

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Ayşegöl ÇOLAK

**DOĞU AKDENİZ BÖLGESİ ÖRTÜ ALTI DOMATES YETİŞTİRİLİCİĞİNDE
Fusarium oxysporum SPESİYAL FORM VE İRKLARININ YAYGINLIĞI,
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE AYRIMI İLE KÖK VE KÖK BOĞAZI
ÇÜRÜKLÜĞÜ (*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis & Shoomaker)
HASTALIĞININ ENTEGRE YÖNETİMİ**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA, 2011

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞU AKDENİZ BÖLGESİ ÖRTÜ ALTINDA YETİŞTİRİLEN DOMATESLERDE
***Fusarium oxysporum* SPESİYAL FORM VE IRKLARININ YAYGINLIĞI, MOLEKÜLER**
YÖNTEMLERLE AYRIMI İLE KÖK VE KÖK BOĞAZI ÇÜRÜKLÜĞÜ (*F. oxysporum* f.
sp. *radicis-lycopersici* Jarvis & Shoomaker) HASTALIĞININ ENTEGRE YÖNETİMİ

Ayşegül ÇOLAK

DOKTORA TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu tez 10/02/ 2011 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

.....		
Prof. Dr. Mehmet BİÇİCİ	Prof. Dr. İ. Halil ELEKCİOĞLU	Prof Dr. Saadettin BALOĞLU
Danışman	Üye	Üye

.....	
Prof. Dr. Yeşim AYSAN	Doç. Dr. Canan CAN
Üye	Üye

Bu tez, Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu çalışma, Çukurova Üniv. Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No: ZF2008D5

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

**DOĞU AKDENİZ BÖLGESİ ÖRTÜ ALTI DOMATES YETİŞTİRİCİLİĞİNDE
Fusarium oxysporum SPESİYAL FORM VE IRKLARININ YAYGINLIĞI,
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE AYRIMI İLE KÖK VE KÖK BOĞAZI
ÇÜRÜKLÜĞÜ (*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis & Shoomaker)
HASTALIĞININ ENTEGRE YÖNETİMİ**

Ayşegül ÇOLAK

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

Danışman: Prof. Dr. Mehmet BİÇİCİ

Yıl: 2011, Sayfa: 176

Jüri : Prof. Dr. Mehmet BİÇİCİ

Prof. Dr. İ.Halil ELEKCİOĞLU

Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU

Prof. Dr. Yeşim AYSAN

Doç. Dr. Canan CAN

Doğu Akdeniz Bölgesi'nde *Fusarium oxysporum*'un formlarının neden olduğu domates kök ve kök boğazı çürüklüğü (FORL) ve domates *Fusarium* solgunluğu (FOL) örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda ekonomik kayıplara neden olan en önemli patojenlerdendir. Adana ve Mersin il ve beldelerinde Kasım 2007- Nisan 2008 ayları arasında örtü altı domates seralarından *Fusarium oxysporum* hastalığının ortalama hastalık oluşumu ve şiddeti Adana ilinde yıllar itibariyle % 35,0 ve % 18,1, Mersin ilinde % 43,2 ve % 20,4 olarak saptanmıştır. Adana ilinde hastalık yaygınlığı hastalıklı sera sayısı açısından % 56,1, hastalıklı sera alanı açısından ise % 68,1' dur. Mersin ilinde hastalık yaygınlığı hastalıklı sera sayısı açısından % 59,7, hastalıklı sera alanı % 56,4'dür. PCR çalışmasında farklı bölgelere ait, 87 izolata % 60'ı FORL olarak belirlenirken, % 40'ı FOL olarak tespit edilmiştir. İzolatların klasik yöntemlerle yapılan tanılama ile PCR sonuçları arasında farklılık tespit edilmiştir. FORL ile entegre mücadelede, solarizasyon (S) + Metham sodium (MS) uygulamaların patojenin canlılığına etkisi 5,15,25 ve 35 cm toprak derinliğinde topraktan ve gömülü inokulum üzerinde azaltıcı yönde etkili olurken, yalnız solarizasyon uygulamasında 35 cm'de patojeni öldürücü sıcaklığa ulaşamamıştır. Her iki yıl sera denemelerinde hastalık oluşumu en az S+MS uygulamanmış toprakta birinci yıl % 21,3 ile BS uygulamasında, ikinci yıl ise % 20,0 ile TH-T uygulamasında saptanmıştır. Biyolojik ajanlar içerisinde FORL mücadelesinde en ümit var sonuçlar *Basillus subtilis* QST-713 (BS) ve *Thricoderma harzianum* (TH-T) uygulamalarından elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Domates, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, PCR, entegre hastalık yönetimi

ABSTRACT

PhD THESIS

**PREVALENCE OF *FUSARIUM OXYSPORUM* FORMAE SPECIALES AND RACES
IN PROTECTED TOMATO GROWING AREAS OF EASTERN
MEDITERRANEAN REGION OF TURKEY, THEIR MOLECULAR
DIFFERENTIATION AND INTEGRATED DISEASE MENAGEMENT OF CROWN
AND ROOT ROT (*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycoersici* Jarvis & Shoemaker)**

Ayşegül ÇOLAK

**ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION**

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet BİÇİCİ

Year: 2011, Pages: 176

Jury : Prof. Dr. Mehmet BİÇİCİ
Prof. Dr. İ. Halil ELEKCİOĞLU
Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Assoc. Prof. Dr. Canan CAN

Fusarium crown and root rot and Fusarium wilt are the most important diseases of tomato grown under protected conditions in the Eastern Mediterranean region of Turkey. The diseases cause important economic losses in the region. Survey studies were conducted in tomato growing greenhouses of Adana and Mersin provinces to determine disease incidence and severity of Fusarium crown and root rot (FORL) and Fusarium wilt (FOL) during November 2007-April 2008. Disease incidence and disease severity values were 35.0% and 18.1% in Adana province and 43.2% and 20.4% in Mersin province, respectively. Disease prevalence in terms of number of diseased greenhouses and diseased area were 56:1% and 68:1 in Adana province and, 59.1% and 56.4% in Mersin province, respectively. Polymerase Chain Reaction (PCR) studies characterized 87 isolates, representative of different locations, as FORL (60%) and FOL (40%). Differentiation in diagnosis was detected between conventional methods and PCR analyses. In the case of integrated management of FORL, Solarisation (S) and Metham Sodium (MS) application was effective on pathogen vigour at 5, 15, 25, and 35 cm soil depth. Solarisation alone did not result the lethal soil temperature for the pathogen at 35 cm soil depth. In greenhouse experiments conducted for two years, the least disease incidence in soils that S+MS was not applied occurred in BS and TH-T applications with 21.3% and 20.0%, respectively. *Bacillus subtilis* QST-713 (BS) and *Thricoderma harzianum* (TH-T) applications among biological agents in FORL control yielded promising results.

Key words: Tomato, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici*, PCR, Integrated disease management

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın belirlenmesi ve yürütülmesinde, arazi ve laboratuvar çalışmalarında olduğu gibi yazım ve değerlendirme aşamalarında da engin bilgi ve yardımlarını eksiksiz gördüğüm değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet BİÇİCİ'ye çok teşekkür ediyor, saygılarımı sunuyorum.

Doktora tez jüri ve Tez izleme komitesi üyesi Sayın Prof. Dr. Halil ELEKCİOĞLU'na manevi desteklerinden dolayı, moleküler çalışmalarımda yönlendirici ve olumlu katkılarından dolayı Doç. Dr. Canan CAN'a içtenlikle teşekkür ederim. Doktora jüri üyelerinden Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU ve Prof. Dr. Yeşim AYSAN yapıcı ve yönlendirici fikirleriyle katkıda bulundukları için teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın yürütüldüğü Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü'nün çok kıymetli yönetici ve çalışanlarına, bütün çalışmalarım bana verdikleri maddi ve manevi desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunuyorum. Tecrübelerinden yararlandığım ve manevi desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarımdan Dr. Hakan FİDAN ve Yrd. Doç. Dr. Ercan EKBİÇ'e teşekkür ediyorum.

Bu projenin gerçekleşmesinde verdikleri finansmandan dolayı TAGEM ve Ç. Ü. Araştırma Fonu'nun çok değerli yöneticilerine ve çalışanlarına teşekkür ediyor, saygılarımı sunuyorum.

Hayatımın her döneminde maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve beni her daim destekleyen babam Cumali ÇOLAK, annem Elif ÇOLAK ve kardeşlerim Neşe, Hakan, Işıl ve Gülfidan ÇOLAK'a yürekten teşekkür ediyorum.

Doktora çalışmalarımın son döneminde hayatıma anlam katan, manevi desteğini her an yanımda hissettiğim sevgili eşim Serdar Umut ATEŞ' e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	11
3. MATERYAL VE METOT.....	37
3.1. Materyal.....	37
3.2. Metot.....	39
3.2.1. Örtü Altı Domates Seralarında Fusarium Hastalıkları Survey Çalışması.....	39
3.2.2. Patojen İzolasyonu ve Patojenite Çalışmaları.....	41
3.2.3. FORL ve FOL İzolatlarının Moleküler Ayrımı.....	44
3.2.4. Fo İzolatlarından Genomik DNA İzolasyonları	45
3.2.5. Amplifikasyon Çalışmaları.....	49
3.2.6. Amplifikasyon için Thermal Cycler Cihazının Programlanması.....	50
3.2.7. Agaroz Jel Elektroforez Çalışmaları.....	51
3.2.8. Farklı Domates Çeşitlerinin FORL' a Karşı Reaksiyonları.....	54
3.2.9. Serada Hastalık Yönetimi Çalışmaları.....	55
3.2.9.1. Sera Toprağının FORL ile Bulaştırılması.....	55
3.2.9.2. Sera Toprağının Hazırlanışı ve Solarizasyon Uygulaması.....	56
3.2.9.3. Uygulamaların Topraktaki FORL İnokulumu Üzerine Etkileri.....	57

3.2.9.4. Seraya Fidelerin Dikimi, Hasat ve Denemenin	
Değerlendirilmesi.....	59
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	65
4.1. Örtü Altı Domates Alanlarında Fusarium Solgunluk Hastalığı Surveyi...	65
4.2. Hastalıklı Bitki Materyalinden Patojenin İzolasyonu ve Patojenite	
Çalışmaları	87
4.3. Farklı Domates Çeşitlerinin FORL Enfeksiyonuna Reaksiyonları.....	91
4.4. <i>Fusarium oxysporum</i> İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu.....	95
4.4.1. PCR Yönteminde Kullanılan <i>Fusarium oxysporum</i> İzolatlarının	
DNA'larının İzolasyonu.....	95
4.4.2. PCR Yöntemi ile DNA'ların Amplifikasyonu.....	96
4.4.3. PCR Çalışmaları Sonucunda Bölge İzolatlarından Elde Edilen DNA	
Bantlarının Tanısı.....	97
4. 5. Serada Kök ve Kök Boğazı Çürüklüğü Hastalığının Entegre Mücadelesi	112
4.5.1. Toprak Solarizasyonu.....	112
4.5.2. Solarizasyon ve Metham Sodium Uygulamalarının Topraktaki	
FORL İnokulumu Üzerine Etkisi.....	115
4.5.3. Serada FORL Enfeksiyonunun Entegre Mücadelesi.....	123
4.5.3.1. Seraya Fide Dikimi ve Uygulamalar	124
4.5.4. Seradaki Uygulamaların Hasat ve Hastalık Çıkışına Etkisinin	
Değerlendirilmesi.....	125
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	135
KAYNAKLAR.....	143
ÖZGEÇMİŞ.....	167
EKLER.....	168

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. PCR analizi için sentezlenen primerlerin nükleotid dizilimleri baz uzunlukları	45
Çizelge 3.2. Amplifikasyonda bir örnek için reaksiyon bileşenlerinin oranları.....	50
Çizelge 3.3. İzolatların FORL veya FOL ırkları olup olmadıklarını belirlemede PCR sonucu görüntülemeye kullanılan primer setlerinin tanımlanması	53
Çizelge 4.1. Adana ili örtü altı domates sera alanlarında <i>Fusarium oxysporum</i> survey sonuçları (2007-2008)	65
Çizelge 4.2. Adana ili örtü altı domates sera alanlarında <i>Fusarium oxysporum</i> solgunluk oluşumu ve şiddeti ile hastalık nedeni spesiyal formları.....	69
Çizelge 4.3. Mersin ili örtü altı domates sera alanlarında <i>Fusarium oxysporum</i> survey sonuçları (2007-2008).....	70
Çizelge 4.4. Mersin ili örtü altı domates sera alanlarında <i>Fusarium oxysporum</i> hastalık oluşumu ve şiddeti	71
Çizelge 4.5. Patojenite çalışmalarında hastalık şiddeti %70 ve üzeri olan farklı bölgelere ait <i>F. oxysporum</i> izolatların hastalık indeksi, hastalık şiddeti ve semptomatolojik olarak spesiyal form tanımı.	87
Çizelge 4.6. Farklı domates çeşitlerinin FORL enfeksiyonuna karşı belirlenen hastalık şiddeti ve hastalık indeks değerleri.....	93
Çizelge 4.7. Bölge örtü altı domates seralarından alınan <i>F. oxysporum</i> 'a ait 87 izolatın PCR çalışması sonucu belirlenen spesiyal form ve ırklarının ayrımı durumu.....	109
Çizelge 4.8. Her iki deneme sezonunda solarizasyon uygulamasının toprağın 5, 15, 25 ve 35 cm derinliklerindeki maksimum toprak sıcaklık değerleri (° C).....	114
Çizelge 4.9. 2008 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasından önce ve sonra topraktaki FORL popülasyonu (propagül/g toprak).....	117

Çizelge 4.10. 2008 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasının toprağa gömülen FORL kültürü canlılığına etkisi (30 parça/10 petri).....	118
Çizelge 4.11. 2009-2010 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasından önce ve sonra topraktaki FORL populasyonu (propagül/g toprak).....	120
Çizelge 4.12. 2009 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasının gömülen FORL inokulumunun canlılığına etkisi (30 parça/10 petri).....	121
Çizelge 4.13 2008-2009 yıllarında uygulamaların FORL enfekteli bitki oranına (%).....	124
Çizelge 4.14. 2008-2009 yılı sera denemelerinde uygulamaların FORL enfekteli bitki oranı ve % etkisi.....	128
Çizelge 4.15. 2008-2009 yılına ait seradaki uygulamaların verime etkisi	127
Çizelge 4.16. 2008-2009 yılı sera denemelerinin bitki başına verime etkisi (kg/bitki).....	131

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1.	Mersin'in Adanalıoğlu ilçesine ait domates seralarında <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> ile enfekteli domates bitkileri.....	3
Şekil 1.2.	Mersin'in Erdemli ilçesine ait domates seralarında <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> ile enfekteli domates bitkileri.....	5
Şekil 2.1.	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> etmeninin bitkideki simptomları.....	11
Şekil 2.2.	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> etmeninin kök boğazı ve gövde kısmında gelişen hafif çökük turuncu-pembe spor oluşturan kahverengi çürüme.....	12
Şekil 2.3.	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> etmenin bitkideki tipik simptomları	12
Şekil 3.1.	Survey yapılan seralardan alınan hastalıklı domates kökleri.....	41
Şekil 3.2.	Tek spor izolasyonu	42
Şekil 3.3.	İklim odası patojenite çalışmalarından görüntüler.....	43
Şekil 3.4.	DNA miniprep kit protokolü ile Total genomik DNA izolasyonu	48
Şekil 3.5.	Amplifikasyon çalışmasındaki basamakların şeması.....	51
Şekil 3.6.	Reaksiyon karışımını içeren PCR ürünlerinin agaroz jele yüklenmesinden bir görüntü.....	52
Şekil 3.7.	FORL spor süspansiyonu için kullanılan CR izolatının PDA ortamındaki koloni gelişimi.....	54
Şekil 3.8.	Sera toprağının sıcaklığını ölçen hobo aleti.....	57
Şekil 3.9.	Sera toprağına gömülen FORL kültürü.....	58
Şekil 3.10.	Laboratuarda izolasyon çalışmalarından bir görüntü.....	58
Şekil 3.11.	Deneme serasından bir görüntü.....	59
Şekil 3.12.	Serada domates bitkilerinde koltuk alma ve ipe almadan bir görüntü.....	60
Şekil 3.13.	Seraya yerleştirilen bombus arısı kovanından bir görüntü.....	61
Şekil 3.14.	Deneme serasına kurulan ısıtma sisteminden bir görüntü.....	61

Şekil 3.15.	Deneme serasından bir görüntü.....	62
Şekil 3.16.	Hasat edilen meyvelerin pazarlanabilir/pazarlanamaz değerlendirilmesi.....	62
Şekil 4.1.	Adana ili örtü altı domates seralarında <i>Fusarium oxysporum</i> oluşumu ve şiddeti.....	66
Şekil 4.2.	Adana ilinin Yüreğir ilçesine ait AY-5 izolatının elde edildiği hasta domates bitkisinde (FORL) iletim demeti ve kök boğazı görüntüsü.....	67
Şekil 4.3.	Adana ili Ceyhan ilçesine ait domates seralarındaki (a, b), AC-7 izolatı (FORL) ; (c), AC-2 izolatı (FORL); (d), AC-9 izolatı (FOL) elde edildiği solgunluk belirtileri gösteren bitkiler.....	68
Şekil 4.4.	Mersin ili örtü altı domates seralarında <i>Fusarium oxysporum</i> hastalık oluşumu ve şiddeti (%).	75
Şekil 4.5.	Mersin ilinin Adanalıoğlu beldesine ait örtüaltı domates serasına ait solgunluk belirtilerinden bir görüntü ve izolatların elde edildiği bitkiler.....	76
Şekil 4.6.	Mersin ilinin Yenitaşkent beldesine ait domates seralarından bir görüntü ve izolatların elde edildiği domates bitkileri.....	77
Şekil 4.7.	Mersin ilinin Kazanlı beldesine ait domates seralarından bir görüntü ve izolatların elde edildiği domates bitkileri.....	78
Şekil 4.8.	Mersin ilinin Erdemli beldesindeki örtüaltı domates seralarından bir görüntü.....	79
Şekil 4.9.	Mersin ilinin Tarsus ilçesindeki domates serasına ait Tarsus-1 FORL izolatı bitkiden elde edilen bir görüntü.....	80
Şekil 4.10.	Mersin ilinin Tarsus ilçesindeki domates serasına ait Tarsus-0 izolatının elde edildiği kök boğazı iletim demetindeki FORL belirtilerinden bir görüntü	80
Şekil 4.11.	Mersin ilinin Silifke ilçesine ait domates seralarından bir görüntü.	81

Şekil 4.12.	Mersin ilinin Silifke ilçesi beldesine ait domates seralarından bir görüntü.....	82
Şekil 4.13.	Mersin ili Adanalıoğlu beldesine ait örtü altı domates seralarına ait izolatlardaki kök-ur nematodu ve iletim demeti simptomlarından bir görüntü.....	83
Şekil 4.14.	Silike ilçesine ait örtüaltı domates seralarında Kök-ur nematodu ve Fusarium etkileşiminden bir görüntü.	83
Şekil 4.15.	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> ırklarına ait PDA ortamındaki gelişiminden bir görüntü.....	90
Şekil 4.16.	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis lycopersici</i> (AK-1 izolatu)'nın PDA ortamındaki koloni gelişimi.....	90
Şekil 4.17.	FORL ve FOL 3 izolatlarına ait makrokonidi ve mikrokonidi şekilleri.....	91
Şekil 4.18.	Farklı domates fidelerine <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis lycopersici</i> hastalığının bulaştırılması.....	92
Şekil 4.19.	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis lycopersici</i> inokulasyonu sonucunda bulaşık köklerden re izolasyonu.....	93
Şekil 4.20.	Farklı domates çeşitlerinin <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis lycopersici</i> enfeksiyonu sonucu gösterdikleri simptomlar.....	94
Şekil 4.21.	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis lycopersici</i> enfeksiyonuna Etna ve May Klasdo domates çeşitlerinin gösterdiği reaksiyonlar.....	94
Şekil 4.22.	<i>Fusarium oxysporum</i> izolatlarından elde edilen DNA'ların jelde görünümü.....	96
Şekil 4.23.	Amplifikasyon çalışmalarında kullanılan pozitif izolatların jel görüntüsü.....	97
Şekil 4.24.	Mersin ili Yenitaşkent domates seralarına ait YT-10 izolatından bir görüntü.....	98
Şekil 4.25.	Bölge izolatların uni (672 bp) ve sprl (947 bp) primerleri amplifikasyonundan bir görüntü.....	99

Şekil 4.26.	Adana/Karataş (AK-1), Erdemli/Kocahasanlı (EKH-2) ve Erdemli/Türbe (ET-3) bölgesine ait izolatlarından jel görüntüsü.....	99
Şekil 4.27.	Adana ili örtüaltı domates seralarına ait izolatlardan AK-1 (Adana /Karataş) izolatının iletim demetlerinden bir görüntü.....	100
Şekil 4.28.	Bölge izolatlarından sp1 primerde bant oluşturmayan izolatların FOL için ırk primerleri olan sp13 (445bp) ve sp23 (518bp) kullanılarak yapılan PCR çalışmasından bir görüntü.....	100
Şekil 4.29.	Erdemli ve Adanalıoğlu seralarına ait izolatların 4 spesifik primer sonuçlarına ait jel görüntüsü.....	102
Şekil 4.30.	Kazanlı/Mersin (KZ-4), Erdemli (Karakeşli)/Mersin (EKR-3) ve Tarsus/Mersin (Tarsus-1) izolatına ait jel görüntüsü.....	102
Şekil 4.31.	Mersin /Yenitaşkent izolatları ve <i>Fusarium oxysporum melonis</i> ait jel görüntüsü.....	103
Şekil 4.32.	Mersinin ilinin Yenitaşkent beldesi YT-4 izolatının alındığı FORL simptomlarının görüldüğü domates serasından bir görüntü.....	104
Şekil 4.33.	Silifke (S-17), Yüreğir /Adana (AY-5) ve Kocahasanlı/Erdemli (EKH-23) izolatlarına ait jel görüntüsü.....	104
Şekil 4.34.	Silifke (S-24), Seyhan /Adana (AS-3) ve Adanalıoğlu /Mersin (AO-6) bölge izolatlarına ait jel görüntüsü.....	106
Şekil 4.35.	Adanalıoğlu /Mersin (AO-6) beldesine ait FORL ile bulaşık bitkiden bir görüntü. (a) Domates bitkisinin genelinde bir solgunluk, (b,c) bitki kök boğazı ve iletim demetindeki simtomatolojik kararmalar.....	106
Şekil 4.36.	Erdemli/Üçtepe (EÜ-1), Silifke (S-14) ve (S-28) izolatlarına ait jel görüntüsü.....	107

Şekil 4.37.	Silifke Arkum ve Kurtuluş beldeleri domates seralarındaki bitkilerin iletim demetlerindeki simptomlardan bir görüntü.....	107
Şekil 4.38.	Bölge örtü altı domates seralarına ait 87 <i>F. oxysporum</i> izolatının FORL ve FOL (1,2,3 ırkı) yüzdeleri.....	108
Şekil 4.39.	Adana ve Mersin illerine ait <i>Fusarium oxysporum</i> izolatlarının PCR sonuçları	111
Şekil 4.40.	Bölge izolatlarının tanımlanmasında Simptomatolojik ve PCR sonuçları	111
Şekil 4.41.	Sera toprağına solarizasyon uygulaması.....	112
Şekil 4.42.	Sera toprağına solarizasyon uygulaması öncesi FORL inoklumu ve hobo aletinin dört farklı toprak derinliğine gömülmesi işleminden bir görüntü.....	113
Şekil 4.43.	Solarizasyon uygulanmış ve uygulanmamış parsellerdeki 2 Temmuz – 18 Ağustos 2008 yılına ait 5 ve 15 cm toprak derinliklerindeki maximum toprak sıcaklık değerleri (° C).....	115
Şekil 4.44.	Solarizasyon uygulanmış ve uygulanmamış parsellerdeki 1 Temmuz – 15 Ağustos 2009 yılına ait 5 ve 15 cm toprak derinliklerindeki maximum toprak sıcaklık değerleri (° C).....	116
Şekil 4.45.	2008 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasından sonra farklı toprak derinliklerindeki FORL populasyonun varlığını gösteren koloniler.....	118
Şekil 4.46.	2008 yılı Solarizasyon ve MS uygulanmış toprağına gömülen FORL inokulumunun kültüre alınmasında canlı propagüllerden gelişen koloniler.....	119
Şekil 4.47.	2009 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasından sonra farklı toprak derinliklerindeki FORL populasyonun varlığını gösteren koloniler.....	121
Şekil 4.48.	2009 yılı Solarizasyon ve MS uygulanmış toprağına gömülen FORL inokulumunun kültüre alınmasında canlı propagüllerden gelişen koloniler.....	122

Şekil 4.49.	Deneme serasına fidelerin dikimi ve parsellere preperatların uygulanmasından bir görüntü.....	124
Şekil 4.50.	FORL ile mücadelede seradaki bitkilerin değerlendirilmesinden bir görüntü.....	125

SİMGELER VE KISALTMALAR

bp	: Baz çifti (Base pair)
°C	: Santigrat derece
cm	: Santimetre
CLA	: Karanfil Yaprak Agarı (Carnation Leaf-Piece Agar)
da	: Dekar (1000 m ²)
dk.	: Dakika
dATP	: Deoksiadenozintrifosfat
dCTP	: Deoksisitidintrifosfat
dGTP	: Deoksiguanozintrifosfat
dH ₂ O	: Distile Su
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleotidrifosfat
dTTP	: Deoksitimidintrifosfat
EDTA	: Etilen Daimin Tetra Asetik Asit
EtBr	: Ethidium Bromid
FAO	: Food and Agricultural Organization of the United Nations
f.sp	: Forma speciales
gr	: Gram
ha	: Hektar
FMM	: Fusarium Minimum Media
FOL	: <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>
FORL	: <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis lycopersici</i>
kg	: Kilogram
MS	: Metham Sodium
µl	: Mikrolitre
M	: Molar
ml	: Mililitre
mM	: Milimol
mm	: Milimetre

NaCl	: Sodium Klorür
NaOCl	: Sodium hypoklorit
ng	: Nanogram (1/1000 µg)
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir reaksiyonu)
PDA	: Patates Dekstroz Agar
PEG	: Polietilen Glikol
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
PGPR	: Plant Growth Promoting Rhizobacteria
pH	: Çözeltinin asitlik bazlık seviyesi (Powder of Hydrogen)
rpm	: Dakikada dönme sayısı (Revolutions per minute)
S	: Solarizasyon
SAR	: Systemic Acquired Resistance
SDS	: Sodium Dodecyl Sulphate
spp.	: Türleri
UV	: Ultra Viyole
VCG	: Vegetatif Uyum grubu (Vegetatif Compatibility Group)
TAE	: Tris + Asetik asit+ EDTA
Taq	: Termo Stabil Polimeraz Enzimi
TBE	: Tris + Borik asit + EDTA
TE	: Tris + EDTA

1. GİRİŞ

Ülkemiz tarımında üretim artışı ve üretimin yıl içinde dengeli dağılımı yönünden örtü altı sebze yetiştiriciliği önemli bir yere sahiptir. Bu bağlamda, toplam sebze alanlarının % 6'sını örtü altı alanları oluşturmakta ve bu alandan toplam sebze üretiminin % 17'si olan 4 181 000 ton üretim sağlanmaktadır. Örtü altı sebze üretiminde ilk sırayı domates almakta olup bunu hıyar, karpuz, biber ve patlıcan izlemektedir (Abak, 2006; Öztürk, 2006). *Solanaceae* familyasına ait *Lycopersicum* cinsine bağlı bir bitki olan domates, taze olarak tüketiminin yanı sıra, salça, domates suyu, turşu şeklinde işlenmiş olarak tüketilen besinlerimizin arasında bulunmaktadır (Bayraktar, 1981). Yaz döneminde açıkta üretimi yapılan domates, kış aylarında seralarda üretimi yapılarak 4 mevsim tüketime hazır bir sebze olarak sofralarımızda yer almaktadır.

Örtü altı domates üretiminde, toprak kökenli patojenler belli bir alanda uzun dönemler tek bir tür ürün yetiştirilmesi nedeniyle önemli hastalık sorunlarına yol açarlar. Toprak kökenli patojenler bitkilerin köklerine, kök boğazlarına ve gövdenin alt kısımlarına saldırarak bu dokuların bozulup çürümelerine ve ayrıca solgunluk hastalıklarına neden olurlar. Bu gibi toprak kökenli hastalıklarla mücadele etmek oldukça güçtür. Çünkü bu patojenler toprakta, toprağa karışmış bitki artıklarında ve canlı kök dokularında uzun zaman varlıklarını sürdürebilme yeteneğinde olan çeşitli spor ve benzeri yapılar üretirler. Birçoğu saprofitik rekabetçi yeteneği sayesinde toprak içinde yaşamını sürdürerek, burada ekilip dikilecek ürün bitkilerine saldırır. Toprağın fiziksel ve kimyasal yapısı, rizosferde bulunan diğer mikroorganizmalar, konukçu bitkilerin kök salgıları gibi faktörler toprak kökenli patojenlerle mücadeleyi zorlaştırabilmektedir.

Fusarium oxysporum toprak kökenli funguslar arasında en başta gelen bitki kök hastalığı patojenlerine sahiptir. Çünkü, bu taksa 120-150 kadar konukçuya özel bitki patojenik formları olan kozmopolit ve oldukça karmaşık bir türdür (Attitalla ve ark., 2004; Bogale ve ark., 2007). Bu formlardan her birisi bir veya birçok vejetatif uyum grubundan ibarettir ve ayrıca birçok ayrı patojenik ırklar içerir. *F. oxysporum*'a ait formae speciales'in büyük bir kısmı sadece bir konukçu türünü infekte etme

özelliğindedir. Bunlardan domatestes solgunluk yapan ve kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olan sırasıyla, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W. C. Snyder & H. N. Hans ve *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Jarvis & Shoemaker) gibi iki morfolojik olarak ayrılmış patojenik spesiyal form belirlenmiştir.

Doğu Akdeniz Bölgesinde örtü altı domates yetiştiriciliğinde önceleri *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL)'nin neden olduğu solgunluk hastalığının önem arz ettiği bilinirken (Yücel ve Çınar, 1989), sonraları Can ve ark. (2004), tarafından etmeni *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) olan kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığına rastlandığı açıklanmıştır (Şekil 1.1, 1.2). Bölgemizde 2004 yılında tespit edilen FORL hastalığının yaygınlığı ile ilgili ülkemizde yürütülmüş bir çalışma bulunmamaktadır. Bu iki *F. oxysporum*'un patojen formu ekseri domates yetiştirilen bölgelerde mevcuttur. Bu nedenle, aynı tarlada her iki form birlikte mevcut olabilmektedir. Böylece, domates tarlalarındaki bitkiler bunlardan birisi tarafından ayrı olarak infektelenebildiği gibi, aynı domates bitkileri her iki patojen ile birlikte infekte olarak, karışık infeksiyonlar gerçekleştirebilmektedir (Laine ve ark., 1999; Balmas ve ark., 2005). Morfolojik özellikler bakımından birbirinden ayırt edilmesi kolaylıkla mümkün olmayan bu patojenlerden, Bölgede öncelikle hangisinin daha yaygın, ne düzey ve şiddette oluşmakta olduklarının bilinmesi bu formlarla etkili bir şekilde mücadele yönteminin belirlenmesi açısından çok önemlidir. Çünkü FOL'a karşı geliştirilmiş dayanıklı çeşit yetiştirme ve toprak fumigasyonu veya buharlaması ile solgunluk hastalığı önlenmektedir. Oysa FORL'un neden olduğu kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığına karşı uygun dayanıklılığa sahip ticari olarak kabul edilebilir çeşitler henüz geliştirilmiş değildir (Jones ve ark., 1991; Ozbay ve ark., 2004). FORL bir üretim yılında tek ve çok döngülü olarak infeksiyonlara neden olmaktadır (Rekah ve ark., 2001). FORL özellikle seralarda mevsim içinde mikrokonidilerin yayılması sonucu tekrarlı infeksiyonlara sebep olup, örtü altı domateslerde % 90 ürün kaybına neden olmaktadır (Hajlaoui ve ark., 2001; Hibar, 2002). Bu nedenle, dezenfekte edilmiş sera toprağı bir mevsimde yeniden kolonize edildiğinden kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığının mücadelesi güçtür. Diğer yandan, FOL sadece Solanaceous türleri hastalandırırken, FORL Solanaceae,

Leguminosae, Cucurbitaceae ve Chenopodiaceae'ya dahil 37 bitki tür ve çeşidini hastalandırabilmektedir (Rowe, 1980; Menzies ve ark., 1990). Bu nedenle domates kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı ile mücadelede ürün bitkilerinin dışında yabancı otların da dikkate alınması gerekir. Netice olarak, bu iki *F. oxysporum* formu konukçu domates çeşitlerinin duyarlılığı açısından ve epidemiyolojik davranışlarında önemli ölçüde farklıdırlar. Bu iki form arasında doğru bir ayırım yapmak bunlarla mücadele edebilmek için elzemdir.



Şekil 1.1. Mersin'in Adanalıoğlu ilçesine ait domates seralarında *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ile infekteli domates bitkileri

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* tarafından neden olunan Fusarium solgunluğu ilk kez dünyada 1895 yılında İngiltere'de tespit edilmiştir (Sherf ve McNab, 1986). Fungus miselleri veya sporları ile kökün epidermal dokularında ksilem boyunca kolonize olmakta ve ürettiği toksik kimyasallar ve sporlarla bitkinin iletim dokusunu tıkararak onu öldürmektedir (Beckman, 1987). Fusarium solgunluk etmeni FOL dünyada en az 32 ülkede rapor edilmiştir. Domateste enfeksiyona neden

olan FOL domatese özelleşmiş bir formdur (Jones ve ark., 1991). Bu formun farklı domates çeşitlerinde patojen olan üç farklı fizyolojik ırkı (1, 2 ve 3) ayırt edilmiştir. Bazı ticari domates çeşitlerinin FOL'un 1, 2 ve 3 ırklarına dayanıklı olduğu saptanmıştır (Takahashi ve ark., 2005). *Fusarium solgunluğu* özellikle asitli ve kumlu topraklarda yaygın olarak görülen sıcak iklim hastalığıdır. Bu etmenin bulaşık olduğu alanlarda amonyum azotu uygulamalarının hastalık şiddetini artırdığı, nitrat azotu uygulamalarının ise hastalık şiddetini azalttığı rapor edilmiştir (Momol ve ark., 2005). Fungusun gelişmesi için optimum toprak ve hava sıcaklığı 28 °C' dir. Bitkiler özellikle azot, fosfor ve kalsiyum gibi besin maddesi noksanlıkları durumlarında ve az ışıklı kısa günlerde hastalığa daha duyarlı hale gelirler. Fungus dayanıklı klamidosporları sayesinde toprakta ve bitki artıkları üzerinde uzun yıllar yaşar (Sherf ve McNab, 1986; Jones ve ark., 1991). Bitkilerin üst aksamındaki belirtileri alt yaprakların sararması ve aşağı doğru sarkması ile başlar, bunu yaprakların kuruması ve bitkinin tümüyle ölümü izler (Şekil 1.1). Bu solgunluk belirtileri çok tipik olup yaprak sapının ve gövdenin bir tarafında görülür. İletim demetindeki kahverengi renk değişimi bu hastalık teşhisi için belirleyicidir. Ana konukçu domates bitkisidir (Sherf ve McNab, 1986). Bu etmene karşı dayanıklı çeşitler ile yapılan çalışmalarda, şiddetli nematod (*Meloidogyne* spp.) zararının domatesta *Fusarium solgunluğu*na dayanıklılığı kırdığı bildirilmiştir (Bowman ve Bloom, 1966, Fattah ve Webster, 1983).

Doğu Akdeniz Bölgesi'nde 2004 yılına kadar domates solgunluk hastalığının esas sorun olduğu bilinirken, Can ve ark., (2004) Çukurova Bölgesi'nde örtü altı domateslerde kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycoperisci*'nin sıklıkla görüldüğünü tespit etmiştir (Şekil 1.2). FORL dünyada ilk kez 1975 yılında Ohio, Japonya, Kanada, Florida, Kaliforniya ve Ontario'da kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı etmeni olarak rapor edilmiştir (Farley ve ark., 1975; Jarvis ve Shoomaker , 1978; Sherf ve McNab, 1986). Bu hastalık etmeni yalnızca domatesta patojen olmayıp, ayrıca biber, patlıcan, soya, yeşil fasulye, bezelye ve yerfıstığı gibi bitkilerde de patojen olarak rapor edilmiştir (Sherf ve McNab, 1986). Etmen soğuk seralarda, erkenci yetiştiricilikte ve topraksız kültürde kullanılan çeşitli substratların içerisinde veya bitki artıkları üzerinde klamidospor formunda varlığını sürdürmektedir. Ayrıca

fungusun mikrokonidilerinin bulaşık seralarda havada yaygın olarak mevcut olduğu bildirilmiştir (Rowe ve Farley, 1978, Rowe, 1980). *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğünün özellikle sıcaklığın 18-20 °C olduğu düşük toprak pH'sı, amonyum azotu uygulanan ve aşırı su birikintisi olan alanlarda görülen bir hastalık olduğu açıklanmıştır (Momol ve ark., 2005). Domatesteki ilk belirtiler yaşlı yapraklarda görülmekte ve genç yapraklara doğru yavaşça ilerlemektedir. Bu etmen bitkilerin kök boğazı civarındaki dokularda bozulmalarla birlikte iletim demetlerinde kahverengi lezyonlara neden olur. İletim demetlerindeki kararmalar toprak yüzeyinden en fazla 20-30cm yüksekliğe kadar uzanır ve toprak yüzeyine yakın yerlerde aşırı düzeyde beyaz-pembe renkte sporulasyon görülür (Sherf ve McNab, 1986; Jones ve ark.,1991).



