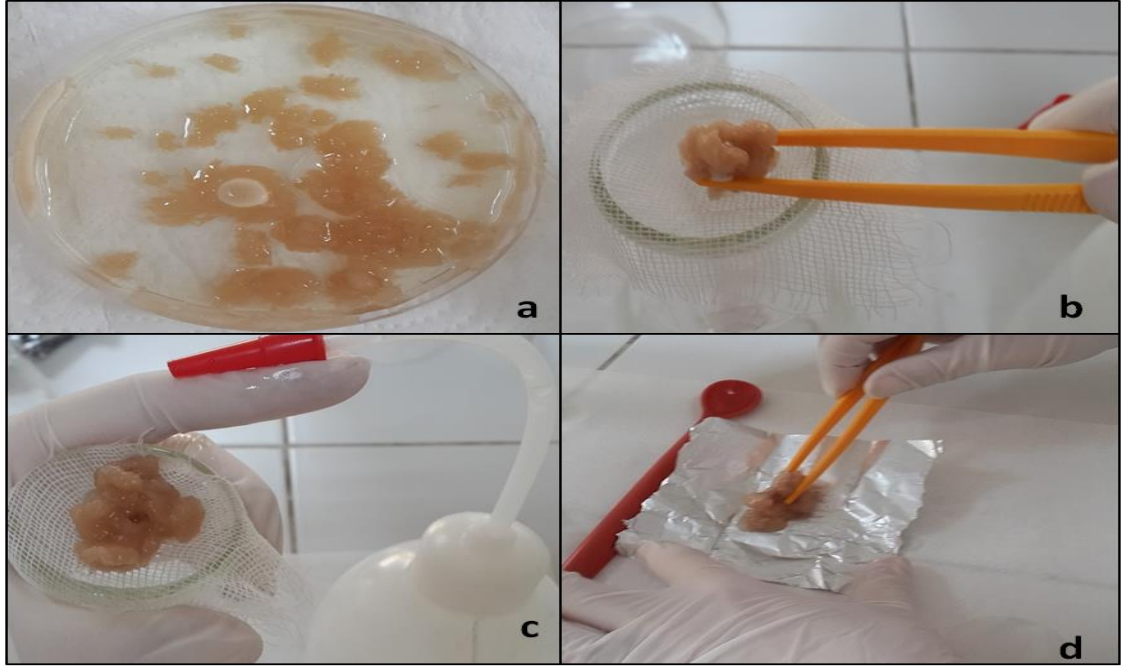
Eşeysiz olarak çoğalan *Alternaria* spp. türlerinde eşey tipini belirlemek amacıyla *Mat1.1* ve *Mat1.2* lokus bölgesi çalışılmıştır. Örneklemeye yapılan alanlarda her iki eşey tipinin de varlığı/yokluğunu göstermek amaçlı eşleşme tipi analizleri yapılmıştır. Bu bölgeler PCR ile çoğaltılmış ve elektroforez işleminden sonra eşey tipi dağılımları ortaya çıkarılmıştır. Moleküler çalışmalarda Ege ve Akdeniz Bölgesi'nden izole edilen 104 *Alternaria* spp. izolatu kullanılmıştır.

3.2.8.1 DNA İzolasyonu

DNA izolasyon çalışmalarında yabani türler (*P. terebinthus*, *P. lentiscus*, *P. khinjuk*, *P. atlantica*) ve *P. vera* orijinli olmak üzere toplamda 104 *Alternaria* spp. DNA izolatu elde edilmiştir. Bu isolatlar, sıvı PDB (Merck-Almanya) besiyeri kullanılarak horizontal çalkalayıcı üzerinde, 75 rpm'de, 3-5 gün süre ile karanlık koşullarda kültüre alınmıştır ve süre sonunda gelişen fungus hifleri kullanılmıştır (Peever vd., 1999). Yeterince gelişen miselyumlar havan ve havan-eli yardımıyla sıvı azot eklenerek ezilmiştir. Çalışılan örneklerin tamamında manuel DNA izolasyonu yapılmıştır (Dobinson vd., 1995).

DNA izolasyonu aşamasında kullanılan metot Dobinson vd. (1995) ve Peveer vd. (1999)'dan modifiye edilmiştir. Ezilmiş dokular lizis ile muamele edilmiş ve 3 dakika vortekslenmiştir. Daha sonra 2 defa tampon çözelti 24:1 oranında

kloroform:izoamil alkol eklenerek 4°C'de 5 dakika 10000 rpm'de santifüj edilmiştir. Bu işlem sonrasında, üst faz (süpernatant) 2 defa soğuk % 95'lik etanolle (2 hacim) çöktürülmüş ve 4°C'de 5 dakika 14000 rpm'de santifüj aşaması tekrarlanmıştır. Pellet % 70'lik etanolle yıkanmış ve etanolü uzaklaştırmak için eppendorflar içerisindeki DNA, yaklaşık 45 dakika kurumaya bırakılmıştır. Son olarak DNA, 1XTE (Ek 3) içinde çözündürülmüş ve PCR analizlerinde kullanıncaya kadar -20 °C' de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.5 DNA izolasyonu hazırlık aşaması (a) PDB ortamında hif gelişimi sağlanmış *Alternaria* spp. izolatu, (b)-(c) *Alternaria* spp. izolatının PDB ortamından uzaklaştırılması amacıyla steril su ile yıkanması, (d) İzolatın sıvı azotta dondurulmadan önce alüminyum folyo ile paketlenmesi.

DNA izolasyonu sonucunda elde edilen DNA'ların konsantrasyonları Nanodrop cihazı kullanılarak ölçülmüş ve 20 ng/μl konsantrasyonundan fazla çıkan konsantrasyonlar için gerekli sulandırılmalar yapılmıştır.

3.2.8.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu Analizleri

Moleküler karakterizasyon için Ege ve Akdeniz Bölgesi'nin çeşitli lokasyonlarından elde edilen *Alternaria* spp. DNA izolatları kullanılmıştır.

3.2.8.3 PZR Protokolü

PZR protokolü Stewart vd. (2011)'e göre modifiye edilmiştir. Fungal DNA amplifikasyonu için fungustan elde edilen 1µl DNA, 25 µl reaksiyon hacmine tamamlanmıştır. Reaksiyon karışımı 1×PZR buffer, MgCl₂ (1.5 mM), dNTP (0.2mM), Primer F (0,4mM), Primer R (0,4mM), Taq DNA Polymeraz (1.0 U) ve dH₂O' den oluşmaktadır.

3.2.8.4 PZR Amplifikasyonu

Alternaria spp. moleküler çalışmaları için öncelikle PZR optimizasyon koşulları belirlenmiştir (Stewart vd., 2011) Buna göre; DNA ilk 5 dk için 95 °C'de denatüre edilmiştir. Daha sonra 35 PZR döngüsü; her döngüde denatürasyon için 95 °C'de 20s, primer bağlanması için 58°C' de 30s, uzama için 72 °C ' de 30s. ayarlanmıştır. En son 72 °C' de 10 dk bir döngü izlenmiştir

3.2.8.5. Eşleşme Tipi (Mating Type) Analizleri

Eşleşme tipi genleri *Mat1.1* için yaklaşık 600bp: Almat L ve AA-mat1-867, *Mat1.2* için yaklaşık 800bp: AA-mat2-169 ve Asm1-8 primerleri ve Mat tipi bilinen pozitif kontroller kullanılmıştır. PZR sonucu DNA bant durumlarını görüntülemek için agaroz jel elektroforezi uygulanmıştır.

Tablo 3.1 Çalışmada kullanılmış olan primerlerin dizileri ve bant büyüklükleri (Steward, 2011).

Bölge	Primer	Primer Dizisi
Mat1.1.	ALMAT-L	5'-GCAAGATTCTAGGCCCAACG-3'
	AA_Mat1_867	5'-TGCGGTGGGGAGTAGTGT-3'
Mat1.2.	AA_Mat2_169	5'-CAGCACCCCGACTACAAGTAT-3'
	ASM1-8	5'-GGTCGTGAGTCGTGATCG-3'

3.2.8.6 Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi için, %1.5 oranında hazırlanan agaroz jel (Ek 4), 1X TAE (Tris, Asetik asit, EDTA, Ek 5'de verilmiştir.) solüsyonunda eritilmiştir. Agaroz jel içerisinde DNA'nın UV ışık altında görülmesi için 25 µl etidium bromür (0.5 µg/ml)

eklenmiştir. Bu çözelti 55-60 °C'ye kadar soğuduktan sonra jel tankına dökülmüş ve jel polimerizasyonu sonrası taraklar çıkarılmış ve jel 1xTAE tamponu içeren elektroforez tankına alınmıştır. Jelin ilk kuyucuğuna markır (1 kb veya 50 bç DNA) diğer kuyucuklara ise, 4 µl yükleme tamponu ile karıştırılmış 25 µl PZR ürünü yüklenmiştir. Elektroforez işlemi %1,5 agaroz jelde, 90V/cm'de 1,5 saat süre ile uygulanmıştır.

3.2.8.7 Bantların Görüntülenmesi

Elektroforez işlemlerinden sonra oluşan bantlar, bant sayısı ve büyüklüğü dikkate alınarak UV transimüllatör, bilgisayarlı jel dokümantasyon ve görüntüleme sisteminde görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır. Jeldeki bant büyüklükleri dikkate alınarak *MAT* (Eşleşme Tipi) tayinleri yapılmıştır (Arie vd., 2000).

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Arazi Çalışmaları

Yapılan bu tez kapsamında Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde yetişen *Pistacia* türlerinde *Alternaria* spp.'nin neden olduğu Alternaria yanıklık hastalığı semptomları tespit edilmiştir. Patojen izolasyonları 'Erken Dönem' Mayıs – Haziran 2013 ve 'Geç Dönem' Ağustos – Eylül 2013 tarihleri arasından Tablo 4.1'de belirtilen lokasyonlardan toplanan örneklerden gerçekleştirilmiştir. Patojenisite analizleri için Mayıs – Haziran 2013 tarihlerinde yapılan sörveyler sonucu elde edilen izolatlar kullanılmış ve patojenisite denemesi Mayıs-Kasım 2013 tarihleri arasında kurulmuştur. Moleküler analizler için her iki dönemden de elde edilen izolatlar kullanılmış ve Şubat-Nisan 2014 tarihleri arasında çalışılmıştır. Ege ve Akdeniz Bölgeleri'nden toplanan toplam lezyonlu örnek sayısı ile bu lezyonların laboratuarda işlenmesiyle elde edilen *Alternaria* spp. izolatu sayısı yüzde (%) olarak kıyaslanmıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.1 Ege ve Akdeniz Bölgeleri'nde örnekleme yapılan lokasyonlar ve toplam izolat sayısı

İl	Lokasyon	Konukçu	Örnek Sayısı
İzmir	Aliağa, Bergama,, Dikili,	<i>P. vera</i>	36
	Çeşme, Ödemiş, Beydağ,	<i>P.terebinthus</i>	
	Kemer	<i>P.atlantica</i>	
		<i>P.lentiscus</i>	
Aydın	Sultahnhisar, Yenipazar,	<i>P.vera</i>	14
	Hacıköşeler	<i>P.terebinthus</i>	
Kütahya	Emet,Simav	<i>P.vera</i>	11
		<i>P.terebinthus</i>	
Manisa	Selendi, Demirci, Merkez	<i>P.vera</i>	45
		<i>P.terebinthus</i>	
		<i>P.atlantica</i>	
		<i>P.khinjuk</i>	
Denizli	Güney, Sarayköy	<i>P.vera</i>	11
		<i>P.terebinthus</i>	
		<i>P.atlantica</i>	
Hatay	Merkez, İskenderun	<i>P.terebinthus</i>	5
Mersin	Gülнар, Mut, Silifke, Aydıncık,	<i>P.vera</i>	31
	Erdemli	<i>P.terebinthus</i>	
		<i>P.mutica</i>	
Kahramanmaraş	Pazarcık	<i>P.vera</i>	10
		<i>P.terebinthus</i>	
		<i>P.khinjuk</i>	
Antalya	Gaziler, Alanya	<i>P.terebinthus</i>	13
TOPLAM İZOLAT SAYISI			176

Tablo 4.2 Toplanan bitki örneği sayısının, *Alternaria* spp. izolatlarına oranı (%).

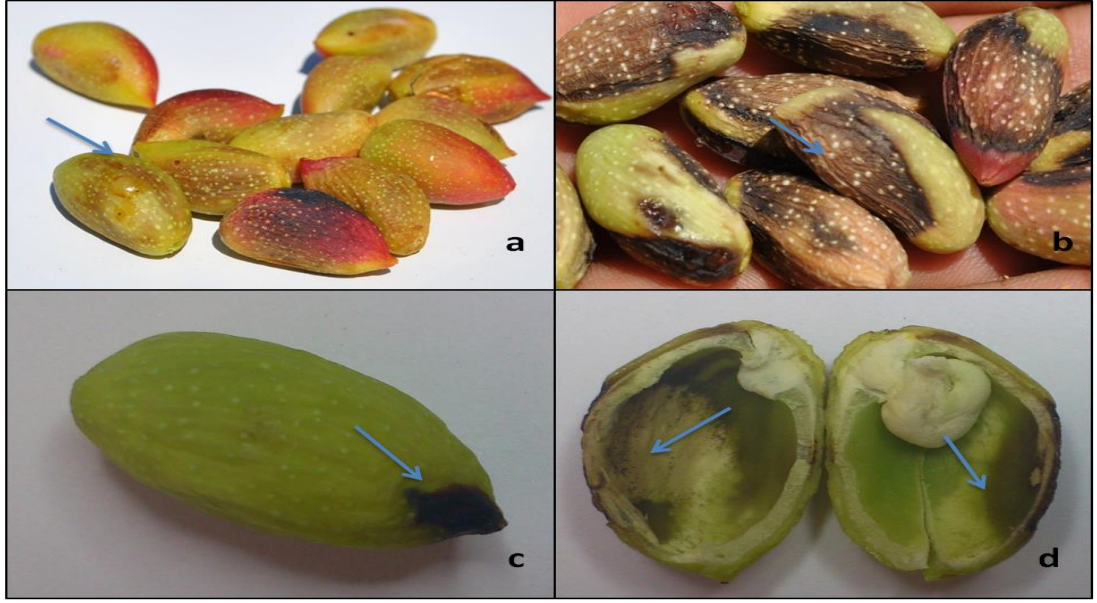
Lokalizasyonlar	Bitki Örneği Sayısı	<i>Alternaria</i> spp.	Oran
İzmir	45	36	80
Aydın	31	14	45,6
Manisa	64	45	70,31
Kütahya	13	11	84,61
Denizli	11	11	100
K.maraş	64	10	15,62
Antalya	19	13	68,42
Mersin	91	13	14,28
Hatay	13	5	38,46
Toplam	351	158	45,01

Pistacia sp. yetişen alanlardan özellikle konsantrik halkalı leke veya kahveden siyaha kadar değişen farklı şekillerde nekrozlu doku gösteren kültür ve yabani fıstıkların yaprak ve meyve örnekleri toplanmıştır.

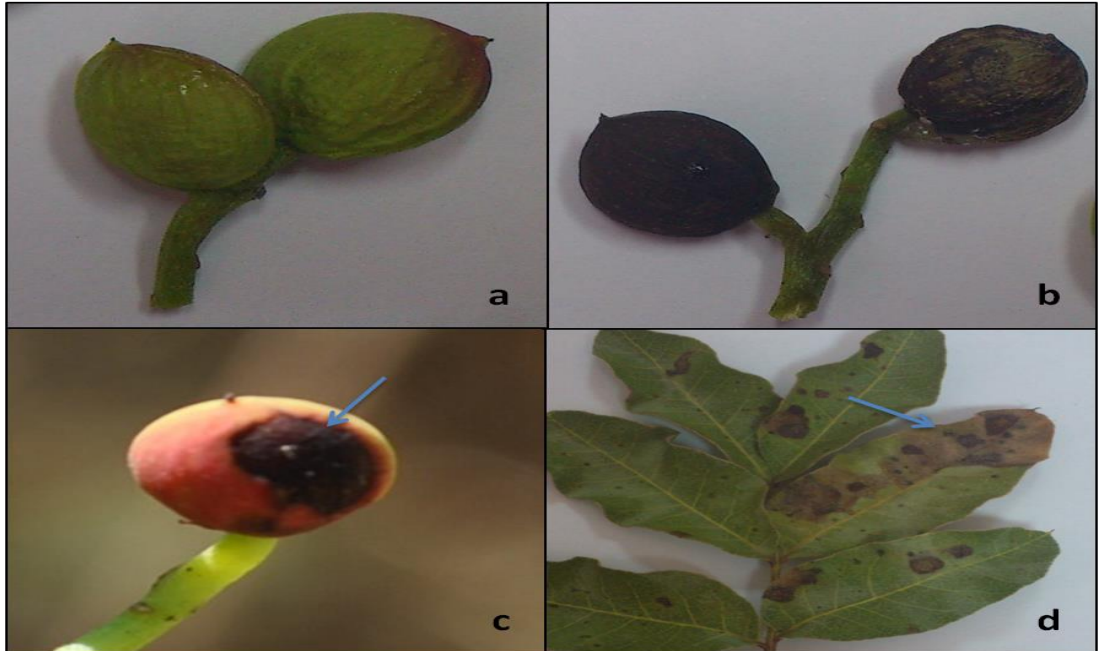
Hastalıklı *Pistacia* sp. meyvelerinde simptomolojik olarak başlangıçta kahverengileşme şeklinde ortaya çıkan belirtiler daha sonra meyve yüzeyinde siyahlaşmalara çöküntülere ve zararlara neden olmuştur. Perikarpta kırmızı kabukta meydana gelen belirtilerin yanı sıra kararmalar sert kabukta da görülmüştür (Şekil 4.1).