Şekil 1.2. Mersin'in Erdemli ilçesine ait domates seralarında *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* ile enfekteli bitkiler

Toprak kökenli patojenlerle mücadelede etkili bir toprak fumigantı olan Methyl Bromide'in (MeBr) uygulamadan kaldırılacak olması nedeniyle, uygulanabilir alternatif mücadele yöntemlerine ihtiyaç vardır. Son yıllarda solarizasyon uygulaması ile çoğu patojenler toprakta baskı altına alınabilmektedir. Toprak kökenli patojenlerle mücadelede solarizasyon uygulaması toprağın güneş

enerjisi ile ısıtılmasını esas alan, kimyasal olmayan, toksik materyal içermeyen, ekonomik ve uygulanması kolay bir yöntemdir. Solarizasyon uygulaması ile çoğu patojene karşı öldürücü veya onların populasyonlarını azaltıcı sıcaklıklara ulaşılmakta ve böylece toprak bir bakıma pastörize edilmektedir. Solarizasyon uygulaması sonunda özellikle bazı önemli bitki patojeni mikroorganizma populasyonlarının ya tamamen yok edilmesi veya önemli düzeyde azaltılmış olması sonucu, toprakta mikrobiyal populasyon miktarı açısından bir azalma söz konusu olmaktadır. Bu azalma solarize edilen toprağa antagonist mikroorganizmalar eklenerek telafi edilebilir. Solarizasyon uygulaması ile baskı altına alınan patojenlerin tam olarak elemine edilmesi için toprağa etkili antagonist mikroorganizmalar eklenmesi konusunda ayrıca çalışmalar yapılmıştır. Solarizasyonu takiben toprakta eksilmiş niche'lerin antagonist mikroorganizma kolonizasyonu ile tekrar patojen populasyonlarının kolonizasyonuna fırsat verilmez ve bu şekilde solarizasyon etkisi artırılır. Solarizasyon uygulaması ile baskı altına alınan patojenlerin tam olarak elemine edilmesi için toprağa etkili antagonist mikroorganizmalar eklenmesi konusunda birçok çalışma mevcuttur.

Bölgede toprak kökenli ve benzeri diğer fungal hastalıklarla mücadele için birçok farklı fumigant ve fungisit yaygın olarak kullanılmaktadır (Kaygusuz ve Biçici, 2007). Bu kimyasallar ürünler üzerinde kalıntı bırakarak; toprağı, suyu ve havayı kirleterek çevre kirliliğine yol açarlar. Böylece insan ve diğer canlılar olumsuz olarak etkilenir. Ayrıca, patojenlerin kullanılan bu ilaçlara dayanıklılık kazanması sorunu vardır. Kimyasal mücadeleye karşın bazı funguslar sklerot, klamidospore, oospore, zygospor ve benzeri diğer dayanıklı yapılar oluşturarak uzun yıllar toprakta canlılıklarını devam ettirirler. Bununla birlikte, fumigantların uygulandığı toprağın patojenler tarafından tekrar bulaşmalar nedeniyle hızla kolonize edilmesi mümkündür (Marois ve Mitchell, 1981a). Bu nedenlerle bitki hastalıklarıyla mücadelede kullanılan kimyasalların asgariye indirilmesine çalışılmaktadır. Özellikle ozon tabakasını inceltici ve sudaki brom kalıntısı nedeniyle etkili bir fumigant olan Methyl Bromidin ABD'de yasaklanması tipik bir örnektir (Hoffman ve Malkomes, 1974; Garibaldi, 1995). Montreal protokolü gereği MeBr kullanımının 2015 yılında dünyada tamamen yasaklanacağı, ülkemizde ise 2000 yılında Dünya Bankası destekli

başlatılan MeBr'e Alternatif Geliştirme Projesi ile 2008 yılına kadar kaldırılacağı bildirilmiştir (Yücel ve ark., 2001).

Son yıllarda gelişmiş ülkelerde kimyasal mücadelenin meydana getirdiği olumsuzlukları ortadan kaldırmak için biyolojik mücadele etmenlerinin kullanımına yönelik çalışmalar ağırlık kazanmıştır (Cook, 1993; Guo ve ark., 2004; Huang ve ark., 2005). Bu mücadelede yararlı mikroorganizmaların bitki kök bölgesine kolonize olmaları teşvik edilerek, bir savunma hattı oluşturmak suretiyle, bitkilerin hastalanmasının önlenmesi sağlanmaktadır (Chet ve Inbar, 1994; Benítez ve ark., 2004). Özellikle son yıllarda kimyasal mücadeleye alternatif olabilecek bitkilerde hastalıklara karşı dayanıklılığın uyarılması konusunda çok sayıda araştırma yapılmıştır. Uyarılmış dayanıklılıkta amaç; bitkilerin savunma mekanizmalarını önceden aktive ederek patojen saldırısına karşı hazır hale getirmektir. Dayanıklılığın uyarılması ile ilgili çalışmalarda fungus, bakteri veya mayaların hücre duvarından ekstrakte edilen oligosakaritler gibi biyotik uyarıcılar ile UV, salisilik asit (SA), β amino butyric asit (BABA) ve acibenzolar-S-methyl (ASM) gibi abiyotik uyarıcılar kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda, rhizobakterilerin (PGPR) bitki tohumlarına ve toprağa uygulanmaları durumunda, bitkilerin kök bölgesine kolonize olup dayanıklılığı teşvik etmekte oldukları ve patojen enfeksiyonlarına karşı koruma sağladıkları bildirilmiştir (Sticher ve ark., 1997, Van Loan ve ark., 1998, Weller, 1988).

Toprak kökenli bitki patojeni fungus ve bakteriler ile etkili ve uzun vadeli bir mücadelenin kültürel, kimyasal, biyolojik ve fiziksel metotların kombinasyonu ile başarılabileceği bilinmektedir (Katan ve ark., 1976; Chet ve ark., 1982; Parry, 1990). Bir üründe tüm bu yöntemlerden bazılarının kombinasyonu ile hastalıkların tolere edilebilir bir seviyenin altında tutulması entegre hastalık yöntemi olarak adlandırılmaktadır.

Fusarium türlerinin tanımlanmasında morfolojik ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır. *Fusarium* türleri seçici ortamlarda morfolojik, büyüme ve ayrıca patojenite gibi özelliklerine göre tanımlanabilse de, *Fusarium oxysporum*'un patojenik tipleri, ya da konukçuya özelleşmiş *formae speciales* ve ırklarının bu gibi özellikleri esastan tanımlanmalarında güçlükler vardır (Burgess ve ark., 1994;

Nelson ve ark., 1983). *Fusarium oxysporum*'un iki önemli *formae speciales*'i olan FOL ve FORL arasında epidemiyolojik, simptomatolojik ve genetik farklılıklar söz konusudur (Rowe ve ark., 1977; Menzies ve ark., 1990). Bununla birlikte her iki patojen aynı domates bitkisinde aynı anda ortaya çıkabilmekte ve üst üste her iki patojenin simptomları görülebilmektedir. (Katan ve ark., 1997; Rosewich ve ark., 1999; Gale ve ark., 2003). Sonuç olarak bu iki *formae speciales* arasında doğru bir teşhisin yapılamayışı bunların neden oldukları hastalıklarla uygun mücadeleyi zorlaştırmaktadır. *Fusarium oxysporum*'un spesiyal form ve ırklarının tanımlanmasında test bitkilerinin çok yaygın olarak kullanılmasına karşın (Garibaldi, 1975), son yıllarda hızlı ve güvenilir tanımlama için moleküler teknikler ön plana çıkmıştır (Woo ve ark., 1996).

Fungusların tanımlanmasında birçok serolojik ve moleküler teknik pratik ve güvenilir yöntemler olarak tercih edilmektedir. Bu teknikler arasında en çok kullanılan PCR yöntemidir (Sambrook ve ark., 1989, Darling ve Brickell, 1994; Summerel ve ark., 2001). PCR in vitro'da spesifik bir DNA parçasının kopyalarının, kısa zincirli oligonükleotid primerlerle enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanmaktadır (Arda, 1995; Arı, 1999; Kayrın ve ark., 2003). Bitki-patojen interaksiyonunda bitki patojenik funguslar hücre duvarı degrade edici enzimlerin bazılarını üretirler (Keen ve Tamaki, 1986). Polygalacturonase *Fusarium oxysporum* tarafından salgılanan en önemli CWDEs enzimidir (Arie ve ark., 1998; Di Pietro ve Roncero, 1998). Kawabe ve ark. (2005), izolatların polygalacturonase genlerinden nükleotid dizilimlerini karşılaştırarak fungus popülasyonlarında genetik farklılığın belirlenebileceğini rapor etmişlerdir.

Tüm bu nedenlerle, bu tez çalışması ile örtü altı domates yetiştiriciliğinde sorun olan *Fusarium oxysporum*'un spesiyal formlarından domates Fusarium solgunluğu (FOL) ve domates kök ve kök boğazı çürüklüğü (FORL) hastalıklarının yaygınlığı, ne düzey ve şiddette oluştukları, etmenlerin moleküler yöntemlerden PCR ile ayrımı ve Çukurova Bölgesi'nde son yıllarda rastlanan kök ve kök boğazı çürüklüğünün entegre hastalık yönetimi araştırılmıştır. Bu tip toprak kökenli patojenlerle mücadelede tek bir yöntemle başarı sağlanamaz. Özellikle, toprak kökenli hastalıklarla mücadelede pestisit kullanımında karşılaşılan teknik, çevresel

ve ekonomik zorluklar nedeniyle istenen başarı elde edilememektedir. Bu nedenle, *F. oxysporm*'un formları gibi toprak kökenli patojenlerin yol açtığı hastalıklarla mücadele için entegre bir yaklaşımla birkaç yöntemin birlikte uygulanması durumunda ancak tam bir başarıya ulaşılabilir.

Bunun için Çukurova Bölgesi domates seralarında yapılan bir sörvey programı ile tipik solgunluk veya kök ve kök boğazı çürüklüğü belirtileri gösteren domates bitkilerinden hastalık etmeni izolatlar elde edilmiştir. Elde edilen izolatların moleküler yöntemlerle FOL ve FORL olup olmadıkları belirlenerek bunların Bölge itibariyle oluşum düzeyleri, ne şiddette seyretdikleri ve yaygınlıkları ortaya konmuştur. Moleküler tanımlamada *Fusarium oxysporum* tarafından üretilen polygalacturonase enzimini belirleyici hızlı ve güvenilir bir yöntem olan polymerase chain reaction (PCR) ile çalışılmıştır. Bu çalışmada Bölgede yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan ticari domates çeşitlerinin FORL'a karşı duyarlılıkları ayrı bir saksı çalışması ile belirlenmiştir. Ayrıca, kök ve kök boğazı çürüklüğünün entegre hastalık yönetimi amacıyla, domates yetiştirilecek toprağa solarizasyonu takiben uygulandığında domates köklerine kolaylıkla kolonize olabilen ve bu spesiyal formlara karşı bir ön savunma hattı meydana getirerek baskılayıcı bir etki sağlayabilecek bitki büyüme düzenleyici rhizobakterilerden (PGPR) *Bacillus subtilis* QST 713 (BS) ile antagonist fungus *Trichoderma harzianum* (T-22) preparatlarının, kompost uygulamasının ve toprak kökenli patojenlere karşı etkili bir fumigant olan Methyl Bromid'e alternatif Metham Sodium'un etkileri örtü altı sera koşullarında araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. *Fusarium* Türlerinin Tanımlanması ile İlgili Çalışmalar

Domateste solgunluk yapan ve kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olan sırasıyla, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W. C. Snyder & H. N. Hans ve *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Jarvis & Shoemaker) gibi iki morfolojik olarak ayrılmış patojenik spesiyal form belirlenmiştir. Domateste *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğü'ne neden olan *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) etmeninin ilk belirtileri yaşlı yapraklarda görülmekte ve genç yapraklara doğru yavaşça ilerleyip hızlı bir solgunluk gelişmektedir (Şekil 2.1 ve 2.2). Bu hastalık durumunda iletim demetlerindeki kararmalar toprak yüzeyinden en fazla kök boğazından 20 – 30 cm yüksekliğe kadar uzanır, toprak yüzeyine yakın yerlerde kökte kararma ve üzerinde aşırı düzeyde beyaz-pembe renkte sporulasyon görülür (Sherf ve McNab, 1986; Jones ve ark.,1991; Blancard, 1993; Rowe ve Farley, 1981; Momol ve ark., 2005).



Şekil 2.1. *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* etmeninin bitkideki belirtileri
(a) Kök boğazının 30 cm yukarısına kadar uzanabilen ve iletim demetlerindeki kararma, (b) Solmuş yaprakcıklar (Blancard, 1993).



Şekil 2.2. *F. oxysporum* f. sp. *radicle-lycopersici* etmeninin kök boğazı ve gövde kısmında gelişen hafif çökük turuncu-pembe spor oluşturan kahverengi çürüme (Blancard, 1993; Rowe ve Farley, 1981)

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* etmenin neden olduğu Fusarium solgunluğu hastalığının simptomları çok tipik olup, solgunluk yaşlı yapraklardan başlayıp, yaprak sapının ve gövdenin bir tarafına sınırlı kalmaktadır (Şekil 2.3). Bitki gövdesi boyunca iletim demetindeki kahverengi renk değişimi bu hastalığın teşhisi için belirleyicidir (Momol ve ark., 2005; Sherf ve McNab, 1986; Blancard, 1993).



Şekil 2.3. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* etmenin bitkideki tipik simptomları (a) Yaprak sapındaki sararma (b) Yaprakların yalnız bir tarafındaki sararma

Fusarium türlerinin tanımlanması mikroskopik ve moleküler yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir. Mikroskopik yöntemle tanımlamada, fungus tek bir

konididen veya hif ucundan saf olarak çoğaltılmakta ve spesifik besi ortamlarında kültüre alınmaktadır. Tanım için *Fusarium* türleri pH 6.5-7.0'ye ayarlanmış kültür ortamında, optimum 22-25 °C'de 7-10 gün bir süre inkübe edilmektedir. Kültür ortamında gelişen *Fusarium* türlerinin tanısı koloni rengi, spor yapıları, makro ve mikrokonidi şekli, spor boyutları ve bölmeleri, makro konidilerde bazal hücre yapısı, klamidospor şekil ve yoğunluğu, fialid özellikleri gibi morfolojik karakterlere göre yapılmaktadır (Booth, 1971; Nelson ve ark., 1983; Windels, 1992; Summerel ve ark., 2001).

Fusarium cinsinde Section Elegans'ın tür kompozisyonu tartışma konusudur. Bu seksiyona bazı araştırmacılar 6 tür, bazıları 3 tür yerleştirmiştir. *Fusarium oxysporum*'un hali hazırda Section Elegans'ın üç clade'dan oluşan çoklu phylogenetic bir orijine sahip morfolojik olarak benzer fungusların bir kompleksinden ibaret olduğu kabul edilmiştir. *F. oxysporum* 120 form ve ırktan daha çoğuna spesialize olmuş patojenik üyelere sahip bir türdür (Bogale ve ark., 2007).

Fusarium türleri seçici ortamlar üzerinde morfolojik karakterler esasından tanımlanabilse de, *F. oxysporum*'daki patojenik *formae speciales*'leri ve ırkları morfolojik olarak kesin bir şekilde ayırmak olanaksızdır. Test bitkileri kullanan bir inokulasyon deneyi *F. oxysporum*'da ve her bir *formae speciales*'i tanımlamak için en popüler strateji olmuştur. Ancak bu yöntem zaman alıcıdır ve çok çabuk ve doğru bir yönetime acilen gerek vardır. VCGs testi ve immunoassay testleri alternatif yöntemler olarak önerilmiştir. En son olarak funguslarda tür ve alt türleri tanımlamak için moleküler markerlar popüler olmuştur. Domateste solgunluğa neden olan *Fusarium oxysporum*'un patojenik tiplerini (form ve ırk) hızlı bir şekilde tanımlamada PCR (Polymerase chain reaction) tekniği kullanılmaktadır. Japonya'da yürütülen bir çalışmada elde edilen *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) ve *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (FORL) izolatlarından endo polygalacturonase (pgl) ve exo polygalacturonase (pgx4) genlerinin kısmi nukleotid dizilimleri karşılaştırılmıştır. Burada ayrıca patojenik tipler arasındaki nukleotid farklılıklarını belirlemede spesifik primerler (uni, sp13, sp23 ve sprl) geliştirmiştir. Uni primer seti ile PCR FOL ve FORL'un tüm izolatlarından 670-672 bp fragment çoğaltmıştır. Sp13 primer seti yalnız FOL ırk 1 ve 3 izolatlarından 445 bp bir amplicon elde

edilmiştir. Sp23 primer seti ile FOL ırk 2 ve 3 isolatlarından 518 bp bir fragment üretmiştir. Sp1 primer seti FORL'un izolatlarından 947-bp bir fragment üretirken, FOL'dan üretmemiştir. Bu primer setleri ile bir amplifikasyon kombinasyonu domatestte *F. oxysporum*'un patojenik tiplerini etkin olarak ayırabilmiştir (Hirano ve Arie, 2006).

Fusarium cinsi dünyaya dağılmış ve bilinen önemli bitki patojeni toprak kökenli türlerin bir miktarını içerir. *Fusarium oxysporum*'un ekseri streynleri saprofitik olarak yaşasalar da, bazıları bitkilerde solgunluk veya kök çürüklüğü hastalıkları oluştururlar. *Fusarium oxysporum*'un toprak kökenli populasyonları oldukça boldur. Baskıcı topraklarda patojenik ve patojenik olmayan streynler ekseri hastalığı baskılayıcı bir etkileşime sahiptirler. Patojenik olmayan *Fusarium oxysporum* streynleri birçok işlev biçimi ile biyolojik mücadeleye katkıda bulunabilirler. Bu mekanizmalar streyne göre değişir. *Fusarium oxysporum*'un Ascomycetes'e akrabalığa sahip eşeysiz bir fungus olduğu geniş bir kabul görmektedir. *F. oxysporum* kültürde mikrokonidi, makrokonidi ve klamidospore olmak üzere üç tip eşeysiz spor üretir. Klamidosporeların birinci işlevi toprakta yaşam kalımı sürdürmektir. *F. oxysporum* geniş tür altı bir bolluğa sahiptir ve eşeyli dönemi bilinmemektedir. *F. oxysporum* esas olarak patojenik olmayan saprofitik, kök kolonize edici ve zayıf olarak parazitik olan streynlere sahiptir. 300 *Fusarium oxysporum* izolatından 60 VCG fenotipi belirlenmiştir. *Fusarium* türlerinin tür ve tür altı populasyonlarının davranışları, bunların toprak kökenli, hava kökenli ve toprakta genel olarak bulunduklarını ve ayrıca hava yoluyla dağılabildiklerini yansıtır. Ekseri *Fusarium* türlerinin teleomorfik dönemleri bilinmediğinden; *Fusarium* taksonomisi makrokonidi büyüklüğü, mikrokonidilerin ve klamidosporeların varlığı veya yokluğu, koloni rengi ve konidiyofor yapısı gibi morfolojik anamorphic özellikleri esas alır. Ancak, bu özellikler yönünden açıklanan türler sorunludur. Çoğu taksonomik şemalarda *Fusarium* türleri seksiyonlara gruplandırır. *Fusarium oxysporum* da bitki patojeni, saprofitik ve biyokontrol streynleri morfolojik olarak ayıramadıklarından oldukça karmaşıktır. Patojenik *F. oxysporum* genellikle konukçuya özeldir, sadece bitkilerin bir veya birkaç türüne ve bazen bir bitki türünün sadece bazı çeşitlerine saldırır. Konukçu türünün belli bir çeşidine veya belli bir konukçu türüne özelleşme

sırasıyla ırk veya *formae speciales* olarak ifade edilmektedir. FOL ve FORL gibi birçok patojenik fungusun bir diğerinden morfolojik olarak ayırlamaması nedeniyle, *F. oxysporum* streynleri için vejetatif uyumluluk esasından bir sınıflandırma sistemi geliştirilmiştir. Bu her bir streynin VCGs'sini belirlemek için nitrat kullanamayan mutantların çiftleştirilmesini esas alan bir yöntemdir. Bu bakımdan bazı *formae speciales* tek bir VCG'ye uysa da, diğerleri birçok VCGs'yi içerir. Bu nedenle, VCGs belirlemesi yararlı olsa da, *formae speciales*'leri veya patojenik olmayan izolatları tanımlamak için universal bir yol olarak kullanılamaz (Attitalla, 2004).

Spesiyal form (*forma specialis*, *formae speciales*) bitkileri isimlendirme ve sınıflandırmada resmi olmayan bir bitki grubunu işaret eder ve bilimsel isimlendirme kurallarına göre düzenlenmemiştir. Fungusların isimlendirilmesi de bitkiler için aynı esaslara göre yapılmış olduğundan, bu isim fizyolojik açıdan karakterize edilen parazitik funguslar için ayrıca kullanılmaktadır. Spesiyal form morfolojik farklılıklar içermeyen, özel konukçulara fizyolojik olarak adapte olmuş parazitik funguslar söz konusu olduğunda kullanılan bir isimdir. Spesiyal form patojenite yönünden özelleşmiş olduğu konukçunun adını alır ve bir ölçüde kesin olmayıp geçici olan sistematik bir organizma kategorisini kapsar. Genellikle varyete ve alt varyeteden aşağıdaki bir rank olarak kabul edilir. *Fusarium oxysporum*'da 120'nin üzerinde f. sp. vardır. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* böyledir. *Formae speciales* bitki patojenik bakterilerde “pathovar” karşılığıdır (Hawksworth ve ark., 1995; Ulloa ve Hanlin, 2000).

Fungal hastalık etmenlerinin tanısında ELISA ve PCR gibi birçok serolojik ve moleküler teknik pratik ve güvenilir yöntemler olarak tercih edilmektedir. Bu teknikler arasında en çok kullanılan, PCR yöntemidir (Edel ve ark., 1995; Summerel ve ark., 2001). Ayrıca günümüzde bir fungus türünün veya ırkının genetik benzerliği vejetatif uyum grubu (Vegetative Compatibility Group: VCG), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Randomly Amplified Polymorfik DNA (RAPD) ve izo-enzim analizleri gibi pek çok yeni moleküler tekniklerle hızlı ve kesin sonuçlar ortaya konulabilmektedir (Katan, 1997; Nelson ve ark., 1997)

Vakalounakis ve Fargkiadakis (1999), hıyar bitkisinden izole edilen *Fusarium* izolatlarını RAPD ile çalışarak genetik benzerlikleri belirlemek için OPA -01, OPB -01- OPB-20 ve OPF-05 primerlerini kullanmıştır. Kullanılan bu primerlerden 10 tanesi oluşturdukları bant görünümüne göre RAPD-PCR çalışmaları için seçilmiştir. Çalışmalar sonucunda 121 *Fusarium oxysporum* izolatının RAPD profilleri oluşturulmuştur. Sonuç olarak 107 amplifiye DNA bantının 97'sinin polimorfik olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada amplifiye bantlarının büyüklüğünün 0.2-0.3kb arasında değiştiği belirtilmiştir.

Hajlaoui ve ark., (2001) ile Hibar (2002) tarafından yapılan çalışmalarda Tunus'ta 2001 yılında örtü altı domateslerde % 90 ürün kaybına yol açan *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (FORL) tarafından neden olunan yeni bir *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı rapor edilmiştir. Hibar ve ark. (2007), bölgede FORL ve domateste solgunluğa neden olan *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) hastalıklarına ait populasyon yoğunluklarının bilinmediğini bildirmişlerdir. Bu amaçla Tunus'ta elde edilen *Fusarium oxysporum* izolatları arasındaki genetik benzerlikleri belirlemek için IGS-RFLP (Intergenic Spacer Restriction Fragment Length Polymorphism) analizi yapılarak yabancı ülke izolatları ile Tunus izolatlarının genetik benzerlikleri incelenmiştir. Böylece, Bölgedeki *formae speciales radicis-lycopersici*'nin orijini açıklanarak, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* ve *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* arasındaki genetik farklılıklar ortaya konulmuştur. Domates bitkilerinde patojenite testleri ve IGS kullanılarak *F. oxysporumun* 62 izolatının karakterizasyonu yapılmıştır. Bütün bu *Fusarium* izolatlarının domateste şiddetli olarak patojen oldukları bildirilmiştir. *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* izolatları beş IGS tipine ayrılmıştır. *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* izolatlarının 53'ünden 34 izolat aynı IGS tipine (IGS type 25) girerken, geri kalan 19 izolat dört IGS tipine dağıtılmıştır. Yapılan çalışma sonuçları FOL ve FORL izolatlarının farklı orjinli olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, bu iki *formae speciales* arasında belirlenen farklılıklardan *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* izolatlarının yabancı orjinli oldukları ve Tunus'a tesadüfen girdiği bildirilmiştir.

Kuramae ve Souza (2002) ITS, RAPD ve rDNA analizleri ile *F. oxysporum*'un 4 farklı formu ve *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*' (FOL) nin iki ırkı (ırk 1 ve ırk 2) arasındaki genetik farklılıkları belirlemişlerdir. *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli* ve *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* arasında % 50' den fazla genetik farklılık saptanırken, FOL ırk1 ve ırk2 arasındaki farklılığın ise % 7 olduğu bildirilmiştir. Bu izolatların hepsi ITS1 ve ITS2 bölgelerinde % 97'den fazla genetik farklılık gösterirken, rDNA genleri %100 homolog olarak saptanmıştır.

Meksika'da 2005 yılında domates alanlarında ekonomik kayıplara neden olan solgunluk hastalığı etmeni *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* olarak belirlenmiştir. Meksika'dan elde edilen izolatların ırk-2 ve ırk-3 olduğu tespit edilmiş ve ülke için ilk kayıt olduğu bildirilmiştir (Pena, 2005).

Cai ve ark. (2003), Kaliforniya'da domates yetiştiriciliğinde sorun olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) izolatları ile patojenite ve VCG (Vegetative Compatibility Group) testleri yapmışlardır. Elde edilen 39 Fol izolatından yapılan VCG testleri sonucunda üç izolatın non-patojenik (VCG 0031), 13 izolat FOL-ırk3, 9 izolatın FOL-ırk2 (VCG 0030), 3 izolatın FOL-ırk 1 ve 6 izolatın FOL-ırk2 (VCG 0035) olduğu saptanmıştır. VCG çalışmaları sonucunda elde edilen sonuçlar RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) tekniğinde de benzer olmuştur.

Reis ve ark. (2005), tarafından Brezilya'da yapılan bir çalışmada *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*' nin domates alanlarında ciddi sorunlara neden olduğu ve ticari olarak domates yetiştiriciliğinin yapıldığı bu alanlarda ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucunda dünyada bilinen 3 ırktan sadece ırk-1 ve ırk-2'nin Brezilya'da tespit edildiği bildirilmiştir. Katan ve ark., (1997), İsrail'de yaptıkları benzer bir çalışmada domateste solgunluk etmeninin *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* olduğunu, bu patojenin bitkilerde solgunluk ve gövdelerinde zayıflamalara neden olduğunu, saptanan ırkların ırk-1 ve ırk-2 olduklarını belirlemişlerdir.

2.2 Hedef Patojen ve Biyolojik Mücadele Ürünleri İle İlgili Çalışmalar

Günümüzde en önemli problemlerden biri pestisitlerin bilinçsiz ve aşırı kullanımı sonucu çevrenin kirlenmesi ve doğal dengenin bozulmasıdır. Ayrıca, pestisitlerin aşırı kullanımı bitki hastalık ve zararlılarının direnç kazanması gibi problemlerle insanlığı yüz yüze getirmiştir. Bu yüzden son yıllarda bitki hastalıkları ile mücadelede doğal ürünlerin kullanımı üzerine yapılan çalışmalar önem kazanmıştır (Fawcett ve Spencer, 1970). Dünyadaki çalışmalara paralel olarak ülkemizde de kimyasal mücadelenin olumsuz etkilerini azaltmak için, organik ve entegre tarım sistemlerini içeren alternatif yaklaşımlar ön plana çıkmıştır (Aksoy, 1999). Alternatif tarım sistemleri içerisinde bitki hastalıklarıyla mücadelede biyolojik mücadele ürünleri kullanımı ilk sırayı almaktadır. Bitki hastalıkları ile mücadele için biyolojik mücadele ürünleri adı altında patojenlere karşı iş gören mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan bu faydalı mikroorganizmalar bitkide hastalığa sebep olan patojenlerle besin ve yer rekabetine girerek, antibiyotikler üreterek, hiperparazitizm ile veya konukçu bitkide dayanıklılığı teşvik ederek etkili olmaktadır. Büyük çoğunluğu funguslardan oluşan bu ürünler ortamda nem oranı yüksek olduğunda (% 60-80) ve sera gibi iklim koşullarının kontrol edilebildiği sınırlı alanlarda uygulandıklarında çok daha etkisi görülmektedir.

Delen (1999)'e göre son 20-25 yılda Türkiye'de pestisit tüketiminde % 64'lük bir artış olmuştur. Entansif tarım uygulamalarında kimyasalların aşırı ve bilinçsiz kullanımı son yıllarda ülkemizde ve dünyada doğal ve biyolojik dengenin bozulmasına yol açmış, tarımsal ürünler üzerinde kimyasal kalıntılar nedeniyle insan, hayvan ve bitki sağlığını tehdit eder hale gelmiştir. Diğer yandan, Türkiye'de 1985 yılında başlayan organik tarım ve 1992 yılında ETO (Organik Tarım Organizasyonu) ve ETK (Organik Tarım Komitesi)'nin kurulması ile ülkemizde organik tarım oldukça önemli bir gelişme göstermiştir. Böylece, Ülkemizde gün geçtikçe doğayı tahrip etmeyen yönetmelerle üretilen ve insanları kötü etkilemeyen ürünlerin artan tercihi her geçen yıl alan, üretim miktarı ve ürün çeşidi bakımından organik ürün üretimini artırmıştır. Bu sistem içerisinde, bitki hastalıkları ile mücadele için çevre ve

insan sağlığını tehdit etmeyen biyolojik mücadele ürünlerinin kullanım ve çeşitlilik yönünden artırılması son yıllarda üzerinde durulması gereken bir konudur.

Bazı bitki hastalıklarının mücadelesi için yapılan çalışmalarda antogonistlerin kullanımında önemli derecede başarı sağlanmıştır (Punja ve Utkhede, 2003). Yapılan çalışmaların büyük bir kısmı örtü altı yetiştiriciliğinde toprak kökenli patojenlere karşı biyolojik mücadele mikroorganizmalarının kullanımı üzerinedir (Cook, 1993; Becker ve Schwinn, 1993, Weller ve ark., 2002). Bitki hastalıklarının mücadelesinde şu anda mevcut ticari formülasyon halinde en az 30 farklı biyolojik mücadele preparatı mevcuttur (Lumsden ve ark, 1995). Bunlar içinde en yaygın olarak kullanılanlar *Agrobacterium radiobacter*, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptomyces* spp. bakterileri ile *Trichoderma* spp., *Ampelomyces quisqualis*, *Candida oleophila*, *Gliocladium* spp. ve *Coniothyrium minitans* gibi funguslardır (Rodgers, 1993; Fravel, 2000; McSpadden ve Fravel, 2002). *Fusarium solgunluğunu* baskı altına almada bitki kök yüzeylerine kolonize olarak, antagonistik etki gösteren bazı bakteri türleri birçok araştırmacı tarafından potansiyel biyolojik mücadele etmeni olarak rapor edilmiştir. Bu potansiyel biyolojik mücadele ajanları, *Bacillus subtilis* (Podile ve ark., 1985), *Bacillus* sp. (Kapoor ve Kar, 1988), *Streptomyces* spp. (Thirumalacher ve ark., 1970; Turhan, 1981, El-Abyad ve ark., 1993; El- Shansoury ve ark. 1996) ve *Pseudomonas* spp. (Nejad ve Johnson, 2000)'dir. Birçok çalışmada FORL hastalığının kontrolünde çeşitli biyolojik mücadele ajanlarından oluşan biyo – fungusit preparatlarının etkinliği araştırılmıştır.

Hibar ve ark. (2006), Tunus'ta örtüaltı domates yetiştiriciliğinde 2000-2001 yıllarında % 90 bitki ölümüne neden olan FORL hastalığı ile mücadele metotlarının yok denecek kadar az etkili olduğunu ve hastalığın kontrolünde acil alternatif tedbirlere ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır. Yaptıkları çalışmada, FORL hastalığını baskı altında tutmak için, in-vitro, iklim odası ve sera koşullarında etkili bazı biyo-fungisitlerin [*T. harzianun* strain T22 (RootShield Drench, BioWorks Inc. Geneva, NY), *T. harzianun* (Biocont-T WP and Biocont-T Gr (National Ammonia & Chemical Industries, Amman), *Bacillus subtilis* strain QST 713 (Serenade, AgraQuest, Davis, CA), *B. pumilus* strain QST 2808 (Sonata, AgraQuest, Davis, CA), *Pythium oligandrum* (Polyversum, Biopreparaty Ltd., Czech Republic) ve

doğal mikroorganizmaların (Agralan Revive, Agralan Ltd., Swindon, UK) etkinliğini araştırmışlardır. In-vitro testlerinde, biyo-fungisitlerin hepsi FORL miselyal gelişimini %50-73 oranında engellemiştir. İklim odası çalışmalarında, patojen uygulamasından bir hafta önce biyo-fungisit süspansiyonlarının bitkiye verilmesi önemli derece etkin bulunmuştur. Ayrıca biyo-fungisit ve patojenin birlikte verildiği durumlarda hastalık oranı önemli derecede azalmıştır. Sera koşullarındaki denemelerde biyo-fungisitlerden T-22'nin ve hymexazol fungisitinin etkinliği araştırılmış ve ümit var sonuçlar elde edilmiştir. Nitekim T-22 kullanımı % 5.5 oranında ölü bitki yüzdesini azaltmıştır. Ayrıca T-22 uygulamalarındaki bitkilerin vegetatif büyüme ve meyve özellikleri (kalite ve irilikleri) hymexazol'a göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Bu çalışma ile bazı biyo-fungisitlerin FORL kontrolünde, özellikle patojenin atak inokulum seviyesine ulaşmadan önce uygulanması durumunda mücadelede başarının arttığı ortaya konmuştur.

Bazı antagonistlerden *Thricoderma* spp. (Harman, 2006; Howell, 2003; Sivan ve ark., 1987; Datnoff ve ark., 1995), *Bacillus* spp. (Kloepper ve ark., 2004; Kilian ve ark., 2000; Latoud ve ark., 1987; Omar ve ark., 2006) ve *Pseudomonas* spp. (Bolwerk ve ark., 2003; Chin ve ark., 1998; Dekkers ve ark., 2000) ile FORL hastalığının kontrolü amacıyla yapılan bir çok çalışmada, bunların patojenin rhizosferde gelişmesi ve büyümesini inhibe ederek hastalık oranını önemli derecede azalttığı rapor edilmiştir. Benzer bir çalışmada aynı antagonistler eğer bazı patojenlerin miselyal büyümesini inhibe edebiliyorsa diğer patojenler için de denemenin aynı neticeyi vereceği belirtilmiştir. Cavaglieri ve ark. (2005), *Fusarium verticillioides*'in gelişmesini önemli oranda inhibe eden 10 *Bacillus* türü bulmuş ve bunlar arasından büyük miktarda antifungal aktivite gösteren *B. subtilis*'in CE1 izolatını elde etmiştir.

Bazı fungal ve bakteriyel biyolojik mücadele organizmalarının domatesten *Fusarium* solgunluğunun mücadelesi üzerine etkileri konusunda yürütülen bir çalışmada (Larkin ve Fravel, 1998), baskıcı topraktan elde edilmiş patojenik olmayan *F. oxysporum* ve *F. solani* izolatları hastalık oranını % 50 -80 oranında azaltırken, *Gliocladium virens* ve *Trichoderma harzianum* içeren biyolojik mücadele preparatları (Soligard ve Rootshield) hastalık oranını % 62 -68 oranlarında

azaltmıştır. Ayrıca, *G. virens*, *T. hamatum*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Bulkholderia cerpacia* ile yürütülen testlerde, *Fusarium* solgunluğu % 30-65 düzeyinde azaltılmış, ancak patojenik olmayan *Fusarium* izolatları kadar başarılı bir etkinlik gözlenmemiştir. Sonuç olarak, patojenik olmayan *Fusaria*'nın domates dahil birçok üründe *Fusarium* solgunluğunu azalttığı gösterilmiştir. Benzer bir çalışma ile, *Bacillus subtilis*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger* ve *Pseudomonas fluorescens*'in domatestte kök daldırma uygulamalarının *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* hastalığında önemli bir azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir (Khan ve Khan, 2002).