Türlere göre bu belirtiler farklılık göstermiştir. Antepfıstığı çeşitlerinde; kararmalar uç kısımdan ve kenarlardan çatlama şeklinde, Melengiç, Buttum, Atlantik sakızı, Mastik sakızında ise; dairesel ve meyvenin orta kısımlarında başlamış ve sonradan tüm meyve yüzeyini kaplamıştır (Şekil 4.2).

Hastalık ikincil infeksiyonlarını geç dönemde (Ağustos – Eylül) oluşturmuştur. Bu dönemde meyvelerde perikarpta lezyonlar ve yine ilerleyen dönemde meyve içinde de (endokarp) kararmalar oluşmuş, bu kararmalar acımtırak tat oluşumuna neden olmuştur.



Şekil 4.1 *P. vera*'da görülen *Alternaria* yanıklık symptom çeşitleri a) başlangıçta kahverengileşme şeklinde ortaya çıkan symptomlar, b) meyve yüzeyinde siyahlaşmalar ve çöküntüler, c) uç kısımdan başlayan kararmalar, d) endokarpta görülen kararmalar.



Şekil 4.2 *Pistacia* spp.'de *Alternaria* yanıklık symptomları. a) Sağlıklı Buttum meyveleri-Manisa, b) Buttum meyvesinin tamamını kaplamış symptomlar-Manisa, c) Melengiç üzerinde dairesel ve meyvenin orta kısımlarında başlamış symptom-Hatay, d) Melengiç yaprağı üzerindeki symptomlar-İzmir.

Hastalık etmeni bitkinin meyvesi dışında, salkım sapı ve yapraklarında da enfeksiyona neden olmuştur. (Şekil 4.3; Şekil 4.4).



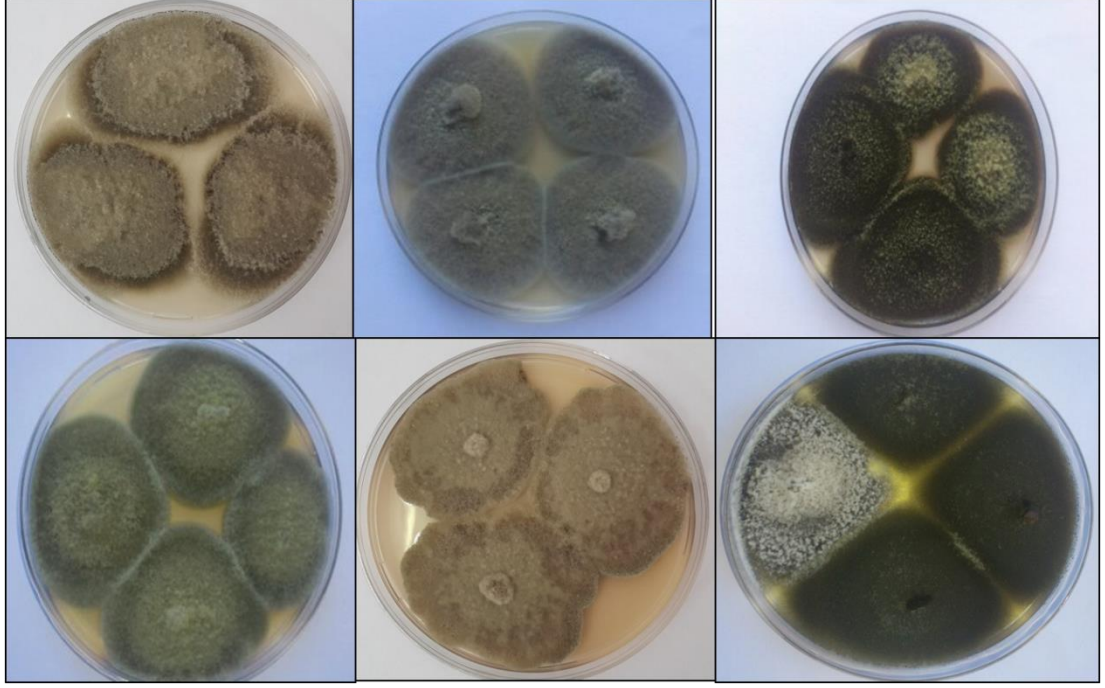
Şekil 4.3 Hastalık semptomu gösteren *Pistacia* spp. kısımları (a) Antepfıstığı salkım sapı lezyonu Mut-Mersin'den; (b) Menengiç meyve lezyonu İskenderun-Hatay'dan; (c) Menengiç salkım sapı lezyonu Selendi-Manisa'dan; (d) Antepfıstığı meyve lezyonu Demirci-Manisa'dan.



Şekil 4.4 Ege Bölgesi izolatlarından *Alternaria* yanıklığı gösteren yapraklar.

4.2. *Alternaria* Yanıklık Hastalığı Etmeninin İzolasyonu

Alternaria spp. ile enfekteli olduğu tespit edilmiş bitki örnekleri 3 gün içinde izole edilmiştir. PDA besi yerinde bakteri gelişimini engellemek amaçlı streptomisin ve amfisilin antibiyotikleri kullanılmıştır. Besi yerinde zeytin yeşili, havai hifli koyu grimsi ve siyaha yakın renklere koloniler gelişmiştir (Şekil 4.5).



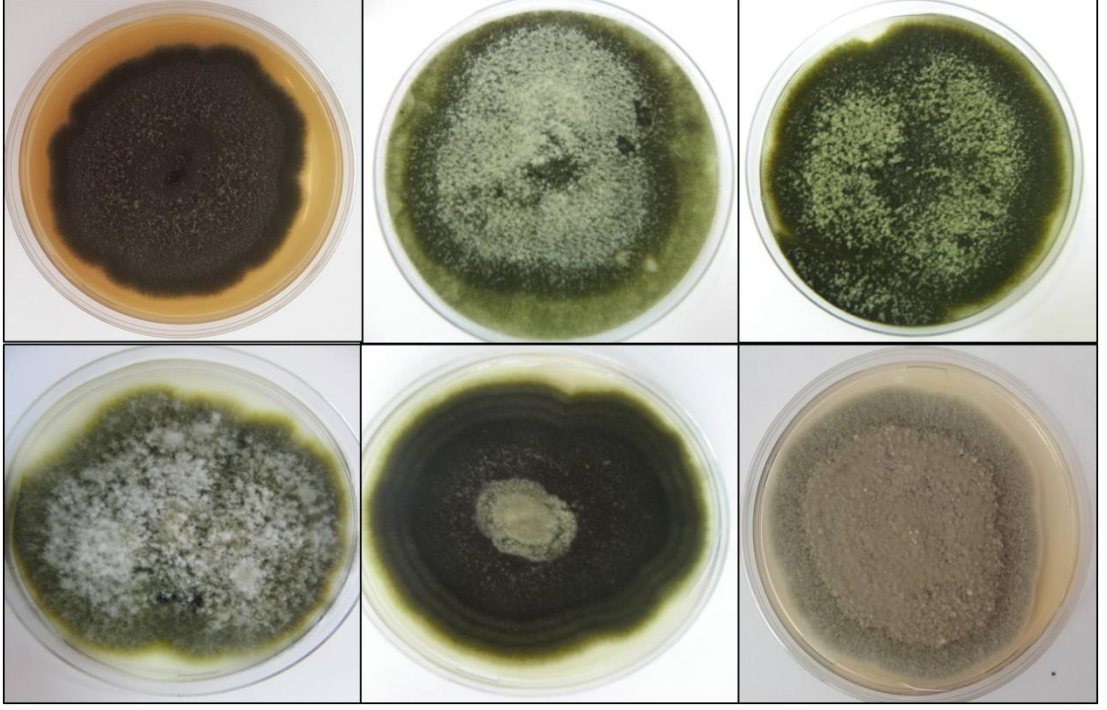
Şekil 4.5 *Alternaria* spp. izolatlarının PDA ortamındaki koloni morfolojileri (5 günlük koloniler).

4.3 Fungal kültürlerde *Alternaria* spp.'nin Morfolojik ve Mikroskopik Teşhisi

Hastalık symptomu gösteren yabani ve kültür Antepfıstığı meyvelerinde yapılan izolasyonlarda gelişen fungal kolonilerin makroskopik ve mikroskopik incelemeleri sonucu *Alternaria* spp. izolatları belirlenmiştir. *Alternaria* spp. morfolojik tanısı, türlere ait koloni rengi, konodiofor büyüklüğü, konodi büyüklüğü, spor büyüklüğü, spor yapısı gibi özelliklerine göre yapılmıştır (Simmon,2007).

Alternaria spp. hızlı büyümüş ve zeytini yeşil, siyah-grimsi, koyu kahverengi renklere koloniler oluşturmuştur. Bir kısmında koloniye saran ince beyaz bir halka

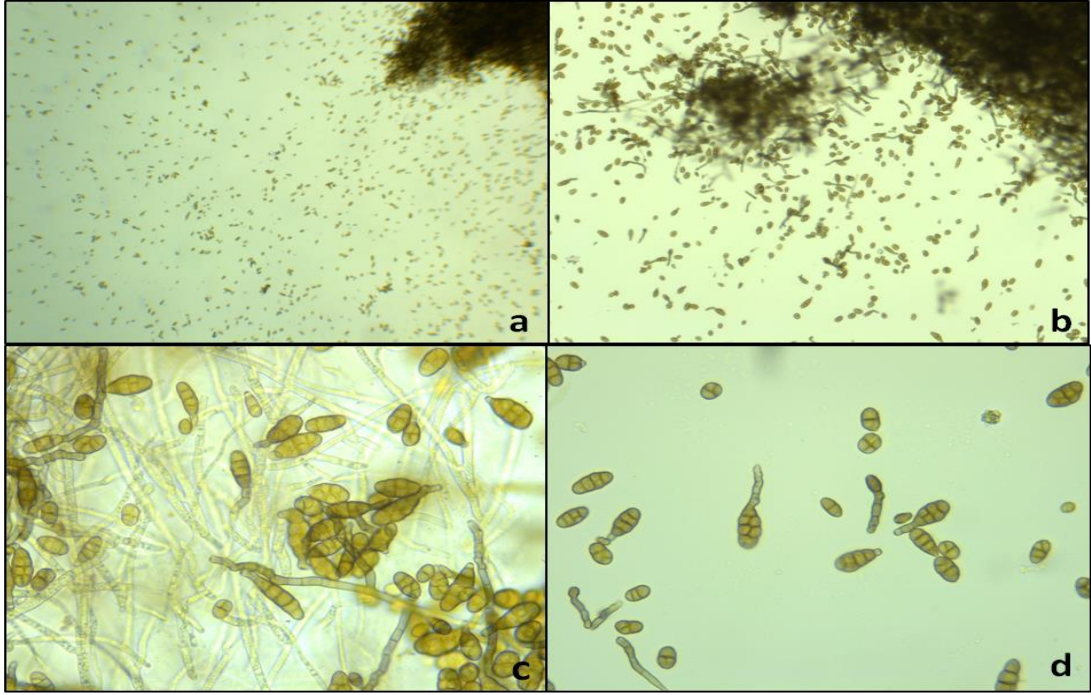
bulunur. Havai hiflerinin üzeri pamuğumsu yapıda bir morfolojiye sahiptir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 *Alternaria* spp. kolonilerinin petri görüntüleri(7 günlük koloniler).

Mikroskobik olarak çok hücreli konidileri (dictyoconidia) akropetal dallanma (blastocatenate) göstermiştir. Bu dallanma noktalarından kısa veya uzun konidiyoforlar üretilmektedirler.

Alternaria spp. konidileri zincirlenmiş durumda yoğun olarak görülmüş ve dağınık bir şekilde dallanmıştır ve tipik olarak küçük olup bir ucu yumru olan sopaya benzemektedir. Genel spor şekli eliptik, en az 30 µm uzunluğunda ve ince duvarlı ve bazı türlerde tepe kısmı konik yapıda olup enine ve boyuna septaları vardır. Kolonilerin mikroskobik olarak incelenmesi sonucu koyu renkli ve septalı olan hifleri ve konidiyoforlarının ise septalı, koyu renkli basit ya da demet oluşturmuş olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9).



Şekil 4.7 *Alternaria* spp. kolonilerinin ışık mikroskopundaki görüntüleri: a) x4'te konidiyum görüntüsü, b) x10'da konidiyum yapılarının görüntüsü, c) x40'ta konidiyum ve hifler, d) Farklı olgunluktaki enine-boyuna bölmeli konidiyum yapısı



Şekil 4.8 Farklı olgunluktaki *Alternaria* spp. konidileri (x40).



Şekil 4.9 Işık mikroskobunda *Alternaria* spp. konidi ve hif yapıları a) dallanmış konidiler (x10), b) olgunlaşmış *Alternaria* konidileri (x40), c)-d) hif yapıları (x40).

4.4. Patojenisite Çalışmaları

Patojenite çalışmalarında, sörveyler esnasında *Alternaria* türleri ile bulaşık olduğundan şüphe edilen yabani ve kültür fıstıklarının meyve, yaprak ve yaprak sapı kısımlarından yapılan izolasyonlar sonucunda 176 farklı *Alternaria* spp. izolatu elde edilmiştir. Bu izolatların 164 adedi patojenisite çalışmasında kullanılmıştır. Patojenisite çalışması için, Siirt ve Uzun çeşitlerine göre patojenlere karşı daha hassas olduğu saptanan Ohadi çeşidi kullanılmıştır (Konukoğlu ve ark., 2014). Çalışmada kullanılan patojen *Alternaria* spp. izolatları Tablo 4.3'de gösterildiği gibi belirlenmiştir.

Tablo 4.3. Patojenisitede kullanılan *Alternaria* spp. izolatları

İL	Lokasyon	Konukçu	İzolat No:	Hastalık Şid.(%)	Ort.
Hatay	Merkez	<i>P.terebinthus</i>	31-02	56,27	45,2
	Merkez	<i>P.terebinthus</i>	31-03	46,39	
	İskenderun	<i>P.terebinthus</i>	31-05	20	
	İskenderun	<i>P.terebinthus</i>	31-08	60,13	
	İskenderun	<i>P.terebinthus</i>	31-09	41,49	
Mersin	Gülnar	<i>P.terebinthus</i>	33-04	75,56	54,3
	Erdemli	<i>P.terebinthus</i>	33-10	48,81	
	Erdemli	<i>P.terebinthus</i>	33-11	55,98	
	Taşucu	<i>P.terebinthus</i>	33-12	42,65	
	Mut	<i>P.vera</i>	33-20/2	44,45	
	Aydıncık	<i>P.vera</i>	33-28	39,59	
	Tarsus	<i>P.vera</i>	33-34	73,17	
K.Maraş	Pazarcık	<i>P.vera</i>	46-02/1	43,06	44,6
	Pazarcık	<i>P.vera</i>	46-02/2	51,285	
	Pazarcık	<i>P.vera</i>	46-02/3	60,28	
	Pazarcık	<i>P.vera</i>	46-06/1	38,10	
	Pazarcık	<i>P.vera</i>	46-06/3	30,19	
İzmir	Aliağa	<i>P.vera</i>	35-01	44,45	53,3
	Aliağa	<i>P.atlantica</i>	35-02	73,34	
	Dikili	<i>P.terebinthus</i>	35-04	54,69	
	Aliağa	<i>P.terebinthus</i>	35-05	37,27	
	Bergama	<i>P.atlantica</i>	35-08	80	
	Bergama	<i>P.atlantica</i>	35-10	56,83	
	Aliağa	<i>P.vera</i>	35-12	40,87	
	Aliağa	<i>P.vera</i>	35-13 (Y)	58,51	
	Aliağa	<i>P.atlantica</i>	35-14	63,34	
	Dikili	<i>P.vera</i>	35-15	47,56	
	Aliağa	<i>P.atlantica</i>	35-16/1	52,25	
	Aliağa	<i>P.atlantica</i>	35-16/2	76,51	
	Aliağa	<i>P.atlantica</i>	35-17	57,78	
	Aliağa	<i>P.atlantica</i>	35-18	67,78	
	Çeşme	<i>P.atlantica</i>	35-20	74,79	
	Çeşme	<i>P.atlantica</i>	35-20/1	36,67	
	Çeşme	<i>P.atlantica</i>	35-21	47,7	
	Çeşme	<i>P.lentiscus</i>	35-22	41,11	
	Ödemiş	<i>P.lentiscus</i>	35-23	60	
	Ödemiş	<i>P.vera</i>	35-27	54,17	
	Ödemiş	<i>P.terebinthus</i>	35-28	40	
	Çeşme	<i>P.lentiscus</i>	35-34	55,90	
	Çeşme	<i>P.lentiscus</i>	35-35	51,11	
	Çeşme	<i>P.lentiscus</i>	35-36	40,87	
	Beydağ	<i>P.terebinthus</i>	35-37(Meyve)	51,12	
	Beydağ	<i>P.terebinthus</i>	35-37(Yaprak)	64,15	
	Beydağ	<i>P.terebinthus</i>	35-37(Y.sapı)	55,16	
	Kemer	<i>P.terebinthus</i>	35-38	53,89	
	Kemer	<i>P.terebinthus</i>	35-38/1	23,01	
	Kemer	<i>P.terebinthus</i>	35-39	51,11	
	Kemer	<i>P.terebinthus</i>	35-40	63,34	
	Kemer	<i>P.terebinthus</i>	35-41	54,17	
	Kemer	<i>P.terebinthus</i>	35-43	55,48	
	Kemer	<i>P.terebinthus</i>	35-44	44,45	
	Kemer	<i>P.lentiscus</i>	35-45	52,14	
	Çeşme	<i>P.lentiscus</i>	35-45 (Y)	36,59	