Toprak ve domates köklerindeki *Fusarium*'un patojenik ve saprofitik olarak populasyon yapısı belirlenerek bunların patojenite ve biyolojik mücadele yeteneğinin araştırıldığı diğer bir çalışmada 21054 *Fusaria* izolatu elde edilmiştir. Bunlardan % 26.6'sı olan 5610'u *F. oxysporum* olmuştur. Bony Best çeşidi ve 406 *F. oxysporum* izolatu ile yapılan patojenite çalışmalarında 63'ü *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ve 29'u *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* olarak belirlenmiştir (Bao ve ark., 2001). *Fusarium* solgunluğunun patojenik olmayan *Fusaria* ile biyokontrolunda ilgili genleri tanımlamak ve biyolojik mücadele ve diğer *Fusaria* arasındaki genetik benzerlikleri ortaya koymak için yapılan benzer bir araştırmada da (Fravel ve ark., 2002), 336 patojenik olmayan *F. oxysporum* streyni sera koşullarında *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ile mücadele için denenmiştir. Domatesler ekimde ve şaşırtmadan 1 gün önce 5 ml 10⁵ spor/ml (makrokonidi, mikrokonidi ve klamidospore) ile ıslatılmıştır. Bitkiler FOL ırk 1'in 10³ spor/g toprak (en az % 20 klamidospore) ile bulaşık toprağa şaşırtılmıştır. Tek bir saksıda 5 bitki yetiştirilmiş ve uygulamalar 4 kez yinelenmiştir. 5 hafta sonra hastalık şiddeti (0-5 skalası), hastalık oluşumu (seçici bir ortama gövde ekimi) ve sürgünlerin taze ağırlığı değerlendirilmiştir. Denemeye alınan streynler yüksek, orta veya düşük biyolojik mücadele yeteneği şeklinde gruplandırılmıştır.

Toprak kökenli önemli bitki patojenlerinden *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phythium aphanidermatum*'a karşı biyolojik mücadele ajanları olarak *Gliocladium virens* (G1 ve G2) ve *Trichoderma longibrachiatum* (T1 ve T2)'un etkinlikleri üzerine yapılan çalışmada (Sreenivasaprasad ve Manibhushanrao, 1990), antagonistler tohumu spor süspansiyonu şeklinde, toprağa ise kepek-talaş karışımı

halinde uygulanmıştır. Genelde toprak uygulaması daha fazla koruma sağlamıştır. *G.virens* 'in G- 1 izolatının domateste çökertene karşı % 58.4 ve *T.longibrachiatum* 'un T2 izolatının % 49.2 oranında koruma sağladıkları bildirilmiştir. Domateste *Phytophthora parasitica* ' ya *Pseudomonas putida* 'nın antogonistik etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, in-vitro koşullarında bu bakterinin antagonistik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Boado ve ark, 1999). Domateste Septoria yaprak leke hastalığı etmeni *Septoria lycopersici* 'nin kontrolünde 1 bakteri ve 6 maya izolatı ile kontrollü koşullarda yapılan bir çalışmada, *Pseudomonas putida* bakteri ve *Cryptococcus laurentii* maya izolatları hastalığın şiddetini azalttıkları bulunmuştur (Blum, 2000). Domates bitkilerinde *Rhizoctonia* kök çürüklüğü hastalığının baskı altına alınabilmesi için *Streptomyces griseoviridis* içeren Mycostop adlı biyolojik mücadele preparatının toz formülasyonu ile domates tohumları uygulandığında en etkili sonucun alındığı belirlenmiştir (Sabaratnam ve Traquair, 2002).

Bassallote ve Melero (1994), sarmisakta *Sclerotium cepivorum* 'un neden olduğu beyaz çürüklük hastalığının biyolojik mücadelesinde *T. harzianum*, *T. koningii* ve *Gliocladium virens* antagonistlerini buğday kepeği, turba ve su (5: 3: 5, w) ortamında geliştirerek dikimde 3m uzunluğunda karıklara vermiştir. *T. harzianum* uygulanan parsellerde hastalık oranı kontrole göre % 40 daha düşük olmuştur. Bu çalışmada, çok bulaşık tarlalarda biyolojik mücadelenin yeterli olamayacağı, bu uygulamanın toprak solarizasyonu gibi diğer mücadele metotları ile entegre edilmesinin uzun süreli koruma için yararlı olabileceği bildirilmiştir.

T. harzianum 'un izolatının Tunus' ta patates kök yumrulanmasına neden olan *Pythium spp.* ve *Fusarium spp.* izolatlarının miseliyal gelişimini azalttığı bulunmuştur (Cavaglieri ve ark., 2005).

Hibar ve ark. (2007b), Tunus'ta örtü altı domates yetiştiriciliğinde önemli zararlara neden olan Fusarium kök ve kök boğazı çürüklüğüne karşı antagonist *Thricoderma harzianum* (3 izolat) ve *Thricoderma viride* (1 izolat) funguslarının etkinliğini araştırmışlardır. Çalışmada bitki kökleri ikiye ayrılarak ayrı saksılarda aynı bitkiye patojen ve antagonist uygulaması yapılmıştır. Araştırmada FORL inokulumunun antagonist *Thricoderma spp.* 'den bir hafta önce, bir hafta sonra ve birlikte verildiği denemelerde, özellikle antagonistin patojenin inokulumundan bir

hafta önce ve birlikte uygulandığı durumlarda hastalık oranının sırasıyla % 10 ve % 13-18 oranında azaldığı, kontrolde ise % 48 olduğu bildirilmiştir.

Marois ve Mitchell (1981b), domateste kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığının çıkışı ve şiddeti üzerine toprakta farklı inokulum yoğunluğunun, fumigasyon ve antagonist (*Trichoderma harzianum*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium funiculosus*) uygulamaların etkinliğini araştırmıştır. Bu çalışmada farklı inokulum yoğunluklarında antagonist uygulanmayan alanlarda hastalık % 50-70 oranında seyrederken, antagonist uygulamalarında hastalığın % 33-44 oranında azalma olduğu saptanmıştır.

Bitkisel lif ve kaya yünü gibi farklı hydroponic ortamlarda yetiştirilen domates bitkilerinde *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*' ye karşı *Trichoderma harzianum*'un ticari ve ticari olmayan streynlerinin etkileri için biyolojik mücadele denemeleri yürütülmüştür. Domates bitkileri (*Lycopersicon esculentum* Mill., 'cultivar' 'Caruso') patojenle karşılaştırılmadan önce *T. harzianum* streynleri (PlantShield™, T22 ve T95) ile inokule edilmiştir. *T. harzianum* streynleri T22 ve T95 10⁶ veya 10⁷ konidi/ml gibi iki inokulum yoğunluğunda ekimden önce büyütme ortamlarına ve şaşırtmada köklere uygulanmıştır. Bu çalışmada, özellikle şaşırtmada uygulanan *T. harzianum* streynleri hastalık oluşumunu bitkisel lif ortamında % 79 ve kaya yünü ortamında % 73 azaltmıştır, hastalık şiddeti ise bitkisel lif ortamı için % 45 ve kaya yünü ortamı için % 48 azalmıştır. Aynı antagonistler meyve verimini bitkisel lif için % 37 ve kaya yünü için % 25 arttırmıştır (Ozbay ve ark., 2004).

Doğu Akdeniz Bölgesi sera alanlarında toprak kökenli patojenlere karşı solarizasyon ve antagonist uygulamaları ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada, beyaz çürüklük hastalığı etmeni *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı solarizasyon uygulaması etkili bulunurken, saksı denemelerinde *Trichoderma* izolatları hastalığı azaltmada daha etkili olmuştur (Aksay ve ark., 1988). Diğer bir çalışmada, domatesde *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici*'nin neden olduğu solgunluk hastalığına karşı solarizasyon uygulamasının tek başına yeterli etkiyi sağlayamadığı, bu uygulamayı takiben toprağa antagonist mikroorganizmaların veya düşük dozlu kimyasalların eklenmesiyle mücadelede başarı sağlanabileceği bildirilmiştir (Yücel ve Çınar, 1989). Çilek kök çürüklüğü etmeni *Rhizoctonia solani* Kühn.'ye karşı solarizasyon

uygulamasının kısmen etkili olduğu bir çalışmada in vitro ve kontrollü koşullardaki saksı testleri ile bu patojene karşı *Trichoderma harzianum*, *T.pseudokoningii*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., ve *Pseudomonas* spp. etkili antagonistler olarak belirlenmiştir (Pala ve ark., 1991).

Ege bölgesinde antagonist mikroorganizmaların toprak kökenli patojenlere etkilerinin araştırıldığı bir çalışma ile; *Pythium ultimum* ve *Rhizoctonia solani* 'nin biberde neden olduğu çökertene karşı *Trichoderma vasinfecta* var. *africana*, *Acrophialophora levis* gibi kum-perlit karışımında geliştirilen bazı yeni antagonistlerin etkileri saksı denemeleri ile araştırılmış ve hastalık çıkışının *P.ultimum*'da %28.14 -79.14, *R.solani*'de %22.76 -66.83 oranında azaldığı bildirilmiştir (Turhan ve Turhan, 1989). Tarla koşullarında kavun ve karpuzda *Fusarium* solgunluklarının Fluoresan *Pseudomonas* bakterileri ile önlenmesi çalışmalarında, hastalık şiddetinin 15 hafta süreyle kavunda %84, karpuzda %43 oranında azaldığı bildirilmiştir (Bora ve ark., 1995).

İki ayrı çalışmada serada yetiştirilen hıyarlardaki kök çürüklüğü (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*) ve biberde kök boğazı yanıklığı (*P.capsici*) hastalıklarına karşı solarizasyon ve bazı *Trichoderma* spp. uygulamalarının etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. *Trichoderma harzianum*'un ticari preparatları ile yapay kültürde geliştirilen bölge izolatları solarizasyon uygulanan toprağa verilmiştir. Hıyar kök çürüklüğüne karşı solarizasyon uygulamasının etkisi ortalama % 42.0 ve solarizasyon+*T. harzianum* uygulamasının etkisi ise % 48.2 olarak bulunmuştur. Biber kök boğazı yanıklığı hastalığına karşı solarizasyon uygulamasında ortalama %56.6, solarizasyon+*T.harzianum* uygulamasında ise %80.0 düzeyinde bir etki sağlanmıştır (Yücel ve ark., 1998;1999).

Marois ve ark. (1981b), FORL'un saprofitik yayılmasındaki azalmanın patojenin yeniden istilasından önce fumigant uygulanan toprağa bazı antagonistler ekleyerek kontrol altına alınabileceğini bildirmişlerdir. Hıbar ve ark. (2006), FORL ile mücadelede fungusitlere alternatif olarak seçtikleri bazı antagonist fungus ve bakterilerin etkinliğini in-vivo koşullarında araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada patojenin inokulasyonundan bir hafta önce uygulanan biyo-fungisitler hastalık

oranını % 10- % 13,3 azaltırken, kontrolde hastalık oranı de bu oran ise % 80-% 93 olmuştur.

Bitki rizosferinde birçok mikroorganizma mevcuttur. Bunlar arasında çok iyi bilinen, belirgin simptom üreten kök ve iletim demeti hastalık etmeni patojenler, hastalık simptomları açık olmayan fakat kök tüyleri ucu ve kabuk hücreleri gibi esas olarak genç dokulara zarar veren parazit ve saprofitik minör patojenler ve bunların yanı sıra faydalı mikroorganizmalar bulunmaktadır. Bitki rhizosferinde bulunan bu mikroorganizmalar arasında sürekli ve yüksek miktarda bir etkileşim söz konusudur. Rhizosfer bölgesinde ayrıca kökleri kolonize etme yeteneğinde olan Rhizobacteria vardır. Bunlar mevcut doğal rizosfer mikroflorası üyesi olarak köklere kolonize olabilirler. Rhizobakteriler patojenlerin saldırısına karşı kökler için bir ön savunma hattı meydana getirirler. Enfeksiyondan önce, enfeksiyon sırasında veya köklerdeki ikincil yayılma esnasında patojenler bu rhizosfer mikroorganizmalarının antogonizmi ile karşı karşıya gelirler. Bu etkileşim sonucunda hastalık gelişmesi engellenir veya yavaşlayabilir (Weller, 1988). Rhizobakteriler ayrıca bitki gelişimi için faydalı etkilerinden dolayı Bitki Gelişim Düzenleyici Rhizobakteriler (PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria) olarak isimlendirilmiştir (Kleoppe ve ark., 1980). Çünkü bunların uygulanması ile bitki gelişiminde gözle görülür bir artış gözlenmektedir.

Bitkiler bazı koşullarda bazı bakteriler, funguslar, nematotlar ve virüslere karşı genel ve etkin olan bir savunma reaksiyonu geliştirirler. Bitkinin bir kesiminde olagelmiş bir enfeksiyon sonucu diğer kısımlarına sistemik olarak bazı savunma reaksiyonlarının başlatılması işareti verilir. Bu işaret için salisilik asit, jasmonik asit, etilen ve peroxidase'ın iş gördüğü kabul edilmektedir. Bu şekilde bitkide bir patojen tarafından inokulasyonu takiben bir dayanıklılık gelişimi sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR: Systemic Acquired Resistance) olarak adlandırılır. Bu tip dayanıklılık nekrotrof patojen veya patojen olmayan bakteri, fungus, nematot ve virüslerle tetiklenerek aşırı duyarlılık ve patojenitede iş gören proteinlerin üretimini sağlar. Aşırı duyarlılığı veya bir patojenle teması bile gerektirmeyen kazanılmış dayanıklılığın bir benzeri bitki büyümesini teşvik eden rizosfer bakterileri tarafından aktive edilebilir. Bu tip bir savunma ise aktive edilmiş sistemik dayanıklılık (ISR: Induced Systemic Resistance) diye adlandırılır. Aktive edilmiş sistemik dayanıklılık

bazı yapısal savunmaları ve fitoalaksinleri aktive ederken, patjenite ile ilgili proteinleri aktive etmez. SAR için bitkilerin bir kısım dokusunun böyle hastalandırılması yerine, SAR'ı aktive edebilen “bitki aktivatörü” kimyasallar bulunmuştur. Elexa böyle bir aktivatör olup bitki üzerindeki fungal reseptör yerine bağlanarak bitkiye savunma tepkileri kazandırır. Actigard (acilbenzolar-S- methyl) da bir bitki aktivatörüdür. Actigard bitkide SAR'ı tetikler. Bu konu bitki hastalıkları ile mücadelede ilginç olmasına karşın, henüz bu bileşiklerin stabilite, güvenilirlik, kalıcılık, uygulama zamanı ve sıklığı gibi konularda araştırmaya gereksinim vardır (Staub, 2001; Agrios, 2005; Schumann ve D'Arcy, 2006).

Broadbent ve ark. (1977), tarafından *Bacillus subtilis* A-13 izolatı lyse olmuş *Sclerotium rolfsii* hiflerinden izole edilmiştir. *B. subtilis* A-13'in major ve minör patojenleri bastırarak ve keza bitki gelişimini doğrudan teşvik ederek bitki büyümesini artırdığı gözlenmiştir. Bu A-13 izolatı tohum uygulaması şeklinde uygulandığında havuçlarda % 48, yulaflarda % 33, yerbıstığında % 37'nin üzerinde ürün artışı sağlamıştır.

Bacillus subtilis tarafından üretilen iturin'in bir anti-fungal antibiyotik olduğu belirlenmiş ve *Fusarium oxysporum*, *F.moniliforme*, *Aspergillus niger*, *A.flavus* gibi bitki patojenlerine etkili olarak bulunmuştur (Latoud ve ark., 1987). *B. subtilis* QST 713, besin için yarışarak, bitki gelişimin artırarak ve bitki köklerine doğrudan kolonize olup patojenin girişine karşı bariyer oluşturarak etkili olmaktadır (Anonymous, 2010).

PGPR bakterileri başlangıçta kullanılabilir azot miktarını arttırmakta ve dolayısıyla ürün gübrelemesine olumlu bir etki sağlamaktadır. PGPR kullanılabilir azot miktarını arttırmasının yanı sıra, ayrıca toprak patojenlerine karşı baskılayıcı bir etkiye sahiptir. Bu etkilerinden dolayı PGPR bakterileri biyolojik ajan olarak kullanılabilir (Dunleavy, 1955; Schippers ve ark., 1987). PGPR toprak patojenlerini baskı altına almada demiri bloke etme, antibiyotik veya litik enzim üretimi gibi çeşitli antogonistik aktivitelere sahiptir (Van Loon ve ark., 1998).

PGPR bakterilerinin yeterli miktarda kök kolonizasyonu sağlamaları için ya fideler şaşırtma öncesi bakteriyel süspansiyona daldırılmakta, ya da yüksek miktarda bakteri ile tohum bulaştırılmaktadır (Kloepper, 1996). Son yapılan

çalışmalarda, LS213 olarak bilinen endüstriyel bir ürün geliştirilerek formüle edilmiştir. LS213 sebze üretiminde fidelerin araziye şaşırtılmasından sonra bakteriyel leke (domates), antraknoza (hıyar) ve aynı zamanda nematod zararına karşı koruma sağlamıştır (Kenney ve ark.,1999). *B. subtilis*'in GBO3 izolatı biber, tütün, hıyar ve domates üretimini önemli ölçüde artırmıştır. Bu preparat domatesleri bakteriyel leke ve mildiyö hastalığına, hıyar bitkilerini köşeli yaprak lekesine ve tütünü mavi küfe karşı korumuştur (Reddy ve ark., 1999).

Günümüzde, çevre kirliliği nedeniyle birçok ülkede bazı pestisit kullanımları yasaklamakta veya bunların kullanılmalarına sınırlama getirilmektedir. Bu yüzden, hastalıklarla mücadelede etkili biyolojik ürünlerin hızlı bir şekilde geliştirilerek pestisitlerin yerini almalarına gereksinim vardır. Böylece PGPR ürünlerinin ticari olarak pazarlanmasında büyüme devam etmektedir. Amerika'da 1985 yılında, Gustafon Firması ilk ticari Rhizobacter biyolojik mücadele etmeni olarak *Bacillus subtilis* A-13, GBO7 ve GBO3 izolatlarını, sırasıyla ticari Quantum, Kodiak ve Epic adları altında üreterek piyasaya sunmuştur (Broadbent ve ark., 1977). Bu ürünler tohuma uygulanan fungusitler ile birlikte kullanıldığında toprak patojenlerine karşı tohumları koruyabilmektedir. Pamukta toprak patojenlerinden *Rhizoctonia* ve *Fusarium*'u baskı altına almak için *B. subtilis*'ten üretilen Kodiak Amerika'da pamuk üretim alanlarının %60-75'inde kullanılmaktadır. Aynı zamanda yer fıstığı, soya, mısır, sebze ürünlerinde kullanılan Çin'de 18 tane ticari PGPR izolatı veya izolat karışımı mevcuttur. Bunların çoğu *Bacillus* cinsinin spor formundan üretilmiştir (Backman ve Jacobi, 1997).

2.3 Toprak Solarizasyonu İle İlgili Çalışmalar

Toprak dezenfeksiyonu Avrupa'da 100 yıldan daha fazla bir zaman dönemi öncesi toprak kökenli patojenlerle mücadele metodu olarak geliştirilmiştir. Ancak, daha sonraları bu konuda fiziksel (buharlaştırma) ve kimyasal (fumigasyon) olmak üzere iki yaklaşım üzerinde durulmuştur. Toprak solarizasyonu (güneş ısıtması), en son üçüncü yaklaşımdır. Solarizasyon ilk tanımlanmayı (Katan ve ark., 1976) müteakip çoğunlukla sıcak bölgelerde 40'dan fazla ülkede bu metod üzerinde

araştırmalar başlamıştır (Katan ve DeVay, 1991; White ve Buczacki, 1979). Solarizasyon ile ilgili ilk çalışmalarda patojenlere karşı mücadelede biyolojik kontrol mekanizması ve solanaceous bitkilerde *Verticillium* solgunluğu kontrolü vurgulanmıştır (Katan ve ark., 1975, 1976). Bu araştırmalarda solarizasyonun sebze, tarla bitkileri, süs bitkileri ve meyve ağaçları gibi bir çok üründe birçok patojene, yabancı otlara ve bir toprak eklembacaklısına (arthropod) karşı etkili olduğu bildirmiştir (Gerson ve ark., 1981; Katan, 1981; Stapleton ve DeVay, 1986).

Solarizasyon uygun bir malç ile nemli toprağın kapatılması ve güneş enerjisinden yararlanılarak toprağın ısıtılması esasına dayanır. Solarizasyon uygulamasının topraktaki patojenleri öldürebilecek sıcaklığın en yüksek olduğu Temmuz-Ağustos aylarında yapılması gerekir (Katan ve ark., 1976; Katan, 1980, Katan ve DeVay, 1991). Toprak solarizasyonu geniş etki spektrumu ve çevre direncini koruyucu özelliği nedeniyle toprak kökenli patojenlere, nematodlara ve yabancı otlara karşı mücadelede IPM (Integrated Pest Management) programları içerisinde diğer mücadele yöntemleri ile kombine edilerek geniş bir uygulama olanağına sahiptir (Katan, 1996).

Solarizasyon ile farklı toprak derinliklerinde ulaşılabilen maksimum sıcaklık bölgelere ve yıllara göre farklılık gösterebilmektedir. Çünkü, radyasyonun toprak tarafından absorbe edilmesi toprak nemi, yapısı, iklim faktörü gibi özelliklere bağlıdır. İsrail’de Temmuz –Ağustos aylarında solarizasyon uygulamalarında yıllara göre 5 ve 20 cm derinliklerde ölçülen maksimum sıcaklıkların sırasıyla 44 -55 °C ile 39 -45 °C arasında değişmiştir (Katan, 1981).

Chet ve ark. (1982)’a göre solarizasyon uygulaması toprak kökenli patojenlerle mücadelede yeni bir yöntem olup toprağın güneş enerjisi ile ısıtılmasını esas alan, kimyasal olmayan, toksik madde içermeyen, ekonomik ve uygulanması kolay olan bir yöntemdir. Bu araştırmacılar solarizasyon uygulaması ile baskı altına alınan patojenlerin elemine edilmesi için ayrıca toprağa etkili antagonist mikroorganizmalar eklenmesini düşünmüştür. Solarizasyon uygulaması üzerine ilk raporun İsrail’den bildirilmesinden hemen sonra 1977’de, Kaliforniya’da araştırmalara başlanarak; solarizasyonun domates, pamuk, soğanda *Fusarium*; domates, patlıcan, patatest *Verticillium*; patates, soğanda *Rhizoctonia solani*; yer fıstığında *Sclerotium rolfsii* ve

soğanda *Pyrenochacta terrestris* hastalıklarına karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Katan, 1981).

1970’li yılların ortalarında tarımsal alanlarda toprak kökenli patojenlere karşı pratiğe aktarılmış olan solarizasyon (Katan ve ark., 1976) 1990 ve 2000’li yıllarda MeBr’ün yasaklanacak olmasından sonra, ekolojinin uygun olduğu alanlarda toprak kökenli patojenlere ve kök-ur nematodlarına karşı mücadelede en popüler yöntemlerden biri olmuştur. Ancak solarizasyon tek başına kullanıldığında özellikle nematodlara ve bazı toprak kökenli hastalıklara karşı yeterli düzeyde etkili olamamaktadır (Chellemi ve ark., 1994; Fuentes ve ark., 1997). Bu nedenle nematod ve toprak kökenli patojenlere karşı mücadelede onun etkinliğinin artırılması ve çevre direncinin korunması için sistemin bütün olarak düşünülmesi ve mücadelede kombine uygulamalara yer verilmesi gerekmektedir (Yücel ve ark, 2007).

Doğu Akdeniz bölgesinde 1980’li yıllardan bu yana yapılan çalışmalar ile toprağın şeffaf plastik örtü kullanılarak ısıtılması esasına dayanan solarizasyon uygulamalarının toprak kökenli fungal ve bakteriyel patojenlere karşı kullanılabilirliği pek çok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Çınar ve Biçiçi, 1985, Erkilic ve ark., 1994). Solarizasyon uygulamasının hıyar serasında toprak kökenli patojenlere karşı kontrole göre % 43 oranında etkili bulunduğu; daha ucuz, güvenli, uygulaması kolay ve kalıntı bırakmaması gibi nedenlerle metil bromid’e göre tercih edilebileceği bildirilmiştir (Erkilic ve Çınar, 1991). Biberde *Phytophthora capsici* tarafından neden olunan kök ve kök boğazı yanıklığı hastalığının, tek başına solarizasyon uygulaması veya solarizasyon ve metil bromid’in düşük dozu (40 g/m²) ile birlikte kombine edilmesiyle azaltılabileceği bildirilmiştir (Yücel, 1995).

McGoven (1994), Güneybatı Florida’da domateste önemli zararlara neden olan kök ve kök boğazı çürüklüğü etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* ile mücadelede fumigant ve bazı biyolojik preparatların etkinliğini araştırmıştır. Yapılan çalışmalarda 4 haftalık solarizasyon sonucu toprakta 5, 15 ve 23 cm derinliklerinde ulaşılan sıcaklıklar dataloggerlar ile kaydedilmiştir. Kontrole göre solarizasyon uygulanan alanlarda üç toprak derinliğinde de artış görülmüştür. 5 cm’de ulaşılan toprak sıcaklığı ile FORL popülasyonunda önemli bir azalma görülürken, 15 ve 23 cm’de kontrole göre azalma azda olsa söz konusu olduğu bildirilmiştir.

Kuzey Florida’da *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Phytophthora nicotiana* ve *Rastonia solanacearum*’a karşı solarizasyon ve Metil bromid ile fumigasyon uygulamalarının yalnız ve kombine halde etkinlikleri araştırılmıştır. Solarizasyon uygulaması ile 5 ve 15 cm toprak derinliklerinde maksimum sıcaklıkların sırasıyla 49.5 ve 46 °C’ ye ulaştığı belirlenmiştir. Solarizasyon uygulaması yalnız başına uygulandığında *R. solanacearum*’un hastalık şiddetinde önemli derecede azalma meydana gelirken, metil-bromid ile kombinasyon durumunda patojen üzerine etkinin arttığı ve hastalık oranının % 36’lardan % 6’ ya düştüğü bildirilmiştir (Chellemi ve ark., 1994).

Tjamos ve ark. (2010), 4 - 6 haftalık toprak solarizasyonunun domates ve enginarada *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*, *F. oxysporum*, f.sp. *melonis* ve *Verticillium dahliae* tarafından neden olunan vasküler solgunluk hastalıklarına etkili olduğunu, ayrıca domateste *Pyrenochaeta lycopersici* ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* hastalıklarını da kontrol edebileceğini bildirmişlerdir. Yapılan 15-20 gün gibi kısa süreli toprak solarizasyonu ile antagonist bakteri (*Bacillus* sp.) uygulamalarının geçirimsiz plastik kullanıldığında *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis cucumerinum*’a karşı etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Ioannou (2000), Güney Kıbrıs’ta sera, alçak tünel ve açıkta yetiştiriciliği yapılan en önemli sebze türlerinden birinin domates olduğu ve domateslerde en önemli solgunluk etmenlerinin, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *V. dahliae* ve *Pyrenochaeta lycopersici* olduğunu belirtmiştir. Bu etmenlerle etkin mücadelenin dayanıklı çeşit kullanılmasıyla, toprak fumigasyonu veya toprak solarizasyonu ve hastalıklı bitki artıklarının araziden uzaklaştırılmasıyla sağlanılabileceği bildirilmiştir.

Akdeniz Bölgesinde önemli bir sorun olan domates bakteriyel solgunluk etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*’e karşı solarizasyon uygulamasının etkinliği cam ve plastik sera ile plastik tünelde araştırılmıştır. Toprak solarizasyonu uygulamalarında 5, 10, 15 ve 30 cm derinliklerde maksimum toprak sıcaklıklarının sırasıyla 41-52 °C, 38-48 °C, 36-45 °C ve 32-39 °C arasında değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Patojen yaşamına solarizasyonun etkisi *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ile yapay olarak bulaşık domates

bitki artıkları toprağın dört farklı derinliğine gömülerek araştırılmıştır. Solarizasyon plastik tünelde 5, 30 cm ve cam serada 15 cm derinliklerde patojene zayıf etkide bulunurken, diğer derinliklerde etkisiz olmuştur. Doğal koşullarda yapılan çalışmalarda ise toprak solarizasyonu tek başına bir yıl uygulama ile etkili bulunmazken, aynı yerde ikinci yıl uygulandığında yaklaşık % 55 oranında etkili olduğu saptanmıştır. Solarizasyonun toplam mikroorganizma populasyonlarına (*Actinomycetes* sp., Fluoresan *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp.) olumsuz bir etkisi bulunmamıştır. Ayrıca solarizasyonun etkisini artırmak için çift kat plastik örtü kullanımı, biyolojik kontrol ajanları ile kombinasyon, toprağa organik madde ilavesi gibi farklı uygulamaların araştırılması gereği ifade edilmiştir (Tokgönül,1998).

Bazı araştırmacılar, solarizasyon uygulamasında farklı özelliklere sahip plastiklerin kullanımı, çift katlı örtü kullanımı, toprağa organik içerikli maddelerin ilavesi, biyolojik kontrol ürünleri ile kombinasyon gibi farklı uygulamaların etkinliği arttırdığını bildirmişlerdir (Yücel ve Çınar, 1989; Stapleton, 1997).

Son yıllarda solarizasyonda yeni bir yaklaşım olarak toprağın plastik örtü ile kapatılma süresinin kısaltılması ve kombinasyonlar (fumigant ve antagonist) ile ilgili bir çok araştırma yapılmıştır. Tjamos ve ark. (2005), 15-20 günlük kısa süreli solarizasyon uygulamasında geçirimsiz plastik ve *Bacillus* sp. antagonist uygulamasının *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis cucumerinum* etmenini başarıyla kontrol ettiğini bildirmişlerdir.

2.4 Metham Sodium İle İlgili Çalışmalar

Ben-Yephet ve ark. (1983), İsrail’de yaptıkları çalışmalarda Metham Sodium (MS)’un patates, yerfıstığı ve diğer ürünlerde dikim öncesi toprak dezenfeksiyonu amacıyla yaygın olarak kullanıldığını, 300 ile 1000 l ha⁻¹ oranlarında birçok toprak kökenli patojenin mücadelesinde kullanıldığını rapor etmişlerdir. Frank ve ark.(1986), 900L/ha Metham Sodiumun solarizasyon ile kombinasyonunun yer fıstığında *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* ve *V. dahliae*’ye karşı etkiyi arttırdığını bildirmişlerdir.

2005-2006 yılı yetiştirme sezonunda bölgemiz örtü altı domates seralarında yapılan bir çalışmada, *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğü (*Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis- lycopersici* :FORL) ve Kök-ur nematodları (*Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne incognita*) ile bulaşık olduğu belirlenen iki ayrı domates serasında, bu etmenler ile mücadelede etkili bir fumigant olan methly-bromide alternatif olacak uygulamalar araştırılmıştır. Çalışmada solarizasyon uygulaması ile Metham Sodium'un düşük doz denemelerinde kök ve kök boğazı çürüklüğü (FORL) hastalığının toprakta yoğun olduğu serada (% 82.4), yalnız solarizasyon uygulamasında % 49.9 hastalık çıkışına karşın etkisi % 39 ile yeterli olmamıştır. Solarizasyon uygulaması ile birlikte MS'un düşük bir dozu 1000 l l ha⁻¹ ile yapılan kombinasyonda hastalık çıkışı % 22.4 olmuş ve % 72.5 etki sağlanarak başarı sağlanmıştır. FORL nedeni hastalığın yoğun olmadığı serada (% 34.1) ise yapılan bütün uygulamaların hastalık çıkışını azalttığı ve bu uygulamaların toprak dezenfeksiyonu amacıyla önerilebileceği ortaya konmuştur. FORL nedeni kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığının düşük olduğu serada solarizasyon ve Metham Sodium'un düşük dozu 1000 l l ha⁻¹ ile yapılan kombinasyonda hastalık çıkışı % 4.1, etki % 88.6 olmuş, yalnız solarizasyon uygulamasında ise hastalık çıkışı % 10.8, etki % 67, 2 olarak belirlenmiştir (Yücel ve ark., 2007)

Saeed ve ark. (1997) farklı toprak su içeriği ve sıcaklıklarına sahip toprak koşullarında Metham Sodium'un *Verticillium dahliae*' ya karşı etkinliğini araştırmışlardır. Bu çalışmada, toprak su içeriğinin Metham Sodium'un fungisidal aktivitesini etkilemediğini, soğuk veya ıslak toprak koşullarında MS'un *V. dahliae*'ya karşı etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Toprak kökenli patojenlerle mücadelede tek başına uygulamalardan ziyade azaltılmış dozda fumigant, solarizasyon, biyo-fungusitler, yada diğer ajanların kombinasyonları ile yapılan uygulamaların başarıyı artıracığı bildirilmiştir (Eshel ve ark., 2000; Munito ve ark., 2000)

Metham Sodium'un bir çok araştırmacı tarafından toprak kökenli patojenler ile mücadelede Methyl Bromide alternatif olarak etkili bir fumigant olduğu bildirilmiştir (Warton ve Matthiessen, 2000; Cao ve ark., 2001; Gullino ve ark., 2002; McGoven ve Obreza, 2007; McGoven ve ark., 1998). Steve (2000), 100 gal/acre dozunda

(yaklaşık 94.6 L/da) Metham Sodium ile toprak fumigasyonunun 6 hafta süreli solarizasyon uygulaması ile birlikte uygulandığında çok iyi sonuç alındığını bildirmiştir.

Antalya’da domates ve hıyar bitkilerinde toprak kökenli patojenlere (fungus, nematod ve bakteri) karşı sekiz haftalık solarizasyon ve 1,3 dichloropropene, Metham-sodium, dazomet, biofumigasyon, biyokontrol-Mycormax, biyokontrol-Promot uygulamalarının etkinliği araştırılmıştır. Bu bileşiklerle yalnız başına tek bir uygulamanın Methyl bromide alternatif olamayacağı bildirilmiştir. Solarizasyonun, yalnız veya Metam-sodium, 1,3 dichloropropene, dazomet ve biyofumigasyon ile birlikte kombine uygulamalarının Antalya koşullarında toprak kökenli patojenlerin entegre mücadele programlarında tavsiye edilebileceği rapor edilmiştir (Ozturk ve ark., 2001).

Tütün, domates ve biber üretiminde Metil Bromide alternatif olabilecek pestisitlerin araştırıldığı bir çalışmada, alternatif kimyasallar olarak Metham Sodium, Chloropicrin, 1,3 Dichloropropene, 1,3 Dichloropropene + % 17 Chloropicrin ve 1,3 Dichloropropene + % 35 Chloropicrin yalnız ve kombine edilerek 2 yıl süreyle 3 farklı bölgede yabancıot, bazı arthropod ve nematodlara karşı denemiş ve en yüksek etkinlik Metham Sodium’un yalnız başına ve diğer pestisitler ile kombine uygulamaları sonucu elde edilmiştir (Csinos ve ark., 2000).

McGoven ve Obreza (2007) yaptıkları bir seri domates tarla denemesinde, Metham Sodium yastık hazırlığından önce toprak uygulaması şeklinde tohum/fide yatağına iyice karıştırıldıktan sonra, şeffaf plastikle solarize edilen 5cm derinliğindeki toprakta kök ve kök boğazı çürüklüğü etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis- lycopersici* (FORL) popülasyonları azaltılabilmektedir. Bunlara ek olarak, 6 haftalık toprak solarizasyonu, Metham Sodium (Vapam, 935 l/ha) ve kanalizasyon artığı kompostu kombinasyonları kök ve kök boğazı çürüklüğüne karşı araştırılmıştır. Burada önce toprak yüzeyine kanalizasyon artığı kompostu karıştırılmış ve ayrıca buraya Vapam püskürtülerek 23 cm derinliğe karıştırılmıştır. Kompost ve Vapam uygulamasını takiben yastık yapılarak bu yastıklar hemen polyethylen ile malçlanmıştır. Bunun yanında bazı yastıklar sadece solarize edilmiştir. Bu uygulamaların yapılmış olduğu yastıkların 5, 15, ve 23 cm derinliklerinden data logger

ile sıcaklıklar ölçülmüştür. Her parselde en az 32 bitki olacak şekilde yastıklara domates bitkileri dikilmiş ve iki kez meyve hasadından sonra bitkiler sökülerek kök ve kök boğazı çürüklüğü için değerlendirme yapılmıştır. Kök ve kök boğazı çürüklüğü oluşumu Vapam ve solarizasyon+ Vapam uygulamalarında önemli ölçüde azaltılırken, hastalık şiddeti ikinci uygulama ile azaltılabilmektedir. Uygulamalar arasında pazarlanabilir ürün yönünden bir farklılık olmamıştır. 5 cm derinlikte bile FORL için öldürücü olan 50 - 60 °C sıcaklıklara erişilmemiş olması nedeniyle, solarizasyon yalnız başına kök boğazı çürüklüğünü azaltmada başarılı olamamıştır.