Tablo 4.3 Patojenisitede kullanılan *Alternaria* spp. izolatları (devamı)

Manisa	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	45-01/1	44,44	51,9
	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	45-01/2	45,64	
	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	45-01/3	61,12	
	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	45-01/4	50,84	
	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	45-03	61,54	
	Selendi	<i>P.vera</i>	45-05	59,53	
	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	45-06	70,17	
	Demirci	<i>P.vera</i>	45-13/1	43,33	
	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	45-14/1	60	
	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	45-14/2	57,69	
	Demirci	<i>P.vera</i>	45-16	47,78	
	Demirci	<i>P.vera</i>	45-19	38,89	
	Selendi	<i>P.vera</i>	45-22	36,67	
	Demirci	<i>P.vera</i>	45-23	54,36	
	Selendi	<i>P.vera</i>	45-25/1	80	
	Selendi	<i>P.vera</i>	45-25/2	48,41	
	Selendi	<i>P.vera</i>	45-26/1	61,62	
	Selendi	<i>P.atlantica</i>	45-27/1	34,61	
	Selendi	<i>P.atlantica</i>	45-27/2	62,64	
	Selendi	<i>P.vera</i>	45-29	39,23	
	Selendi	<i>P.vera</i>	45-29/2	69,05	
	Demirci	<i>P.terebinthus</i>	45-33	65,56	
	Demirci	<i>P.terebinthus</i>	45-33/2	44,17	
	Merkez/Yunt	<i>P.vera</i>	45-37	48,89	
	Merkez/Yunt	<i>P.vera</i>	45-38/2	59,53	
	Merkez/Yunt	<i>P.vera</i>	45-41(Atipik)	52,86	
	Merkez/Yunt	<i>P.vera</i>	45-41/1	55,16	
	Merkez/Yunt	<i>P.khinjuk</i>	45-42	67,78	
	Merkez/Yunt	<i>P.vera</i>	45-43	27,78	
	Merkez/Yunt	<i>P.vera</i>	45-45	36,03	
	Merkez/Yunt	<i>P.atlantica</i>	45-46	52,15	
	Merkez/Yunt	<i>P.atlantica</i>	46-46/1	53,33	
	Merkez/Yunt	<i>P.vera</i>	45-48	54,87	
	Merkez/Yunt	<i>P.vera</i>	45-48/1	45,56	
	Merkez/Yunt	<i>P.vera</i>	45-48/2	52,22	
	Merkez/Yunt	<i>P.vera</i>	45-50	30,43	
	Merkez/Yunt	<i>P.atlantica</i>	45-53	39,17	
	Merkez/Yunt	<i>P.atlantica</i>	45-56	31,59	
	Merkez/Yunt	<i>P.atlantica</i>	45-57	56,17	
	Merkez/Yunt	<i>P.vera</i>	45-58	68,89	
	Merkez/Yunt	<i>P.atlantica</i>	45-60	53,17	
	Demirci	<i>P.terebinthus</i>	45-64(Y)	56,67	
Kütahya	Simav	<i>P.vera</i>	43-03	66,67	55,7
	Simav	<i>P.vera</i>	43-04	78,89	
	Simav	<i>P.vera</i>	43-05	31,19	
	Emet	<i>P.vera</i>	43-07	51,79	
	Emet	<i>P.vera</i>	43-09	60,61	
	Emet	<i>P.vera</i>	43-10/1	59,13	
	Emet	<i>P.vera</i>	43-10/2	68,4	
	Emet	<i>P.vera</i>	43-11	35,82	
	Emet	<i>P.vera</i>	43-12	65,08	
	Emet	<i>P.terebinthus</i>	43-13	39,68	

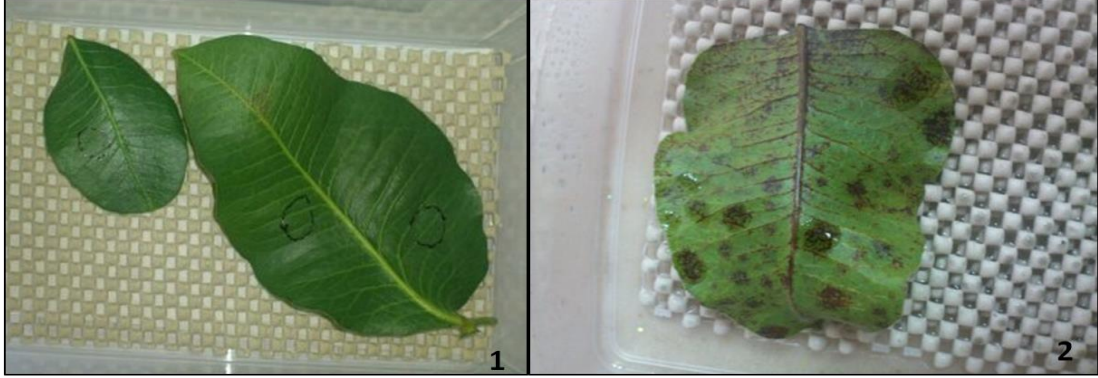
Tablo 4.3 Patojenisitede kullanılan *Alternaria* spp. izolatları (devamı)

Aydın	Sultanhisar	<i>P.vera</i>	09-09	67,72	55,4
	Yenipazar	<i>P.vera</i>	09-13	85,19	
	Yenipazar	<i>P.vera</i>	09-14/1	31,11	
	Yenipazar	<i>P.vera</i>	09-14/3	44,96	
	Yenipazar	<i>P.vera</i>	09-17/1	61,52	
	Yenipazar	<i>P.vera</i>	09-17/2	53,29	
	Yenipazar	<i>P.terebinthus</i>	09-23/1	42,23	
	Yenipazar	<i>P.terebinthus</i>	09-23/2	35,56	
	Yenipazar	<i>P.terebinthus</i>	09-24	41,11	
	Yenipazar	<i>P.vera</i>	09-26(Ysapı)	92,31	
	Hazıköseler	<i>P.vera</i>	09-27	65,80	
	Hacıköseler	<i>P.vera</i>	09-28	56,19	
	Hacıköseler	<i>P.vera</i>	09-29	51,11	
	Hacıköseler	<i>P.terebinthus</i>	09-31	48,34	
Denizli	Güney	<i>P.vera</i>	20-01	51,12	52,7
	Güney	<i>P.vera</i>	20-03	22,22	
	Güney	<i>P.vera</i>	20-05	45,56	
	Güney	<i>P.terebinthus</i>	20-06	46,67	
	Güney	<i>P.terebinthus</i>	20-06/1	50,77	
	Güney	<i>P.terebinthus</i>	20-06/2	44,53	
	Güney	<i>P.terebinthus</i>	20-07	64,69	
	Sarayköy	<i>P.atlantica</i>	20-08	72,23	
	Güney	<i>P.vera</i>	20-11	76,67	

Patojenite testi için PDA besi ortamında geliştirilen 10-15 günlük *Alternaria* spp. kültürlerinden elde edilen patojen spor süspansiyonu ($10^6 \times$ konidi/ml) kullanılmıştır. Konidi süspansiyonu, meyve ve yaprak yüzeyleri iyice ıslanıncaya kadar (30 ml spor süspansiyonu) bir el spreyi ile püskürtülmüştür. Kontrol grubu meyvelerine ise 30 ml steril saf su verilmiştir. *Alternaria* sporları Ohadi meyvesi ve yapraklarına inokule edilmiştir. Kontrol gruplarında herhangi bir enfeksiyon gözlenmezken, *Alternaria* spp. izolatlarının inokule edildiği yaprak ve meyvelerin enfekte olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçları inokulasyondan 7 gün ve 14 gün sonra alınmıştır. 7 ve 14. günlerde lezyon boyutları 1-4 skalasına göre ölçülerek (Zhou vd., 1999) hastalık şiddetleri Tawsend-Heuberger formülü ile hesaplanmış ve bir takım veriler elde edilmiştir (Karman, 1971). Böylece elde edilen izolatların patojen olduğu testlenmiştir.

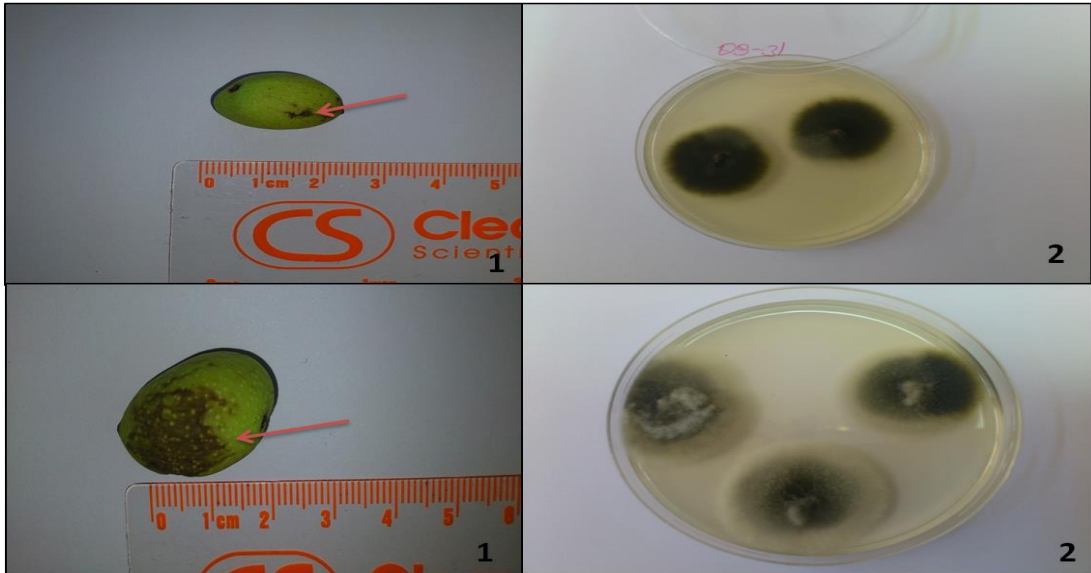
Skala değerleri sonucu hastalık şiddeti Tawsend-Heuberger formülü kullanılarak hesaplanmış ve istatistiki analizleri JMP programı kullanılarak yapılmıştır. Patojenisite testlerine giren tüm izolatların (%) hastalık şiddetleri farklı bulunmuştur.

Aynı zamanda meyvelerden izole edilen *Alternaria* spp. izolatları yapraklara, yapraklardan elde edilenler ise meyvelere verilmiştir. Sonuç olarak yaprak izolatları meyveyi infekte etmiş, meyveden elde edilen izolatlar ise yaprağı infekte etmiştir (Şekil 4.10).



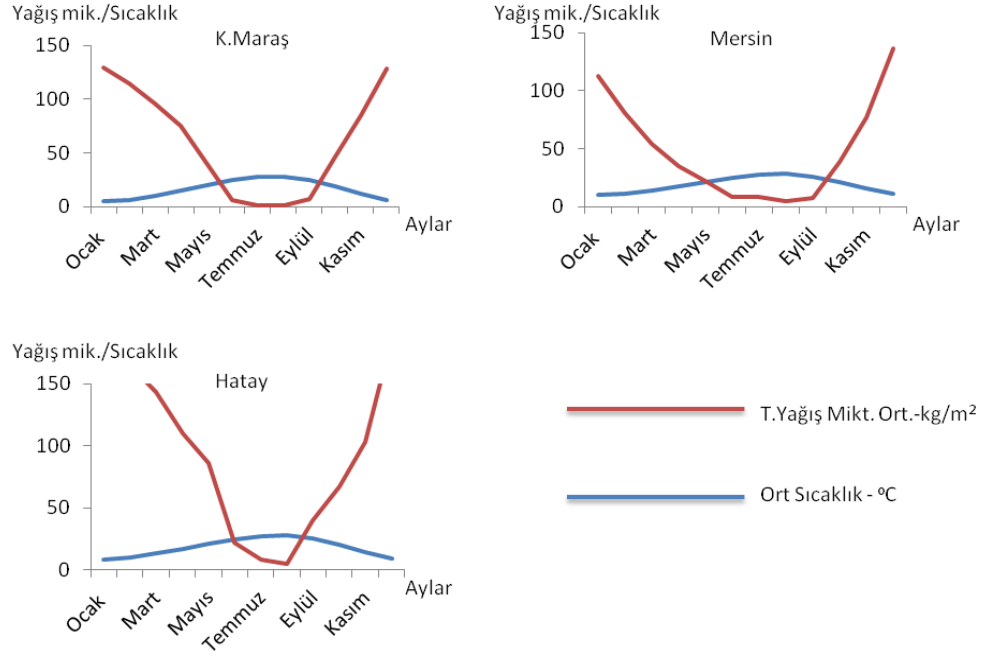
Şekil 4.10 Patojenisite testindeki meyve izolatlarının yapraklarda oluşturduğu lezyonlar

Alternaria spp. izolatlarının patojenik açıdan doğrulanması amacıyla Koch postulatı uygulanmıştır. Buna göre patojenisite çalışması sonucu gelişen lezyonlu kısımlar tekrar PDA ortamına ekilerek, lezyonlu kısımların *Alternaria* spp. tarafından meydana getirilmiş olduğu doğrulanmıştır (Şekil 4.11).

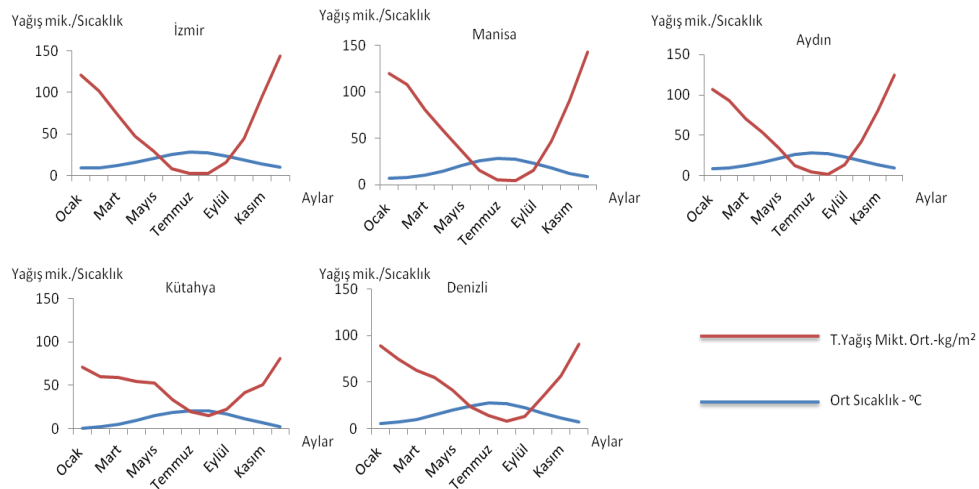


Şekil 4.11 Koch' Postülatı uygulanması (1) patojenisite sonucu lezyonlu meyve görüntüleri, (2) lezyonlu bölgelerden kesilen parçaların PDA ortamı üzerine ekilmiş görüntüsü.