Munito ve ark. (2000), toprak kökenli patojenlere etkili olan Methyl Bromide alternatif fiziksel ve kimyasal uygulamaların kombinasyonları üzerine çalışmalar yürütmüşlerdir. Metham Sodium uygulamasının yarı dozu ve 2 haftalık solarizasyon uygulaması ile toprağın ekime kapatılması ile ekim yapılamayan periyodun kısılacağını bildirmişlerdir. Böyle bir kombinasyonun toprak solarizasyonu için tanımlanan uzun dönem etkisinin sonraki ürün üzerinde de etkili olacağını belirtmişlerdir. Böylece toprağa bir kez uygulama ile diğer 2 veya 3 ürünü koruma mümkün olabileceği ifade edilmiştir. Bu toprağa düşük doz ve kısa süreli solarizasyon uygulamalarının bir çok üreticiyi uygulama için teşvik edeceği ve kimyasallara olan bağımlılığın azalacağı açıklanmıştır. Bu çalışmada ayrıca 14 günlük solarizasyon uygulaması ile patojenin canlılığında çok tatmin edici azalmalar gözlemlendiği bildirilmiştir. Katan (1981), solarizasyon uygulamasını 2 ile 4 hafta kısaltarak bütün patojenler üzerinde olumlu sonuçlar alınamayacağını, ancak bazı toprak kökenli patojenleri zayıflatmada etkili olabileceğini bildirmiştir.

Eshel ve ark. (2000), Metham Sodium'un azaltılmış dozu (10 ml / m²) ve 8 günlük solarizasyon kombine uygulamasında, *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* propagüllerin canlılığı (% mortality) 10 cm toprak derinliğinde % 100 ölümle sonuçlanırken, 30 cm'de % 80 başarı sağlandığını bildirmişlerdir. Yalnız solarizasyon uygulanan parsellerde ise 10 cm toprak derinliğinde % 90, 30 cm'de yaklaşık % 18 patojenin popülasyonunda azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Yücel ve ark. (2009), bölgemiz örtüaltı domates seralarında *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ve kök-ur nematodu (*Meloidiogyne javanica* ve *Meloidiogyne incognita*) ile mücadelede solarizasyonun yalnız ve düşük doz fumigant

kombinasyonlarını araştırmışlardır. Bu çalışmada, FOL ile mücadelede % 62.5 oranında bulaşık serada yalnız solarizasyon uygulamasında hastalık oranı % 39.2 ve etki % 35 iken, solarizasyon ile Metham Sodium'un 1000 l / ha⁻¹ dozundaki kombine uygulama durumunda hastalık çıkışı % 11.6 ve etki % 83.9 ile FOL hastalığını baskılamada bu kombinasyon en başarılı olarak saptanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

Bu araştırma Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü ve Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Fitopatoloji Laboratuvarı, Moleküler Laboratuvarı, iklim odası ve 210 m² yay çatılı plastik serada yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Survey çalışması, 2007-2008 yılında Kasım – Nisan ayları arasında bölgede örtü altı domates yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Yüreğir, Seyhan, Karataş, Ceyhan/Adana; Silifke, Erdemli, Adanalıoğlu, Kazanlı ve Tarsus/Mersin seralarında yapılmıştır. Survey alanlarından bitki örneklerinin alınması için plastik torbalar, etiket, Hanna pH ve EC ölçer, budama makası ile bu alandaki belirtilerin görüntülenmesi için digital fotoğraf makinesi kullanılmıştır.

Patojen izolasyonu ve patojenite çalışmaları; survey çalışmaları sırasında örtü altı domates seralarından örneklenen bitkilerden izole edilen *Fusarium oxysporum* izolatları çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Bu amaçla etmenin izolasyon ve tanı çalışmalarında bistüri, PDA ortamı, 9 cm petri kapları, ve steril kabin, inkübatörler ve buzdolabı kullanılmıştır.

Patojenite çalışmaları ve çeşit reaksiyon denemelerinde H-2274 ve 17 domates çeşiti (Sümela F₁, Alsancak F₁, Sultan F₁, Redo F₁, Basha F₁, Maydo F₁, Cansın F₁, Zümrüt F₁, Mondi F₁, Grando F₁, Tauna F₁, Almalakeh F₁, Jana F₁, Maya F₁, Aksu F₁, May klasdo F₁, Etna F₁), torf:perlit (1:1) içeren karışım, plastik saksılar (15 x 15 cm) ve laboratuvar aletleri kullanılmıştır.

PCR çalışmalarında materyali; *Fusarium oxysporum* (FO) izolatlarına ait DNA'lar, Promega firmasından elde edilen GoTaq Flexi DNA Polymerase, MgCl₂, dNTP setleri (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), örneklerin muhafazası için buzdolabı, derin dondurucu (-20 °C) ve +4 °C soğuk oda ve farklı büyüklükteki mikrosantrifüj, plastik tüpler, Sellecta-precisng su banyosu, Sellecta-Agimatic N ısıtıcılı manyetik karıştırıcı, Sigma 2-16 K soğutmalı santrifüj, Eppendorf Thermomixer compact karıştırıcılı ısıtma bloğu, Orison GLP 22 pH metre, Gilson otomatik pipet setleri ve

pipet uçları, vortex cihazı ile havan, havaneli, tülbent, otoklav, steril cam malzeme, steril su, moleküler çalışmalarda kullanılan farklı firmalardan temin edilen bazı kimyasallar (Tris, Sodyumasetat, Potasyum asetat, EDTA, alkol, NaCl, SDS, ..vb.) kullanılmıştır. Nükleik asitlerin amplifikasyonunda Eppendorf Mastercycler Gradient PCR Thermocycler marka DNA Thermal Cycle cihazı ile çalışılmıştır. Moleküler çalışmalarda İontek (Türkiye) firmasından temin edilen 4 primer (uni, sprl, sp13, sp23) kullanılmıştır.

PCR çalışmaları sonucunda amplifiye edilmiş DNA'lar, agaroz jel elektroforez çalışmalarının materyalini oluşturmuştur. PCR ürünlerinin ırk ayrılmasında, agaroz (Sigma), TBE buffer, 100bp DNA marker (Promega), reaksiyon ürünü, yükleme tamponu (Loading), agaroz jel tankı (Ter–Max yatay tank), hassas terazi (Sartorius CP 323 S), çalkalayıcı (Barnsteadlab-line E-class), ve güç kaynağı (Consort E 861) kullanılmıştır. Agaroz jeldeki DNA bantlarının görüntülenmesinde Ethidium bromid ve Sony-Lip 895 CE Video Graphic printer kullanılarak oluşan bantlar fotograflanmıştır.

Solarizasyon ve sera çalışmaları; denemede kullanılmış 0.030 mm kalınlığında şeffaf plastik örtü, sera toprak sıcaklığı ölçüm aleti (HOBOToprak), serada kullanılan alet ve ekipmanlar (kürek, kazma, rotovator, sera bağlama ipi, tahta kazık, etiket), *Trichoderma harzianum* (T-22 Planter Box), *Bacillus subtilis* OST 713 (Serenada), Metham Sodium, Alsancak F1 domates fideleri, kompost, Antares 50 marka sera ısıtma sistemi, tül perde, kireç, gübreleme tankı ve damla sulama sistemi çalışma materyalini oluşturmuştur. Denemelerde patojenite çalışmaları bölge seralarından izole edilmiş *Fusarium oxysporum* izolatları ve ayrıca karşılaştırma amacıyla Doç. Dr. Canan Can (Gaziantep Üniversitesi/Biyoloji bölümü)' dan temin edilen *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (FORL) izolatu ile yürütülmüştür.

3.2. Metod

3.2.1. Örtü Altı Domates Seralarında Fusarium Hastalıkları Sörvey Çalışması

Sörvey çalışmaları, 2007-2008 yılı Kasım-Nisan aylarında örtü altı domates yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Adana ili Yüreğir, Seyhan, Karataş ve Ceyhan ilçeleri ile Mersin ilinin Silifke, Erdemli, Adanalıoğlu, Kazanlı ve Tarsus ilçelerindeki seralarda yapılmıştır. Bölge seralarında FOL ve FORL'un neden olduğu tipik solgunluk ve kök-kök boğazı çürüklüğü belirtileri gösteren bitkiler belirlenmiş ve bunlardan izolasyonlar yapılarak izolatlar elde edilmiştir. FOL için tipik hastalık belirtisi olarak bitkilerin yapraklarında bir taraflı sararma, solma ve gövdede vasküler kararmalar dikkate alınmıştır. FORL ise kök ve kök boğazı çürüklüğü ve 25 - 30 cm'e kadar gövdede kahverengileşme ile gövdenin geri kalan kısmında herhangi bir vasküler kararma olmaksızın tüm bitkide solgunluk şeklindeki belirtiler dikkate alınarak belirlenmiştir. Gerek FOL ve gerekse FORL' un neden olduğu sırasıyla solgunluk ve kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalıklarının her ikisi de düşük toprak pH'sı ve amonyum azotu ile teşvik gördüklerinden (Sherf ve Machab, 1986; Roberts ve ark., 2001; Anonymous, 2007) hastalık görülen ve görülmeyen seralarda bitkilerin rizosfer bölgesinden toprak örnekleri alınarak laboratuvarda pH analizi yapılmış ve tuzluluk düzeyi belirlenmiştir. Sörvey yapılan seralarda çiftçilerce bitki besleme amacıyla kullanılan amonyumlu ve nitrattı gübreler gibi ne tür azotlu gübre kullanıldığı üreticilere sorularak kaydedilmiştir.

Sörvey çalışmaları ve örneklemeler için Bora ve Karaca (1970) ile Nelson (1986)' dan yararlanılmıştır. Survey çalışması Mersin iline bağlı Merkez, Silifke, Erdemli ve Tarsus ilçeleri (16652 da) ile Adana iline bağlı Yüreğir, Seyhan, Ceyhan (188 da) ilçelerinde toplam 16840 da örtü altı domates yetiştirilen alanların % 4.54' ü dikkate alınarak yaklaşık 756 da alanda yürütülmüştür (Anonim, 2007). Bu alanlarda aşağıda belirtilen örnekleme yöntemine göre domates bitkileri solgunluk ve kök ve kök boğazı belirtileri yönünden değerlendirilmiştir.

- 1 dekar sera alanından 3 ayrı noktadan,
- 1-2 dekar sera alanından 5 ayrı noktadan
- 2-4 dekar sera alanından 7 ayrı noktadan ve
- 4 dekardan daha fazla olan seralardan 10 ayrı noktadan,

10'ar bitki solgunluk veya kök ve kök boğazı çürüklüğü belirtileri yönünden incelenerek hastalık oluşumu belirlenmiştir. İnceleme yapılan noktalarda gözlenen hastalıklı bitkilerden birkaçı sökülerek bunlardaki hastalık şiddeti belirlenmiştir. Bu amaçla, tarafımızdan Ozbay ve ark. (2004) ile Hibar ve ark. (2007a)'dan modifiye edilen FOL solgunluğu ve FORL kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalıkları için iki ayrı 0-3 skalası kullanılmıştır. İnceleme yapılan seralarda hastalık oluşumu ve skalalar yardımıyla hesaplanan hastalık indeksi saptanmıştır (Bora ve Karaca, 1970). Ayrıca incelenen tüm seralar açısından hastalık yaygınlığı bulunmuştur.

FOL için 0-3 skalası aşağıda verilmiştir;

- 0-Gözle görülebilir hastalık belirtisi yok,
- 1-Bodurlaşma olsun veya olmasın gövdede hafif vasküler renk kararması mevcut, kök çürüklüğü mevcut değil,
- 2-Gövdede vasküler renk kararması, bodurluk, yapraklarda sararma olsun olmasın solgunluk mevcut,
- 3-Bitkinin yarısı veya çoğunda kuruma ve ölüm.

FORL için 0 -3 skalası ise aşağıdaki gibidir;

- 0-Gözle görülebilir hastalık belirtisi yok,
- 1-Yapraklarda hafif solgunluk, kazık kök ve ikincil köklerde hafif veya orta düzeyde çürüklük ve kök boğazı çürüklüğü mevcut,
- 2-Yapraklarda orta veya şiddetli solma, genel bodurluk, kazık kök ve ikincil köklerde şiddetli çürüklükler var,
- 3-Kök boğazından yukarı gövdeye doğru 20-30 cm'e kadar %50-100 oranında içsel nekrosis mevcut.



Şekil 3.1. Sörvey yapılan seralardan alınan hastalıklı domates kökleri

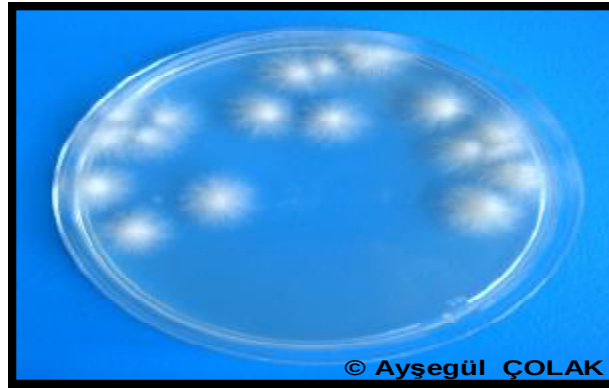
Sörveylerle inceleme yapılan yöreler ve tüm Çukurova Bölgesi için ayrıca hastalık yaygınlığı belirlenmiştir. Bunun için incelenen seralarda tek bir bitkide solgunluk veya kök ve kök boğazı çürüklüğü symptomu görülse bile o sera bulaşık olarak değerlendirilmiştir. Solgunluk veya kök ve kök boğazı çürüklüğü symptomu gösteren domates bitkilerinin köklerinden temiz bir budama makası ile izolasyonda kullanılmak üzere toprak yüzeyinden 15-35 cm uzunluğunda köklü halde bitkiler alınarak plastik poşetlere konulmuş, etiketlenmiş ve izolasyon için laboratuara getirilmiştir (Şekil 3.1).

3.2.2. Patojen İzolasyonu ve Patojenite Çalışmaları

Survey yapılan seralarda solgunluk ve kök ve kök boğazı çürüklüğü symptomları gösteren domates bitkilerinin kök ve gövdelerinden enine kesitler alınarak, iletim demetlerinde, kök ve kök boğazı kısımlarında kahverengileşmenin görüldüğü yerlerden izolasyon için parçalar alınmıştır. Kök, kök boğazı ve gövdelerden kahverengileşmiş ve sağlam dokular olacak şekilde temiz bir bistüri ile 2-3 mm büyüklükte parçalar kesilmiştir. Daha sonra, steril kabin içerisinde bu parçalar % 1'lik sodyum hipoklorit (NaOCI) solüsyonunda 2-3 dk. bekletilerek yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Yüzey sterilizasyonu yapılan doku parçaları iki kez

steril distile sudan geçirilerek NaOCI kalıntısı uzaklaştırılmış ve üzerlerindeki fazla suyun giderilmesi amacıyla steril kurutma kağıdına aktarılmıştır. Kurutulan parçalar Patates Dekstroz Agar (PDA) ortamı içeren 9.0 cm' lik Petri kaplarına ekilmiş ve Petri kapları 24 °C' de bir hafta süreyle inkübe edilmiştir (Katan ve ark.,1991). Ayrıca, Jarvis ve Shoemaker (1978)'a göre gövdede renk kararmasının son bulduğu sınıırın 1-2 cm ötedeki dokulardan parçacıklar alınarak FORL için aynı şekilde izolasyonlar yapılmıştır.

Bir hafta süreyle inkübe edilen petri kaplarında gelişen *Fusarium oxysporum* kolonilerinden saflaştırmalar yapılmıştır (Şekil 3.2.). Hasta domates bitkilerinde karakteristik simptomlar vermiş ve yaygın olarak elde edilen *Fusarium oxysporum* izolatlarından tek spor izolasyonları yapılarak ve sonraki aşamalarda kullanılmak üzere +4 °C'de saklanmıştır.



Şekil 3.2. Tek spor izolasyonu

Sörvey sonucunda *Fusarium* izolatlarının domates bitkilerinde patojen olup olmadığı Thanassouloupolos ve ark. (1970)' e göre test edilmiştir. Bu amaçla, önce PDA'da 7 gün geliştirilmiş tek spor kültürlerinin yüzeyindeki mikrokonidiler içeren miseliyal gelişmeler 50 ml kadar deiyonize su içine steril bir mikrospatül ile karıştırıldıktan sonra, elde edilen karışım temiz iki kat tülbentten süzülerek konidi süspansiyonu elde edilmiştir. Daha sonra bir haemocytometer yardımıyla spor konsantrasyonu ml'de 10^6 'ya ayarlanmıştır. Patojenite çalışmalarında *Fusarium*'a duyarlı bir domates çeşidi H 2274 kullanılmıştır. Patojenite testi için 2-3 haftalık domates fidelerinin köklerindeki toprak yıkanarak, kökler tıraşlandıktan sonra, fideler 1×10^6 spor/ml içeren spor süspansiyonuna 4-5 dk daldırılarak inokule

edilmiştir. Daha sonra torf:perlit:kum (1:1:1) içeren 15x15cm'lik her bir saksıya inokule edilmiş 2 domates fidesi dikilmiştir (Şekil 3.2). Her izolat için 5 saksı ile çalışılmış ve saksılar 26 ± 2 °C'de, 16 saat ışık ve 8 saat karanlık bir koşulda ve %60 -70 arasında değişen nisbi nem koşuluna sahip Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsüne ait klima odasına yerleştirilmiştir (Şekil 3.3). Bitkilerdeki FOL ve FORL nedeni solgunluk ve kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalıkları gelişimi 25 -30 gün sonra yukarıda verilen 0 -3 skalalarına göre değerlendirilmiştir.



Şekil 3.3. İklim odası patojenite çalışmalarından görüntüler

Patojenite testleri ile patojen oldukları kanıtlanmış *F. oxysporum* izolatları ayrıca yürütülecek laboratuvar çalışmaları ile koloni gelişimi, renk, fialid, klamidospore, mikro ve makro konidi özellikleri yönünden mikroskopik incelemeler yapılmıştır. Bu amaçla PCR çalışmaları sonucunda bölgede hakim olan ve 5 farklı bölgeden alınan FORL ve FOL3 ırkına ait izolatlar, her izolat için 10 Petri olacak şekilde ayrı ayrı PDA ve CLA ortamlarına ekim yapılmış, Petri kapları 25 °C sıcaklıkta 10 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonu takiben PDA ve CLA’ da gözlenen morfolojik ve mikroskopik özellikler esassından bu izolatların tanımlaması yapılmıştır (Booth, 1971, Nelson ve ark., 1983; Burgess ve ark., 1994; John ve Summerell, 2006).

Patojenite testleri sonunda patojenik olduğu belirlenen, morfolojik ve simptomatolojik olarak kabaca formlara ayrılmış *F. oxysporum* izolatları moleküler olarak paralel bir çalışma ile ayrıca forma speciales ve ırk ayrımı için çalışılmıştır (Hirano ve Arie, 2006).

3.2.3. FORL ve FOL İzolatlarının Moleküler Ayrımı

Survey çalışmaları ve patojenite testleri sonucunda klasik bir biçimde simptomatolojik ve morfolojik özelliklere göre formlara ayrılmış *Fusarium oxysporum* izolatlarının kesin FORL veya FOL olduklarını belirlemek için, Hirano ve Arie (2006) tarafından geliştirilmiş primerler kullanan total genomik DNA ve PCR çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla başlangıçta optimizasyon çalışmaları için Gaziantep Üniversitesi Doç. Dr. Canan Can’dan (CR: FORL izolatı) ve Tokyo Üniversitesi Dr. Tsutoma Arie’den elde edilen (JR:FORL, J1:FOL1, J2: FOL2 ve J3: FOL3) pozitif kontrollerle çalışılmıştır. Bu çalışmada *Fusarium oxysporum* formae specialis ve ırklarını tespit etmede kullanılan uni (FOL ve FORL), sp13 (FOL 1 ve FOL 3 ırklarını), sp23 (FOL 2 ve FOL 3 ırklarını) ve spr1 (FORL) olmak üzere 4 farklı primer seti kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Çalışmada 21-22 bazlık oligonükleotid içeren 4 farklı primer İontek firmasından temin edilmiştir.

Çizelge 3.1. PCR analizi için sentezlenen primerlerin nükleotid dizilimleri ve bant büyüklüğü (Hirano ve Arie, 2006)

Primer	Baz Dizilimi (5'3')	Uzunluk	Bant Büyüklüğü
uni-f	ATCATCTTGTGCCAACTTCAG	21	670-672 bp
uni-r	GTTTGTGATCTTTGAGTTGCCA	22	
spri-f	GATGGTGGAAACGGTATGACC	21	947 bp
spri-r	CCATCACACAAGAACACAGGA	22	
sp13-f	GTCAGTCCATTGGCTCTCTC	21	445 bp
sp13-r	TCCTTGACACCATCACAGAG	21	
sp23-f	CCTCTTGTCTTTGTCTCACGA	21	518 bp
sp23-r	GCAACAGGTCGTGGGGAAAA	21	

Bölge izolatlarının *F.oxysporum* olup olmadıklarının belirlenmesi için unif ve unir primerleri kullanılmış ve yaklaşık 670-672 bp'lık bantların varlığı dikkate alınmıştır.

Sprlf ve sprlr primerleri kullanılarak yapılan PCR testlerinde 947 bp'lık bant oluşturan izolatların *F. oxysoprum* f.sp. *radicis-lycopersici* olduğuna karar verilmiştir.

Sp13f ve sp13r primerleri kullanılarak 445 bp'lık bantları veren izolatların *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* ırk 1 ve ırk 3 olabileceği karına varılmıştır.

Sp23f ve sp23r primerleri kullanılarak yapılan PCR çalışmalarında ise 518 bp'lık bantların varlığı ile izolatların *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* ırk 2 ve ırk 3 olduğu kararı üzerinde durulmuştur (Hirano ve Arie, 2006).

3.2.4. FO İzolatlarından Genomik DNA İzolasyonları

Fusarium oxysporum total genomik DNA izolasyonlarında sigma DNA miniprep kit (G2N70-70prep) ve Dellaporta mini nucleic acid extraction yöntemi (Presting ve ark. 1995) modifiye edilerek kullanılmıştır. Çalışılan örnek miktarının fazla olması, hazır kit fiyatının yüksek olması ve kitte elde edilen total genomik DNA miktarının az olmasından dolayı, örneklerin bir kısmında klasik ve hızlı bir yöntem olan Dellaporta mini nucleic acid extraction yöntemi ile moleküler

çalışmalara devam edilmiştir. Bu amaçla FO izolatları bir haftalık PDA (patates dekstroz agar) ortamında geliştirilerek, 5 mm çapında miseliyal diskler kesilmiş ve 100 ml FMM içeren 250 ml' lik erlenlerde bir gece boyunca 120 rpm' de oda sıcaklığında kültüre alınmıştır. Bu süre sonunda kültürler çalkalayıcıdan alınarak $26 \pm 2^{\circ} \text{C}$ 'de inkübe edilmiştir. 7-10 gün İnkübasyon süresinin sonunda gelişen miseller çift katlı tülbentten geçirilerek liyofilize edilmiştir. Elde edilen misellerden 100 mg alınarak total genomik DNA izolasyonları yapılmıştır. Her iki total genomik DNA izolasyonlarında kullanılan protokol aşağıda verilmiştir.

Birinci Total genomik DNA izolasyon yöntemi; Sigma DNA miniprep kit (G2N70-70prep)'e ait solusyonlar, miktarları EK 3' de ve mini kit protokolu aşağıda verilmiştir.

100 mg alınan fungal miselyum steril porselen havana alınmış ve sıvı azotta toz haline gelinceye kadar iyice ezilmiş ve ependof tüplere alınarak örnekler buz üzerine konulmuştur.

1- Örnekler lysis solusyon – A'dan 350 µl ependof tüplere ilave edilerek, vorteks'de karıştırılmış ve buz üzerinde bekletilmiştir.

3- Tüplere Lysis solusyon – B'den 50 µl ilave edilerek, vorteks'de karıştırılmıştır.

4- A +B solusyonu içeren tüpler, 65°C de 10 dakika su banyosunda (Benmary) inkube edilmiştir.

5- Tüplere 130 µl Precipitation solusyonundan eklenip, vorteks'de karıştırılmış ve buz üzerinde 5 dk. bekletilmiştir.

6- Tüpler buzdan alınarak 16.000 rpm de 5 dk. santrifüj edilmiştir.

7- Santrifüj işleminden alınan tüplerin üste kalan süpernatant kısmı filtrasyon tüplerine (mavi filitreli tüpler, 2.0 ml) alınmıştır.

8- Süpernatant (üstteki sıvı) konulmuş filtrasyon tüpleri 16.000 rpm de 2 dk. santrifüj edilmiştir.

9- Santifüj işleminden sonra filtrasyon tüplerindeki mavi kısım alınarak atılmış, 700 µl Binding solusyonu eklenip ve yavaşça sallanmıştır. Daha sonra mavi tüpteki 700 µl alınarak kırmızı Nücleic Acid Binding Columns tüplerine (kırmızı filitreli tüpler, 2.0 ml) konulmuş ve 16.000 rpm de 2 dk. santrifüj edilmiştir.

10- Santrifüj işleminden çıkan Nücleic Acid Binding Columns (kırmızı filitreli tüpler) tüplerinin kırmızı filitreli kısmı dikkatlice çıkarılıp, tüpün altta kalan solusyon kısmı uzaklaştırılmış ve filtrasyon tüplerinde (mavi filitreli tüpler) kalan kısım ilave edilerek, 16.000 rpm de 2 dk. santrifüj edilmiştir. Buradaki amaç filtrasyon tüplerindeki (mavi filitreli tüpler) tüm sıvıyı kullanmaktır.

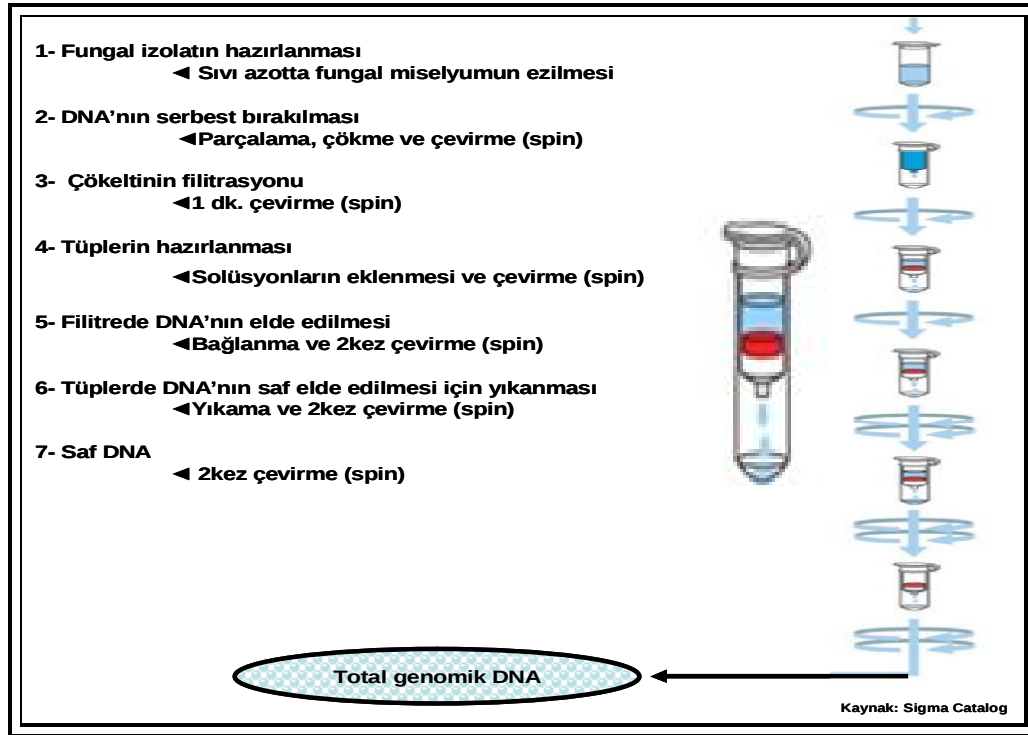
11- Santrifüj işleminden sonra Nücleic Acid Binding Columns (kırmızı filitreli tüpler) tüplerinin kırmızı filitreli kısmı dikkatlice çıkarılıp 2 ml collection tüplere konulmuştur. Üzerine 500 µl Washing solusyonu eklenerek, 16.000 rpm de 2 dk. santrifüj edilmiştir.

12- Tüplere tekrar 500 µl Washing solusyonu eklenerek, 16.000 rpm de 3 dk. santrifüj edilmiştir.

13- İki kez santrifüj işlemi yapıp Washing solusyonunda yıkama işlemini yaptıktan sonra kırmızı filitreli kısım alınarak yeni collection tüplere konularak ve 65 °C' de önceden ısıtılmış Elution solusyonundan 100 µl ilave edilmiş, 16.000 rpm' de 2 dk. santrifüj edilmiştir.

14- Santrifüj işlemi bittikten sonra collection tüplere konulan kırmızı filitreli kısım atılarak, tüpün altta kalan kısmında Total genomik DNA elde edilmiştir.

Son olarak, fungal miselyumlardan ekstrakte edilen Total genomik DNA'ların varlığından emin olmak için % 2'lik Agaroz Jel Elektroforez çalışması yapılarak kontrol edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. DNA miniprep kit protokolü ile Total genomik DNA izolasyonu

İkinci yöntem olarak Presting ve ark. (1995)'in önerdiği Dellaporta mini nucleic acid extraction yöntemi aşağıda belirtildiği gibi modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu yöntemde kullanılan kimyasalların içeriği Ek3 ve Ek4'de verilmiştir.

1- 100 - 400 mg fungus miselyali 1.2 ml extraction buffer (100 mM Tris, pH 8.0, 50 mM EDTA, 500 mM NaCl, 10 mM 2-mercaptoethanol) da ezilmiştir.

2- 600 µl ezilmiş örnekten alınıp 1.5 ml'lik tüplere konulmuştur. Üzerine %10'luk SDS'den 70 µl eklenmiş ve 65 °C'de 10 dk. bekletilmiştir. Bu bekleme esnasında tüpler 1-2 kez karıştırılmıştır.

3- 200 µl 5 M potassium acetate tüplere eklendikten sonra buzda 10 -15 dk. bekletilmiştir.

4- Buzdan alınan örnekler 10 dk. 10.000 rpm'de santrifüj edilmiş, sıvı kısımdan 600 µl alınarak yeni 1.5 ml'lik bir tüplere konulmuştur.

5- 300 µl soğuk isopropanol eklenerek 30 dk. buz içinde bekletilmiştir .

6- Daha sonra 10 dk. 10.000 rpm' de örnekler santrifüj edilmiştir. Süpernatant (üstteki sıvı) dikkatlice ortamdan uzaklaştırılmıştır.

7- -20 °C de saklanan soğuk %70'lik ethanol den 750 µl pellete eklenip kibarca karıştırılmıştır. 2 dk. 10.000 rpm' de santrifüj yapılmıştır.

8- Süpernatant (üstteki sıvı), tüplerden dikkatlice uzaklaştırılmış, 15 sn' lik kısa bir santrifüj daha yapıldıktan sonra alkol pipetle çekilmiştir.

9- Tüpteki pellet 10 dk. kurutulmuş üzerine 400 µl steril distile su eklenerek karıştırılmıştır.

10- 37 °C'de 15 dk. inkübe edilmiş ve inkubasyon sırasında bir iki kez hafifce karıştırılmıştır.

11- Elde edilen Total Nükleik Asitten, 5-10 µl alınıp, elektroforezde sonuç kontrolünden sonra -20 °C'de yada -70 °C' de saklanmıştır.

Daha sonra %2' lik Agaroz Jel Elektroforez çalışmasıyla Total genomik DNA varlığı kontrol edilmiştir.

3.2.5. Amplifikasyon Çalışmaları

Amplifikasyon sırasında reaksiyona girecek bileşenlerin optimum konsantrasyonlarının belirlenmesi için optimizasyon çalışmaları yapılmış ve bir örnek için reaksiyon bileşenleri ve stok konsantrasyonlar Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

PCR reaksiyonundaki bileşenlerin miktarları 25 µl' lik reaksiyon hacmi için optimize edilmiştir. Reaksiyonlarda 1X polimeraz zincir reaksiyon (PCR) tüpü içerisinde 18 µl Master mix (1.25 µl dNTP, 5 µl buffer, 2 µl MgCl₂, 0.2 µl Taq DNA polimeraz, 9.55 distile su), 2 µl Primer (1 µl F + 1µl R) ve 5 µl genomik DNA olmak üzere toplam 25 µl içerik oluşturulmuştur (Çizelge 3.2). Reaksiyonlar steril koşullarda ve buz üzerinde hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımını içeren PCR tüpleri, Eppendorf Mastercycler Gradient PCR Thermocycler'a yerleştirilerek cihaz programlanmıştır.

Çizelge 3.2. Amplifikasyonda bir örnek için reaksiyon bileşenlerinin oranları

PCR Reaksiyon Bileşenleri		Stok Konsantrasyonlar	Alınan Miktar
DNA			5 µl
Master Mix	MgCl ₂	200 µl	2 µl
	dNTP (dATP, dTTP, dGTP, dCTP)	125 µl	1.25 µl
	Buffer	500 µl	5 µl
	Taq DNA polimeraz	20 µl	0.2 µl
	D-su (Distile su)	955 µl	9.55 µl
Primer- F		100 µl	1 µl
Primer- R		100 µl	1 µl
Toplam			25 µl

3.2.6. Amplifikasyon İçin Thermal Cycler Cihazının Programlanması

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Thermal Cycler programı aşağıda belirtildiği şekilde programlanmıştır (Hirano ve Arie, 2006). Program Şekil 3.5’de şematize edilmiştir (Andy, 1999).

1. Basamak (94 °C’ de 5 dk, 1 döngü); hedef DNA kalıbının denatürasyonu gerçekleşmektedir.

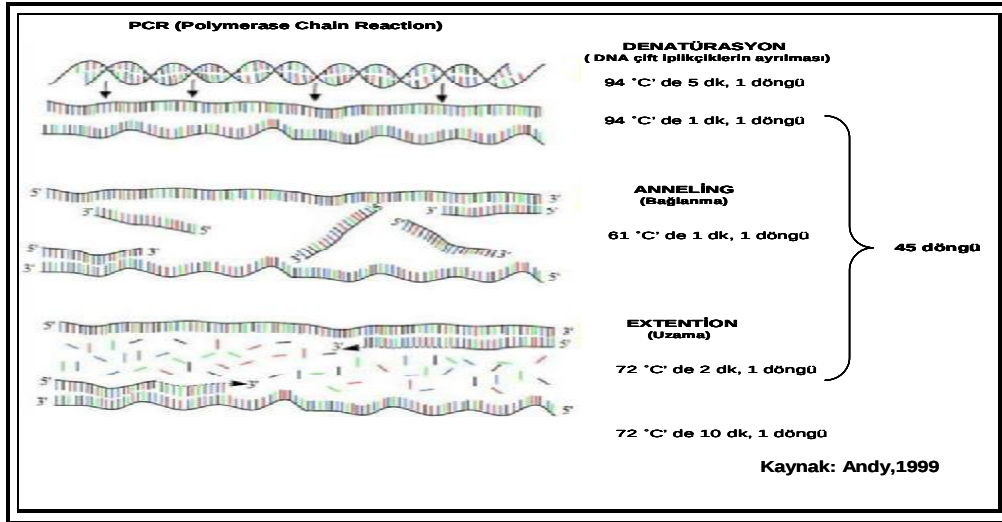
2. Basamak (94 °C’de 1 dk, 1 döngü); çift iplikli nükleik asitteki zincirler birbirlerinden ayrılmaktadır (denatürasyon)

3. Basamak (61 °C’de 1 dk, 1 döngü); Primer hedeflenen nükleik asitte spesifik yerlere bağlanmaktadır (Anneling)

4. Basamak (72 °C’de 2 dk, 1 döngü); Spesifik bölgelere bağlanan primerlerin 5’3’ ve 3’5’ yönünde uzaması sağlanmaktadır (Extention)

5. Basamak (94 °C’de 1 dk, 61 °C’de 1 dk, 72 °C’de 2 dk, toplam 45 döngü); DNA Taq polimeraz enzimi, dNTP’leri kullanarak çoğalma (ampifikasyon) işlemini gerçekleştirmekte ve 2., 3., 4., basamaktaki işlemler 45 kez tekrarlanacak şekilde programlandırılmıştır.

6. Basamak (72 °C’ de 10 dk, 1 döngü); amplifikasyon sonucunda çoğalan nükleik asit ipliklerinde tanımlanmayan bazı bölgelerin tanımlanması amacıyla programlandırılmıştır.



Şekil 3.5. Amplifikasyon çalışmasındaki basamakların şeması

3.2.7. Agaroz Jel Elektrophorez Çalışmaları

PCR sonucu elde edilen ürünleri görüntülemek ve sonuçları değerlendirmek amacıyla agaroz jel elektrophorez işlemi aşağıda belirtilen sıraya göre yürütülmüştür (Şekil 3.6). Jeldeki agaroz oranı PCR ürünleri için %2 olarak ayarlanmış ve elektrophorez işleminden sonra jel, 0.5 µg/ml oranında Ethidium Bromide içeren solüsyona konularak boyanması sağlanmış ve elde edilen bantlar görüntülenmiştir (Ek 4).



Şekil 3.6. Reaksiyon karışımını içeren PCR ürünlerinin agaroz jele yüklenmesinden bir görüntü

Agaroz jel elektroforez çalışması aşağıda belirtilen sıraya göre yürütülmüştür.

1- Cam erlen içersine 2 gr (%2) agaroz tartılarak konmuş ve üzerine 75 ml 1X TAE tampon ilave edilmiştir (Ek 4). Agaroz TAE buffer karışımı mikro dalga fırında agaroz tamamen eriyinceye kadar ısıtılmıştır. Mikrodalgada kaynamadan dolayı oluşacak kayıplar göz önünde bulundurularak, kaynamadan önce miktar işaretlenmiş ve kayıp kısım kadar karışım 100 ml olacak şekilde TAE tampon çözeltisi ile tamamlanmış ve 60 °C sıcaklıktaki su banyosunda tutularak yavaşça soğuması beklenmiştir.

2- Agaroz Jel tankı hazırlanarak tarak takılmış ve su banyosunda 60 °C sıcaklığa gelen karışım alınarak jel tankına dökülmüştür. 15-20 dk içerisinde oda sıcaklığında bekletilen jel tamamen donduktan sonra tarak çıkarılarak elektroforez tankına yerleştirilmiştir.

3- Elektroforez tankına yerleştirilen jel üzerine 1-2 mm kaplayıncaya kadar 1 X TAE buffer ilave edilmiştir.

4- Örnekler 10-12 µl PCR ürünü ile 2-3 µl 6 X yükleme tamponu (Loading Dye) olacak şekilde toplam 15-20 µl'lik karışım jelde açılmış kuyucuklara

mikropipetle yerleştirilmiştir.

5- Amplifiye yerleştirildikten sonra 6-7 µl Markır (Promega, 1kb DNA Ladder) jelin en soldaki çukura gelecek şekilde yerleştirilmiş ve sağdaki en son çukura ise negatif kontrol konulmuştur.

6- Jel Tankı güç kaynağına bağlanarak 50-70 V elektrik akımı verilmiştir. Markırda yer alan turuncu bandın jelde son 1 cm alan kalıncaya kadar ilerlemesi sağlanmış ve bu aşamada işleme son verilmiştir.

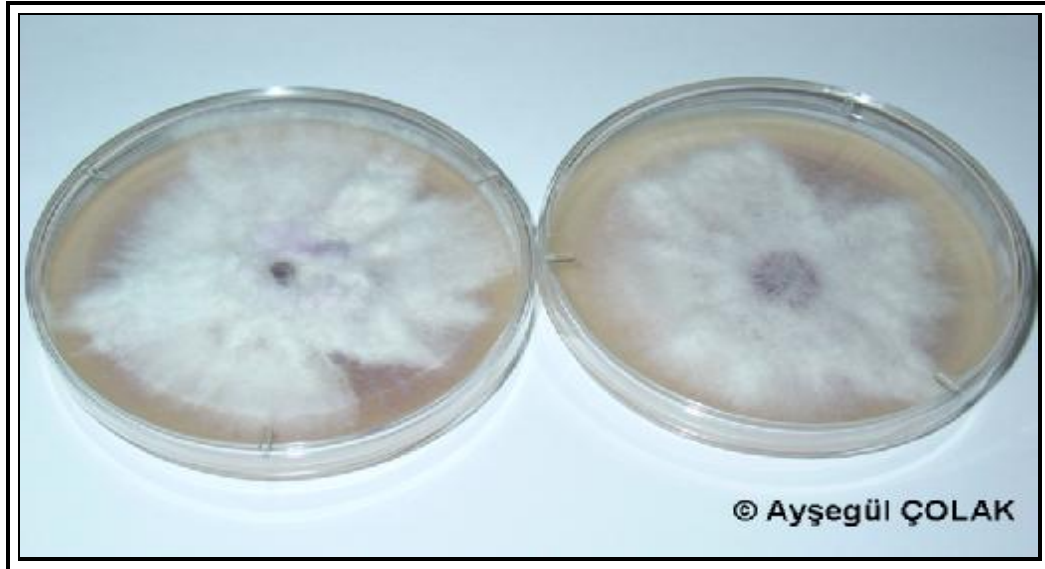
7- Elektroforez İşleminin sonunda, her bir izolat için oluşan DNA bantlarının görünür hale gelmesi için tanktan alınan jel oda sıcaklığında ethidium bromid (0.5 µg/ml) ile 10-15 dk. boyanmıştır. Boyama işlemi bittikten sonra jel ve daha sonra UV-Transiluminatör cihazına yerleştirilmiştir. UV ışık altında reaksiyona giren ve boyanan DNA bantları var/yok olarak değerlendirilmiş, jelin negatifi alınmış ve bilgisayar ortamında görüntülenerek kayıt altına alınmıştır (Çizelge 3.3) .

Çizelge 3.3. İzolatların FORL veya FOL ırkları olup olmadıklarını belirlemede PCR sonucu görüntülemeye kullanılan primer setlerinin tanımlanması (Hirano ve Arie, 2006)

	Primer Setleri			
	uni	sp1	sp13	sp23
FORL	+	+	-	-
FOL ırk 1	+	-	+	-
FOL ırk 2	+	-	-	+
FOL ırk 3	+	-	+	+

3.2.8. Farklı Domates Çeşitlerinin FORL'a Karşı Reaksiyonları

Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan 17 ticari domates çeşitlerinin (Sümela F₁, Alsancak F₁, Sultan F₁, Redo F₁, Basha F₁, Maydo F₁, Cansın F₁, Zümrüt F₁, Mondi F₁, Grando F₁, Tauna F₁, Almalakeh F₁, Jana F₁, Maya F₁, Aksu F₁, May klasdo F₁ ve Etna F₁), FORL'a karşı duyarlılıkları bir saksı çalışması ile belirlenmeye çalışılmıştır. Burada patojenite çalışmalarında olduğu gibi 3 haftalık domates fidelerinin köklerindeki toprak yıkanarak, kökler tıraşlandıktan sonra, fideler 1x10⁶ spor/ml içeren FORL (CR izolatu) spor süspansiyonuna 4-5 dk daldırılarak inokule edilmiştir (Şekil 3.7). Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü, her saksıda 3 bitki olacak şekilde 15x15 cm plastik saksılarda, kontrollü koşulların sağlandığı iklim odasında (26 ±2 °C) kurulmuştur. Her tekerrür için bir adet saksı kullanılmıştır. Saksılar iklim odasına alındıktan 65 gün sonra domates bitkilerinin FORL ile infeksiyonları değerlendirilmiştir. Değerlendirme patojenite çalışmalarında yapıldığı gibi 0-3 skalasına göre yapılmış olup, hastalık şiddeti (%) ve hastalık indeks değerleri belirlenmiştir.



Şekil 3.7. FORL spor süspansiyonu için kullanılan CR izolatu'nun PDA ortamındaki koloni gelişimi

3.2.9. Serada Hastalık Yönetimi Çalışmaları

Sera koşullarında *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*'i mücadelesi için entegre hastalık yönetimi amacıyla Solarizasyon ve Metham Sodium uygulamaları dahil edilerek iki ayrı çalışma yapılmıştır. Sera çalışmaları Adana Zirai Mücadele Enstitüsü'ne ait 210 m² (30X7) yay çatılı, damla sulama sistemine sahip bir plastik serada yürütülmüştür. Her iki deneme parselinde Bölgede yaygın olarak yetiştirilen Alsancak F₁ domates çeşidi yetiştirilmiştir. Bitkisel üretim açısından gübreleme ve sulama bitkinin ihtiyaçları doğrultusunda yapılmıştır. Her iki deneme sezonunda (2008 ve 2009 üretim yılı) taban ve üst gübreleme programları uygulanmıştır. Sulama damla sulama şeklinde bitkilerin gereksinimleri esas alınarak yapılmıştır. Denemeler tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekrarlı olarak düzenlenmiştir.

3.2.9.1. Sera Toprağının FORL ile Bulaştırılması

Her iki denemenin yürütüldüğü sera alanı uygulamalar yapılmadan önce *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* ile bulaştırılmıştır. Bunun için 10 adet 9.0 cm'lik petri kabının içerdiği FORL' un 10 günlük PDA kültürlerinden steril distile su ile mikrokonidi, makrokonidi, hif ve klamidospore içeren inokulum süspansiyonu elde edilmiştir. Diğer yandan küvetler (35x27x15cm) içindeki otoklavda 121⁰C'de sterilize edilmiş kum: sera toprağı: kepek: soya unu (1:1:1/2:1/2)'dan oluşan karışım 10 petri kabı FORL kültüründen elde edilen inokulum süspansiyonu ile bulaştırılmıştır. İnokule edilen küvetler alüminyum folya ile kapalı halde oda sıcaklığında 3 hafta inkube edildikten sonra, deneme alanı toprağına solarizasyondan 1 ay önce sera toprağının yaklaşık 15 cm derinliğin el rotavatörü ile karıştırılmıştır. Her bir blok (24 m²) için 3 küvet inokulum kök bölgesi toprağına iyice karıştırılmıştır. Bloklara uygulanan inokulum yoğunluğu 10⁴ cfu/gr toprak olacak şekilde ayarlanmaya çalışılmıştır. Bu yöntem Larkin ve Fravel (1998, 1999) ve Fravel ve ark. (2007)'den yararlanılarak geliştirilmiştir.

3.2.9.2. Sera Toprağının Hazırlanışı ve Solarizasyon Uygulaması

Adana Zirai Mücadele Enstitüsü'ne ait plastik seranın alanı 25-30 cm derinliğe kadar işlenmiş, 50-60 cm derinliğe kadar sulanmış ve toprak tava gelince yüzeyi düzeltilerek tesviyesi yapılmıştır. Ayrıca tüm seraya solarizasyon öncesi taze çiftlik gübresi verilmiş ve sera toprağına karıştırılmıştır. Sonra, 0.030 mm kalınlığında, herhangi bir delinme veya açıklık içermeyen sağlam, şeffaf plastik örtü, toprak ile örtü arasında hava boşluğu olmayacak şekilde yayılarak örtünün kenarları önceden açılmış karıklar içine gömülmüştür. Her iki yıl deneme sezonunda Temmuz-Ağustos döneminde 6 hafta solarizasyon uygulaması ilk yıl 2 Temmuz - 15 Eylül 2008, ikinci yıl 1 Temmuz -15 Ağustos 2009 tarihinde yapılmıştır. Toprak neminde herhangi bir kayıp mevcut damla sulama sistemi çalıştırılarak karşılanmaya çalışılmış ve solarize edilen alan her iki yılda 6 hafta bu şekilde örtülü kalmıştır (Grinstein ve Hetzroni, 1989).

Birinci deneme olan Solarizasyon (S) +Metham Sodium (MS) uygulaması için; 3x30 m boyutundaki alan solarizasyon yapıldıktan sonra mevcut damla sulama sistemi vasıtasıyla 100lt /da dozunda olacak şekilde metham sodium uygulaması yapılmıştır. Bu alan solarizasyon uygulaması sonunda 3x8 m'lik 3 bloka ayrılarak her bloka dikilecek 4 domates sırasının her birine rastgele *Trichoderma harzianum* (toz: T ve granül: G), *Bacillus subtilis* (BS) ve kompost (KOM) uygulamaları yapılmıştır.

İkinci deneme ise yalnız Solarizasyon uygulaması (S) olup, seranın diğer yarısı olan 3x30 m'lik kısma ilk denemede olduğu üzere aynı dönemde solarizasyon uygulanmıştır. Solarizasyondan sonra 3x8 m'lik 3 bloka dikilen 4 domates sırasına 1. denemede aynı uygulamalar rastgele dağıtılmıştır.

Deneme serasının bir ucunda her iki deneme için 2.0 m'lik bir bölüme hiç bir uygulama yapılmamış ve burada yetişen domates bitkileri kontrol olarak alınmıştır. Bloklar arasında 1.0 m ve her bir bitki sırasından ibaret parseller arasında 0.8 m aralık bırakılmıştır.

Solarizasyon uygulamasında toprağın 5, 15, 25 ve 35cm derinliklerinde ulaşılan toprak sıcaklıklarını belirlemek amacıyla uygulama ve kontrol parsellerine hobo sıcaklık ölçer aleti yerleştirilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Sera toprağının sıcaklığını ölçen hobo aleti

Her iki deneme 3 tekrarlı tesadüf blokları deneme desenine göre yürütülmüştür. Yetiştiricilik tek ürün domates yetiştiriciliği şeklinde yapılmıştır.

3.2.9.3. Uygulamaların Topraktaki FORL İnokulumu Üzerine Etkileri

Her iki denemede öncelikle solarizasyon ve solarizasyon +Metham sodium uygulamalarının dört farklı toprak derinliklerindeki (5, 10, 15 ve 20cm) gömülen patojen kültürü (FORL) canlılığına etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla Solarizasyon ve Metham Sodium uygulamaları öncesi uygulama parsellerine ve kontrol parseline mısır unu-perlit (15g perlit+ 8 g mısır unu+ 40 ml distile su) ortamın da 3-4 hafta geliştirilmiş 40-50 gr FORL kültürü torbalar içinde 5, 10, 15 ve 20cm derinliklere gömülmüştür (Şekil 3.9).

Solarizasyonu takiben 2., 4., ve 6. haftalarda toprak içerisinde tutulan FORL kültürleri alınarak, Fusarium için spesifik petone PCNB ortamına her Petriye mısırunu+perlit ortamından yaklaşık 30 küçük parça ekilmiş ve 10 tekrarlı olarak çalışılmıştır (Ek 2). Ayrıca uygulamalar öncesi sera toprağının dört farklı derinliklerinden toprak örneği alınarak g topraktaki FORL popülasyonu belirlenmiştir (Yucel ve Çınar., 1989, Katan ve ark., 1997). Solarizasyonu takiben

sera toprağının 5, 15, 25 ve 35cm derinliklerinden 2., 4., ve 6. haftalarda toprak örneği alınarak, toprak sulandırma yöntemi ile Fusarium için spesifik petone PCNB ortamına izolasyonlar yapılmış ve g toprakta gelişen FORL kolonileri ($\times 10^4$) sayılarak Solarizasyon ve Solarizasyon+Metham sodium (MS) uygulamalarının FORL canlılığı üzerine etkinliği belirlenmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.9. Sera toprağına gömülen FORL kültürü



Şekil 3.10. Laboratuarda izolasyon çalışmalarından bir görüntü

Her iki üretim sezonunda yapılan solarizasyon uygulamasının 5, 15, 25 ve 35cm derinlikte g topraktaki FORL propagüllerinin canlılığına yüzde etkisi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Katan ve ark.,1976).

$$\left(1 - \frac{B}{A}\right) \times 100$$

Burada: **A**: Solarizasyon yapılmayan toprağın 1 gramındaki propagül sayısını ve

B: Solarizasyon yapılan toprağın 1 gramındaki propagül sayısını göstermektedir.

3.2.9.4. Seraya Fidelerin Dikimi, Hasat ve Denemenin Değerlendirilmesi

Sera çalışmaları 2008-2009 ve 2009-2010 yılları iki deneme sezonunda tek ürün yetiştiriciliği şeklinde yapılmıştır. 2008 yılı deneme sezonunda Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsüne ait plastik seranın malzemelerinin yenilenmesi, sera ısıtma, sulama ve elektrik sistemlerinin bu projeye yapılması nedeniyle 24. 09. 2008 tarihinde, 2009 yılı deneme peryodun da ise 19. 08. 2009 tarihinde domates fideleri dikilmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Deneme serasından bir görüntü

Her iki deneme sezonunda dikimle birlikte 20 gün arayla 3 kez *Trichoderma harzianum* (1×10^7 cfu/g;toz, 2 gr/20lt su ve granül, 30 gr/20 lt su), *Bacillus subtilis* QST- 713 (1×10^9 cfu/ml; 100ml/20lt su) ve kompost (harnup yaprağı, fasulye bitkisi atıkları, koyun gübresi, 1:1:1) uygulamaları yalnız Solarizasyon ve Solarizasyon + MS (100lt/da) deneme parsellerine rastgele uygulanmıştır. Deneme serası toprağına ait analiz sonuçları ve kompost analizi sonuçları Ek 1’de verilmiştir.

Peryodik olarak serada koltuk alma işlemleri, ipe alma vb. bakım işlemleri yapılmıştır. Ayrıca seradaki bitkileri virüs hastalıklarından ve zararlılardan korumak amacıyla dikimden hemen sonra sarı (beyaz sinek, yaprak biti ve yaprak galeri sineğı) ve mavi yapışkan tuzaklar (trips) yerleştirilmiştir (Şekil 3.12, 3.15). Seraya her iki deneme yılında meyve tutumunu sağlamak amacıyla Ekim ayında Bombus arısı kovanı yerleştirilmiştir (Şekil 3.13).



Şekil 3.12. Serada domates bitkilerinde koltuk alma ve ipe almadan görüntü



Şekil 3.13. Seraya yerleştirilen bombus arısı kovanından bir görüntü

Deneme serasına sera içerisinde 15°C'nin altına düştüğü zaman otomatik olarak ayarlanan bir ısıtma sistemi kurulmuştur (Şekil 3.14.). Sera içi sıcaklık ve nem değerleri deneme sonlandırılana kadar sera içerisine yerleştirilen hobo ile kayıt altına alınmıştır. Deneme süresinde her iki yıla ait sera içi sıcaklık (°C) ve nem (%) değerleri EK5'te verilmiştir.



Şekil 3.14. Deneme serasına kurulan ısıtma sisteminden bir görüntü



Şekil 3.15. Deneme serasından bir görüntü

Sera çalışmalarında hasat; tüm parsellerde yetişen domateslerin meyveleri pazarlanabilir/pazarlanamaz (kg/bitki) şeklinde sayılmış ve tartılmıştır. 2008 yılı deneme yılında ilk hasat 17 Aralık 2008 tarihinde, 2009 yılında ise 13 Kasım 2009 yılında yapılmış ve 8 hasat verileri üzerinden parsel verimleri kg/bitki olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.16.).



Şekil 3.16. Hasat edilen meyvelerin pazarlanabilir/pazarlanamaz değerlendirilmesi

Denemenin değerlendirilmesinde kontrol parseldeki bitkilerin % 50 den fazlasında solgunluk belirtileri görüldüğü dönemde değerlendirmeler yapılmış ve parsellerdeki domates bitkileri sökülerek FORL ile infeksiyon durumları ve uygulamaların hastalık çıkışı (%) ve verime etkisi (kg/bitki) yönünden değerlendirilmiştir. Elde edilen hastalık oluşumu ve ürün miktarı ile ilgili verilere varyans analizi ve ortalama değerlerin karşılaştırılması LSD testi uygulanarak, FORL hastalığına karşı araştırılan baskılayıcı faktörlerin etkin ve farklı olup olmadıkları Jump paket programında saptanmaya çalışılmıştır.

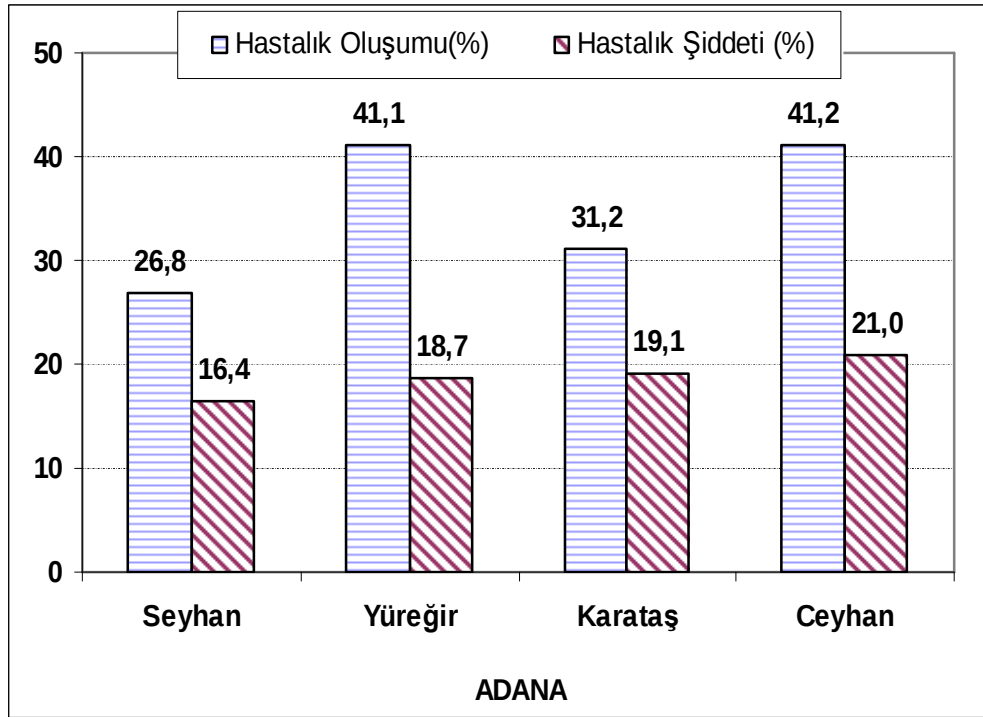
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Örtü Altı Domates Alanlarında Fusarium Hastalıkları Surveyi

Adana ili Seyhan, Yüreğir, Karataş ve Ceyhan ilçelerinde toplam 188 da alanda ekonomik anlamda domates yetiştiriciliği yapılmaktadır (Anonymous, 2007b). Bu ilçelerde survey yapılan sera sayısı, hastalıkla bulaşık sera sayısı, survey alanı (da) ve hastalıklı sera alanı (da) Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibi, toplam 180 da alanı temsil eden 41 serada gözlemler ve örneklemeler yapılmış olup, bunun 122.5 da'lık kısmını oluşturan 23 seranın *Fusarium oxysporum* ile infekteli olduğu belirlenmiştir. Bu verilere göre Adana ilinde hastalık yaygınlığı hastalıklı sera sayısı açısından % 56.1, hastalıklı sera alanı açısından ise % 68.1 olmuştur.

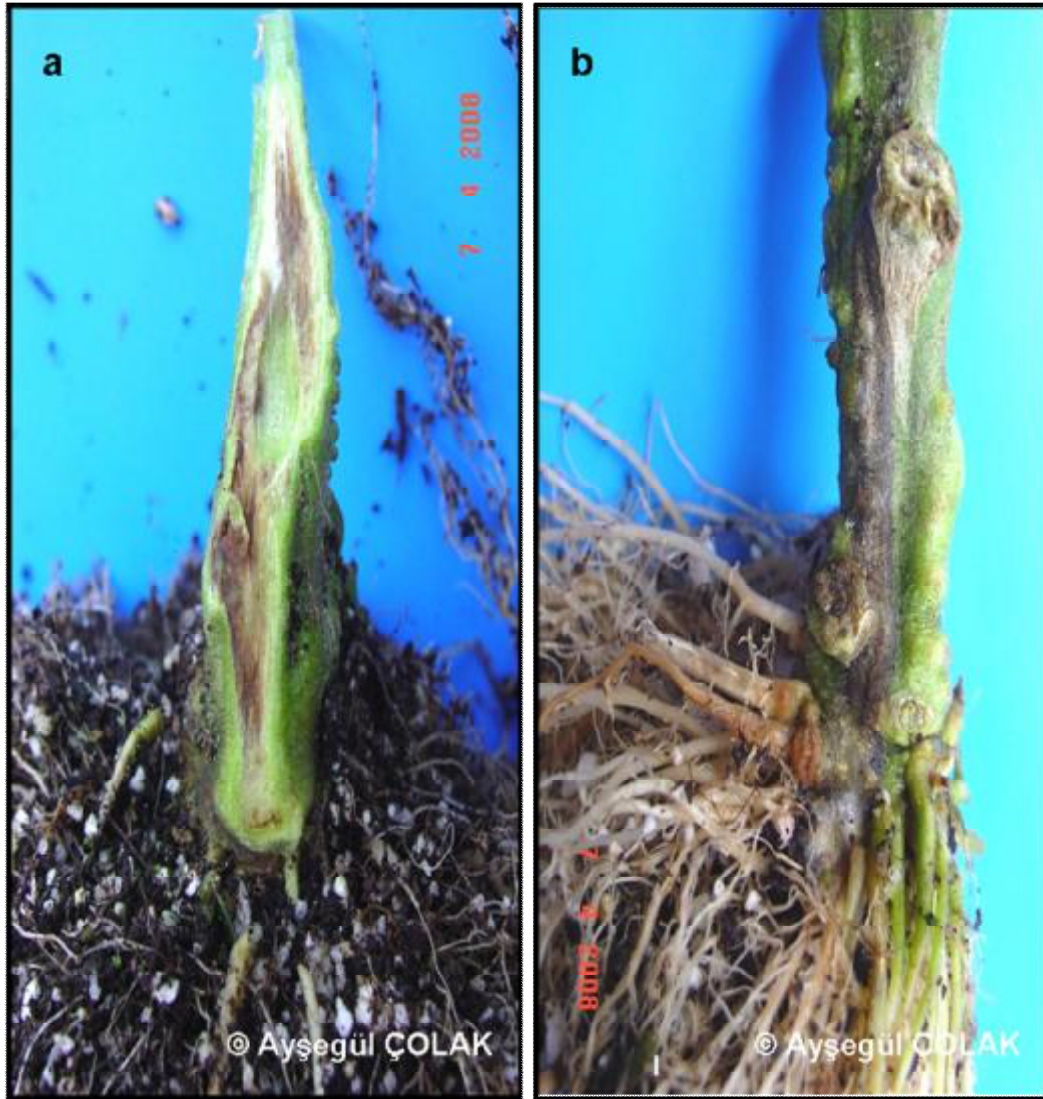
Çizelge 4.1. Adana ili örtü altı domates sera alanlarında *Fusarium oxysporum* survey sonuçları (2007-2008 üretim yılı)

ADANA	Survey yapılan sera sayısı (adet)	Hastalıklı sera sayısı (adet)	Survey Alanı (da)	Hastalıklı Sera Alanı (da)
Seyhan	10	6	63	22
Yüreğir	7	5	34	30
Karataş	4	2	42	36
Ceyhan	13	10	41	34.5
TOPLAM	41	23	180	122.5



Şekil 4.1. Adana ili örtü altı domates seralarında *Fusarium oxysporum* oluşumu ve şiddeti

Adana iline bağlı bölgeler arasında en yüksek hastalık oluşumu ve şiddeti % 41.2 ve % 21.0 oranıyla Ceyhan ilçesinde saptanırken, bunu hastalık oluşumu açısından sırasıyla, Yüreğir (% 41.1), Karataş (% 31.2) ve Seyhan (% 26.8) ilçeleri izlemiştir. Hastalık şiddeti açısından Ceyhan ilçesini % 19.1' lik bir oranla Karataş, Yüreğir (% 18.7) ve Seyhan (% 16.4) takip etmiştir (Şekil 4.1, 4.2, 4.3). Adana iline bağlı Seyhan (AS), Yüreğir (AY), Karataş (AK) ve Ceyhan (AC) ilçelerinde survey yapılan her bir sera için hastalık oluşumu (%), hastalık şiddeti (%) ve simptomatolojik (FOL ve FORL) ayrımına ait sonuçlar Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Bu çizelgeye göre, Adana ilinde örtü altı domates yetiştirilen seralarda ortalama *Fusarium oxysporum* hastalık oluşumu ve şiddeti sırasıyla, % 35.0 ve % 18.1 olarak saptanmıştır. İncelenen 34 seradan 11'inde herhangi bir *F.oxysporum* hastalığından etkilenmiş bitki gözlenmezken, simptomatolojik değerlendirmeler esassından 16 serada FORL ve 7 serada FOL'dan etkilenmiş bitkiler saptanmıştır. Bu duruma göre sörvey alanındaki seralardan % 47.0'sinde FORL ve % 20.6'sında FOL enfeksiyonları belirlenmiştir.



Şekil 4.2. Adana ilinin Yüreğir ilçesine ait AY-5 izolatının elde edildiği hasta domates bitkisinde (FORL) iletim demeti ve kök boğazı görüntüsü (a), iletim demetindeki kararma; (b), kök boğazındaki kararma



Şekil 4.3. Adana ili Ceyhan ilçesine ait domates seralarındaki (a, b), AC-7 izolatı (FORL) ; (c), AC-2 izolatı (FORL); (d), AC-9 izolatı (FOL) elde edildiği solgunluk belirtileri gösteren bitkiler

Çizelge 4.2. Adana ili örtü altı domates sera alanlarında *Fusarium oxysporum* hastalık oluşumu ve şiddeti ile hastalık nedeni spesiyal formlar (2007-2008 üretim yılı)

Survey Alanı	Sera Adı	Hastalık oluşumu(%)	Hastalık Şiddeti (%)	Simptomatolojik FOL veya FORL
Seyhan	AS-1	60.0	44.6	FORL
	AS-2	30.0	26.7	FORL
	AS-3	75.0	35.6	FORL
	AS-4	33.3	14.4	FORL
	AS-5	20.0	18.9	FORL
	AS-6	50.0	24.4	FOL
	AS-7,8,9,10	0.00	0.00	
Ortalama		26.8	16.4	
Yüreğir	AY-1	57.1	30.0	FORL
	AY-2	62.5	26.7	FORL
	AY-3	50.0	10.0	FORL
	AY-4	40.0	23.3	FOL
	AY-5	71.4	42.2	FORL
	AY-6,7	0.00	0.00	
Ortalama		41,1	18.7	
Karataş	AK-1	75.1	52.2	FORL
	AK-2	50.0	24.4	FORL
	AK-3,4	0.00	0.00	
Ortalama		31,2	19.1	
Ceyhan	AC-1	36.4	27.8	FORL
	AC-2	42.9	28.9	FORL
	AC-3	50.0	37.8	FOL
	AC-4	50.0	22.2	FOL
	AC-5	69.2	23.3	FOL
	AC-6	81.3	41.1	FORL
	AC-7	75.0	34.4	FORL
	AC-8	40.0	11.1	FOL
	AC-9	25.0	16.7	FOL
	AC-10	66.7	30.0	FORL
	AC-11,12,13	0.00	0.00	
Ortalama		41.2	21.0	
Adana Genel Ortalama		35.0	18.1	

Örtüaltı domates yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Mersin iline bağlı Merkez, Erdemli, Silifke ve Tarsus ilçelerinde toplam 16.652 da alanda ekonomik anlamda domates yetiştiriciliği yapılmaktadır (Anonymous, 2007b). Bu ilçelerde survey yapılan sera sayısı, hastalıkla bulaşık sera sayısı, survey alanı (da) ve hastalıklı sera alanı (da) Çizelge 4.3’ de verilmiştir. Çizelge 4.3.’de görüldüğü gibi, toplam 576 da alanı temsil eden 174 serada gözlemler ve örneklemeler yapılmış olup bunun 324.9 da’ lık kısmını oluşturan 104 seranın *Fusarium oxysporum* ile infekteli olduğu belirlenmiştir. Bu veriler üzerinden Mersin ilinde inceleme yapılan domates

seralarında hastalık yaygınlığı sayısal olarak % 59.8 ve alan itibariyle %56.4 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. Mersin ili örtü altı domates sera alanlarında *Fusarium oxysporum* survey sonuçları (2007-2008)

	MERSİN	Survey yapılan sera sayısı	Hastalıklı sera sayısı	Survey Alanı (da)	Hastalıklı Sera Alanı (da)
Merkez	Adanalıoğlu	22	20	91.5	79.5
	Kazanlı	10	7	33	23
	Yenitaşkent	18	12	63.3	40.5
Erdemli	Merkez	10	6	24	16
	Türbe	9	7	19.5	14
	Koyuncu	13	7	32.5	15.5
	Kocahasanlı	27	16	78	43.5
	Yüksek mh	8	3	18	6
	Üçtepe	3	1	5	2
	Çiriş köyü	4	2	4	2
	Karakeşli köyü	7	3	12	5
Silifke	Atik köyü	5	2	18	5
	Atayurt	10	5	26.8	14.8
	Arkum	8	5	16	8.5
	Karadereli	5	2	11,5	4
	Kurtuluş	7	2	23.1	6.6
	Kabasakallı	3	1	9	3
Tarsus	Alıfakı	3	1	46	10
	Huzurkent	1	0	3,8	0
	Kargılı	1	0	20	0
	Özlüce	2	1	25	10
	Yüksek	1	1	16	16
Toplam		177	104	576	324.9

Mersin iline ait survey yapılan her bir sera için hastalık oluşumu (%), hastalık şiddeti (%) ve simptomatolojik (FOL veya FORL) ayrıma ait sonuçlar Çizelge 4.4’de verilmiştir. Mersin ili örtü altı domates seralarında belirlenen *Fusarium oxysporum* ile enfekteli bitkiler açısından ortalama hastalık oluşumu % 43.2 ve hastalık şiddeti % 20.4 olarak saptanmıştır. Bu çizelgedeki verilerden Mersin ilinde incelenen toplam 177 seranın 77’sinde simptomatolojik olarak FORL (% 43.5), 31’inde FOL (%17.5)

ve 69 tanesinde de (% 39) herhangi bir hastalık saptanmamış olduğu açıkça görülmektedir.