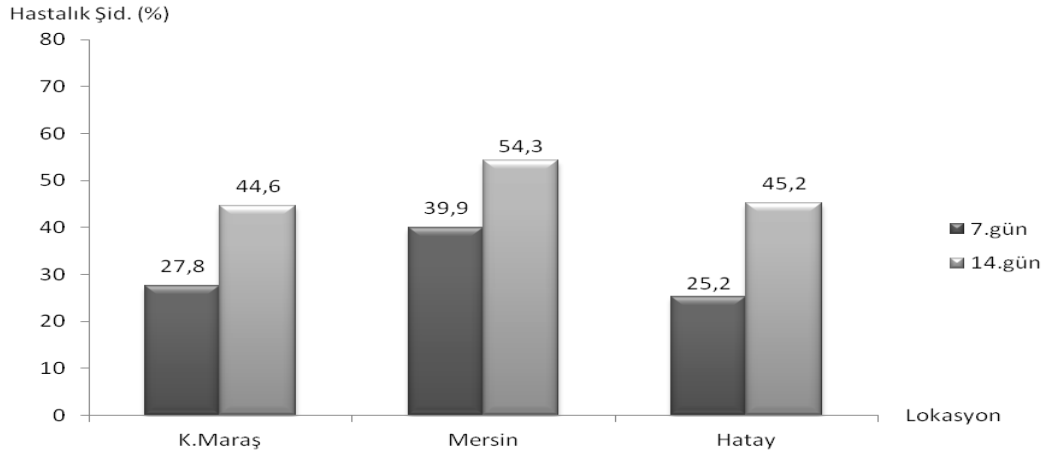
Pistacia spp. hastalık durumu, bahçelerde bulunan çeşit, rakım, rüzgar, başta yağış rejimi ve sıcaklık olmak üzere iklim şartlarına bağlı olarak dönemsel ve bölgesel farklılıklar göstermiştir.



Şekil 4.12 Akdeniz Bölgesi uzun yıllar yağış miktarı ve ortalama sıcaklık grafiği (1952-2013).

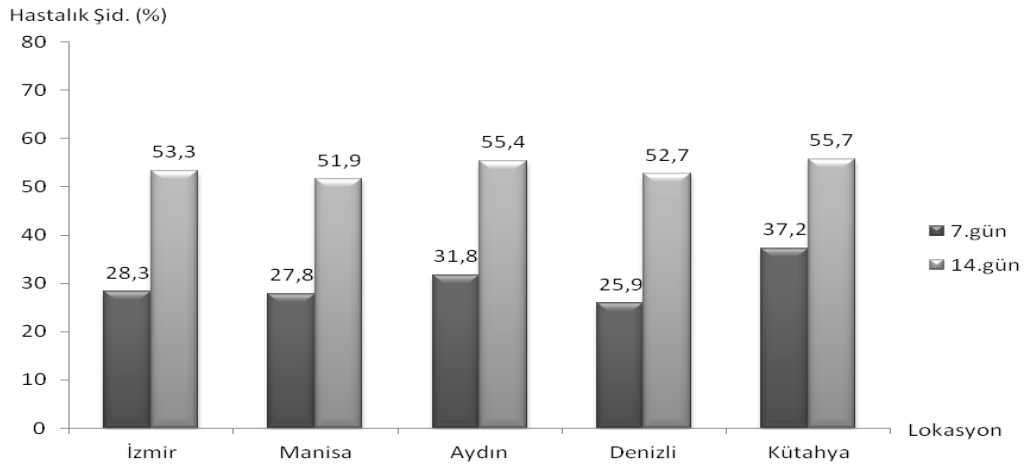


Şekil 4.13 Ege Bölgesi uzun yıllar yağış miktarı ve ortalama sıcaklık grafiği (1952-2013).



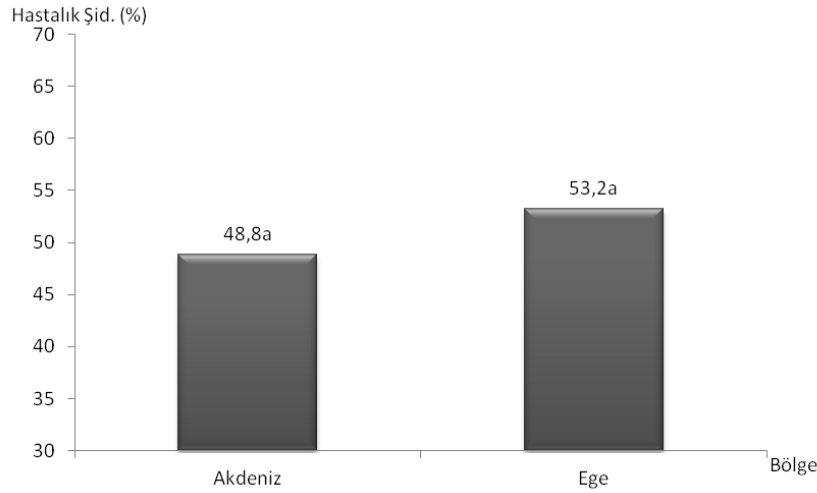
Şekil 4.14 Akdeniz Bölgesi lokasyonları 7 ve 14.gün Hastalık Şiddeti Ortalamaları

Akdeniz Bölgesi'nden elde edilen *Alternaria* spp. izolatlarının 7. gün hastalık şiddeti (%) değerlerinde Şekil 4.14'te de görüldüğü gibi bölge içindeki lokasyonlar bazında kıyaslama yapıldığında en yüksek hastalık şiddeti Mersin (% 39,9) lokasyonunda görülmüştür. Kahramanmaraş (% 27,8) ve Hatay (%25,2) lokasyonlarındaki 7. gün hastalık şiddeti değerlerinin ise birbirine yakın olduğu görülmüştür. Yine bu lokasyonların 14.gün hastalık şiddetlerine bakıldığında , 7. gün değerlerindeki lokasyonların en yüksek hastalık şiddeti sıralaması bakımından paralellik gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek hastalık şiddetinin Mersin'e (% 54,3) ait olduğu, diğer iki lokasyonun hastalık şiddetlerinin birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir.



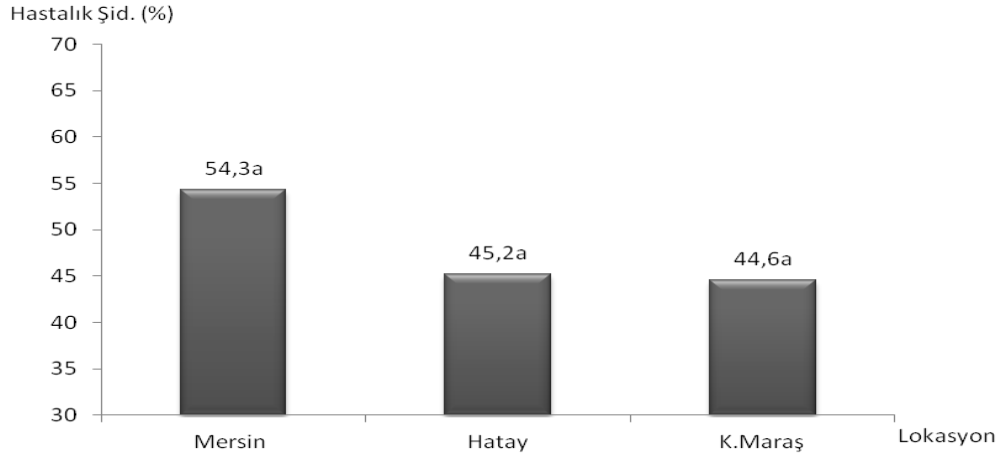
Şekil 4.15 Ege Bölgesi lokasyonları 7 ve 14.gün Hastalık Şiddeti Ortalamaları

Ege Bölgesi'nden elde edilen *Alternaria* spp. izolatlarının ise 7. gün hastalık şiddeti (%) değerlerinde Şekil 4.15'te de görüldüğü gibi bölge içindeki lokasyonlar bazında kıyaslama yapıldığında en yüksek hastalık şiddeti Kütahya (% 55,7) ve Aydın (% 55,4) lokasyonlarında birbirine yakın olduğu görülmüştür. Diğer lokasyonlarda ise bu oran İzmir (% 53,3), Denizli (% 52,7) ve Manisa (% 51,7) şeklindedir. Yine bu lokasyonların 14.gün hastalık şiddetlerine bakıldığında, 7. gün değerlerindeki lokasyonların en yüksek hastalık şiddeti sıralaması bakımından paralellik gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek hastalık şiddetinin % 55,7 'lük bir değerle Kütahya'ya ait olduğu, diğer lokasyonların 14.gün hastalık şiddetleri ise sırasıyla Aydın (% 55,4), İzmir (%53,3), Denizli (% 52,7) ve Manisa (%51,9) olduğu tespit edilmiştir.



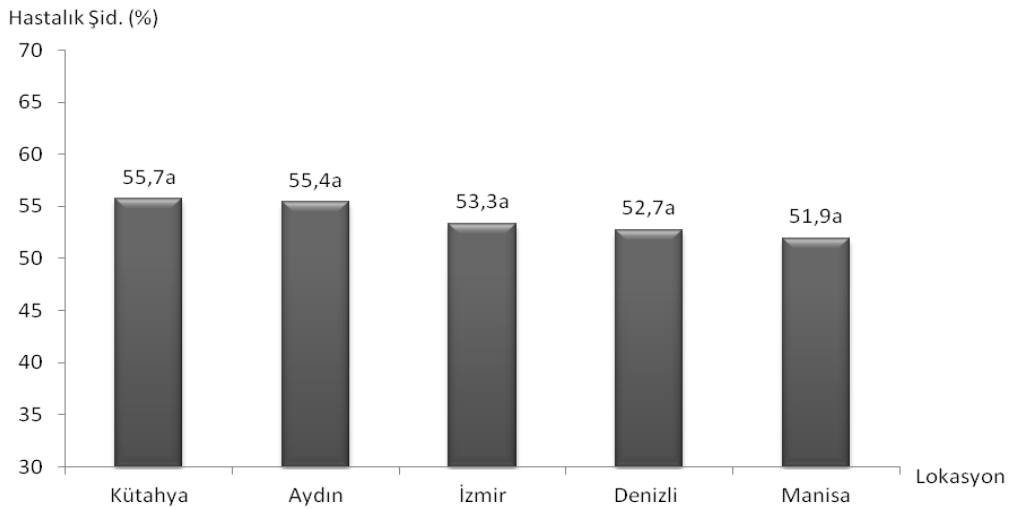
Şekil 4.16 Akdeniz ve Ege Bölgeleri'nde *Alternaria* yanıklık hastalığı şiddetinin (%) kıyaslaması Barlar üzerinde yer alan harfler istatistiksel analiz sonuçlarını ifade etmektedir ($p>0,05$ -[a]).

Rakım ve konukçu ayrımı gözetmeksizin Ege ve Akdeniz Bölgeleri arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel açıdan bir fark görülememiş ve Ege Bölgesi'nin hastalık şiddeti ortalaması % 53,2 ile daha yüksek, Akdeniz Bölgesi ortalaması ise % 48,8 olarak bulunmuştur.



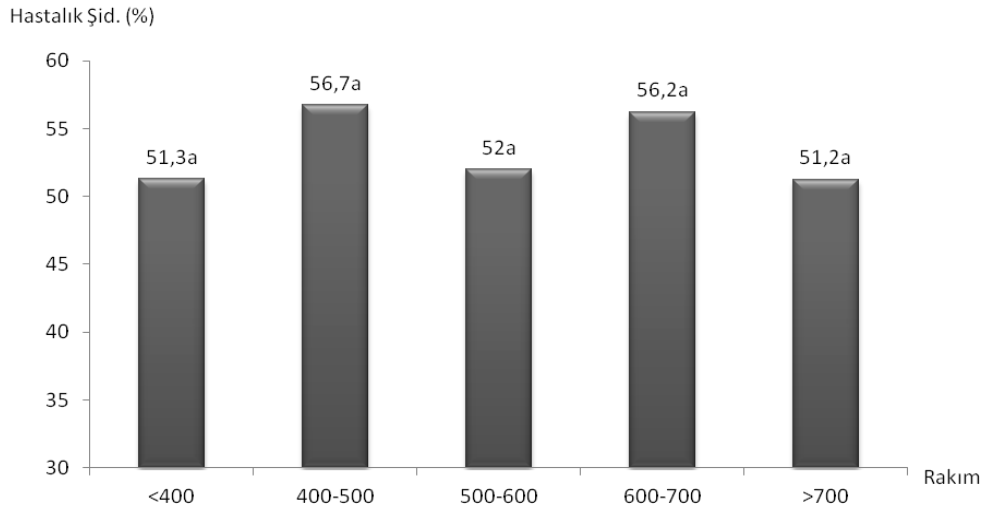
Şekil 4.17 Akdeniz B.'nden toplanan *Pistacia* spp.'de hastalık şiddeti oranları (%). Barlar üzerinde yer alan harfler istatistiksel analiz sonuçlarını ifade etmektedir ($p>0,05$ -[a]).

Pistacia türleri ülkemiz şartlarında farklı iklim koşullarında yetişebilmektedir. Rakım, tür ve çeşit farkı gözetmeksizin, Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde yetişen *Pistacia* sp. türlerinden hastalık örnekleri alınmış ve (şekil 4.13, şekil 4.14)'deki gibi gruplandırılmıştır. Buna göre farklı lokasyonlar ile hastalık şiddetleri ortalamaları arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark görülmemiştir. Fakat Akdeniz Bölgesi illerindeki *Pistacia* sp. türlerinde, Mersin'in hastalık şiddeti %54,3 değeri ile, Hatay ve Kahramanmaraş'tan daha yüksek olduğu belirlenmiştir.



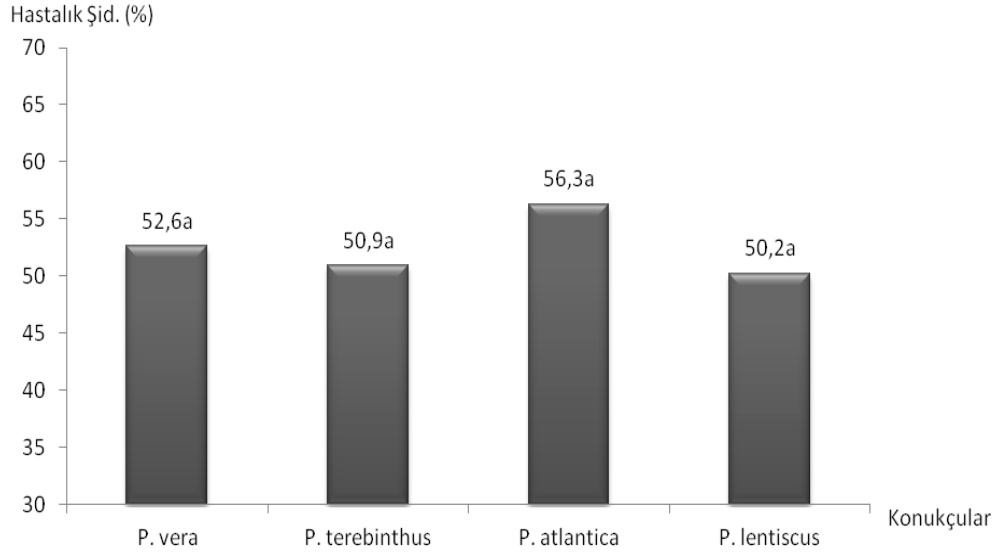
Şekil 4.18 Ege B.'ndeki toplanan *Pistacia* spp.'de hastalık şiddeti oranları (%). Barlar üzerinde yer alan harfler istatistiksel analiz sonuçlarını ifade etmektedir ($p>0,05$ -[a]).

Aynı şekilde rakım ve konukçu ayrımı gözetmeksizin yapılan istatistiksel analizde, Ege Bölgesi illeri hastalık şiddetleri ortalamaları arasında herhangi bir fark görülmemiştir. Bununla birlikte Aydın ve Kütahya illerinde yetişen *Pistacia* türlerinde hastalık şiddetleri diğer illerde yetişenlerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hastalık şiddeti en yüksek olan loasyon % 55,7 ile Kütahya, en düşük olan lokasyon ise % 51.9 ile Manisa olarak bulunmuştur.



Şekil 4.19 Farklı yüksekliklerde yetişen *Pistacia* türlerinde hastalık şiddeti oranları (%). Barlar üzerinde yer alan harfler istatistiksel analiz sonuçlarını ifade etmektedir ($p>0,05$ -[a]).

Pistacia türleri ülkemiz şartlarında çok farklı yüksekliklerde rahatlıkla yetişebilmektedir. Bu çalışma kapsamında tür ve çeşit farkı gözetmeksizin, deniz kenarından 981 m. rakıma kadar yetişen *Pistacia* türlerinden *Alternaria* yanıklık hastalığı örnekleri alınmıştır. Şekil 4.19'deki gibi gruplandırılmıştır. Buna göre farklı yükselti grupları ile hastalık şiddetleri ortalamaları arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark görülmemiştir.



Şekil 4.20 Konukçularına göre hastalık şiddeti kıyaslaması (%) grafiği. Barlar üzerinde yer alan harfler istatistiksel analiz sonuçlarını ifade etmektedir ($p>0,05$ -[a]).