Çizelge 4.4. Mersin ili örtü altı domates sera alanlarında *Fusarium oxysporum* hastalık oluşumu ve şiddeti (2007-2008)

Survey Alanı		Sera Adı	Hastalık oluşumu (%)	Hastalık Şiddeti (%)	Simptomatolojik FOL veya FORL	
Mersin Merkez	Adanalıoğlu	AO-1	81.8	51.1	FORL	
		AO-2	85.7	58.9	FORL	
		AO-3	60.0	46.7	FORL	
		AO-4	75.0	37.8	FORL	
		AO-5	66.7	33.3	FORL	
		AO-6	71.4	37.8	FORL	
		AO-7	77.8	33.3	FORL	
		AO-8	75.0	38.9	FORL	
		AO-9	66.7	30.0	FORL	
		AO-10	71.4	41.1	FORL	
		AO-12	71.4	27.8	FORL	
		AO-13	75.0	32.2	FORL	
		AO-14	75.0	51.1	FORL	
		AO-16	60.0	34.4	FOL	
		AO-15	71.4	41.1	FORL	
		AO-17	85.7	43.3	FORL	
		AO-18	66.7	40.0	FORL	
		AO-20	71.4	26.7	FOL	
		AO-21	66.7	32.2	FORL	
		AO-22	75.0	38.9	FORL	
		AO-11,19	0.00	0.00		
		Adanalıoğlu ortalama		65.9	35.3	
		Kazanlı	KZ-1	70.0	40.0	FORL
	KZ-2		60.0	32.2	FORL	
	KZ-3		75.0	46.7	FORL	
	KZ-4		66.7	27.8	FORL	
	KZ-5		63.6	23.3	FORL	
	KZ-6		71.4	35.6	FORL	
	KZ-7		75.0	31.1	FORL	
	KZ-8,9,10		0.00	0.00		
	Kazanlı ortalama		48.1	23.6		
	Yenitaşkent	YT-1	50.0	32.2	FOL	
		YT-2	80.0	34.4	FORL	
		YT-3	75.0	35.6	FORL	
		YT-4	75.0	34.4	FORL	
		YT-5	71.4	43.3	FORL	
		YT-8	70.0	30.0	FOL	
		YT-9	75.0	33.3	FORL	
		YT-10	83.3	42.2	FOL	

Çizelg 4.4.'dün devamı

Survey Alanı		Sera Adı	Hastalık oluşumu (%)	Hastalık Şiddeti (%)	Simptomatolojik Fol veya Forl
Mersin Merkez	Yenitaşkent	YT-11	76.9	53.3	FORL
		YT-12	57.1	40.0	FORL
		YT-13	81.8	32.2	FORL
		YT-15	70.0	36.7	FORL
		YT-17	71.4	41.1	FORL
		YT6,7,14,16,18	0.00	0.00	
	Yenitaşkent ortalama		52.0	27.1	
Merkez Ortalama			57.30	30.00	
Erdemli	Merkez	EM-1	40.0	14.4	FOL
		EM-2	57.1	17.8	FOL
		EM-3	50.0	16.7	FOL
		EM-4	75.0	20.0	FORL
		EM-5	42.0	21.1	FORL
		EM-6	40.0	18.9	FORL
		EM-7,8,9,10	0.00	0.00	
	Merkez ortalama		30.4	9.3	
	Türbe	ET-1	62.5	31.1	FOL
		ET-2	66.7	30.0	FOL
		ET-3	80.0	37.8	FORL
		ET-4	71.4	36.7	FORL
		ET-5	57.1	34.4	FOL
		ET-6	67.7	35.6	FORL
		ET-7	75.0	44.4	FORL
	ET-8,9	0.00	0.00		
	Türbe ortalama		53.3	27.7	
	Koyuncu	EKY-1	54.5	25.6	FORL
		EKY-2	66.7	22.2	FOL
		EKY-3	40.0	23.3	FOL
		EKY-4	66.7	27.8	FORL
		EKY-5	71.4	28.9	FORL
		EKY-6	66.7	32.2	FOL
		EKY-7	60.0	27.8	FORL
	EKY8,9,10,11,12,13	0,00	0,00		
	Koyuncu ortalama		32.7	14.4	
	Koca hasanlı	EKH-1	76.9	42.2	FORL
		EKH-2	75.0	41.1	FORL
		EKH-3	66.7	43.3	FOL
		EKH-4	75.0	47.8	FORL
		EKH-6	60.0	34.4	FOL
		EKH-7	62.5	30.0	FOL
		EKH-12	66.7	33.3	FOL
		EKH-14	63.6	42.2	FOL
		EKH-16	71.4	40.0	FORL
		EKH-17	75.0	38.9	FORL
		EKH-18	75.0	34.4	FOL
		EKH-19	66.7	37.8	FORL
		EKH-20	75.0	42.2	FORL
		EKH-22	66.7	40.0	FORL

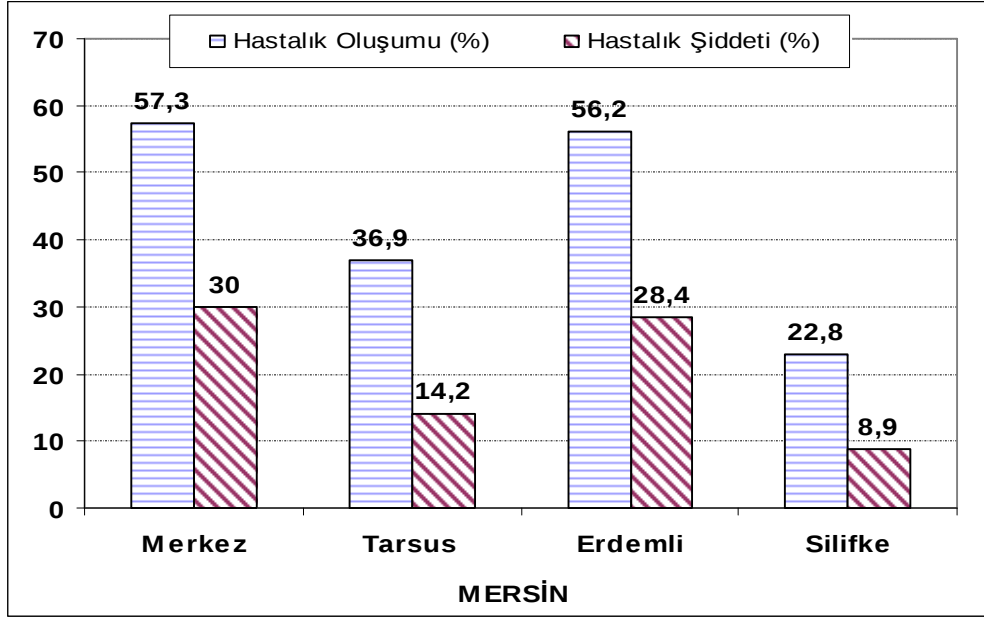
Çizelge 4.4.'ün devamı

Survey Alanı		Sera Adı	Hastalık oluşumu (%)	Hastalık Şiddeti (%)	Simptomatolojik FOL veya FORL
Erdemli	Koca hasanlı	EKH-23	75.0	41.1	FORL
		EKH-24	77.8	53.3	FORL
		EKH 5,8,9,10, 11, 13,15, 21,25,26,27	0.00	0.00	
		Kocahasanlı ortalama	41.8	23.7	
	Yüksek mh.	EY-1	66.7	26,7	FORL
		EY-2	60.0	22,2	FORL
		EY-3	77.8	25,6	FORL
		EY-4.5.6.7.8	0.00	0,00	
		Yüksek Mh. ortalama	25.5	9.3	
	Üçtepe	EÜ-1	75.5	35,6	FOL
		EÜ-2.3	0.00	0,00	
		Üçtepe ortalama	25.0	11.8	
	Çiriş köyü	EÇ-1	71.4	32,2	FORL
		EÇ-2	60.0	30,0	FORL
		EÇ-3.4	0.00	0,00	
		Çiriş köyü ortalama	32.8	15.5	
	Karakereşli	EKR-1	62.5	38,9	FOL
		EKR-2	57.1	36,7	FOL
		EKR-3	50.0	40,0	FOL
		EKR-4.5.6.7	0.00	0,00	
		Karakeşli ortalama	24.1	16.5	
	Erdemli Ortalama		56.16	28.39	
Tarsus	Alifaki	Tarsus-0	75.0	32,2	FORL
		Tarsus-1	71.4	24,4	FORL
		Tarsus-2	0.00	0,00	
		Alifaki ortalama	48.8	18.8	
	Kargılı	Tarsus-3	0.00	0,00	
	Özlüce	Tarsus-4	66.7	22,2	FOL
		Tarsus-5	0.00	0,00	
		Özlüce ortalama	66.7	22.2	
	Yüksek	Tarsus-6	76.9	34,4	FORL
	Huzurkent	Tarsus-7	0.00	0,00	
	Tarsus Ortalama		36.25	14.15	
Silifke	Atik	S-2	42.9	8,9	FORL
		S-4	40.0	16,7	FORL
		S-1.3.5	0.00	0,00	
		Atik ortalama	16.5	5.1	

Çizelge 4.4.'ün devamı

Survey Alanı		Sera Adı	Hastalık oluşumu (%)	Hastalık Şiddeti (%)	Simptomatolojik FOL veya FORL
Silifke	Arkum	S-6	62.5	11.1	FORL
		S-7	42.9	12.2	FORL
		S-9	66.7	21.1	FORL
		S-10	66.7	35.6	FORL
		S-13	57.1	16.7	FORL
		S-8,11,12	0.00	0.00	
		Arkum ortalama	36,9	12.0	
	Atayurt	S-14	33.3	17.8	FORL
		S-15	40.0	18.9	FORL
		S-17	37.5	20.0	FORL
		S-20	42.9	21.1	FORL
		S-21	25.0	22.2	FORL
		S-22	33.3	13.3	FORL
		S-23	40.0	12.2	FOL
		S-16,18,19	0.00	0.00	
		Atayurt ortalama	25.2	12.5	
	Kabasakallı	S-24	33.3	14.4	FOL
		S-25,26	0.00	0.00	
		Kabasakallı ortalama	11.1	4.8	
	Kurtuluş	S-28	62.5	25.6	FOL
		S-29	66.7	24,4	FOL
		S- 27,30,31,32,33	0.00	0,00	
		Kurtuluş ortalama	18,4	7.1	
	Karadereli	S-34	42.9	10.0	FOL
		S-35	33.3	18.9	FOL
		S-36,37,38	0.00	0.00	
		Karadereli ortalama	15.2	5.7	
	Silifke Ortalama		22.8	8.9	
	Mersin Genel Ortalama		43.2	20.4	

Mersin ilinde yapılan survey çalışmasında en yüksek *Fusarium oxysporum* hastalık oluşumu % 57.3 ve hastalık şiddeti % 30.0 olarak Merkez ilçede rastlanmıştır. Bunu sırasıyla Erdemli (% 56.16 - % 28.39), Tarsus (% 36.92- % 14.15) ve Silifke (% 22.80 - % 8.9) ilçeleri izlemiştir (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. Mersin ili örtü altı domates seralarında *Fusarium oxysporum* hastalık oluşumu ve şiddeti (%)

Mersin Merkeze bağlı beldeler içerisinde en yüksek hastalık oluşumu % 65.9 ve hastalık şiddeti % 35.3 ile Adanalıoğlu (AO) saptanırken bunu sırasıyla % 52.0- % 27.1 oranıyla Yenitaşkent (YT) ve % 48.1 - % 23.6 oranıyla Kazanlı (KZ) ilçeleri izlemiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.5, 4.6, 4.7).



Şekil 4.5. Mersin ilinin Adanalıoğlu beldesine ait örtüaltı domates serasına ait solgunluk belirtilerinden bir görüntü ve izolatların elde edildiği bitkiler (a,b) AO-9 izolatı (FORL), (c,d) AO-22 izolatı (FORL)



Şekil 4.6. Mersin ilinin Yenitaşkent beldesine ait domates seralarından bir görüntü ve izolatların elde edildiği domates bitkileri. (a,b) YT-4 izolatı (FORL), (c,d) YT-10 izolatı (FOL)



Şekil 4.7. Mersin ilinin Kazanlı beldesine ait domates seralarından bir görüntü ve izolatların elde edildiği domates bitkileri. (a,b) KZ-1 izolatı (FORL), (c,d) KZ-3 izolatı (FORL)

Erdemli ilçesine bağlı beldeler arasında en yüksek hastalık oluşumu ve şiddeti sırasıyla, % 53.3 ve % 27.7 oranıyla Türbe (ET) beldesinde saptanırken bunu sırasıyla Kocahasanlı (EKH : % 41.8 - % 23.7), Çiriş (EÇ: % 32.8 - % 15.5), Koyuncu (EKY: % 32.7 - % 14.4), Merkez (EM: % 30.4 - % 9.3), Yüksek (EY: % 25.5 - % 9.3), Üçtepe (EÜ: % 25.0 - % 11.8) ve Karakeşli (EKR: % 24.1 - % 16.5) izlemiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Mersin ilinin Erdemli beldesindeki örtüaltı domates seralarından bir görüntü. (a,b) ET-3 izolatı (FOL); (c,d) EKH-23 izolatı (FORL)

Tarsus ilçesine bağlı Kargılı (Tarsus-3) ve Huzurkent (Tarsus-7) beldelerinde hastalığa rastlanmazken, en yüksek hastalık oluşumu ve şiddeti sırasıyla, % 76.9 ve % 34.4 oranıyla Yüksek (Tarsus-6) beldesinden elde edilmiştir, bunu % 66.7 - % 22.2 oranıyla Özlüce (Tarsus- 4 ve 5) ve % 48.8 - % 18.8 oranıyla Alifakı (Tarsus 0, 1 ve 2) beldesi izlemiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.9, 4.10).



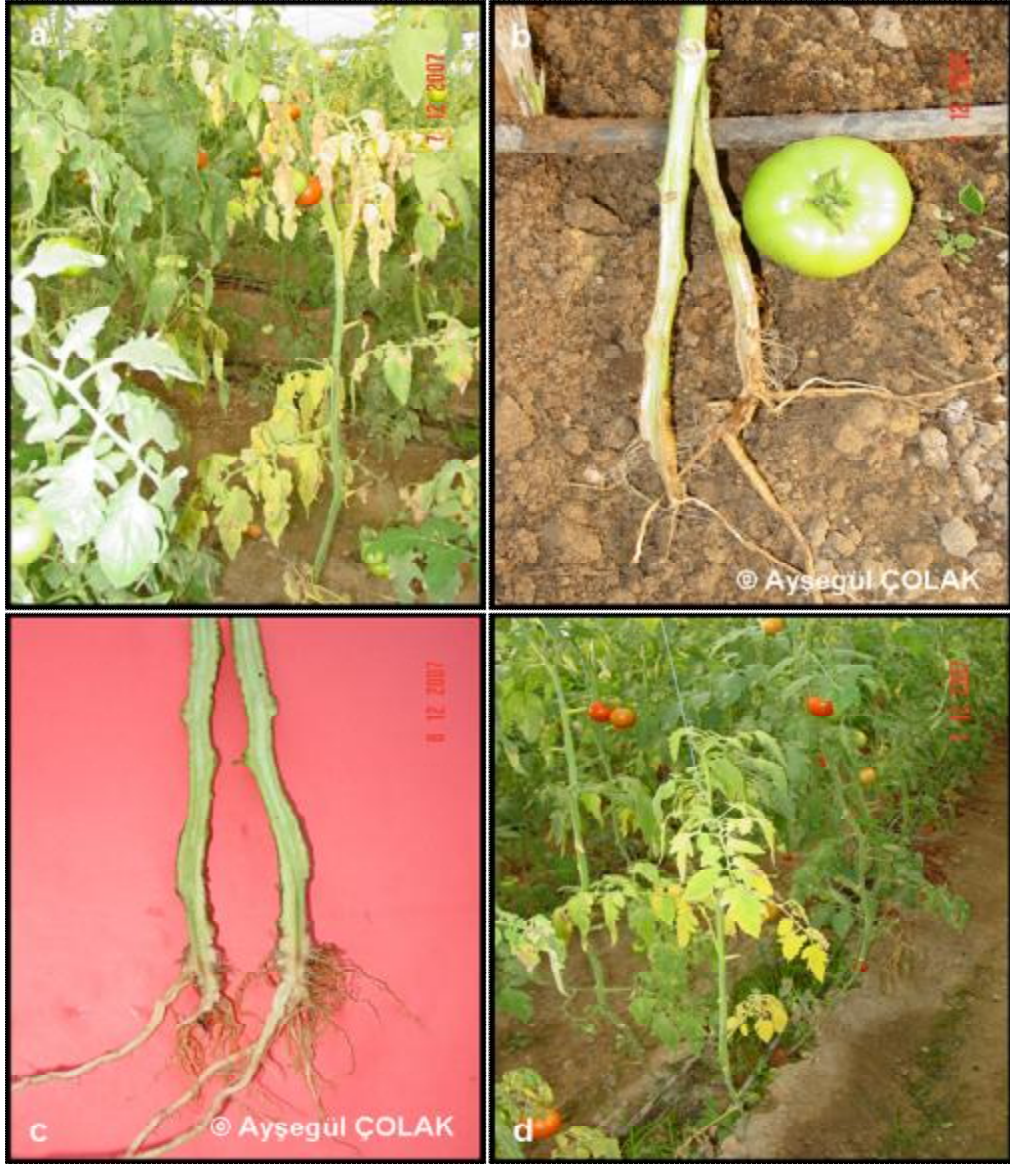
Şekil 4.9. Mersin ilinin Tarsus ilçesindeki domates serasına ait Tarsus-1 izolatu (FORL) bitkiden elde edilen bir görüntü (a) Bodur ve solgun bitki simptomu (b) iletim demeti simptomu



Şekil 4.10. Mersin ilinin Tarsus ilçesindeki domates serasına ait Tarsus-0 izolatının elde edildiği kök boğazı iletim demetindeki FORL semptomlarından bir görüntü



Şekil 4.11. Mersin ilinin Silifke ilçesine ait domates seralarından bir görüntü. (a,b) S-14 izolatından elde edilen tamamen solgun bitki ve yaprak simptomsu ile kök boğazındaki kararma; (c,d) S-10 izolatından elde edildiği bitkinin iletim demetindeki kararma ve solgunluk belirtisi



Şekil 4.12. Mersin ilinin Silifke ilçesi beldesine ait domates seralarından bir görüntü. (a,b) S-17 izolatı (FOL) ve (c,d) S-24 izolatının (FOL) elde edildiği bitkiler

Silifke (S) ilçesine bağlı beldeler arasında en yüksek hastalık oluşumu % 36.9 ile Arkum beldesinden elde edilmiş olup bunu sırasıyla Atayurt (% 25.2), Kurtuluş (% 18.4), Atik (% 16.5), Karadereli (% 15.2) ve Kabasakallı (% 11.1) izlemiştir. Bu beldelerde en yüksek hastalık şiddeti % 12.5 oranıyla Atayurt'tan elde edilmiştir, bunu sırasıyla Arkum (% 12.0), Kurtuluş (% 7.1), Karadereli (% 5.7), Atik (% 5.1) ve Kabasakallı (% 4.8) izlemiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.11, 4.12).

Sörvey yapılan tüm seralar itibariyle domates bitkilerinde *F. oxysporum* yaygınlığı oluşumu % 22.8 -57.3 ve hastalık şiddeti % 8.9 – 30 arasında değişmiştir. Adana ve Mersin ili sörvey alanında toplam 211 domates serası incelenmiş, bunun 80 tanesinde (% 37.9) herhangi bir *F. oxysporum* enfeksiyonuna rastalanmamıştır. İncelenen 131 seranın (% 62.1) *F. oxysporum*'dan etkilenmiş olduğu, bunların 93'ünde (% 44) FORL, 38'inde (%18) FOL simtomatolojik olarak ayrılabilmiştir.



Şekil 4.13. Mersin ili Adanalıoğlu beldesine ait örtüaltı domates seralarında gözlenen kök-ur nematodu ve iletim demeti simptomlarından bir görüntü. (a) AO-9 izolatu ve (b) AO-16 izolatının elde edildiği bitkiler



Şekil 4.14. Silike ilçesine ait örtüaltı domates seralarında Kök-ur nematodu ve Fusarium etkileşiminden bir görüntü. (a) S-22 izolatu ve (b) S-24 izolatının elde edildiği bitkiler

Şekil 4.13. ve 4.14’de görüldüğü üzere Silifke ve Adanalıoğlu seralarında domates bitkisi köklerinde kök-ur nematodlarının varlığında *Fusarium* solgunluk etmenlerinin de görüldüğü tespit edilmiştir. Elekçioğlu ve Uygun (1994), Çukurova Bölgesi örtü altı sebze yetiştiriciliğinde kök-ur nematodlarının önemli bir patojen olduğunu bildirmişlerdir. Örtü altı yetiştiriciliği yapılan alanlarda önemli ekonomik zararlara sebep olan toprak kökenli patojenlerin yanı sıra Kök-ur nematodlarının (*Meloidogyne* spp.) domateslerde % 42-54 oranlarında ürün kaybına neden oldukları bildirmektedirler (Netscher ve Sikora, 1990). Kök-ur nematodlarının doğrudan zararları yanında, fungal ve bakteriyal hastalıklara karşı bitkiyi hazırlamaları ve köke girerken açtıkları yerlerden mikroorganizmaların girişine imkan sağlamaları dolaylı zararlar olarak ortaya çıkmaktadır (Stirling, 1991). Özellikle *Fusarium* solgunluk etmenlerinin kök-ur nematodlarının zarar yaptığı bitkilerde daha hızlı geliştiğini, normal koşullarda patojen olmayan veya zayıf patojen olan hastalık etmenlerinin kök-ur nematodlarının zarar yaptığı bitkilerde ağır infeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Powell, 1971).

Bölgemizde Can ve ark. (2003), fungus ve nematod arasındaki etkileşimi belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada *Fusarium* spp. ve *M. javanica*’nin birlikte infeksiyon yaptığı durumlarda, hastalık şiddetinin arttığını belirlemiştir. Ayrıca, normalde yüksek oranda hastalık meydana getirmeyen *Fusarium* spp. izolatları ile *M. javanica* birlikte neden oldukları infeksiyonlarda hastalık belirtilerinde artış gözlenmiştir. Bununla birlikte *M. javanica*’nin *Fusarium* spp. ile birlikte olduğu durumlarda gal oluşturma oranlarında azalma meydana geldiği saptanmıştır.

Yürütmüş olduğumuz bu çalışmaya göre, Ülkemizde domates üretiminde önemli bir paya sahip olan Doğu Akdeniz Bölgesi’nde, domates üretim alanlarında rastlanan fungal hastalıkları içinde en önemli olan toprak kökenli patojenlerden kök ve kök boğazı etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (FORL) ve solgunluk etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) hastalığı olduğu saptanmıştır. *Fusarium oxysporum*’un domateste solgunluk ve kök ve kök boğazı çürüklüğü yapan formları ile mücadele, bunların toprak kökenli olmaları nedeniyle oldukça güçtür. Bölge açısından, bu güçlük sulama, drenaj, tesviye ve toprak dezenfeksiyonu gibi kültürel işlemler açısından altyapının uygun olmayışı nedeniyle

daha da artarak karmaşık bir hal almıştır. Hali hazırda geliştirilmiş dayanıklı çeşitler ve toprak dezenfeksiyonu ile *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* solgunluğu ile mücadele mümkün olup; sulama, gübreleme ve benzeri kültürel işlemler açısından dikkatli davranılacak olursa bu hastalık tolere edilebilir düzeylerde tutulabilir. Buna karşın *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*'nin neden olduğu kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığının çok döngülü olması, henüz geliştirilmiş ve ticari olarak yaygın kabul görmüş dayanıklı çeşit durumunun yeterli olmaması, amonyum içeren azot formu ile gübrelemenin hastalık çıkışını müsait kılması ve Bölgede henüz etkin bir toprak dezenfeksiyonu veya pastörizasyon yönteminin oturtulmuş olmaması gibi nedenlerle oldukça zordur.

Bu çalışmada bu her iki etmenin yaygınlığının belirlenmesinde etken olan faktörleri belirlenmek amacıyla survey çalışması sırasında ayrıca üreticilerden gübreleme programları, sulama programları, sera ısıtma sistemi, her yıl hangi ürünü yetiştirdikleri, toprak pH ve tuzluluk (EC) oranları hakkında bilgiler kayıt edilmiştir.

Adana ve Mersin il ve ilçelerindeki örtüaltı domates üreticilerinden elde edilen bilgilerden, özellikle alan olarak yoğun yetiştiricilik yapan beldelerde ekim nöbeti uygulamasına dikkat edilmediği tespit edilmiştir. *Fusarium oxysporum* ile bulaşık alanlardaki seralarda hasat artıklarının sökülüm sırasında sera toprağından iyi bir şekilde temizlenmemesi ve sera dışında imha edilmesine dikkat edilmediği gözlemlenmiştir. Özellikle, bitki artıklarının sera yakınındaki sulama kanallarına atıldığı, bu durum ise her yıl potansiyel bir inokulum kaynağının oluşmasına ve bu inokulumun uzun yıllar canlılığını devam ettirmesine neden olabilmesi açısından çok önemlidir. Adana ve Mersin illerinde çoğunlukla domates yetiştiriciliği maliyeti çok yüksek olan cam sera yerine daha düşük maliyetle tesis edilen plastik seralarda yapılmaktadır. Özellikle örtü altı domates yetiştiriciliğinin alan olarak yoğun olduğu Mersin ilinin Adanalıoğlu, Yenitaşkent ve Kocahasanlı beldelerinde sera çevresine ve sulama kanallarına hasat artıklarının atılması sonucu yan yana olan seralarda bu hastalıklara sıkça rastlanmıştır. Bu nedenle, toprakta ve bitki atıklarında klamidospor formunda uzun yıllar canlı kalabilen *Fusarium oxysporum* inokulumunun bu bölgelerde sorun teşkil ettiği ve önemli ekonomik zarara neden olduğu düşünülmektedir. Özellikle *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* ile bulaşık

olan bitkilerin kök sistemi ve kök boğazı üzerinde aşırı düzeyde spor oluşturması nedeniyle sera içerisinde kolaylıkla yayılabildiği için bulaşık ve ölen bitkilerin dikkatli bir şekilde imha edilmeleri gerekmektedir (Şekil 4.7c).

Survey çalışmasında ayrıca bitki örneği alınan seralardan bölgeyi temsil edecek şekilde toprak örnekleri alınarak pH ve tuzluluk (EC) değerleri kayıt altına alınmıştır. Mersin bölgesi domates seralardan alınan toprak örneklerinde pH değerleri 7.2 – 8.1 arasında alkali toprak yapısına sahip olurken, tuzluluk (EC) değerleri ise 1.32- 2.12 oranlarında olup az tuzlu - tuzlu olarak tespit edilmiştir.

Adana bölgesindeki survey yapılan domates seralarından alınan toprak örneklerinin pH değerleri 5.4 – 7.0 olup hafif asit- nötr, tuzluluk oranları ise 0.45 – 1.45 tuzsuz- az tuzlu toprak özelliklerine sahip olduğu belirlenmiştir. Toprak pH yapısının Mersin ilinde hastalığın oluşumunda etken olamayacağı fakat Adana iline bağlı beldelerde *Fusarium oxysporum*'un patojen olan iki formu FORL ve FOL etmenlerinin yaygınlığının artmasında, özellikle FORL etmeninin artmasında, düşük toprak pH' ısı, amonyum azotu (2 kg/da) uygulamasının etken olabileceği kanısına varılmıştır. Çünkü Mersin il ve ilçelerinde toprak pH'sı alkali yapıda olup, çoğunlukla nitrat formunda gübre kullanıldığı tespit edilmiştir. Mersin ilinde domates yetiştiriciliğinin yoğun yapıldığı alanlarda özellikle FORL hastalığının artmasındaki nedenlerin başında kötü sera koşulları, ısıtma problemi, sera içerisindeki tesviye yokluğu nedeniyle su birikmesi, bitki artıklarının sera toprağından iyi temizlenmemesi ve sera çevresine atılarak inokulum kaynağı oluşturulması, serada her yıl aynı çeşitle domates yetiştiriciliği yapılması, sera konstrüksiyonu dezenfeksiyonuna önem verilmemesi sonucu FORL mikrokonidilerinin yayılmasına imkan tanınmak suretiyle tekrarlı infeksiyonların oluşmasına neden olunarak hastalık şiddetinin arttığı kanısına varılmıştır.

Bu açıdan Bölge domates üretici çiftçileri toprak kökenli patojenlerin kontrolündeki zorluklar, ekim nöbeti, gübreleme, uygun toprak pH'sı, sera ve çevresindeki bitki artıklarının imhası gibi konularda yeterli bilgiye sahip olmadıkları kanısına varılmıştır.

4.2 Hastalıklı Bitki Materyalinden Patojenin İzolasyonu ve Patojenite Çalışmaları

Sörvey alanlarındaki hasta domates bitkilerinden yapılan izolasyonlarda toplam olarak 127 *Fusarium oxysporum* izolatu elde edilmiştir. Patojenite denemelerinde, her seradan elde edilen izolatlardan rastgele bir tanesi ile bitkiler inokule edilmiştir. Toplam 127 izolatu denendiği bu çalışmada, 123 izolatu patojenik özellik gösterdiği belirlenmiştir. Patojenite çalışmaları sonucu elde edilen hastalık şiddeti % 70 ve üzeri olan, farklı bölgelere ait, PCR çalışmalarında kullanılmış bulunan 87 izolatu hastalık indeksi, hastalık şiddeti ve bunların seralarda hasta bitkilerde oluşturdıkları belirtiler esasından tanımları Çizelge 4.5. verilmiştir.

Çizelge 4.5. Patojenite çalışmalarında hastalık şiddeti %70 ve üzeri olan farklı bölgelere ait *F. oxysporum* izolatlarının hastalık indeksi, hastalık şiddeti ve simptomatolojik olarak spesiyal form tanımı

İzolat Adı	İzolatu alındığı yer	Hastalık Şiddeti (%)	Hastalık indeksi	Simptomatolojik FOL veya FORL
AS-1	Seyhan/Adana	86.87	2.60	FORL
AS-3	Seyhan/Adana	76.67	2.30	FORL
AS-6	Seyhan/Adana	73.30	2.20	FOL
AY-2	Yüreğir/Adana	83.33	2.50	FORL
AY-4	Yüreğir/Adana	76.67	2.30	FOL
AY-5	Yüreğir/Adana	93.33	2.80	FORL
AK-1	Karataş/Adana	90.00	2.70	FORL
AC-2	Ceyhan/Adana	80.00	2.40	FORL
AC-3	Ceyhan/Adana	86.67	2.60	FOL
AC-5	Ceyhan/Adana	80.00	2.40	FOL
AC-6	Ceyhan/Adana	86.67	2.60	FORL
AC-7	Ceyhan/Adana	90.00	2.70	FORL
AC-9	Ceyhan/Adana	80.00	2.40	FOL
AO-1	Adanalıoğlu/Mersin	93.33	2.80	FORL
AO-2	Adanalıoğlu/Mersin	83.33	2.50	FORL
AO-3	Adanalıoğlu/Mersin	90.00	2.67	FORL
AO-4	Adanalıoğlu/Mersin	76.67	2.30	FORL
AO-5	Adanalıoğlu/Mersin	80.00	2.40	FORL
AO-6	Adanalıoğlu/Mersin	80.00	2.40	FORL
AO-7	Adanalıoğlu/Mersin	90.00	2.70	FORL
AO-8	Adanalıoğlu/Mersin	86.67	2.60	FORL

Çizelge 4.5.'in devamı

İzolat Adı	İzolatın alındığı yer	Hastalık Şiddeti (%)	Hastalık indeksi	Simptomatolojik FOI veya FORL
AO-9	Adanalıoğlu/Mersin	70.00	2.10	FORL
AO-12	Adanalıoğlu/Mersin	90.00	2.70	FORL
AO-13	Adanalıoğlu/Mersin	93.30	2.80	FORL
AO-16	Adanalıoğlu/Mersin	73.33	2.20	FOL
AO-22	Adanalıoğlu/Mersin	96.67	2.90	FORL
KZ-1	Kazanlı/Mersin	90.00	2.70	FORL
KZ-2	Kazanlı/Mersin	86.67	2.60	FORL
KZ-3	Kazanlı/Mersin	80.00	2.40	FORL
KZ-4	Kazanlı/Mersin	76.67	2.30	FORL
KZ-5	Kazanlı/Mersin	70.00	2.10	FORL
YT-1	Yenitaşkent/ Mersin	80.00	2.40	FOL
YT-2	Yenitaşkent/ Mersin	86.67	2.60	FORL
YT-4	Yenitaşkent/ Mersin	80.00	2.40	FORL
YT-5	Yenitaşkent/ Mersin	83.33	2.50	FORL
YT-8	Yenitaşkent/ Mersin	70.00	2.10	FOL
YT-10	Yenitaşkent/ Mersin	90.00	2.70	FOL
YT-12	Yenitaşkent/ Mersin	80.00	2.40	FORL
YT-13	Yenitaşkent/ Mersin	83.33	2.50	FORL
EM-2	Merkez/Erdemli	83.33	2.50	FOL
ET-1	Türbe/Erdemli	86.67	2.60	FOL
ET-3	Türbe/Erdemli	80.00	2.40	FORL
ET-4	Türbe/Erdemli	73.33	2.20	FORL
ET-7	Türbe/Erdemli	73.33	2.20	FORL
EKY-1	Koyuncu/Erdemli	80.00	2.40	FORL
EKY-3	Koyuncu/Erdemli	83.33	2.50	FOL
EKY-4	Koyuncu/Erdemli	73.33	2.20	FORL
EKY-5	Koyuncu/Erdemli	80.00	2.40	FORL
EKY-6	Koyuncu/Erdemli	80.00	2.40	FOL
EKH-2	Kocahasanlı/Erdemli	83.33	2.50	FORL
EKH-3	Kocahasanlı/Erdemli	93.33	2.80	FOL
EKH-4	Kocahasanlı/Erdemli	86.67	2.60	FORL
EKH-12	Kocahasanlı/Erdemli	73.33	2.20	FOL
EKH-14	Kocahasanlı/Erdemli	80.00	2.40	FOL
EKH-18	Kocahasanlı/Erdemli	73.33	2.20	FOL
EKH-19	Kocahasanlı/Erdemli	83.33	2.50	FORL
EKH-22	Kocahasanlı/Erdemli	83.33	2.50	FORL
EKH-23	Kocahasanlı/Erdemli	86.67	2.60	FORL
EKH-24	Kocahasanlı/Erdemli	80.00	2.40	FORL
EY-1	Yüksek/Erdemli	86.67	2.60	FORL
EY-2	Yüksek/Erdemli	90.00	2.70	FORL
EY-3	Yüksek/Erdemli	80.00	2.40	FORL
EÜ-1	Üçtepe/Erdemli	80.00	2.40	FOL
EÇ-1	Çiriş/Erdemli	83.33	2.50	FORL
EÇ-2	Çiriş/Erdemli	70.00	2.10	FORL
EKR-1	Karakeşli/Erdemli	80.00	2.40	FOL
EKR-3	Karakeşli/Erdemli	70.00	2.10	FOL
Tarsus-0	Tarsus/Mersin	93.33	2.80	FORL
Tarsus-1	Tarsus/Mersin	90.00	2.70	FORL
Tarsus-4	Tarsus/Mersin	80.00	2.60	FOL

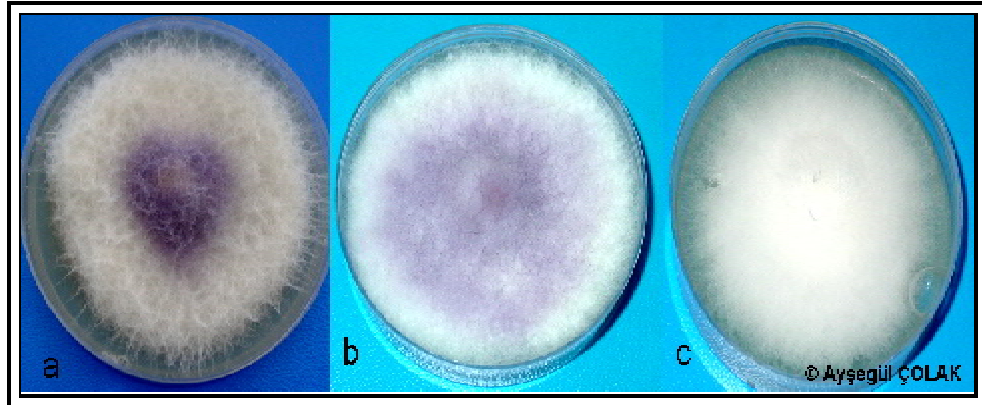
Çizelge 4.5.'in devamı

İzolat Adı	İzolatın alındığı yer	Hastalık Şiddeti (%)	Hastalık indeksi	Simptomatolojik FOL veya FORL
Tarsus-6	Tarsus/Mersin	86.67	2.60	FORL
S-2	Atik/Silifke	70.00	2.10	FORL
S-4	Atik/Silifke	86.67	2.60	FORL
S-6	Arkum/Silifke	80.00	2.40	FORL
S-7	Arkum/Silifke	73.33	2.20	FORL
S-9	Arkum/Silifke	86.67	2.60	FORL
S-10	Arkum/Silifke	90.00	2.70	FORL
S-13	Arkum/Silifke	70.00	2.10	FORL
S-14	Atayurt/Silifke	86.67	2.60	FORL
S-17	Atayurt/Silifke	90.00	2.70	FORL
S-20	Atayurt/Silifke	73.33	2.20	FORL
S-22	Atayurt/Silifke	80.00	2.40	FORL
S-24	Kabasakallı/Silifke	70.00	2.10	FOL
S-28	Kurtuluş/Silifke	73.33	2.20	FOL
S-29	Kurtuluş/Silifke	70.00	2.10	FOL
S-34	Karadereli/Silifke	70.00	2.10	FOL
S-35	Karadereli/Silifke	76.67	2.30	FOL

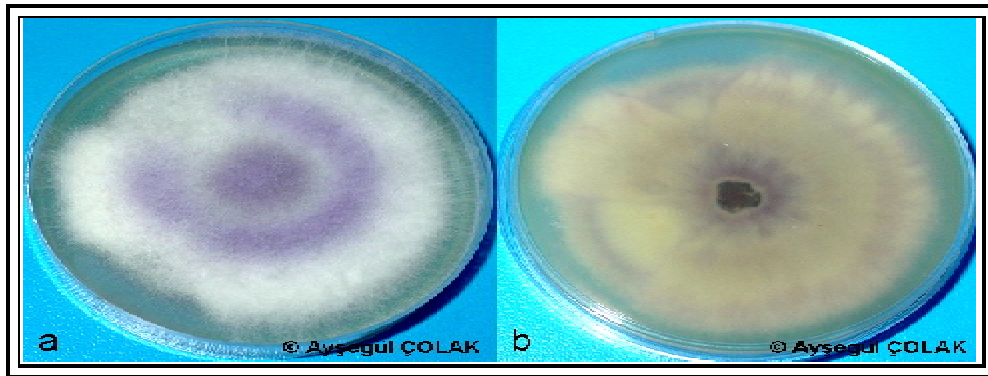
Patojenite çalışmalarında kullanılan 61 adet FORL ve 26 adet FOL izolatının domates bitkilerinde oluşturdukları şiddet değerleri Çizelge 4.5'te görüldüğü üzere % 70.00- 93.33 arasında değişmiştir.

Bölüm 4.4'de patojenik 87 *Fusarium oxysporum* izolatının spesiyal form ve ırklara ayırımı için yapılan PCR çalışmaları sonucunda bölgede hakim olan ve 5 farklı bölgeden toplanan FORL ve FOL 3 ırkına ait izolatların PDA ve CLA ortamlarında makroskobik ve mikroskobik özellikleri incelenmiştir. PDA ortamı, makroskobik (koloni rengi ve koloni çapı) özelliklerin belirlenmesinde, CLA ortamı ise mikroskobik (mikrokonidi, makrokonidi, fialid ve klamidospore) özelliklerinin incelenmesi için seçilmiştir (Şekil 4.15., Şekil 4.16., Şekil 4.17 ve Ek. 6).

PCR çalışması sonucunda FORL olarak belirlenen 5 izolatın PDA ortamında koloni üst renklerinin beyaz ve açık mor renkte olduğu, alt yüzeyde ise özellikle merkezde belirgin koyu mor rengin hakim olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.16). FOL izolatlarından FOL3 ırkının PDA ortamında koloni üst yüzeyinin beyaz ve alt yüzeyinin ise çoğunlukla beyaz ve azda olsa soluk pembe rengin hakim olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.15c).