Lokasyon ve rakım ayrımı gözetmeksizin *P. vera*, *P. terebinthus*, *P. lentiscus* ve *P. atlantica* konukçularından elde edilen *Alternaria* spp. izolatları ile yapılan hastalık şiddeti hesaplamaları sonucu konukçu-hastalık şiddeti arasında istatistiksel açıdan bir fark görülememiştir. Şekil 4.20'te belirtildiği gibi tüm konukçular arasındaki hastalık şiddetleri ortalamasında *P. atlantica*' % 56,3 ile en yüksek, *P. lentiscus* ise % 50,2 ile en düşük ortalama olarak bulunmuştur.

4.5 *Alternaria* spp. İzolatlarının Eşleşme Tipi Analizleri

Alternaria cinsine giren fungusların teşhislerinde morfolojik karakterizasyon tek başına yeterli olmadığından moleküler yöntemlere başvurulmuştur (Pryor ve Michailidies, 2002). Moleküler analizlerde toplamda 98 *Alternaria* spp. izolatu kullanılmıştır (Tablo 4.4).

Bu tez çalışmasında eşleşme tipi dağılımlarını belirlemek için *MAT* analizleri gerçekleştirilmiştir. Böylece, elde edilen izolatlarda eşleşme tipi dağılımlarının moleküler yöntemlerle belirlenerek, Ege ve Akdeniz Bölgeleri'ndeki *Alternaria* spp.'nin eşleşme tipi açısından varyasyon değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu çalışma ile *Pistacia* türlerinde meyve kararmalarına neden olan etmenin patojenik karakterizasyonları ve eşleşme tipi dağılımları ortaya çıkarılmıştır.

Tablo 4.4 Moleküler analizlerde kullanılan izolatların eşleşme tipi dağılım listesi.

İL	Lokasyon	Konukçu	ToplanmaDönemi	İzolat No:	Eşleşme Tipi
Mersin	Gülнар	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	33-04	Mat1.1
	Erdemli	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	33-11	Mat1.1
	Aydıncık	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	33-28	Mat1.1
	Aydıncık	<i>P.vera</i>	Geç Dönem	33-07-GY	Mat1.1
	Aydıncık	<i>P.vera</i>	Geç Dönem	33-13GY/1	Mat1.1
	Aydıncık	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	33-15-GY	Mat1.2
	Aydıncık	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	33-25GY/1	Mat1.1
	Silifke	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	33-26-GY	Mat1.1
	Mut	<i>P.vera</i>	Geç Dönem	33-35-GY	Mat1.1
	Mut	<i>P.vera</i>	Geç Dönem	33-36-GY	Mat1.1
	Mut	<i>P.vera</i>	Geç Dönem	33-43-G	Mat1.2
	Mut	<i>P.vera</i>	Geç Dönem	33-49GY/3	Mat1.1
	Mut	<i>P.vera</i>	Geç Dönem	33-64-GY	Mat1.1
	Mut	<i>P.mutica</i>	Geç Dönem	33-74GY/1	Mat1.1
	Gülнар	<i>P.vera</i>	Geç Dönem	33-91-GY	Mat1.1
Antalya	Alanya	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-04-GY	Mat1.2
	Alanya	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-05-GY	Mat1.2
	Alanya	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-06-GY	Mat1.1
	Alanya	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-07GY/1	Mat1.2
	Alanya	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-07GY/2	Mat1.1
	Alanya	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-08-GY	Mat1.1
	Gaziler	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-09-GY	Mat1.2
	Gaziler	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-12GY/2	Mat1.1
	Gaziler	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-13-GY	Mat1.2
	Gaziler	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-14GY/1	Mat1.2
	Gaziler	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-16-GY	Mat1.1
	Gaziler	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-17GY/2	Mat1.1
	Gaziler	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	07-19-GY	Mat1.2
Hatay	Merkez	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	31-02	Mat1.1
	Merkez	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	31-03	Mat1.2
	İskenderun	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	31-05	Mat1.1
	İskenderun	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	31-08	Mat1.1
	İskenderun	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	31-09	Mat1.1
İzmir	Aliağa	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	35-05	Mat1.2
	Bergama	<i>P.atlantica</i>	Erken Dönem	35-08	Mat1.2
	Aliağa	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	35-12	Mat1.1
	Aliağa	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	35-13	Mat1.2
	Dikili	<i>P.atlantica</i>	Erken Dönem	35-14	Mat1.2
	Aliağa	<i>P.atlantica</i>	Erken Dönem	35-16/1	Mat1.2
	Aliağa	<i>P.atlantica</i>	Erken Dönem	35-16/2	Mat1.2
	Aliağa	<i>P.atlantica</i>	Erken Dönem	35-18	Mat1.2
	Aliağa	<i>P.atlantica</i>	Erken Dönem	35-20/1	Mat1.2
	Çeşme	<i>P.lentiscus</i>	Erken Dönem	35-22(Y)	Mat1.2
	Çeşme	<i>P.lentiscus</i>	Erken Dönem	35-22/1	Mat1.1
	Çeşme	<i>P.lentiscus</i>	Erken Dönem	35-22/2	Mat1.2
	Ödemiş	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	35-28	Mat1.1
	Çeşme	<i>P.lentiscus</i>	Erken Dönem	35-35	Mat1.2
	Çeşme	<i>P.lentiscus</i>	Erken Dönem	35-36	Mat1.1
	Beydağ	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	35-37	Mat1.2
	Kemer	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	35-41	Mat1.2
	Kemer	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	35-43	Mat1.1
	Kemer	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	35-44	Mat1.2

Tablo 4.4 Moleküler analizlerde kullanılan *Alternaria* spp. izolatlarının eşleşme tipi dağılım listesi (devamı).

İL	Lokasyon	Konukçu	ToplanmaDönemi	İzolat No:	Eşleşme Tipi
Aydın	Yenipazar	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	09-13	Mat1.1
	Yenipazar	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	09-17/2	Mat1.1
	Yenipazar	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	09-24	Mat1.2
	Hacıköseler	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	09-27	Mat1.2
	Hacıköseler	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	09-28	Mat1.2
	Hacıköseler	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	09-29	Mat1.1
	Hacıköseler	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	09-31	Mat1.1
Kütahya	Simav	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	43-02	Mat1.1
	Simav	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	43-03	Mat1.1
	Simav	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	43-04	Mat1.2
	Emet	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	43-07	Mat1.2
	Emet	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	43-10/1	Mat1.1
	Emet	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	43-12	Mat1.1
Manisa	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	45-01/1	Mat1.2
	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	45-01/2	Mat1.2
	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	45-01/3	Mat1.1
	Selendi	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	45-01/4	Mat1.1
	Demirci	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	45-13/1	Mat1.1
	Demirci	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	45-19	Mat1.2
	Demirci	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	45-25/1	Mat1.1
	Demirci	<i>P.atlantica</i>	Erken Dönem	45-27	Mat1.1
	Demirci	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	45-33	Mat1.2
	Merkez	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	45-38	Mat1.1
	Merkez	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	45-41	Mat1.2
	Merkez	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	45-42	Mat1.1
	Merkez	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	45-43	Mat1.2
	Merkez	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	45-45	Mat1.1
	Merkez	<i>P.atlantica</i>	Erken Dönem	45-46/1	Mat1.1
	Merkez	<i>P.atlantica</i>	Erken Dönem	45-53	Mat1.2
	Merkez	<i>P.atlantica</i>	Erken Dönem	45-56	Mat1.2
	Merkez	<i>P.atlantica</i>	Erken Dönem	45-60	Mat1.2
	Merkez	<i>P.terebinthus</i>	Erken Dönem	45-64	Mat1.2
Denizli	Güney	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	20-01	Mat1.1
	Güney	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	20-06/2	Mat1.1
	Güney	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	20-07	Mat1.2
	Güney	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	20-11	Mat1.1
K.Maraş	Pazarcık	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	46-02/1	Mat1.2
	Pazarcık	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	46-02/2	Mat1.2
	Pazarcık	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	46-06/1	Mat1.2
	Pazarcık	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	46-06/2	Mat1.1
	Pazarcık	<i>P.vera</i>	Erken Dönem	46-06/3	Mat1.2
	Pazarcık	<i>P.khinjuk</i>	Geç Dönem	46-02-G/1	Mat1.1
	Pazarcık	<i>P.terebinthus</i>	Geç Dönem	46-03G(Y)	Mat1.1
	Pazarcık	<i>P.vera</i>	Geç Dönem	46-06-G/1	Mat1.2
	Pazarcık	<i>P.vera</i>	Geç Dönem	46-06-G/2	Mat1.1

Moleküler çalışmalarda Ege Bölgesi'nden; İzmir, Manisa, Denizli, Aydın, Kütahya, Akdeniz Bölgesi'nden; Kahramanmaraş, Hatay, Antalya, Mersin yörelerine ait *Alternaria* yanıklık hastalığı gösteren bitkilerden elde edilen ve genomik DNA

analizlerinde kullanılan *Alternaria* spp. izolatları ve bu izolatların MAT analizi sonuçları, izolatların elde edildikleri yörelere göre eşleşme tiplerinin dağılım oranları çıkarılmış ve Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5 Çalışılan izolatların lokasyonlara göre eşleşme tiplerinin dağılım oranları (MAT1.1: M1 ve MAT1.2: M2)

İL	LOKASYON(İLÇE)	İZOLAT SAYISI	M1/M2
İzmir	Aliağa, Bergama,, Dikili,Çeşme,Ödemiş,Beydağ, Kemer	19	5/14
Manisa	Selendi, Demirci, Merkez	20	9/11
Kütahya	Emet,Simav	6	4/2
Aydın	Sultahnhisar, Yenipazar, Hacıköşeler	7	4/3
Denizli	Güney, Sarayköy	4	3/1
Mersin	Gülnar, Mut, Silifke, Aydıncık	15	13/2
Hatay	Merkez, İskenderun	5	4/1
Antalya	Alanya,Gazipaşa	13	6/7
Kahramanmaraş	Pazarcık	9	4/5
TOPLAM		98	52/46

Pistacia spp. meyve ve yapraklarından izole edilen *Alternaria* spp. izolatlarının eşleşme tipi genlerinin PCR ile amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.5’de de görüldüğü gibi, çalışma kapsamındaki izolatların % 53,06 MAT1.1 ve % 46,94 MAT1.2 olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.6 Çalışılan izolatların toplandıkları döneme göre (erken/geç) eşleşme tiplerinin dağılım oranları

Lokasyon	ERKEN DÖNEM		GEÇ DÖNEM	
	<i>Mat1.1</i>	<i>Mat1.2</i>	<i>Mat1.1</i>	<i>Mat1.2</i>
Mersin	3	0	10	2
K.Maraş	1	4	3	2
Antalya	-	-	6	7
Hatay	4	1	-	-
Denizli	3	1	-	-
İzmir	5	14	-	-
Aydın	4	3	-	-
Kütahya	4	2	-	-
Manisa	8	10	-	-
TOPLAM	33	35	19	11
Oran	33/35		19/11	

Eşleşme tipi genleriyle ilgili yapılan analizde toplanma zamanına göre yapılan eşleşme tipi ayrımında; erken dönemde toplanan izolatların oranı; 33 izolat *Mat1.1*, 35 izolat *Mat1.2* olarak, geç dönemde toplanan izolatların oranı ise 19 izolat *Mat1.1*, 11 izolat *Mat1.2* olarak bulunmuştur.

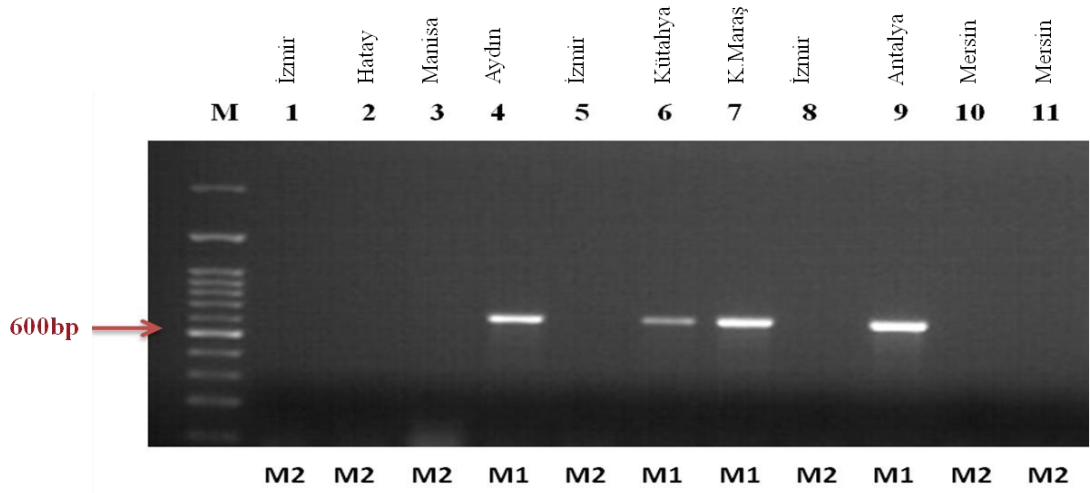
Tablo 4.7 Çalışılan *Alternaria* spp. izolatlarının konukçularına göre eşleşme tiplerinin dağılım oranları

Konukçu	Toplam	<i>MAT1.1</i>	<i>MAT1.2</i>	M1/M2
<i>P.terebinthus</i>	37	20	17	20/17
<i>P.vera</i>	42	26	16	26/16
<i>P.atlantica</i>	11	2	9	2/9
<i>P.lentiscus</i>	5	2	3	2/3
<i>P.khinjuk</i>	1	1	0	1/0
<i>P.mutica</i>	1	1	0	1/0

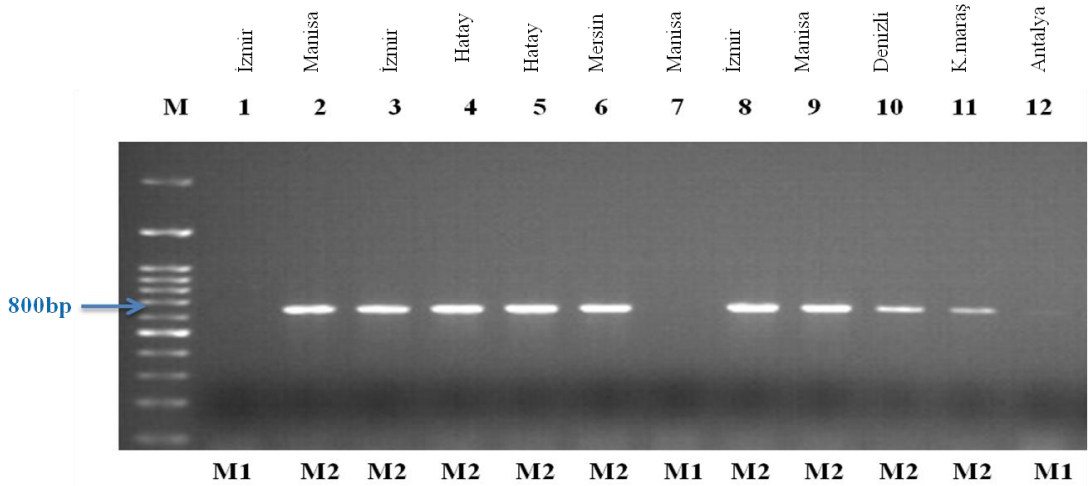
Moleküler çalışmalarda konukçularına göre yapılan eşleşme tipi analizinde oranların 1:1 veya bu orana yakın olması gerekirken *P. vera* konukçusunda 26 izolat *Mat1.1*, 16 izolat *Mat1.2* olarak, *P. atlantica* konukçusunda ise 2 izolat *Mat1.1*, 9 izolat *Mat1.2* tespit edilmiştir.

Alternaria spp. için *MAT* spesifik multipleks PCR analizleri sonucu, ~600 bp büyüklüğe sahip *MAT1-1* ve ~800 bp büyüklüğe sahip *MAT1-2* bantlarının

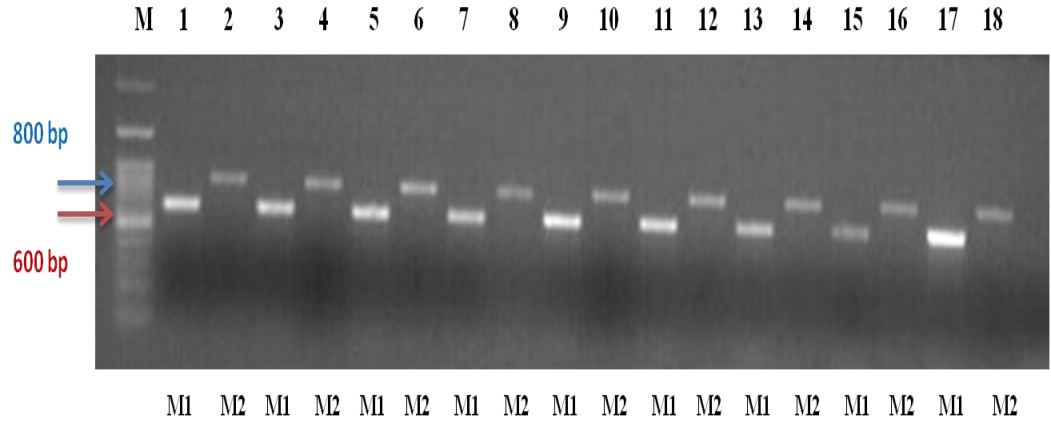
elektroforezde görüntülenmesi ile izolatların eşleşme tipleri sonuçlandırılmıştır (Şekil 4.21, Şekil 4.22). Sonuçlandırılan baz dizilimleri için, eşleşme tipleri bilinen ve referans izolatlar olarak Mat1.1 için SH-MIL-34s, SH-MIL-22s, MAT1.2 için SH-MIL-14s, SH-MIL-13s, EGS39-128, CRS arborescens izolatları kullanılmıştır. Bu izolatlar Dr. T. L. Peever (Washington State University, Dept. of Plant Pathology, Pullman/WA, USA).



Şekil 4.21 MAT1-1 PCR analizi sonucu oluşan bantların elektroforez görüntüsü. M: 1 kb DNA markır (abm), M1: *Mat1-1*, M2: *Mat1-2*. Bant görülmeyen numaralar *Mat1.2*'ye aittir.



Şekil 4.22 MAT1-2 PCR analizi sonucu oluşan bantların elektroforez görüntüsü. M: 1 kb DNA markır (abm), M1: *Mat1-1*, M2: *Mat1-2*. Bant görülmeyen numaralar *Mat1.2*'ye aittir.



Şekil 4.23 Ege ve Akdeniz Bölgesi'nin lokasyonları *Mat1.1* ve *Mat1.2* bantları

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışması kapsamında Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde, antep fıstığında ve yabani *Pistacia* türlerinde *Alternaria* yanıklık hastalığı oluşumuna neden olan *Alternaria* spp.'nin izole edilerek hastalık yaygınlık oranının tespit edilmesi ve eşey tipi genlerinin dağılımının belirlenmesi amaçlanarak patojen üzerinde çok yönlü araştırmalar yapılmıştır. Ayrıca bu tez çalışması Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde bu problemle ilgili olarak geniş kapsamlı ilk araştırma niteliğindedir.

Bu araştırmalar sonucunda;

1- Arazi çalışmalarında üzerinde *Alternaria* yanıklık hastalığı kararması olduğu düşünülen (literatürde belirtildiği şekilde) meyveler toplanmıştır. Bu izolatların laboratuvarda işlenmesi ile yapraktan 4 izolat, meyve sapından 1 izolat ve meyveden 171 izolat olmak üzere toplamda 176 *Alternaria* spp. izolatu elde edilmiştir (Tablo 4.1).

Kararma olan meyvelerin tamamından *Alternaria* spp. elde edilememiştir fakat toplam kararma olan bitki örneği sayısı ile etmenin elde edildiği bitki örneği sayısı % değer olarak kıyaslandığında, bu örneklerin % 45,01'inde *Alternaria* spp. olduğu tespit edilmiştir. (Tablo 4.2). *Alternaria* spp. izolasyonu gerçekleştirilemeyen örneklerin kararmalarının sebebi meyve iç kurdu gibi böcek zararı ve diğer funguslardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Konukoğlu vd., 2014). %45,01'lik yüksek bir oran sebebiyle etmen *Pistacia* türlerinin pazardaki payını düşürmekte önemli verim ve kalite kaybına yol açmaktadır.

2- *Alternaria* spp. kararması olduğu tespit edilen *Pistacia* spp. meyvelerinde simptomolojik olarak başlangıçta kahverengileşme şeklinde ortaya çıkan belirtiler daha sonra meyve yüzeyinde siyahlaşmalara çöküntülere ve zararlara neden olmuştur. Perikarpta kırmızı kabukta meydana gelen belirtilerin yanı sıra kararmalar sert kabukta da görülmüş ve emriyonun gelişimini de etkilemiştir (Şekil

4.1, Şekil 4.2). Dolayısıyla hastalık nedeniyle kırmızı kabuk sert kabuğa yapışarak önemli kalite kayıplarına neden olmuştur.

Türlere göre bu semptomlar farklılık göstermiştir. antep fıstığı çeşitlerinde; kararmalar uç kısımdan ve kenarlardan çatlama şeklinde, melengiç, buttum, atlantik sakızı, mastik sakızında ise; dairesel ve meyvenin orta kısımlarında başlamış ve sonradan tüm meyve yüzeyini kaplamıştır (Şekil 4.3). Yapraklarda başlangıçta açık sarı renk almış daha sonra ortası kahverengi yuvarlak lekeye dönüşmüş ve zamanla bu leke yaprakta genişleyerek koyu kahverengiye ve daha sonra nekroza dönüşerek yaprağı kurutmuştur (Şekil 4.4).

Literatürde ise Michailides ve Teviotdale, (2003a)' e göre hastalık erken dönemde başlamakta ve geç dönemde şiddetini arttırmaktadır. Yaprak ve meyvelerde köşeli (angular) kahverengi lekeler oluşturmaktadır. Michailides (1995)'e göre ise hastalık lentisellerde oluşur ve sert kabukta (endokarp) lekelenmelere neden olmaktadır.

Hastalık ikincil infeksiyonlarını geç dönemde (Ağustos – Eylül) oluşturmaktadır. Bu dönemde meyvelerde perikarpta lezyonlar ve yine ilerleyen dönemde meyve içinde de (endokarp) kararmalar ve bu kararmalar acımtırak tat oluşumuna neden olmaktadır.

P. vera'da hastalık etmeni fungus *Alternaria alternata* (Fr.) olarak tespit edilmiş olup, özellikle ülkemiz koşullarında sadece meyvelerde infeksiyon yapmaktadır (Konukoğlu ve ark., 2014).

Yine literatüre bakıldığı zaman daha önceki çalışmalarda ülkemizde yapraklar üzerinde *Alternaria* yanıklık hastalığına rastlanmamıştır. Yapraklardan yanıklık semptomu gösteren kısımlardan *Alternaria* spp. izole edilmiş ve Ege ve Akdeniz Bölgesi'den *Pistacia* türlerinde bu etmen ile ilgili yapraktaki **ilk veriler** bu çalışma ile sunulmuştur. Ancak arazi çıkışlarında gözlemlenen veriler ışığında meyveler üzerindeki yanıklık semptomları çok yoğun ve neredeyse tüm meyveleri kaplamışken, yapraklarda bu semptomlar bazı ağaçlarda hiç görülmemiş bazılarında

ise 3-5 yaprakla sınırlı kalmıştır. *In vitro* koşullarda yaprakta bu kadar saldırgan bir şekilde enfeksiyon yapan *Alternaria* spp.'nin doğal ortamlarında yapraklarda neden az enfeksiyon yaptığı sorusunu ortaya çıkarmaktadır. Bu konunun ileride yapılacak çalışmalar ile detaylı olarak irdelenmesi gerekmektedir.

3- *Alternaria* kolonileri hızlı gelişmekte 7 günde tüm petiyi (90mm) kaplamaktadır. Gelişen koloniler genellikle zeytini yeşil, siyah-grimsi, koyu kahverengi renklerde ve bu yapıyı saran ince beyaz bir halka ile karakterizedir (Beyoğlu, 2006). Havai hiflerinin üzeri pamuğumsu yapıda bir morfolojiye sahiptir (Domsch vd., 1980). (Kirk vd., 2008; Nowicki vd., 2012).

Farklı *Pistacia* sp. bitkilerinden ve farklı kısımlardan izole edilen ve saflaştırılan *Alternaria* spp. izolatlarının PDA besi ortamında gelişen koloni desenleri ve renkleri daha önceki literatürlerde verilenlerle benzer miseller oluşturmuştur. Buna göre PDA besi ortamında 1- zeytuni yeşil grimsi, 2- ortası koyu gri kenarları beyaz hifli, 3-koyu gri havai miselli ve 4- siyaha yakın renkte koloni desenleri gözlenmiştir (Şekil 4.5, Şekil 4.6). Morfolojik ve mikroskobik tanılama ile 176 adet *Alternaria* spp. izole edilmiştir. Bu izolatların tamamının tanınması rahatlıkla yapılabilmektedir

4- Günümüzde etmenin tanınması, morfolojik özelliklerin mikroskobik olarak incelenmesi esasına dayanmaktadır. Etmen cins düzeyinde kolaylıkla mikroskop altında el bombasına benzer spor yapılarının gözlenmesi ile tanınmaktadır. Ancak tür düzeyinde tanılama büyük spor oluşturan türler hariç oldukça zor görünmektedir. (Polat, 2013).

Alternaria spp.'nin mikroskobik olarak incelenmesi sonucu koyu renkli ve septalı olan hifleri ve konidiyoforlarının ise septalı, koyu renkli basit ya da demet oluşturmuş yapıdadır (Beyoğlu, 2006).

Mikroskobik olarak çok hücreli konidileri (dictyoconidia) akropetal dallanma (blastocatenate) göstermektedir. Bu dallanma noktalarından kısa veya uzun konidiyoforlar üretilmektedir. Konidiler biçimsel olarak obclavate, obpyriform bazen oval veya elips şeklinde olup genellikle kısa konik, soluk kahverengi, konidia duvarları pürüzsüz veya ince pürüzlü olmaktadır (Domsch vd., 1980).

Alternaria sporları tipik olarak küçük olup bir ucu yumru olan sopaya benzer. Genel spor şekli eliptik, en az 30 µm uzunluğunda ve ince duvarlı ve bazı türlerde tepe kısmı konik yapıda olup enine ve boyuna septaların varlığıyla karakterizedir (Simmons, 1996; Beyoğlu, 2006).

Yapılan bu tez çalışmasında kolonilerin mikroskopik olarak incelenmesi sonucu *Alternaria* spp. konidileri zincirlenmiş durumda olarak görülmüş ve dağınık bir şekilde dallanmıştır ve tipik olarak küçük olup bir ucu yumru olan sopaya benzemektedir. Genel spor şekli eliptik, en az 30 µm uzunluğunda ve ince duvarlı ve bazı türlerde tepe kısmı konik yapıda olup enine ve boyuna septaları vardır. Koyu renkli ve septalı olan hiflerinin olduğu görülmüştür (Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9).

Sonuç olarak, *Alternaria* türleri mikroskopta dikkatli gözlem yapıldığında çalışılan izolat sayısı fazla olduğu için farklı spor morfolojisi göstermektedir. *Alternaria* yanıklık hastalığına birden fazla patojen *Alternaria* spp.'nin sebep olduğu düşünülmektedir.

5- Hastalığın erken dönemindeki meyvelerden elde edilen *Alternaria* türleri üzerinde patojenisite çalışmaları yapılmış ve toplamda 164 izolat kullanılmıştır.

Farklı lokasyonlar ve konukçulardan izole edilen *Alternaria* türlerinin, izole edildikleri aksama göre meyve veya yaprak üzerinde patojenisite denemeleri yapılarak patojen olarak bulunan *Alternaria* spp.'nin yaygınlıkları belirlenmiştir. Etmenin patojenik açıdan tanımlanması, hastalıkla mücadelede ilk adım olması açısından en temel başlangıç olacaktır. Türkiye’de belirtiler özellikle meyve üzerinde görülmekte olduğundan, meyve sapı ve yapraklardan izole edilen az sayıda *Alternaria* spp. *in vitro* koşullarda meyveye inokule edilmiş ve meyveleri enfekte ettiği tespit edilmiştir. Yine meyvelerden izole edilen *Alternaria* spp. izolatları yapraklara, yapraklardan elde edilenler ise meyvelere verilmiştir. Sonuç olarak yaprak izolatları meyveyi enfekte etmiş, meyveden elde edilen izolatlar ise yaprağı enfekte etmiştir (Şekil 4.10). Patojen *Pistacia* sp. *in vitro* koşullarda bitki kısımlarını ayırmaksızın infeksiyon yapmaktadır.

*Ege ve Akdeniz Bölgeleri'nden elde edilen izolatlar üzerinde yapılan patojenisite testleri sonucu tüm lokasyonların % hastalık şiddetleri hesaplanmıştır. Tablo 4.3 göre;

Ege Bölgesi lokasyonlarından en yüksek hastalık şiddeti ortalamasına sahip izolatlar sırasıyla Aydın lokasyonundan % 85,19 hastalık şiddeti oranıyla 09-13 nolu izolat, İzmir lokasyonundan %80 hastalık şiddeti oranı ile 35-08 nolu izolat ve Manisa lokasyonundan %80 hastalık şiddeti oranı ile 45-25/1 nolu izolat, Denizli lokasyonundan % 76,67 hastalık şiddeti ile 20-11 nolu izolat ve Kütahya lokasyonundan % 68,4 hastalık şiddeti oranı ile 43-10/2 nolu izolat olarak bulunmuştur.

Akdeniz Bölgesi lokasyonlarından en yüksek hastalık şiddeti ortalamasına sahip izolatlar sırasıyla Mersin lokasyonundan % 75,56 hastalık şiddeti oranı ile 33-04 nolu izolat, Hatay lokasyonundan % 60,13 hastalık şiddeti oranı ile 31-08 nolu izolat, ve Kahramanmaraş lokasyonundan %60,28 hastalık şiddeti oranı ile 46-02/3 nolu izolat olarak belirlenmiştir.

*Akdeniz Bölgesi'nden elde edilen *Alternaria* spp. izolatlarında lokasyonlar bazında kıyaslama yapıldığında bölge içindeki en yüksek hastalık şiddeti 7. günde Mersin (% 39,9) lokasyonunda görülmüştür (Şekil 4.14) Yine aynı lokasyonların 14.gün hastalık şiddetlerine bakıldığında, 7. gün ile paralellik gösterdiği belirlenmiş ve yine en yüksek değerin Mersin'e (% 54,3) ait olduğu tespit edilmiştir.

* Ege Bölgesi'nden elde edilen *Alternaria* spp. izolatlarında lokasyonlar bazında kıyaslama yapıldığında bölge içindeki en yüksek hastalık şiddeti 7. günde Kütahya (% 55,7) lokasyonunda görülmüştür (Şekil 4.15) Yine aynı lokasyonların 14.gün hastalık şiddetlerine bakıldığında, 7. gün ile paralellik gösterdiği belirlenmiş ve yine en yüksek değerin Kütahya'ya (% 55,7) ait olduğu tespit edilmiştir.

*Şekil 4.16'da görüldüğü üzere Akdeniz ve Ege lokasyonlarında bölge bazında, rakım ve konukçu ayrımı gözetmeksizin, *Alternaria* yanıklık hastalığı şiddetinin (%) kıyaslaması yapıldığında bölgeler arasında istatistiki analizler sonucu bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$ -[a]). Akdeniz ve Ege Bölgesi'nin iklimsel verileri birbirine çok yakın olduğundan dolayı hastalık şiddetleri arasında bir fark olmadığı düşünülmektedir. Ancak Ege Bölgesi % 53,2 hastalık şiddeti ortalaması ile Akdeniz Bölgesi'nden daha yüksek bulunmuştur.

* Rakım ve konukçu ayrımı gözetmeksizin yapılan istatistiki analizde Akdeniz Bölgesi lokasyonları karşılaştırıldığında lokasyonlar arasında istatistiki açıdan bir fark bulunamamıştır (Şekil 4.17) ($p>0,05$ -[a]).

* Ege Bölgesi'ndeki *Pistacia* türlerinden elde edilen rakım ve konukçu ayrımı gözetmeksizin yapılan istatistiksel analizde, Ege Bölgesi lokasyonları hastalık şiddetleri ortalamaları arasında herhangi bir fark görülmemiştir (Şekil 4.18) ($p>0,05$ -[a]). Bununla birlikte Aydın ve Kütahya illerinde yetişen *Pistacia* türlerinde hastalık şiddetleri diğer illerde yetişenlerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

**Pistacia* türleri ülkemiz şartlarında çok farklı yüksekliklerde rahatlıkla yetişebilmektedir. Bu çalışma kapsamında tür ve çeşit farkı gözetmeksizin, deniz kenarından 981 m. rakıma kadar yetişen *Pistacia* türlerinden *Alternaria* yanıklık hastalığı örnekleri alınmıştır. Şekil 4.19'deki gibi gruplandırılmıştır. Buna göre farklı yükselti grupları ile hastalık şiddetleri ortalamaları arasında istatistiki olarak herhangi bir fark görülmemiştir. Bununla birlikte 400-500 m. grubu ile 600-700 m. grubunda yetişen *Pistacia* türlerinde hastalık şiddetleri diğer gruplarda yetişenlerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

* Lokasyon ve rakım ayrımı gözetmeksizin *P. vera*, *P. terebinthus*, *P. lentiscus* ve *P. atlantica* konukçularından elde edilen *Alternaria* spp. izolatları ile yapılan hastalık şiddeti hesaplamaları sonucu konukçu-hastalık şiddeti arasında istatistiki açıdan bir fark görülemediği. Şekil 4.20'te belirtildiği gibi tüm konukçular arasındaki hastalık şiddetleri ortalamasında *P. atlantica* % 56,3 ile en yüksek, *P. lentiscus* ise % 50,2 ile en düşük ortalama olarak bulunmuştur.