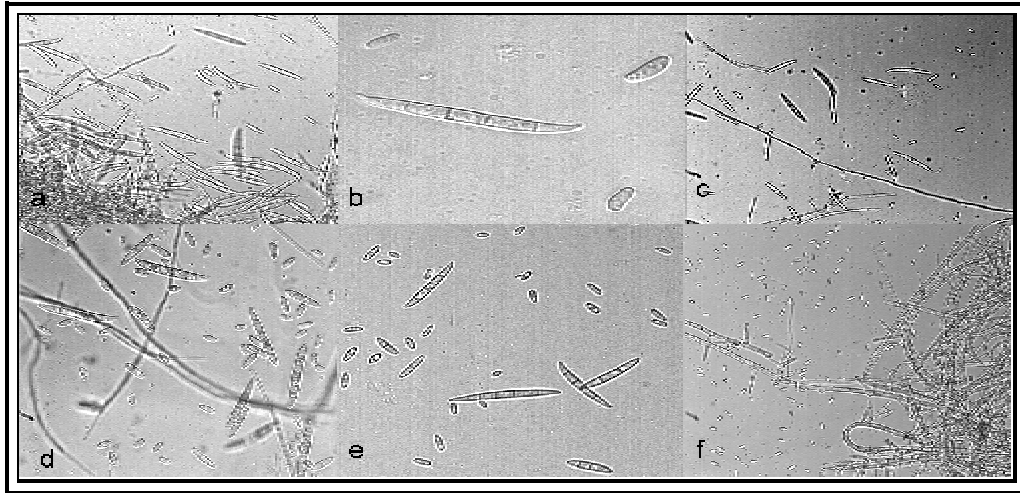
Şekil 4.15. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ırklarına ait PDA ortamındaki gelişiminden bir görüntü. (a) FOL 1 ırkı (EKY-3 izolatu); (b) FOL 2 ırkı (EKR -3 izolatu); (c) FOL 3 ırkı (S-17 izolatu)



Şekil 4.16. *Fusarium oxysporum* f.sp. *radidis lycopersici* (AK-1 izolatu)'nin PDA ortamındaki koloni gelişimi (a) PDA ortamında üst yüzey gelişimi; (b) PDA ortamında alt yüzey gelişimi

CLA ortamında, FORL izolatlarının bol miktarda makro ve mikrokonidi ürettikleri, makrokonidilerin 4-5 bölmeli oldukları, ayak şeklinde (foot-shaped) bazal hücre içerdikleri, hafif kavisli çentik şeklinde apikal hücreler oluşturdukları gözlenmiştir. FOL 3 ırkına ait izolatlarda makrokonidilere oranla mikrokonidi sayısının daha fazla olduğu, makrokonidilerin çoğunlukla 3-4 bölmeli, nadiren 5 bölmeli olduğu belirlenmiştir. Bu ırka ait apikal ve bazal hücre özellikleri FORL ırkı ile benzer olduğu görülmüştür. Her iki izolatın mikro konidilerinin oval ve bölmesiz olduğu, yuvarlak formda klamidospore oluşturdukları ve kısa monofialidik özellik gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 4.17). CLA ortamında FORL izolatlarına ait makrokonidilerin uzunlukları 32.5 – 57.5 μm ve mikrokonidi uzunlukları 12 -20 μm

arasında değişirken, FOL3 ırkına ait izolatlarda makrokonidiler 27.5 - 50 μ m ve mikrokonidler 10.5 - 15 μ m arasında ölçülmüştür (Ek. 6). Bu her iki forma ait makroskopik ve mikroskopik özelliklerin *Fusarium oxysporum*'un tanınmasında yararlanılan benzer morfolojik özellikler olduğu görülmüştür (Booth, 1971; Nelson ve ark., 1983; Windels, 1992; Summerel ve ark., 2001; John ve Summerel, 2006; Balali ve Iranpoor, 2006; Luigi ve ark., 2008).



Şekil 4.17. FORL ve FOL 3 izolatlarına ait makrokonidi ve mikrokonidi şekilleri.
(a,b,c) FORL izolatı; (d,e,f) FOL 3 ırkı

4.3 Farklı Domates Çeşitlerinin FORL İnfeksiyonuna Reaksiyonları

Farklı domates çeşitlerinin kök ve kök boğazı çürüklüğü etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici*'ye (CR izolatı) reaksiyonlarını belirlemede 3.2.2'de belirtilen yöntemle göre deneme kurulmuştur. Bu amaçla Sümela F₁, Alsancak F₁, Sultan F₁, Redo F₁, Basha F₁, Maydo F₁, Cansın F₁, Zümrüt F₁, Mondi F₁, Grando F₁, Tauna F₁, Almalakeh F₁, Jana F₁, Maya F₁, Aksu F₁, May klasdo F₁ ve Etna F₁ domates çeşitlerine ait 3 haftalık domates fideleri ile deneme kurulmuş ve 65 gün sonra değerlendirilmiş, hastalık şiddeti (%) ve hastalık indeks değerleri Çizelge 4.18'de verilmiştir.



Şekil 4.18. Farklı domates fidelerine *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* hastalığının bulaştırılması

Denemede FORL inokulasyonu sonucu bütün çeşitlerde gelişme geriliği, yapraklarda solma ve turgor kaybı, kök ve kök boğazında belirgin şekilde kararmalar görülmüştür (Şekil 4.20 ve Şekil 4.21). Değerlendirmeler sonucunda hastalık şiddeti ve hastalık indeks değerleri açısından FORL' a en duyarlı domates çeşidi sırasıyla % 94.44 ve 2.83 ile Etna F₁ çeşidi olmuş, bunu 2.75 ve % 91.67 ile Alsancak F₁ çeşidi izlemiştir (Şekil 4.19). FORL patojenine daha az duyarlı olan çeşitler ise % 69.44 hastalık şiddeti ile Mondri olup, bunu % 72.22 ile Tuana F₁, Zümrüt F₁, May Klado F₁, % 75.00 ile Sultan F₁, Redo F₁, Maydo F₁, Grando F₁, Jana F₁ ve Aksu F₁ domates çeşitleri izlemiştir (Çizelge 4.6. ve Şekil 4.21.).

Çizelge 4.6. Farklı domates çeşitlerinin FORL infeksiyonuna karşı belirlenen hastalık şiddeti ve hastalık indeks değerleri

Domates çeşitleri	Hastalık Şiddeti (%)	Hastalık indeks değerleri
Etna F ₁	94.44	2.83
Alsancak F ₁	91.67	2.75
Maya F ₁	86.11	2.58
Sümela F ₁	83.33	2.50
Basha F ₁	83.33	2.50
Cansın F ₁	80.56	2.42
Almalakeh F ₁	80.56	2.42
Sultan F ₁	75.00	2.25
Redo F ₁	75.00	2.25
Maydo F ₁	75.00	2.25
Grando F ₁	75.00	2.25
Jana F ₁	75.00	2.25
Aksu F ₁	75.00	2.25
Zümrüt F ₁	72.22	2.17
Tuana F ₁	72.22	2.17
May Klasdo F ₁	72.22	2.17
Mondi F ₁	69.44	2.08



Şekil 4.19. *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicle lycopersici* inokulasyonu sonucunda bulaşık köklerden reizolasyonu



Şekil 4.20. Farklı domates çeşitlerinin *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicle lycopersici* enfeksiyonu sonucu gösterdikleri belirtiler



Şekil 4.21. *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicle lycopersici* enfeksiyonu Etna ve May Klasdo domates çeşitlerinin gösterdiği reaksiyonlar

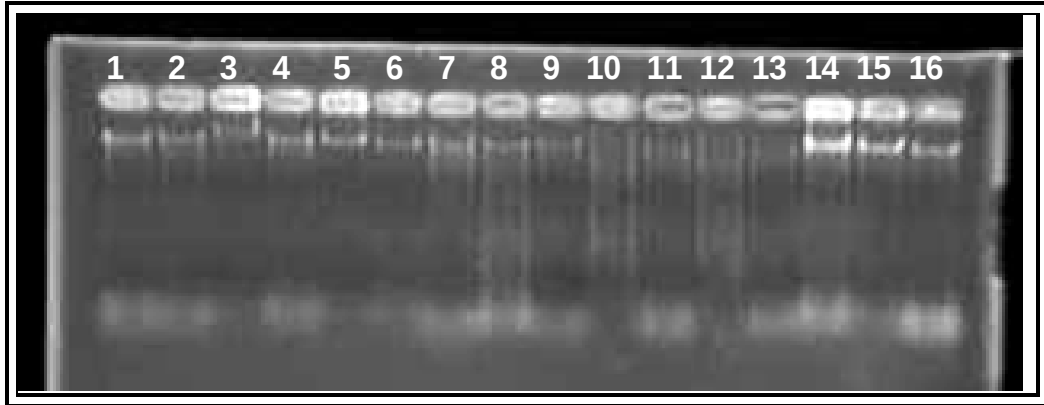
4.4. *Fusarium oxysporum* İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu

1980’li yıllarda Mullis tarafından geliştirilen PCR hiç kuşkusuz ki genetik çalışmaların ivmesini artıran en önemli tekniklerden biridir. PCR, reaksiyonu DNA'nın iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılmasına (denatürasyon); sonra sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanmasına (hibridizasyonu); daha sonra zincirin uzatılmasına (polimerizasyonu) (çift iplikçikli DNA'ların sentezi) ve bu siklusların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır. Bu üç adım (denatürasyon / primer bağlanması / DNA sentezi) bir PCR döngüsünü oluşturur ve her adım farklı ısılarda gerçekleştirilir (sırasıyla 94-98°C; 37-65°C; 72°C). Bu teknikle bir DNA hedefini 10^6 - 10^{12} arasında çoğaltmak mümkündür. Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bölgedeki baz dizilerine tamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer (18-20 baz uzunluğunda) kullanılarak; bu iki primer ile sınırlandırılan genin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır. PCR tekniği, çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlaması ve laboratuvar tanısında çok büyük bir hız ve kesinlik sunması açısından önem kazanmıştır (Mullis ve Faloona, 1987; Mullis, 1990; Amy ve ark., 2007)

Yapılan bu çalışmada PCR tekniği kullanılarak *Fusarium oxysporum*’a ait bölge izolatlarının tanısının kesin ve güvenilir bir şekilde ortaya konulması sağlanmıştır.

4.4.1. PCR Yönteminde Kullanılan *Fusarium oxysporum* İzolatlarına Ait DNA’ların İzolasyonu

Survey çalışmaları ve patojenite testleri sonucunda simptomatolojik ve morfolojik özelliklere göre formlara ayrılmış *Fusarium oxysporum* izolatlarının DNA’ları Bölüm 3.2.4’de verilen yönteme göre elde edilmiştir. DNA izolasyonları sonucunda elde edilen DNA’ların varlığı agaroz jel (%2) elektroforezi sonucu oluşan bantlarla gözlemlenmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. *Fusarium oxysporum* izolatlarından elde edilen DNA'ların jelde görünümü (1: AO-6, 2: AO-2, 3: AO-9, 4: AS-1, 5: AS-3, 6: Tarsus-1, 7: Tarsus- 4, 8: ET-3, 9: EKH-2, 10: EKH- 12, 11: KZ-4, 12: YT-4, 13: YT- 8, 14:S-17, 15: EÇ-2, 16: AK-1 izolatu)

4.4.2. PCR Yöntemi ile DNA'ların Amplifikasyonu

Adana ve Mersin bölgelerinde örtü altı domates seralarından elde edilen ve patojenite çalışmaları sonucunda virülenslikleri (Bölüm 4.2) belirlenen farklı beldelere ait 87 *Fusarium oxysporum* izolatının formae specialis ve ırklarını tespit etmede uni (*Fusarium oxysporum*), sp13 (FOL 1 ve FOL 3 ırklarını), sp23 (FOL 2 ve FOL 3 ırklarını) ve sprl (FORL) olmak üzere 4 farklı primer seti kullanılmıştır. Bu amaçla amplifikasyon sırasında reaksiyona girecek bileşenlerin optimum konsantrasyonlarının belirlenmesi ve Hirano ve Arie, 2006 tarafından belirtilen Thermal cycler cihazının programlanması için optmizasyon çalışmaları başlangıçta pozitif kontrol izolatları (CR: FORL, JR: FORL, J1:FOL1, J2: FOL2 ve J3: FOL3) ile yapılmıştır (Şekil 4.23).

PCR reaksiyonundaki bileşenlerin miktarları 25 µl' lik reaksiyon hacmi için optimize edilmiştir. Amplifikasyon koşullarını belirlemek için yapılan ön çalışmalar sonucunda, reaksiyona girecek primer oranı 5 ng, kalıp DNA konsantrasyonu 10 ng olarak belirlenmiştir. Amplifikasyonda bir örnek için reaksiyon bileşenlerinin oranları (DNA konsantrasyonu, master mix ve stok konsantrasyonlar), primerların nükleotid dizilimleri ve bağlanma sıcaklıkları, Thermal Cycler cihazının programlanması Bölüm 3.2.3, 3.2.5, 3.2.6, 3.2.7., Çizelge 3.1., 3.2., 3.3., Şekil 3.4. ve 3.5.'te verilmiştir.



Şekil 4.23. Amplifikasyon çalışmalarında kullanılan pozitif izolatların jel görüntüsü (M: 100 bp Moleküler markır, 1,2. CR (FORL izolatı); 3,4: J2 (FOL2 izolatı); 5,6: J3 (FOL1 izolatı); N: Negatif kontrol (DNA free); 1,3,5 : Uni primer (670-672bp), 2: sp13 primer (947bp), 4: sp23 primer(518bp), 6: sp13 primer (445bp).

4.4.3. PCR Çalışmaları Sonucunda Bölge İzolatlarından Elde Edilen DNA Bantlarının Tanısı

Patojenik 87 *Fusarium oxysporum* izolatının spesiyal form ve ırklara ayrımı için, bu izolatların tümü öncelikle *Fusarium oxysporum*'u tespit eden uni primer (FO) ve *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*'yi tespit eden sp13 primeri (FORL) ile PCR çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda, sp13 primerde bant oluşturmayan izolatlar sp13 (FOL 1 ve FOL 3 ırklarını), sp23 (FOL 2 ve FOL 3 ırklarını) primerleri ile amplifiye edilmiştir.

PCR çalışması sonucunda amplifiye ürünler ile Bölüm 3.2.7'de belirtildiği şekilde agaroz jel elektroforez işlemi yapılmıştır. Agaroz jel elektroforez çalışmaları sonucunda, bütün izolatların uni ve sp13 primerlerinde varlığı görüntülemek için 0.5 µg/ml oranında Ethidium bromide içeren solüsyona konularak boyanması sağlanmış ve elde edilen bantlar görüntülenmiştir. Jel üzerinde oluşan bantlar var veya yok olarak kaydedilmiştir.

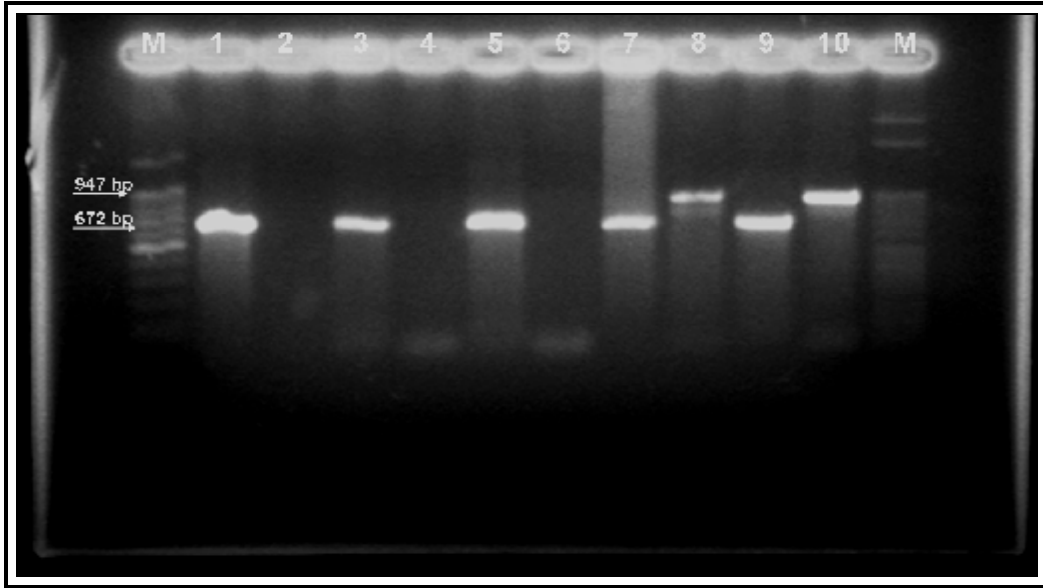
Şekil 4.25 ve şekil 4.26' de görüldüğü gibi Adana/Ceyhan' dan AC-3 ve AC-5, Adana/Karataş'dan AK-1, Mersin /Yenitaşkent seralarına ait YT-10, Mersin /Adanalıoğlu'ndan AO-9 ve AO-6, Erdemli/Kocahasanlı'dan EKH-2,

Erdemli/Türbe'den ET-3 izolatları öncelikle uni ve sprl primerleri ile PCR işlemleri sonucunda; uni primerde (672bp) bant gösterirken sprl primerde (947 bp) bant göstermeyen bu izolatlar FOL için ırk primerleri olan sp13 (518 bp) ve sp23 (445 bp) spesifik primerleri ile PCR işlemine tabi tutulmuştur. Bu izolatlardan Adana/Karataş AK-1, Mersin /Adanalıoğlu AO-9 ve AO-6 izolatları *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (FORL)'in tanımlanmasında kullanılan uni ve sprl primerinde bant vermiştir (Şekil 4.27). Böylece bu 3 izolatın FORL olduğu kanıtlanmıştır.

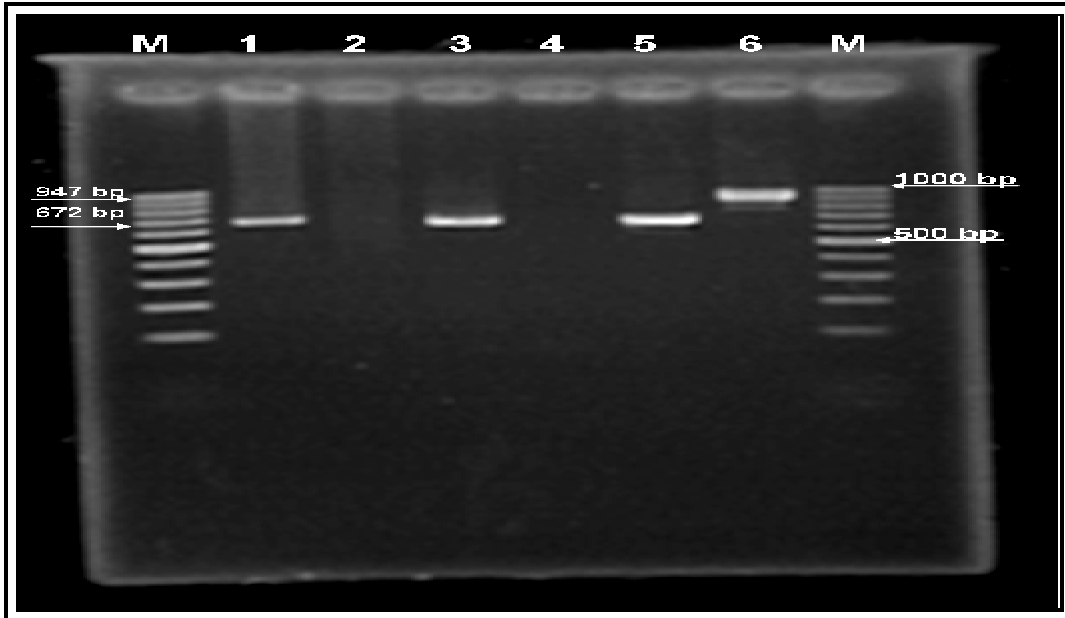
Diğer bölge izolatları sp13 ve sp23 primerleri ile PCR işlemi yapılmış ve Şekil 4.28.'de görüldüğü gibi Adana/Ceyhan AC-3, Mersin /Yenitaşkent seralarına ait YT-10 (Şekil 4.24.), Mersin /Adanalıoğlu AO-16 ve Erdemli/Türbe ET-3 izolatlarının (Şekil 4.8.) *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ırklarından 3 ırkına ait oldukları (FOL 3) ve spesifik primerlerde (uni, sp13 ve sp23) bant oluşturdıkları tespit edilmek suretiyle jel görüntüleri kaydedilmiştir (Şekil 4.28).



Şekil 4.24. Mersin ili Yenitaşkent domates seralarına ait YT-10 izolatından bir görüntü



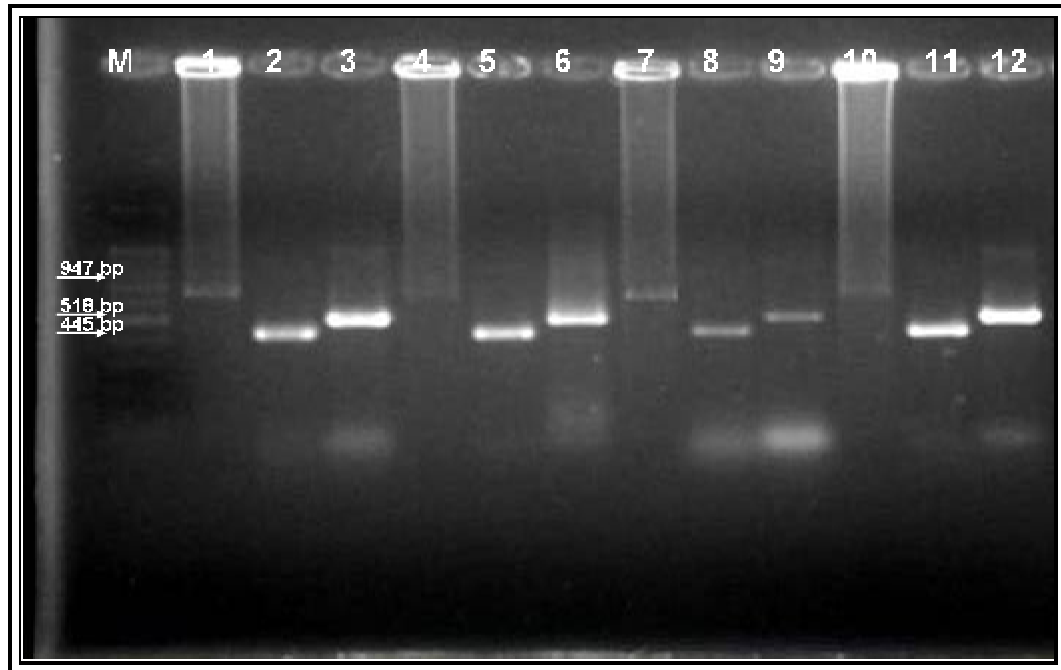
Şekil 4.25. Bölge izolatların uni (672 bp) ve sprl (947 bp) primerleri amplifikasyonundan bir görüntü (M: 100 bp moleküler marker, 1-2: AC-3 izolatu, 3-4: AC-5 izolatu, 4-5: YT-10 izolatu, 6-7: AO-9 izolatu, 8-9: AO-6 izolatu; 1,3,5,7,9: uni primer: 672 bp; 2,4,6,8: sprl primer: 947 bp)



Şekil 4.26. Adana/Karataş (AK-1), Erdemli/Kocahasanlı (EKH-2) ve Erdemli/Türbe (ET-3) bölgesine ait izolatlarından jel görüntüsü. (M: 100 bp Moleküler markır, 1,2: EKH-2 izolatu, 3,4: ET-3 izolatu, 5,6: AK-1 izolatu olup, 1,3,5: uni primer (672 bp), 2,4,6: sprl primer (947 bp).



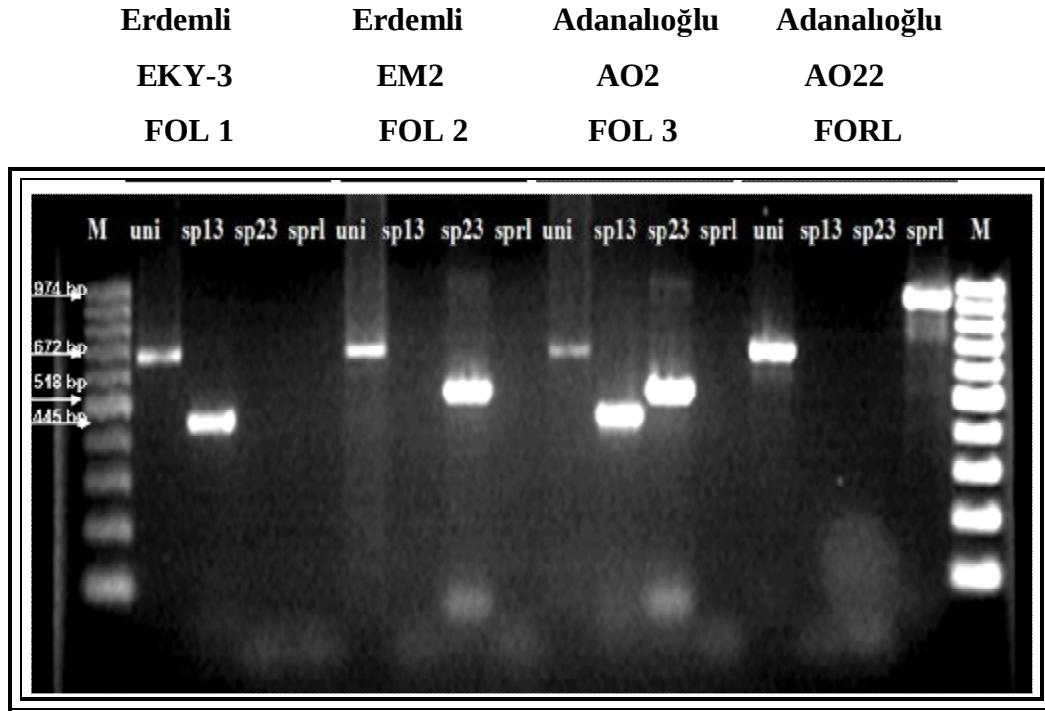
Şekil 4.27. Adana ili örtüaltı domates seralarına ait izolatlardan AK-1 (Adana /Karataş) isolatının iletim demetlerinden bir görüntü (FORL)



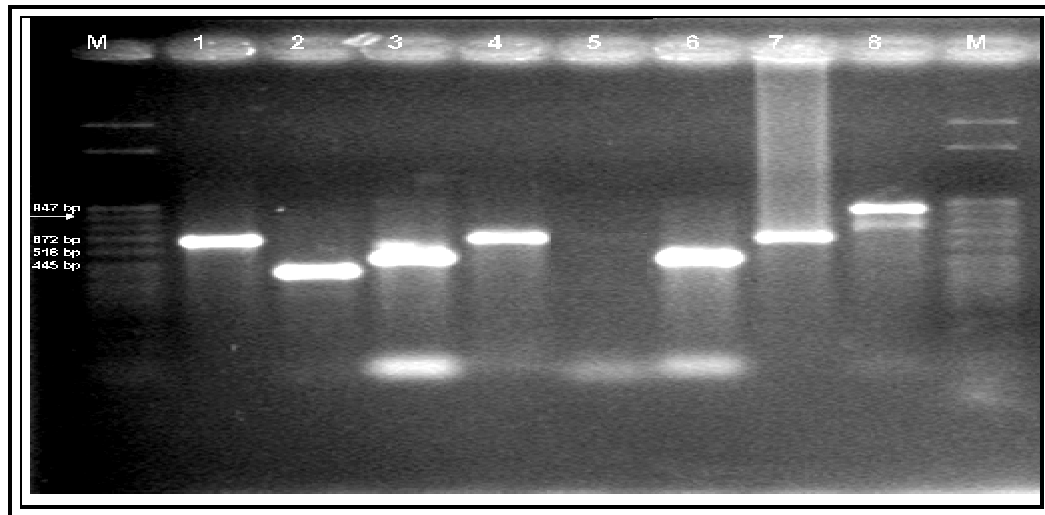
Şekil 4.28. Bölge izolatlarından sp1 primerde bant oluşturmayan izolatların FOL için ırk primerleri olan sp13 (445bp) ve sp23 (518bp) kullanılarak yapılan PCR çalışmasından bir görüntü (M: 100 bp moleküler markır, 1-2-3: AO-16 isolatı, 4-5-6: YT-10 isolatı, 7-8-9: AC-3 isolatı, 10-11-12: ET-3 isolatı olup, 1,4,7,10 : uni primer: 672 bp, 2,5,8,11: sp13 primer: 445 bp, 3,6,9,12:sp23 primer: 518 bp'da bant oluşmuştur).

Örtü altı domates yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Mersin ilinin Erdemli, Adanalıoğlu ve Tarsus beldelerine ait izolatlar olan EM 2, EKY 3, AO 2, AO 22, KZ-4, EKR-3 ve Tarsus -1 ile yapılan PCR çalışmasına ait jel görüntüsü Şekil 4.30 ve Şekil 4.31’de verilmiştir. Şekil 4.28’da görüldüğü gibi Adanalıoğlu beldesi domates seralarına ait isolatlardan AO 2 spesifik primerlerden uni (672 bp), sp13 (445bp)ve sp23 (518 bp)’te bant oluşturarak FOL 3 ırkı ve AO 22 izolatu uni ve sprl spesifik primerlerde bant oluşturarak FORL olduğu tespit edilmiştir. Adanalıoğlu domates seralarına ait AO 2 ve AO 22 isolatlarının bitki ve kök bölgesindeki görüntüleri Şekil 4.5.’te verilmiştir. Erdemli seralarına ait isolatlardan Merkez EM-2 ve Koyuncu EKY-3 domates seralarına ait isolatlarla yapılan PCR çalışmasında, EM-2 izolatu uni (672 bp) ve sp23 (518 bp) spesifik primerde bant vererek *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*’nin 2 nolu ırkı (FOL 2), EKY-3 izolatu ise spesifik primerlerden uni (672 bp) ve sp13 (445bp) ile jelde bant oluşturarak *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*’nin 1 nolu ırkı (FOL 1) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.29).

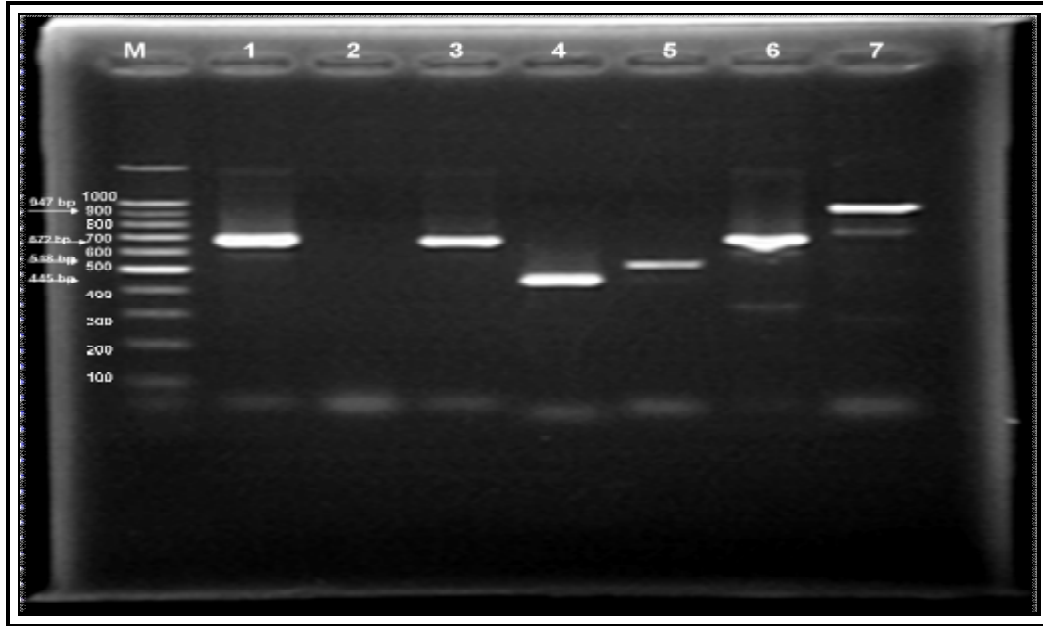
Şekil 4.30 ’de görüldüğü gibi Mersin ilinin Kazanlı beldesi seralarına ait KZ-4 izolatu spesifik primerlerden uni, sp13 ve sp23 de bant oluşturarak FOL 3 ırkı olduğu belirlenmiştir. Erdemli beldesi Karakeşli seralarından EKR-3 izolatu uni ve sp23 spesifik primerlerde bant verirken, sp13 (445bp) bant oluşturmamış ve FOL 2 ırkı olarak kayıt altına alınmıştır. Tarsus yöresi örtü altı domates seralarından Tarsus-1 izolatu uni ve sprl primerlerde bant vermiş ve FORL olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.9.).



Şekil 4.29. Erdemli ve Adanalıoğlu seralarına ait izolatların 4 spesifik primer sonuçlarına ait jel görüntüsü. M: 100 bp Moleküler markır, EKY-3: FOL 1 ırkı, EM2: FOL 2 ırkı, AO 2: FOL 3 ırkı, AO 22: FORL, uni primer: 672 bp, sp13 primer: 445 bp, sp23 primer: 518 bp, sprl primer: 947 bp'da bant oluşturmuştur.



Şekil 4.30. Kazanlı/Mersin (KZ-4), Erdemli (Karakeşli)/Mersin (EKR-3) ve Tarsus/Mersin (Tarsus-1) izolatına ait jel görüntüsü. M: 100 bp baz Moleküler markır, 1,2,3 örnekler KZ-4 izolatı- FOL3 ırkı (1:uni, 2:sp13, 3: sp23); 4,5,6 örnekleri EKR-3 izolatı- FOL2 ırkı (4: uni, 5:sp13, 6:sp23); 7,8 Tarsus-1 izolatı - FORL (7: uni, 8:sprl)

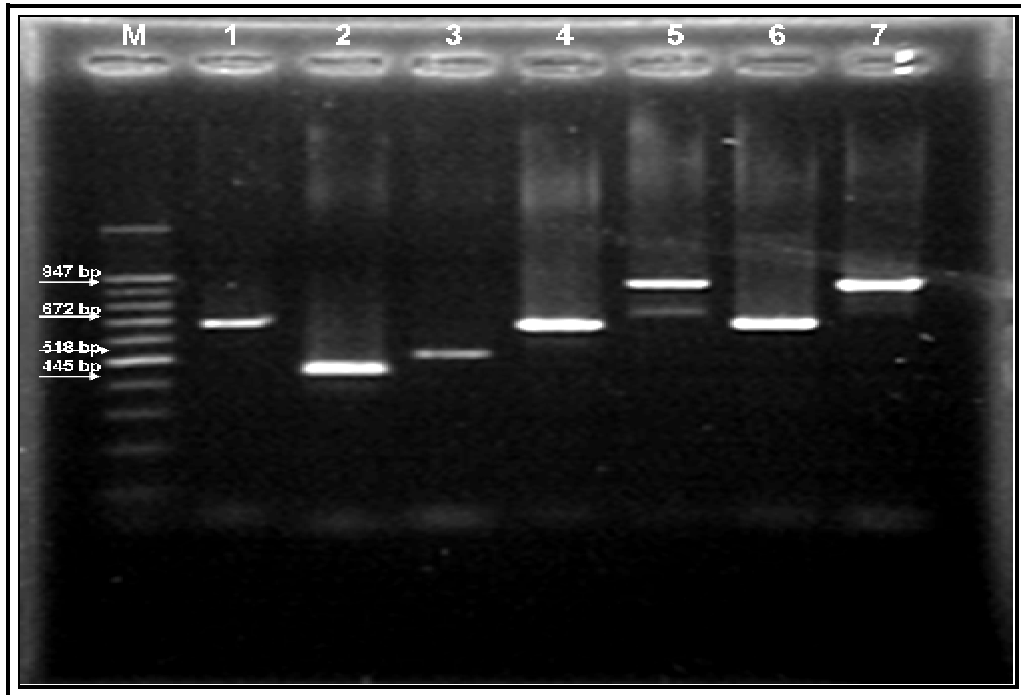


Şekil 4.31. Mersin /Yenitaşkent isolatları ve *Fusarium oxysporum melonis* ait jel görüntüsü (M: 100 bp Moleküler markır, 1,2 : *F.oxysporum melonis* izolatu, 1: uni primer, 2: sprl primer; 3,4,5,6,7: Yenitaşkent izolatu (YT), 3,4,5: YT-8 izolatu FOL 3 ırkı (3:Uni,4: sp13, 5:sp23); 6,7: YT-4 izolatu FORL (6: uni, 7:sprl)

Şekil 4.31.'de görüldüğü gibi bu çalışmada kullanılmış olan uni primer PCR çalışmasında reaksiyona girecek ürünü yalnız *Fusarium oxysporum*'a kadar tanımladığı ve agaroz jel elektroforezda 670-672 bp' da bant oluşturduğu için *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (FOM) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Çalışma sonucunda FOM izolatu uni primerde bant verirken, sprl (947bp) primerde bant oluşturmamıştır. Mersinin ilinin Yenitaşkent beldesine ait YT-8 izolatu uni, sp13 ve sp23 primerlerde bant oluşturarak *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* 3 ırkı (FOL 3) olduğu, YT-4 izolatu ise uni ve sprl spesifik primerlerde bant oluşturarak *F. oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (FORL) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.32.).