Yapılan patojenisite çalışmaları ve istatistiki analizler sonucu *Alternaria* yanıklık hastalığı etmeni olan *Alternaria* spp.'nin Antepfıstığı ve yabani *Pistacia* türleri meyvesini olumsuz yönde etkileyen ve meyve verimini düşüren önemli bir fitopatojen olduğu belirlenmiştir.

6- Eşey tipi genleri fungal türlerin biyolojisi ve evriminde önemli roller oynamaktadır. Bu tez kapsamında, Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde, ilk defa olarak, aseksüel olduğu bilinen *Alternaria* türlerine ait popülasyonlarda eşleşme tipleri ve eşleşme tiplerinin dağılımları lokasyon ve konukçu bazında değerlendirilmiştir.

Akdeniz ve Ege Bölgelerinde de yabani anaçların aşılınması ile Antepfıstığı üretimi yapılmaktadır. Bu yörelerdeki patojen yapının göç ile Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nden gelmiş olması ve genetik benzerlik göstermesi beklenebilir.

Ayrıca Ege ve Akdeniz Bölgeleri'nde yabani *Pistacia* türleri doğal yayılıma da sahiptir. Yabani ve kültür konukçularındaki patojen popülasyonlarının birbirleri için inokulum kaynağı olmaları söz konusu olabilir.

Alternaria yanıklığı ile ilgili patojenlerde farklı lokasyonlar ve eşleşme tiplerindeki benzerlik ve farklılıklarının ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Aseksüel olduğu bilinmekle beraber çeşitli *Alternaria* türlerinde eşleşme tipi genlerinin varlığı ve bu genlerin ifade edilebildiği gösterilmiştir. Eşleşme tipi genlerinin dağılımı da klonal yapının çeşitliliği hakkında fikir verecektir. Bu amaçla eşey tipi genlerinin spesifik primeler kullanılarak PZR ile belirlenmiştir.

Klonal çoğalma beklentisine rağmen bu genlerin dağılım durumu da patojenik varyasyon adına önemlidir. *Cladasporium fulvum* (Stergiopoulos ve ark., 2006) ve *Fusarium oxysporum* (Arie ve ark., 2000) gibi eşeysiz olarak çoğalan çeşitli fungal türlerde eşleşme tipini belirleyen *MAT* lokusu PZR ile çoğaltılarak eşleşme tipi dağılımları ortaya çıkarılmış ve örnekleme yapılan alanlarda her iki eşleşme tipinin de varlığı gösterilmiştir.

Alternaria cinsine ait çeşitli türler (*A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. brassicae* ve *A. brassicola*) için de *MAT* lokusu karakterize edilmiştir (Arie ve ark., 2000; Berbee ve ark., 2003; Stewart ve ark., 2011). Birçok aseksüel fungusta yüksek genotipik varyasyon olduğu bulunmuştur (Taylor ve ark., 1999) ve bu durum mevcut yüksek varyasyonun nasıl meydana geldiği ve korunduğu konusunu düşündürmektedir.

* *Alternaria* cinsine giren fungusların teşhislerinde morfolojik karakterizasyon tek başına yeterli olmadığından moleküler yöntemlere başvurulmuştur (Pryor ve Michailidies, 2002). Moleküler analizlerde toplamda 98 *Alternaria* spp. izolatu kullanılmıştır (Tablo 4.4).

*Moleküler çalışmalarda Ege Bölgesi'nden; İzmir, Manisa, Denizli, Aydın, Kütahya, Akdeniz Bölgesi'nden; Kahramanmaraş, Hatay, Antalya, Mersin yörelerine ait *Alternaria* yanıklık hastalığı gösteren bitkilerden elde edilen ve genomik DNA

analizlerinde kullanılan *Alternaria* spp. izolatları ve bu izolatların MAT analizi sonuçları, izolatların elde edildikleri yörelere göre eşleşme tiplerinin dağılım oranları çıkarılmış ve Tablo 4.5'te verilmiştir.

*Eşleşme tipi genleriyle ilgili yapılan analizde toplanma zamanına göre yapılan eşleşme tipi ayrımında; erken dönemde toplanan izolatların oranı; 33 izolat *Mat1.1*, 35 izolat *Mat1.2* olarak, geç dönemde toplanan izolatların oranı ise 19 izolat *Mat1.1*, 11 izolat *Mat1.2* olarak bulunmuştur (Tablo 4.6).

*Moleküler çalışmalarda konukçularına göre yapılan eşleşme tipi analizinde oranların 1:1 veya bu orana yakın olması gerekirken *P. vera* konukçusunda 26 izolat *Mat1.1*, 16 izolat *Mat1.2* olarak, *P. atlantica* konukçusunda ise 2 izolat *Mat1.1*, 9 izolat *Mat1.2* tespit edilmiştir (Tablo 4.7).

**MAT1-1* spesifik PZR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforez görüntüsü, *MAT1-2* spesifik PZR analizi sonucu oluşan bantların agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 4.21, Şekil 4.23'de görüldüğü gibi tespit edilmiştir.

Çevresel heterojenite, ekolojik farklılıklar, konukçu türü ve genetik çeşitliliği doğal ekosistemleri tarımsal ekosistemlerden ayıran temel faktörlerdendir (Stukenbrock vd., 2008; Burdon ve Thrall, 2008). Yine doğal ekosistemlerdeki yabani konukçular, kültür formlarına uygulanan sulama ve fungisit uygulaması gibi tarım pratiklerinden uzaktır. Bu farklılıklar, patosistem biyolojisini etkilemektedir ve patojenik uyumun şekillenmesinde konukçu ve patojenleri üzerinde seçici bir güce sahiptir (Dinoor vd., 1987; Burdon, 1993; Stukenbrock vd., 2008). Doğal ekosistemlerde, konukçu-patojen ilişkileri, nadiren epidemilerin görüldüğü, iyi huylu ve dengeli ilişkiler olarak ortaya çıkarken, tarımsal ekosistemlerde ciddi ürün kayıplarına yol açan bir mücadele sahasını ortaya çıkarmaktadır (Burdon, 2006).

Yabani ve kültür konukçularının simpatrik olarak yetiştiği ülkemizde, doğal ve tarımsal sistemlerdeki patojen popülasyonlar arasında birbirleri için patojen inokulum kaynağı olmaları de beklenebilir. Ayrıca doğal ve tarımsal ekosistem farklılıkları, patojen popülasyon yapılarında da farklı şekillenmelere sebep olabilir.

Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde *Alternaria* spp.'nin her iki eşleşme tipinin de bulunduğu, ancak patojenin eşey tipi dağılımlarının yörelere göre farklılık gösterdiği

tespit edilmiştir. Bu farklılıklar ileri dönemlerde fungus popülasyonunda bölgelere ve konukçu türüne göre varyasyonlara ve çeşitliliğe neden olabileceği düşüncesini uyandırmaktadır.

-Hong ve Pryor, (2004), Böceklerle mücadele yöntemlerine gidilmesi gerektiğini, böylece böceklerin yaraladıkları dokudan seconder enfeksiyonların engellenebileceğini bildirmişlerdir.

-Michailides, (1995), Dünyada *Alternaria* yanıklığı ABD’de ciddi problemdir. Hastalığın kontrolünde sulama gibi kültürel pratiklerin önemli, ancak sorunun çözümünde en etkili yöntemin kimyasal mücadele olduğu belirtilmiştir.

-Ülkemizde özellikle de antepfıstığı yetiştiriciliğinin yeni yeni yoğunlaştığı Ege ve Akdeniz Bölgeleri’nde son yıllarda üreticiler için büyük bir sorun olarak görülen meyve kararmaları mücadelesine yönelik yeni çalışmaların hızla planlanması ve özellikle üreticilere çözüm getirebilmek amacıyla, ilaç ruhsat çalışmalarının başlatılması gerekmektedir.

-Goldhamer vd., (2002), tarafından yapılan bir çalışmada gömülü damla sulama sistemi kullanılarak hastalığın gelişimi engellenmiştir. Bu sistem ile *Pistacia* türlerinin bulunduğu bahçelerin nemi azaltılmakta ve sıcaklığı arttırılmaktadır. Böylece hasat sırasında enfeksiyonlar önemli ölçüde azalması mümkün hale gelebilmektedir. Ülkemizde de gömülü damla sulama sisteminin kullanımı yaygınlaşırsa *Alternaria* yanıklık hastalığı engellenebilir hale gelebilecektir.

Bu tez çalışmasında, Ege ve Akdeniz Bölgesi’nde *Alternaria* yanıklığı ile mücadelede temel verileri sunarak ekonomik açıdan önem taşıyan bu ürün bitkilerinin korumaya yönelik yaklaşımların şekillenmesinde etkili olacaktır. Ayrıca Aseksüel bir fungal türde, moleküler yöntemlerle, eşey tipi dağılımlarının çıkarılması ile çeşitlilik ve çeşitliliği etkileyen faktörler hakkında temel bilim araştırmaları ile ilgili sorulara da cevap aranmıştır. Sonuçların hem pratik kullanım alanı hem de literatürde önemli bir yeri olacağı umulmaktadır.

Bu konuda yapılmış çalışmalar Dünya literatürüne de önemli katkılar sağlanacağı umulmaktadır. Diğer taraftan *Alternaria* türleri zirai açıdan araştırma ve mücadele gerektiren patojenler olmakla beraber; aseksüel fungal türlerdeki çeşitlilik ve

nedenleriyle ilgili soruların yönlendirilebildiği temel bilim araştırmaları için de önemli bir yere sahiptir.

KAYNAKLAR

- Agrios, G. N. (1997). Plant Pathology. 4th edition. San Diego: Academic Press.
- Aksoy, A., Atsan, T., Yavuz, F. (2002). Türkiye Antepfıstığı Sektörünün Ekonometrik Analizi. Türkiye V. Tarım Ekonomisi Kongresi.
- Allemann, A. (2008). Epidemiology and control of diseases caused by *Alternaria* species on pistachio. A dissertation submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science in Agriculture, In the Faculty of Natural and Agricultural Sciences, Department of Plant Sciences, Bloemfontein, South Africa.
- Anonim, (2012). T.C Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü 2011 Yılı Antepfıstığı Raporu Şubat, Ankara.
- Anonim, (2011). Food And Agriculture Organization Of The United Nations. FAOSTAT Database. [Http://Faostat.Fao.Org/Site/567/Default.Asp#Ancor](http://Faostat.Fao.Org/Site/567/Default.Asp#Ancor). Erişim: Ocak 2012.
- Anonim, (2003). [Http://Www.Eetic.Com](http://Www.Eetic.Com).
- Arie, T., Kaneko, I., Yoshida, T., Noguchi, M., Nomura, Y., Yamaguchi, I. (2000). Mating-type genes from asexual phytopathogenic ascomycetes *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. **13**, 1330-38.
- Arie, T., Christiansen, S. K., Yoder, O. C., Turgeon, B. G. (1997). Efficient cloning of ascomycete mating type genes by PCR amplification of the conserved MAT HMG box. *Fungal Genet. Biol.* 21:118-130.
- Arpacı, S., Acar, I., Karadağ, S., Atli, H. S., Ak B. E., Sarpkaya, K. (2012). Comparison of Growing of Pistacio Rootstocks on Different Planting Intervals. VI International Symposium on Almonds and Pistachios. ISHS Acta Horticulturae 1028.
- Arpacı, S., Atli, H. S. (1999). T.C. Başbakanlık. Dpt Vii. Beş Yıllık Kalkınma Planı. Özeliht. Kom. Antepfıstığı Raporu-Ankara.
- Arpacı, S., Tekin, H., Atli, H. S. (1997). Türkiye'de Yabani Pistacia Türlerinin Yayılım Alanları. In-situ Projesi Geliştirme Raporu. Antepfıstığı Araş.Enst.Müd., Gaziantep.
- Ash, G. J., Lanoiselet, V.M. (2001). First report of *Alternaria alternata* causing late blight of pistachio (*Pistacia vera*) in Australia.
- Ayfer, M. (1964). Dünya'da Ve Türkiye'de Antep Fıstığı Yetiştiriciliği Ve Problemleri. Mars Matbaası. Ankara.

- Berbee, M.L., Payne, B. P., Zhang, G., Roberts, R. G., Turgeon, B. G. (2003). Shared ITS DNA substitutions in isolates of opposite mating type reveal a recombining history for three presumed asexual species in the filamentous ascomycete genus *Alternaria*, *Mycological Research*, **107**, 169-182.
- Beyoğlu, S. (2006). *Cladosporium* Link ve *Alternaria* Nees ex Wallroth Sporlarının Adana Atmosferindeki Miktarları ve Meteorolojik Faktörlerin Spor Miktarı Üzerine Etkisi Ankara Üniversitesi FenBilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Bilgen, A. M. (1968). Memleketimizde Bulunan Antepfıstığı Anaçları ve Aşılama Tekniği, Tarım Bakanlığı Zir. İşl. Gen. Müd., Ankara.
- Bilgen, A. M. (1973). Antepfıstığı, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.
- Boztok, Ş. (2007). Doğal Sakız Bitkileri (*Pistacia lentiscus* L.)'nin Ekonomiye Kazandırılması Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi Yayın Bülteni No: 51 ISSN 1300-3518.
- Broggi L. E., González, H. H. L., Resnik, S. L., Pacin, A. (2007). *Alternaria alternata* prevalence in cereal grains and soybean seeds from Entre Ríos, Argentina Rev Iberoam Micol 2007; 24: 47-51 *Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina*.
- Burdon, J. J., Thrall, P. H. (2008). Pathogen evolution across the agro-ecological interface: implications for disease management, *Evolutionary Applications*, **1**, 57-65.
- Burdon, J. J., Thrall, P. H., Ericson, L. (2006). The current and future dynamics of disease in plant communities. *Annual Review of Phytopathology*, **44**, 19-39.
- Burdon, J. J. (1993). The structure of pathogen populations in natural plant communities, *Annual Review of Phytopathology*, **3**, 305-323.
- Can, C., Özaslan, M., Töremen, H., Sarpkaya, K. & Isekender, E. (2006). *In vitro* micrografting of pistachio, *Pistacia vera* L. var. Siirt, on wild pistachio rootstocks. *Journal of Cell and Molecular Biology* 5:25-31.
- Can, C., Elekçioğlu, H., Yücel, S., Özaslan, M. (2003). Seralarda domates *Fusarium* solgunluğuna neden olan türlerin tanısı, hastalık oluşumunda nematodlar ile ilişkileri ve mücadele olanaklarının belirlenmesi, TÜBİTAK-TOGTAG Proje No: TARP-2371, Proje Kesin Raporu Pp 31.
- Caruso, T. (2005). Description of the Pistacia tree. <http://www.ueresgen29.unifi.it/ds8.htm>. 12.06.14.
- Danisti, L., Eskalen, A., Karadağ, S., Küsek, M. (2001). Fungal diseases in pistachio trees in East-Mediterranean and South-east Anatolian regions. In: Ak B.E. (ed.). *XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds*. Zaragoza : CIHEAM, p.261-264 (Cahiers Options Méditerranéennes; n.56).
- Dieffenbach, C. W., Lowe, T. M. J., Dveksler, G. S. (1993). General concepts for PCR primer design. *PCR Methods and Applications*. **3**, 30-37.
- Dinç, N. (1983). Antepfıstığı Hastalıkları ve Mücadele Usulleri, Mesleki Eserler Serisi 2: 19-34.
- Dobinson, K. F. (1995). Genetic Transformation of The Vascular Wilt Fungus *Verticillium dahliae*. *Canadian Journal of Botany*. **73**, 710-715.

- Dolar, F. S. (2006). Nohutlarda solgunluğa neden olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*'in Türkiye'deki mevcut patotiplerinin Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) yöntemi ile saptanması. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Proje No: 20030711072, Proje Kesin Raporu.
- Dinoor, A., Eshed, N. (1984). The role and importance of pathogens in natural plant communities, *Annu. Rev. Phytopathol.*, **22**, 443-66.
- Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H. (1980). Compendium of soil fungi. Volume 1: Academic Press, London, UK.
- Doster, M. A., Michailides, T. J. (1999). Relationship Between Shell Discoloration Of Pistachio Nuts And Incidence Of Fungal Decay And Insect Infestation. *Plant Disease* **83**: 259-264.
- Erkılıç, A., Canıhoş, Y., Kurt, Ş. ve Biçici, M. (1999). Türkiye'de *Alternaria alternata* f.sp. *citri*'nin Minneola Tangelo İzolatlarının Iprodion'a Dayanıklılıkları. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 1051-1056.
- Evans, N., Michailides T. J., Morgan, D., Felts, D. (1999). Studies on sources of inoculum of *Alternaria* late blight of Pistacia, *KAC Plant Protection Quarterly*, **9**,4-7.
- Eskalen, A., Küsek, M., Danisti, L., Karadağ, S. (1999). Fungal Diseases İn Pistachio Trees İn East-Mediterranean And Southeast Anatolian Regions. II GREMPA Seminar On Pistachio And Almonds.
- Fabbri, A., Valenti, C. (1998). The Sicilian Pistachio Industry: An Overview, *Acta Horticulturae*, 470, 43-49.
- Facelli, E., Taylor, C., Scott, E., Fegan, M., Huys, G., Noble, R., Swings, J., Sedgeley, M. (2005). Identification of the causal agent of pistachio dieback in Australia, *European Journal of Plant Pathology*, 112:155-165.
- FAO, (2011). Production Year Book. Vol.58.
- Ferguson, L., Polito, V., Kallsen, C. (2005). Pistachio Production Manual. <http://fruitsndnuts.udavis.edu/crop/pistachio>.
- Funk L. (2005). Compendium of plant pathogens and diseases. CASFS. www.gis.uscs.edu/disease/index.html. 11.04.2005.
- Goldhamer, D. A., Michailides, T. J., Morgan D. P. (2002). Buried drip irrigation reduces fungal disease in pistachio orchards. *California Agriculture*. **56(4)**, 133-138.
- Gültekin, H. C., Deligöz, A., Yıldız, D., Gültekin, Ü. G., Genç, M. (2008). Ekim Zamanı ve Soğuk Katlamanın Melengiç (*Pistacia terebinthus* L.) Tohumlarında Çimlenme Yüzdesine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11-3 (2007),225-231.
- Hong, S. G., Pryor, B. M. (2004). Development of selective media for the isolation and enumeration of *Alternaria* species from soil and plant debris, *Canadian Journal of Microbiology*, 50:461-468.
- Hong, B., Lin, Q. H., Hong, Y. T. (2006). Inter Connections Between the Asian Monsoon, ENSO, and High Northern Latitude Climate During The Holocene, *Chinese Science Bulletin*. **51**, 11-19.
- IPGRI, (2014). <http://www.fao.org/forestry/4994/en/> Erişim Tarihi: 12.03.2014.

- Jooste, C. (2000). Pistachio's vervang kontantoeste (Pistachios replace cash crops) Landbou weekblad October 2000.
- Kanber, R., Yazar, A., Önder, S. & Köksal, H. (2004). Irrigation response of Pistachio (*Pistacia vera* L.). *Irrigation Science* 14:7-14.
- Karman, M. (1971). Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler. Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. Tarım Bakanlığı Mesleki Kitapları Serisi.
- Kaşka, N. (2005). Pistachio Nut Growing İn Turkey, *Acta Horticulturae* (Ishs), **419**: 161-164.
- Kendiric, B. (2000). The Fifth Kingdom.m Focus Publishing, R.Pullins Co. Newburyport, USA.
- Kırk, M. P., Cannon, P.F., Minter, D. W., Stalpers, J. A. (2008). Dictionary of the Fungi. Edited by P M Kirk, International Mycological Institute, Egham, UK , P F Cannon, CABI, UK, J A Stalpers, CBS, The Netherlands.
- Kırnak, H., Ak, B. E., Açar, I. (1999). Irrigation And İrrigation Management Strategies Of Pistachio Orchards. (De) Xı Grempa Seminar On Pistachios And Almonds 197-200.
- Konukoğlu F., Sarpkaya, K., Karadağ, S., Maden, S., Can, C., Kusek, M. (2014). Antepfıstığı meyvelerinde görülen kararmaların olası fitopatolojik nedenlerinin araştırılması. TAGEM Program Değerlendirme raporu, Proje Gelişme Raporu.
- Konukoğlu, F., Kusek, M., Sarpkaya, K., Karadağ, S., Can, C. (2009). Discloration of Pistachio Nuts grown in Gaziantep province in Turkey. 5. Internation Symposium of Pistachi and Almond. 6-10 October Sanliurfa, Turkey. P. 251.
- Kurt, Ş., Soylu, E. M., Soylu, S. (2010). Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Mustafa Kemal University, Hatay, Turkey First Report of Black Spot Disease Caused by *Alternaria alternata* in Persimmon Fruits in Turkey August 2010, Volume **94**, Number 8 Page 1069 <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-94-8-1069C> Disease Notes.
- Kurt, Ş. (2012). Bitki Fungal Hastalıkları Kitabı Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü kurt@mku.edu.tr ISBN:978-605-464-901-3 Akademisyen Kitabevi Syf:180-181, Ankara.
- Laemmlen, F. (2001). Alternaria Disease, University of California Cooperative Extention Farm Advisor, Santa Barbara and San Luis Obispo Countries. Agriculture and Natural Resources <http://anrcatalog.ucdavis.edu> Publication 8040.
- Mckay, G. J., Brown, A. E., Bjourson, A. J., Mercer, P. C. (1999). Molecular characterisation of *Alternaria linicola* and its detection in linseed. *European Journal of Plant Pathology* **105**: 157–166.
- Michailides, T. J., Morgan, D. P. (1993). Control of Alternaria late blight of Pistachio using multiple application of organic and other fungicides. Proceedings of the 67th Annual Western Orchard Pest & Disease management Conference 67:5-6.
- Michailides, T. J., Morgan, D. P., Doster, M. A. (1995). Diseases of Pistachio in California and Their Significance. *Acta Horticulturae*. **419**, 337–343.
- Michailides, T. J. (1997). Foliar and fruit diseases of pistachio and their control in California. *NUCIS Neswletter*. **6**, 24-29.

- Michailides, T. J., Morgan, D. P. (2004). Panicle and shoot blight of Pistachio: A major treat to the California Pistachio industry. www.apsnet.org/online/features/pistachio. 25/03/2004.
- Michailides, T. J., Ma, Z. (2004a). Characterization of iprodione-resistant *Alternaria* isolates from pistachio in California, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 80:75-84.
- Michailides, T. J., Ma, Z. (2004b). An allele-specific PCR assay for detecting azoxystrobin-resistant *Alternaria* isolates from Pistachio in California, *Journal of Phytopathology*, 152:118-121.
- Michailides, T. J. (2005). Above Ground Fungal Diseases In: Ferguson, L., Ed. Pistachio Production Manual, 4th Ed. Davis, Ca, Usa, University Of California Fruit And Nut Research Information Center, Pp. 214-232.
- Mila, A. L., Droever, G. F., Morgan, D. P., Michailides, T. J. (2005). Effects of Latent Infection, Temperature, Precipitation, and Irrigation on Panicle and Shoot Blight of Pistachio in California, *Phytopathology*, 95:926-932.
- Milgroom, M. G., Peever, T. L. (2002). Population biology of plant pathogens, *Plant Disease*, 87, 608-17.
- Morris, P. F., Connolly, M. S., Clair, D. A. (1999). Genetic diversity of *Alternaria alternata* isolated from tomato in California assessed using RAPDs. *Mycol. Res.* 104 (3):286-292.
- Mycobank, (2013). www.mycobank.org/BioMICS. 20/05/2014.
- Nowicki, M., Nowakowska, M., Niezgoda, A., Kozik E. U. (2012). *Alternaria* Black Spot Of Crucifers: Symptoms. Importance Of Disease, and Perspectives Of Resistance Breeding. 76, 5-19.
- Onay, A., Tilkat, E., Ersalı, Y., Ayaz, E., Süzerer, V. (2012). Antepfıstığının (*Pistacia vera* L.) Morfolojik Ve Biyolojik Özellikleri İle Verimini Etkileyen Faktörler Volume 2, Number 1 Cilt 2, Sayı 1.
- Oruç, Ş. (2003). Antepfıstığı Sektör Etüdü. Dış Ticaret Şubesi Mart 2003.
- Özbek S. (1978). Özel Meyvecilik (Kışın Yaprğını Döken Meyve Türleri). Ç.Ü. Zir. Fak. Yay., Adana.
- Pavon, M. A., Gonzalez, I., Pegels, N., Martin, R., Garcia, T. (2010). PCR detection and identification of *Alternaria* species-groups in processed based on the genetic marker *Alt a1*. *Food Control* 21 1745-1756.
- Peever, T.L., Canihos, Y., Olsen, L., Ibanez, A., Liu, Y. C., Timmer, L. W. (1999). Population Genetic Structure and Host Specificity of *Alternaria* spp. Causing Brown Spot of *Minneola tangelo* and Rough Lemon in Florida. *Phytopathology*. 89, 851-860.
- Polat, P. (2013). Çukurova Bölgesinde Bazı Kültür Bitkilerinde Sorun Olan *Alternaria* Türlerinin İzolasyonları, Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonları, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim dalı, Adana.
- Prusky, D. (1996). Pathogen quiescence in post harvest diseases, *Annual Review of Phytopathology*, 34:413-434.

- Pryor, B. M., Davis, R. M., Gilbertson, R. L. (1998). Detection of soilborne *Alternaria radicina* and its occurrence in California carrot fields. *Plant Disease*. **82**, 891-895.
- Pryor, B. M., Michailides, T. J. (2002). Morphological, pathogenic and molecular characterization of *Alternaria* Isolates associated with Alternaria late blight of pistachio. *Phytopathology*. **92**, 406-416.
- Reis, R. F., Almeida, T.F., Stuchi, E. S., Goes, A. (2007). Susceptibility of Citrus Species to *Alternaria alternata*, the Causal Agent of the Alternaria Brown Spot. *Scientia Horticulture*. **113**:336-342.
- Reynolds, D. R. ve Taylor, J. W. (1992). The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics. Cab International. Newport Oregon. 375 pp.
- Rodrigues, T. T. M. S., Berbee, M. L., Simmons, E. G., Cardoso, C. R., Reis, A., Maffia, L. A., Mizubuti, E. S. G. (2010). First report of *Alternaria tomatophila* and *A. grandis* causing early blight on tomato and potato in Brazil. *New Disease Reports* **22**, 28. [doi:10.5197/j.2044-0588.2010.022.028] **Received:** 04 May 2010. **Published:** 01 Nov 2010.
- Rotem, J. (1994). The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology, and Pathogenicity. The American Phytopathological Society, St. Paul: APS Press, MN.
- Satıl, F. (1995). Balıkesir’de Menengiç Ağaçlarına Aşıl原因arak Elde Edilen Antepfıstığı Ağaçlarının Gaziantep’te Yetiştirilen Doğal Antepfıstıkları ile Biyoeekolojik Ve Diğer Yönlerden Karşılaştırılması. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir.
- Simmons, E. G., Roberts, R. G. (1993). *Alternaria* themes and variations (73). *Mycotaxon*. **48**, 109-140.
- Simmons, E. G. (1996). *Alternaria* themes and variations (145-149). *Mycotaxon*. **57**, 391-409.
- Simmons, E. G. (2007). *Alternaria*: An Identification Manual. Utrecht, Netherlands: CBS Fungal Biodiversity Centre.
- Stergiopoulos, I., Groenewald, M., Staats, M., Lindhout, P., Crous, P. W., De Wit, P. J. G. M. (2007). Mating-type genes and the genetic structure of a world-wide collection of the tomato pathogen *Cladosporium fulvum*, *Fungal Genet. Biol.*, **44**: 415–429.
- Stewart, J. E. (2011). Mating system and speciation of the citrus brown spot pathogen, *Alternaria alternata*. PhD Dissertation, WSU.
- Stewart, J. E., Kawabe, M., Abdo, Z., Arie, T., Peever, T. L. (2011). Contrasting Codon Usage Patterns and Purifying Selection at the Mating Locus in Putatively Asexual *Alternaria* Fungal Species, *Plosone*. **6(5)**, 20083.
- Stukenbrock, E. H., McDonald, B. A. (2008). The origins of plant pathogens in agroecosystems, *Annual Review of Phytopathology*, **46**, 75-100.
- Swart, W. J. (2003). Biomonitoring of fungi in Pistachio orchards. Phase 3: 2003/4. Research Report.
- Swart, W. J., Blodgett, J. T. (1998). Fungi associated with diseased pistachio trees in South Africa. Combined Congress of the Southern African New Crop Research

Association, South African Crop Production Society and the Southern African Weed Science.

Taşkın, T., İnal, A. (2005). Sakız Ağacı (*Pistacia lentiscus* var. *chia* Duhamel)'nın İn vitro Mikroçoğaltımı Üzerine Araştırmalar, Anadolu D., J. of AARI 15 (1), 1 - 15 MARA Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü P.K.9 35661 Menemen-İzmir.

Tatlı, F., Sağır, A., Pala, H. (1995). GAP Bölgesi Antepfıstığı Alanlarında Görülen Fitopatolojik Sorunlar, GAP Bölgesi Bitki Koruma Sorunları ve Çözüm Önerileri Sempozyumu, s. 317-328, Şanlıurfa.

Taylor, J. W., Jacobson, D. J., Fisher, M. C. (1999). The evolution of asexual fungi: reproduction, speciation and classification, *Annual Review Phytopathology*, 37, 197-246.

Tekin, H., Arpacı, S., Atlı, S., Açar, İ., Yaman, A., Yükçeken, Y., Karadağ, S. (2001). Antepfıstığı Yetiştiriciliği. Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Yayın No: 13, s.12, Gaziantep.

Timmer, L. W., Darhower, H. M., Zitko, S. E., Peever, T. L., Ibáñez, A. M., Bushong, P. M. (2000). Environmental factors affecting the severity of *Alternaria* brown spot of citrus and their potential use in timing fungicide applications. *Plant Disease*. 84, 638-643.

Timmer, L. W., Peever, T. L., Solel, Z., Akimitsu, K. (2003). *Alternaria* diseases of citrus-Novel pathosystems. *Phytopathol. Mediterr.* 42, 99-112.

Townsend, G. K., Heuberger, J. W. (1943). Methods For Estimating Losses Caused By Diseases İn Fungicide Experiments. *Plant Disease Repr.*, 27, 340-343.

TUİK, (2012). [Http://Www.Tuik.Gov.Tr/Pretablo.Do_Alt_Id=45](http://Www.Tuik.Gov.Tr/Pretablo.Do_Alt_Id=45) Erişim Tarihi: 18.02.2012.

Turan, K. (1990). Antepfıstığı Hastalıkları ve Mücadeleleri İle İlgili Çalışmalar, Türkiye Antepfıstığı Sempozyumu Bildirileri, Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, s. 167-176, Gaziantep.

Ulusaraç, A. (1992). Mevcut Standart Antepfıstıklarına Anaç Seçimi (3). Gaziantep Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Gaziantep.

Ulusaraç, A., Tekin, H. (1989). 'Antepfıstığı Avrupa Ekonomik Topluluğu Raporu' (Basılmamış).

Üstüner, T. (1996). Turunçgillerde *Alternaria citri* Yanıklığı Oluşumu ve Kimyasallarla Önlenmesi. Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

Vavilov, V. L. (1951). The orijin, variation immunity and cultivated plants. Translated from Russian. *Chronica Botanica* I (6) Vol.13, pp. 1-364.

Wasfy, E. H., Ibrahim, I. A., Elarosi, H. M. (1974). New *Alternaria* Disease of Pistachio in Egypt. *Phytopathologia-Mediterranea*. 13, 1-2.

Woodroof, J. G. (1967). Pistachio Nuts. In: Tree Nuts, Production, Processing and Products. Vol II. The AVI Publishing Company, Incorporated. Westport, Connecticut.

Zhou, Y., Fitt, B. D. L., Welham, S. J., Gladders, P., Sansford, C. E, West, J. S. (1999). Effects Of Severity And Timing Of Stem Canker (*Leptosphaeria Maculans*)

Symptoms On Yield Of Winter Oilseed Rape (*Brassica Napus*) In The UK. *Eur. J. Plant Pathol.*:**105**:715–728.

Zohary, M. (1952). A Monographical Study of The Genus Pistachio. *Palestine J. Bot.*, Jerusalem Series, 5(4): 187-228.

EKLER

EK 1:

PDA (Patates Dekstroz Agar) (gr/lt)

Patato Dekstroz Agar	39 g.
Agar	12 g.
dH ₂ O	1000 ml
Ortam 121°C'de 15dk. otoklavlanır.	

EK 2:

Gliserol Stok (100 ml):

Gliserol (% 20)	20 ml
dH ₂ O (%80)	80 ml
NaCl (0,25)	0,25 g.
121°C'de 15dk. otoklavlanır.	

EK3:

Lizis Buffer (125 ml)

25 ml 1 M Tris-HCl (pH: 8)

62,5 ml 1 M NaCl

2,5 ml 0,5 M EDTA (pH: 8)

12,5 ml % 10 SDS

22,5 ml ddH₂O

1XTE (1 L)

10 ml 1M Tris-HCl

2 ml 0,5 M EDTA

988 ml ddH₂O

EK 4:**Agaroz Jel (%1,5'luk 300 ml)**

Ticari toz agaroz	4,5 g
1xTAE	300ml
Etidium Bromid	35 μ l

EK 5:**50X TAE (1000 ml)**

Kimyasal	Miktar
Tris base	242 g
Glasiyel Asetik Asit	57.1 ml/gr
0.5 M EDTA	100 ml
ddH ₂ O	1000 ml hacme tamamlanır,otoklavlanır.

1XTAE, 20 ml 50 X TAE stok solüsyonundan alınarak saf su ile 1000 ml hacime tamamlanarak hazırlanmıştır