Şekil 4.32. Mersinin ilinin Yenitaşkent beldesi YT-4 izolatının alındığı FORL simptomlarının görüldüğü domates serasından bir görüntü

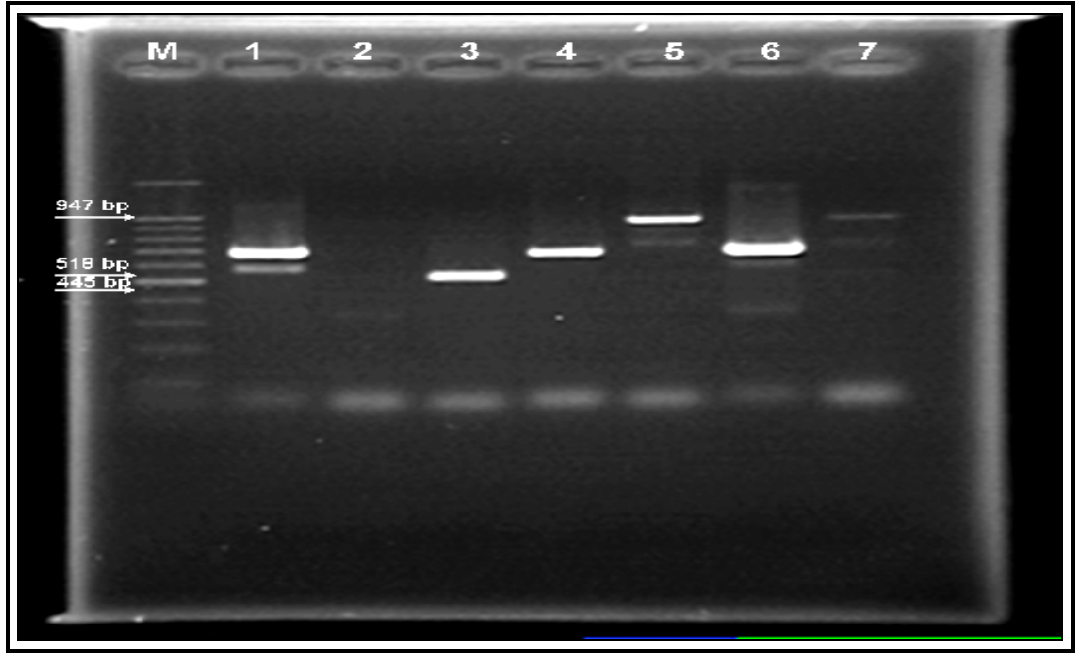


Şekil 4.33. Silifke (S-17), Yüreğir /Adana (AY-5) ve Kocahasanlı/Erdemli (EKH-23) izolatlarına ait jel görüntüsü (M: 100 bp Moleküler markır, 1,2,3: S-17 izolatı FOL 3 ırkı; 4,5: AY-5 izolatı FORL; 6,7: EKH-23 izolatı FORL; 1,4,6: uni primer (672bp), 2: sp13 primer (445 bp); 3: sp23 primer (518bp); 5,7: spr1 primer (947bp)

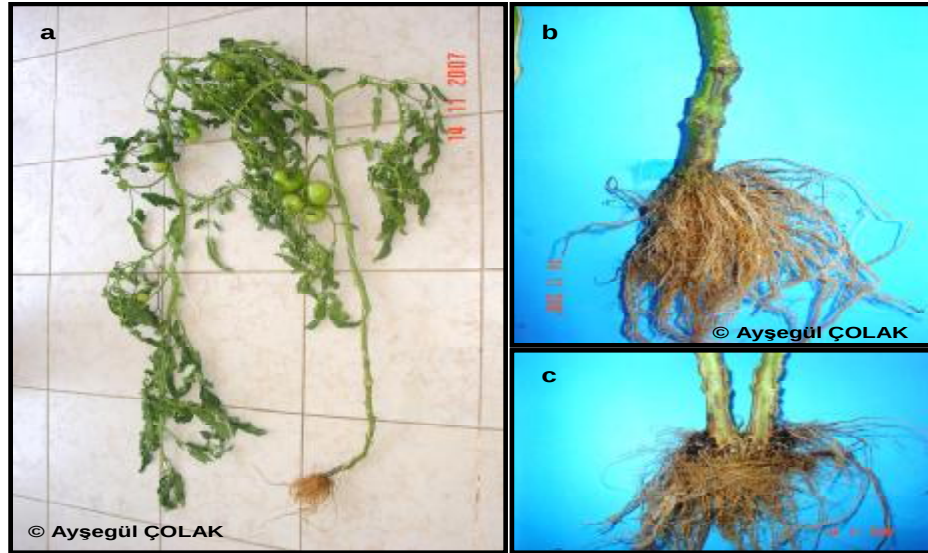
Şekil 4.33’ deki jel görüntüsünde görüldüğü gibi Silifke S-17 izolatu uni, sp13 ve sp23 spesifik primerlerde bant oluşturarak FOL 3 ırkı olduğu ve Adana-Yüreğir’e ait AY-5 izolatu ile Mersin-Erdemli Kocahasanlı domates seralarından alınan EKH-23 izolatu uni ve sprl spesifik primerlerle agaroz jelde bant oluşturarak FORL oldukları belirlenerek kayıt altına alınmıştır. Adana-Yüreğir beldesinden AY-5 izolatu ait iletim demeti simptomları şekil 4.2’de, Silifke izolatlarından S-17 ve Erdemli Kocahasanlı beldesi EKH-23 izolatu ait domates seralarında ve kök bölgesindeki hastalık simptomları Şekil 4. 12 ve Şekil 4.8’te gösterilmiştir.

Silifke’den S-24, Adana-Seyhan’dan AS-3 ve Mersin-Adanalıoğlu’ndan AO-6 izolatları ile elde edilen agaroz jel görüntüsü Şekil 4.33.’te verilmiştir. S-24 izolatu FOL için ırk belirleyici spesifik primerlerden uni, sp13 ve sp23 ile PCR’ı yapılmış ve jelde görüldüğü gibi uni ve sp23 primerlerde bant göstererek FOL 2 olduğu tespit edilmiştir. AS- 3 ve AO-6 izolatları FO ve FORL için spesifik primer olan uni ve sprl primerde bant vermek suretiyle FORL oldukları kanıtlanmıştır. Silifke S-24 izolatu ait domates bitkisi simptomları Şekil 4.12 ve Adanalıoğlu AO-6 izolatu ait domates bitkisi ve kök simptomları Şekil 4.34’ da görülmektedir.

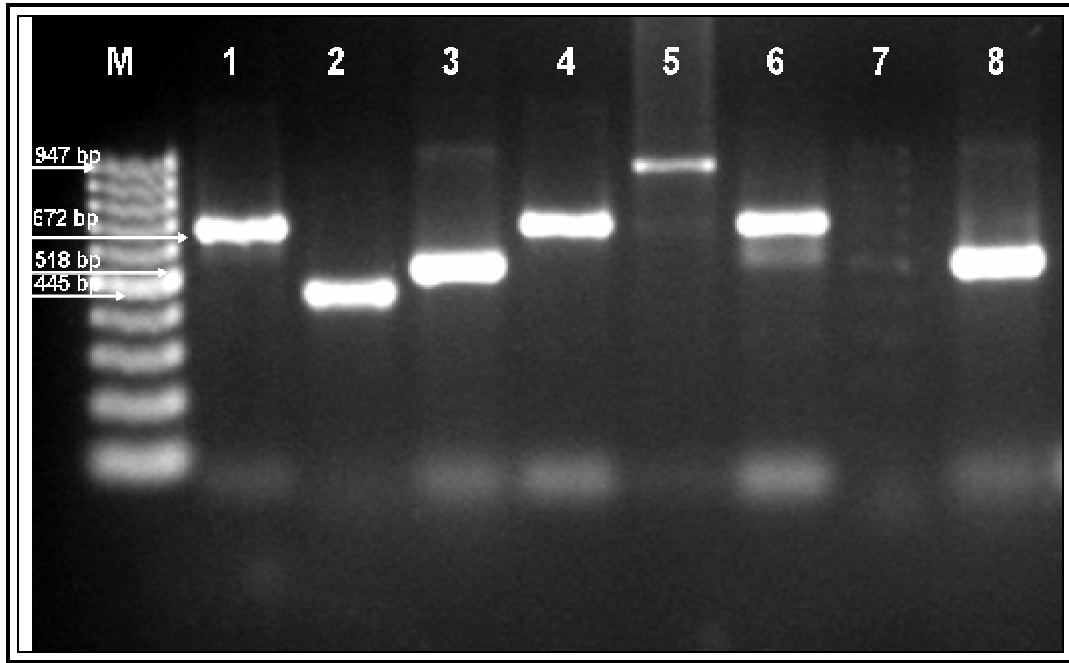
Şekil 4.36’de Erdemli Üçtepe beldesi domates seralarından alınan EÜ-1, Silifke domates seralarından S-14 ve S-28 izolatlarının amplifikasyon sonucu agaroz jel görüntüsü verilmiştir. EÜ-1 izolatu uni, sp13 ve sp23 primerlerde bant oluşturmuş olup FOL 3, S-14 izolatu ise uni ve sprl spesifik primerlerde bant oluşturarak FORL ve S-28 izolatu da uni ve sp23 primerlerde oluşturduğu bant ile FOL 2 olarak belirlenmiş ve kayıt edilmiştir. Silifke Arkum beldesine ait S-14 ve Kurtuluş S-28 izolatlarının elde edildiği domates seralarındaki bitkilerden alınan kök iletim demeti hastalık simptomlarına ait görüntüler Şekil 4.37’de verilmiştir.



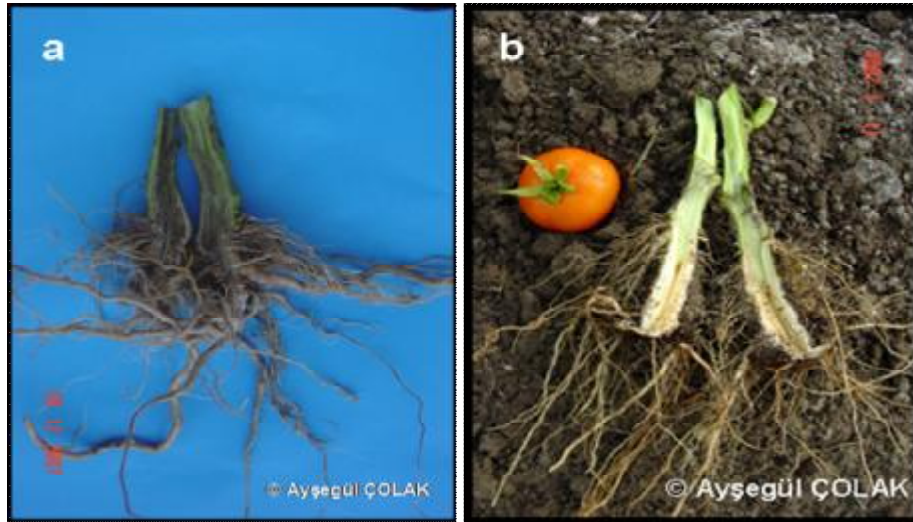
Şekil 4.34. Silifke (S-24), Seyhan /Adana (AS-3) ve Adanalıoğlu /Mersin (AO-6) bölge izolatlarına ait jel görüntüsü. (M:100 bp, 1,2,3: S-24 izolatı FOL 2 ırkı, 4,5: AS-3 izolatı FORL; 6,7: AO-6 izolatı FORL olup, 1,4,6 : uni primer (672bp); 2: sp13 primer (445 bp), 3: sp23 primer (518 bp); 5,7: sprl primer (947 bp)



Şekil 4.35. Adanalıoğlu /Mersin (AO-6) beldesine ait FORL ile bulaşık bitkiden bir görüntü. (a) Domates bitkisinin genelinde bir solgunluk, (b,c) bitki kök boğazı ve iletim demetindeki simptomatolojik kararmalar

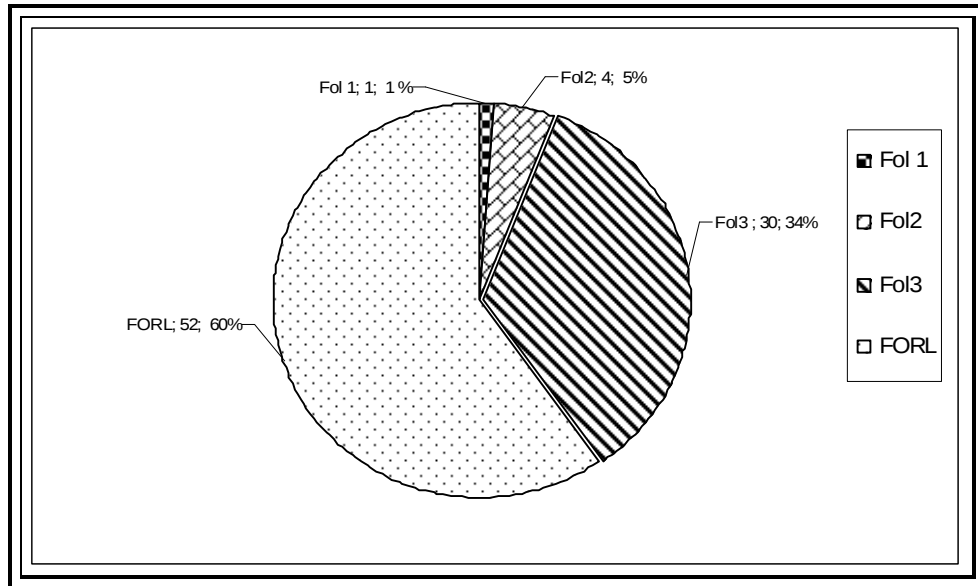


Şekil 4.36. Erdemli/Üçtepe (EÜ-1), Silifke (S-14) ve (S-28) izolatlarına ait jel görüntüsü (M: 100 bp Moleküler markır, 1,2,3: EÜ-1 izolatı FOL3; 3,4: S-14 izolatı FORL; 6,7,8: S-28 izolatı FOL 2; 1,4,6: uni primer (672bp); 2,7: sp13 primer (445 bp); 3,8: sp23 primer (518bp); 5: sprl primer (947bp).



Şekil 4.37. Silifke Arkum ve Kurtuluş beldeleri domates seralarındaki bitkilerin iletim demetlerindeki semptomlardan bir görüntü. (a) Arkum (S-14) izolatı (b) Kurtuluş (S-28) izolatı

PCR çalışmaları sonucunda, Adana ve Mersin bölgesi örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan seralardan alınan izolatların patojenite çalışmaları sonucunda virülensliği % 70 ve üzeri olan 87 farklı belde izolatından DNA izolasyonları sonucunda elde edilen DNA'ların varlığı agaroz jel (%2) elektroforezis sonucu oluşan bantlarla tanımlanmıştır (Çizelge 4.7). Yapılan bu çalışma sonucunda toplam 87 izolattan % 60'ı (52 izolat) *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (FORL) olarak belirlenirken, % 40'ı (35 izolat) *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) olarak tespit edilmiştir. Bölge izolatlarından domates solgunluk etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) olarak tespit edilen izolatlar FOL'un domateste patojen olan üç farklı fizyolojik ırkını (1, 2 ve 3) ayırt etmek için spesifik primerler (uni,sp13 ve sp23) ile PCR çalışması yapılmıştır. Bölge genelinde % 34 (30 izolat) FOL 3ırkı, % 5 (4 izolat) FOL 2 ırkı ve % 1 (1 izolat) FOL 1 ırkı olarak belirlenmiştir (Şekil 4.38).



Şekil 4.38. Bölge örtü altı domates seralarına ait 87 *F. oxysporum* izolatının FORL ve FOL (1, 2, 3 ırkı) yüzdeleri

Çizelge 4.7' den açıkça görüleceği üzere; FOL 3 ırkı en yaygın olarak Erdemli (10 izolat), Silifke (5 izolat), Yenitaşkent ve Ceyhan (3 izolat) ilçerinde belirlenmiştir. Buna karşın FORL Erdemli (12 izolat), Adanalıoğlu (11izolat) ve Silifke (9 izolat)' de saptanmıştır.

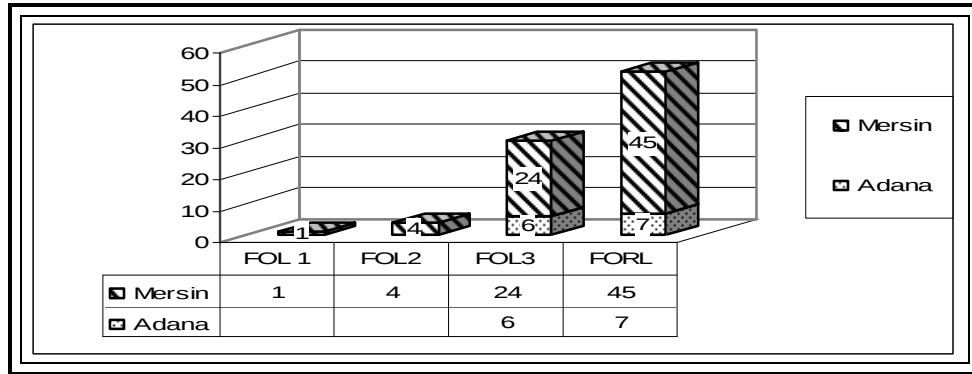
Çizelge 4.7. Bölge örtü altı domates seralarından alınan *F. oxysporum*'a ait 87 izolatın PCR çalışması sonucu belirlenen speşyal form ve ırkların ayrımı durumu

İzolat Adı	İzolatın alındığı yer	Simptomatolojik FOL veya FORL	PCR sonuçları
AS-1	Seyhan/Adana	FORL	FORL
AS-3	Seyhan/Adana	FORL	FORL
AS-6	Seyhan/Adana	FOL	FOL 3
AY-2	Yüreğir/Adana	FORL*	FOL 3*
AY-4	Yüreğir/Adana	FOL	FOL 3
AY-5	Yüreğir/Adana	FORL	FORL
AK-1	Karataş/Adana	FORL	FORL
AC-2	Ceyhan/Adana	FORL	FORL
AC-3	Ceyhan/Adana	FOL	FOL 3
AC-5	Ceyhan/Adana	FOL	FOL 3
AC-6	Ceyhan/Adana	FORL	FORL
AC-7	Ceyhan/Adana	FORL	FORL
AC-9	Ceyhan/Adana	FOL	FOL 3
AO-1	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FORL
AO-2	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FOL 3
AO-3	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FORL
AO-4	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FORL
AO-5	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FORL
AO-6	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FORL
AO-7	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FORL
AO-8	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FORL
AO-9	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FORL
AO-12	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FORL
AO-13	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FORL
AO-16	Adanalıoğlu/Mersin	FOL	FOL 3
AO-22	Adanalıoğlu/Mersin	FORL	FORL
KZ-1	Kazanlı/Mersin	FORL	FORL
KZ-2	Kazanlı/Mersin	FORL	FORL
KZ-3	Kazanlı/Mersin	FORL	FORL
KZ-4	Kazanlı/Mersin	FORL	FOL 3
KZ-5	Kazanlı/Mersin	FORL	FORL
YT-1	Yenitaşkent/ Mersin	FOL	FOL 3
YT-2	Yenitaşkent/ Mersin	FORL	FORL
YT-4	Yenitaşkent/ Mersin	FORL	FORL
YT-5	Yenitaşkent/ Mersin	FORL	FORL
YT-8	Yenitaşkent/ Mersin	FOL	FOL 3
YT-10	Yenitaşkent/ Mersin	FOL	FOL 3
YT-12	Yenitaşkent/ Mersin	FORL	FORL
YT-13	Yenitaşkent/ Mersin	FORL	FORL
EM-2	Merkez/Erdemli	FOL	FOL 2
ET-1	Türbe/Erdemli	FOL	FOL 3
ET-3	Türbe/Erdemli	FORL	FOL 3
ET-4	Türbe/Erdemli	FORL	FORL
ET-7	Türbe/Erdemli	FORL	FORL
EKY-1	Koyuncu/Erdemli	FORL	FORL
EKY-3	Koyuncu/Erdemli	FOL	FOL 1
EKY-4	Koyuncu/Erdemli	FORL	FORL
EKY-5	Koyuncu/Erdemli	FORL	FORL

Çizelge 4.7.'in devamı

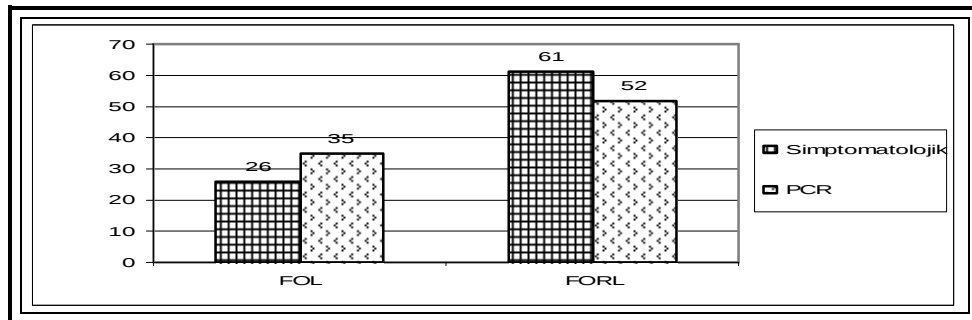
İzolat Adı	İzolatın alındığı yer	Simptomatolojik FOL veya FORL	PCR sonuçları
EKY-6	Koyuncu/Erdemli	FOL	FOL 3
EKH-2	Kocahasanlı/Erdemli	FORL	FOL 3
EKH-3	Kocahasanlı/Erdemli	FOL	FOL 3
EKH-3	Kocahasanlı/Erdemli	FOL	FOL 3
EKH-4	Kocahasanlı/Erdemli	FORL	FORL
EKH-12	Kocahasanlı/Erdemli	FOL	FOL 3
EKH-14	Kocahasanlı/Erdemli	FOL	FOL 3
EKH-18	Kocahasanlı/Erdemli	FOL	FOL 3
EKH-19	Kocahasanlı/Erdemli	FORL	FOL 3
EKH-22	Kocahasanlı/Erdemli	FORL	FORL
EKH-23	Kocahasanlı/Erdemli	FORL	FORL
EKH-24	Kocahasanlı/Erdemli	FORL	FORL
EY-1	Yüksek/Erdemli	FORL	FORL
EY-2	Yüksek/Erdemli	FORL	FORL
EY-3	Yüksek/Erdemli	FORL	FORL
EÜ-1	Üçtepe/Erdemli	FOL	FOL 3
EÇ-1	Çiriş/Erdemli	FORL	FOL 3
EÇ-2	Çiriş/Erdemli	FORL	FORL
EKR-1	Karakeşli/Erdemli	FOL	FOL 3
EKR-3	Karakeşli/Erdemli	FOL	FOL 2
Tarsus-0	Tarsus/Mersin	FORL	FORL
Tarsus-1	Tarsus/Mersin	FORL	FORL
Tarsus-4	Tarsus/Mersin	FOL	FOL3
Tarsus-6	Tarsus/Mersin	FORL	FORL
S-2	Atik/Silifke	FORL	FORL
S-4	Atik/Silifke	FORL	FORL
S-6	Arkum/Silifke	FORL	FORL
S-7	Arkum/Silifke	FORL	FORL
S-9	Arkum/Silifke	FORL	FORL
S-10	Arkum/Silifke	FORL	FORL
S-13	Arkum/Silifke	FORL	FORL
S-14	Atayurt/Silifke	FORL	FORL
S-17	Atayurt/Silifke	FORL	FOL 3
S-20	Atayurt/Silifke	FORL	FORL
S-22	Atayurt/Silifke	FORL	FOL 3
S-24	Kabasakallı/Silifke	FOL	FOL 2
S-28	Kurtuluş/Silifke	FOL	FOL 2
S-29	Kurtuluş/Silifke	FOL	FOL 3
S-34	Karadereli/Silifke	FOL	FOL 3
S-35	Karadereli/Silifke	FOL	FOL 3

* Çizelgede simptomatolojik olarak belirlenip PCR sonuçlarında farklı çıkan izolatlar bold olarak verilmiştir.



Şekil 4. 39. Adana ve Mersin illerine ait *Fusarium oxysporum* izolatlarının PCR sonuçları

Şekil 4.39’da görüldüğü gibi yapılan PCR çalışması sonucunda 87 bölge izolatları içerisinde 13 (% 15) Adana izolatından 7 izolat FORL, 6 izolat FOL 3 ırkı olarak tespit edilmiştir. 74 (% 85) Mersin izolatları içinde ise 45 izolat FORL, 24 izolat FOL3 ırkı, 4 izolat FOL2 ırkı ve 1 izolat FOL1 ırkıolarak belirlenmiştir.



Şekil 4. 40. Bölge izolatlarının tanımlanmasında Simptomatolojik ve PCR sonuçları

Çizelge 4.1’de yapılan survey çalışmalarında simptomatolojik olarak belirlenen *Fusarium oxysporum*’un bölge izolatlarının tanım sonuçları PCR sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Şekil 4.40’de görüldüğü gibi bazı bölge izolatlarının domates bitkilerinde oluşturdukları semptomlar esasından yapılan ayrımları ile PCR sonuçları arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Simptomatolojik ve kültürel karakterlere göre belirlemede 87 izolatın 61’i (%70) FORL ve 26’ı (%30) izolatı FOL olarak tespit edilirken, PCR sonuçlarında 52 (%60) izolat FORL ve 35 (%40) izolat FOL olarak tespit edilmiştir. Ancak, PCR sonuçlarının tanımlama açısından daha güvenilir ve kesin sonuçlar ortaya koyması nedeniyle simptomatolojik ve kültürel

tanımlamalardan emin olmak için PCR çalışmaları ile karşılaştırmalı olarak çalışılmalıdır.

4. 5. Serada Kök ve Kök Boğazı Hastalığının Entegre Mücadelesi

4. 5. 1. Toprak Solarizasyonu

Toprak patojenlerine karşı solarizasyon uygulaması uygun bir malç ile nemli toprağın kapatılması ve güneş enerjisinden yararlanılarak toprağın ısıtılması esasına dayanır. Solarizasyon uygulamasının topraktaki patojenleri öldürebilecek sıcaklığın en yüksek olduğu Temmuz- Ağustos aylarında yapılması gerektiği bilinmektedir (Katan ve ark., 1976; Katan, 1980; Ioannou, 2000). Bu nedenle, birinci yıl denemesi 2 Temmuz - 18 Ağustos 2008 ve ikinci yıl 1 Temmuz -15 Ağustos 2009 tarihlerinde şeffaf polietilen örtü ile sera toprağına solarizasyon uygulanmıştır. Solarizasyon uygulaması ile birlikte taban gübresi olarak sera toprağına yaş çiftlik gübresi verilmiştir (Şekil 4.41.).



Şekil 4.41. Sera toprağına solarizasyon uygulaması. (a) toprağın işlenmesi ve çiftlik gübresi uygulaması, (b) damla sulama sisteminin kurulması, (c,d) şeffaf plastik ile toprağın kapatılması

Solarizasyonun FORL inokulumuna ve toprak sıcaklığına etkinliği belirlemek amacıyla solarizasyon uygulaması öncesi, solarizasyon uygulanan ve uygulanmayan kontrol parsellerine FORL inokulumu ve hobo aleti toprağın dört farklı derinliklerine (5, 15, 25 ve 35 cm) gömülmüştür (Şekil 4.42). Solarizasyon uygulaması süresince hobo aleti vasıtasıyla dört farklı toprak derinliğindeki ulaşılan toprak sıcaklık değerleri Şekil 4.42,4.44 ve Çizelge 4.8.'de verilmiştir.



Şekil 4.42. Sera toprağına solarizasyon uygulaması öncesi FORL inokulumu ve hobo aletinin dört farklı toprak derinliğine gömülmesi işleminden bir görüntü. (a) FORL inokulumun 35 cm toprak derinliğine gömülmesi, (b,c) hobo aletinin toprağın 35 cm derinliğine gömülmesi

Şekil 4.43 ve Çizelge 4.8' de görüldüğü üzere, 2008 (I.yıl) yılı 2 Temmuz – 18 Ağustos'da parsellerin 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerinde maximum toprak sıcaklık değerleri solarizasyon uygulanan parsellede sırasıyla 52.01, 47.79, 41.52 ve 36.57 (°C) olurken; solarizasyon uygulanmayan kontrol parselinde 43.20, 40.62, 37.67, 33.68 (°C) olarak ölçülmüştür.

2009 yılı (II.yıl) 1 Temmuz – 15 Ağustos döneminde ise parsellerin 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerindeki maximum toprak sıcaklık değerleri solarizasyon uygulanmış parsellerde sırasıyla 49.77, 47.25, 42.44 ve 36.20 (°C) olurken,

solarizasyon uygulanmayan kontrol parselinde sırasıyla 38.60, 36.30, 34.20 ve 32.60 (°C) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.44 ve Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Her iki deneme sezonunda solarizasyon uygulamasının toprağın 5, 15, 25 ve 35 cm derinliklerindeki maksimum toprak sıcaklık değerleri (°C)

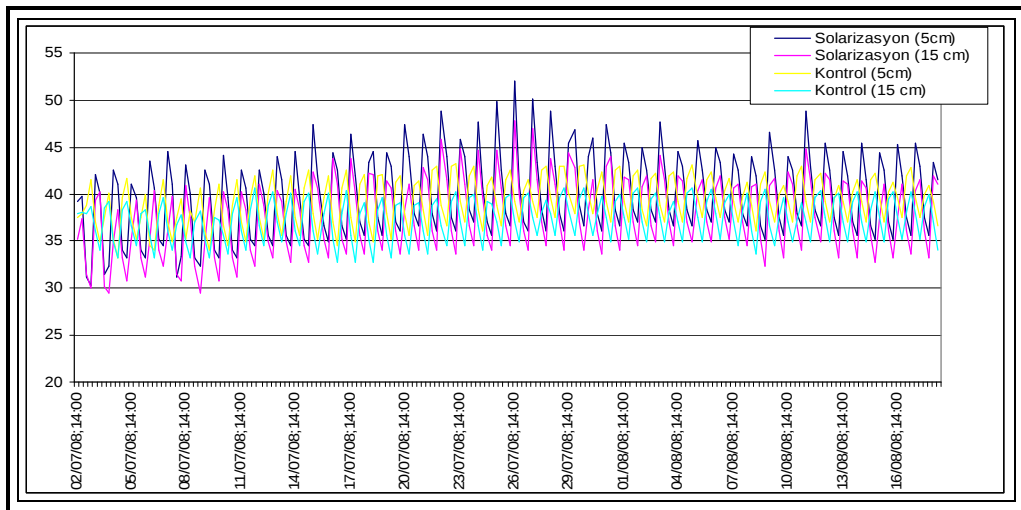
Toprak derinliği (cm)	Solarizasyon		Kontrol	
	2008	2009	2008	2009
5	52.01	49.77	43.20	38.60
15	47.79	47.25	40.62	36.30
25	41.52	42.44	37.67	34.20
35	36.57	36.20	33.68	32.60

Her iki deneme sezonunda solarizasyon uygulanan parsellerdeki dört farklı toprak derinliklerindeki ulaşılan sıcaklık değerleri, solarizasyon uygulanmayan parseldeki sıcaklıklara göre yüksek bulunmuştur. Solarizasyon uygulaması sonucu toprağın ilk 5 cm' deki sıcaklığın 9-11 °C, 15 cm' deki sıcaklığında ise 7-10 °C kontrole göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. İsrail (Gristein ve ark., 1979) ve Florida'da (Chellemi ve ark., 1994) solarizasyon uygulamasının 5 cm'de 49-53 °C'ye ulaştığı; Kaliforniya (Juarez ve ark., 1991), Florida (McSorley ve Parrado, 1986) ve İsrail (Katan ve ark., 1976)'de yapılan çalışmalarda 15 cm' de maximum toprak sıcaklıklarının 44-52 °C' ye ulaştığı bildirilmiştir.

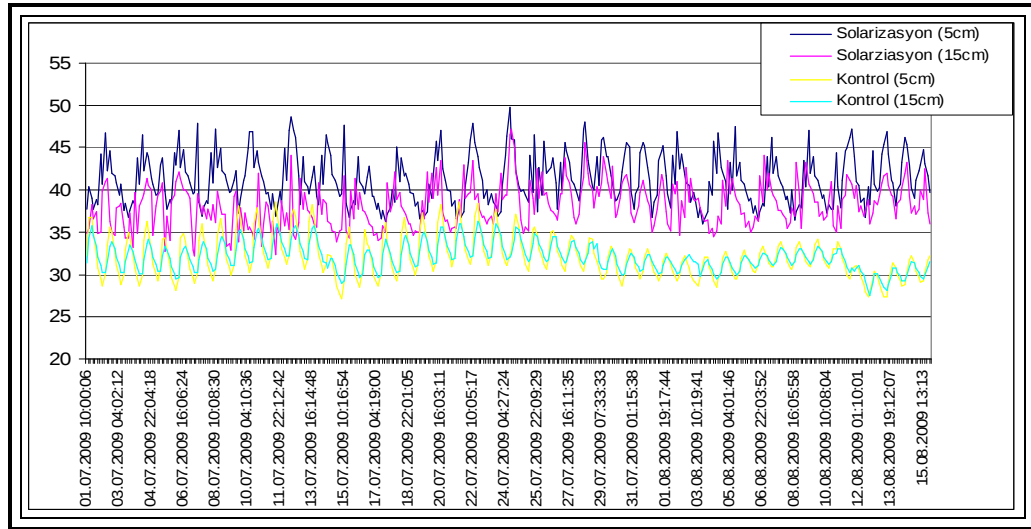
Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile literatürde açıklanan sonuçlardan anlaşılacağı üzere, solarizasyon ile farklı toprak derinliklerinde ulaşılabilen maksimum sıcaklıklar bölgelere ve yıllara göre farklılık gösterebilmektedir. Çünkü solarizasyonun etkinliği güneş ışığının toprak tarafından absorbe edilmesi toprak nemi, toprağın yapısı, plastik örtünün kalınlığı ve iklim faktörü gibi özelliklere bağlıdır (Katan ve ark., 1976, Chellemi ve ark., 1994). Yücel (1995), Bölgemizde yaptığı çalışmada 10 cm toprak derinliğinde yıllar açısından kontrole göre sırasıyla 7 °C ve 6 °C' e sıcaklık farklılığı olduğunu bildirmiştir. İsrail'de Temmuz –Ağustos aylarında solarizasyon uygulamalarında yıllara göre 5 ve 20 cm derinliklerde ölçülen maksimum sıcaklıkların sırasıyla 44 -55 °C ve 39 -45 °C arasında değişmiştir (Katan,

1981). Chellemi ve ark. (1994), toprak kökenli patojenlere karşı 1992 ve 1993 yıllarında 14 ve 23 günlük uyguladıkları toprak solarizasyonunda 5, 15 ve 25 cm toprak derinliğinde solarizasyon uygulanan alanlarda sırasıyla 49.5°, 46.0° ve 41.5 °C sıcaklık değerleri elde ederken solarizasyon uygulanmayan alanlarda bu değerlerin sırasıyla 43.8°, 38.9° ve 36.5 °C olduğunu, toprak solarizasyonunun toprak sıcaklığını solarizasyon uygulanmayan alana göre 5, 15 ve 25 cm derinliklerde sırasıyla 9°, 8° ve 5 °C kadar artırdığını bildirmişlerdir. Tokgönül (1998), toprak solarizasyonu uygulamalarında 5, 10, 15 ve 30 cm derinliklerde maksimum toprak sıcaklıklarının sırasıyla 41-52 °C, 38-48 °C, 36-45 °C ve 32-39 °C arasında değişiklik gösterdiğini saptamıştır. Solarizasyonun etkisini artırmak için çift kat plastik örtü kullanımı, toprağa organik maddelerin ilavesi, biyolojik kontrol ajanları ile beraber kullanımı gibi uygulamaların bölgemizde araştırılması gerektiğini bildirmiştir.

Ioannou (2000), örtü altı domatesten toprağa uygulanan Temmuz-Ağustos ayında 8 haftalık solarizasyonun maksimum toprak sıcaklığını 15 -20 cm toprak derinliklerinde solarize edilmeyen toprağa göre 9 °C'ye kadar artırdığı ve *Fusarium* spp. populasyon yoğunluğunu % 91-98 oranında azalttığını bildirmiştir.



Şekil 4.43. Solarizasyon uygulanmış ve uygulanmamış parsellerdeki 2 Temmuz – 18 Ağustos 2008 yılına ait 5 ve 15 cm toprak derinliklerindeki maksimum toprak sıcaklık değerleri (°C)



Şekil 4.44. Solarizasyon uygulanmış ve uygulanmamış parsellerdeki 1 Temmuz – 15 Ağustos 2009 yılına ait 5 ve 15 cm toprak derinliklerindeki maximum toprak sıcaklık değerleri (° C)

Bölgemizde Yücel ve ark., 2007 ve 2009 yıllarında örtü altı domates seralarında toprak kökenli patojenler ve nematodlarla mücadelede etkili bir fumigant olan Methilbromide (MeBr) alternatif çalışmalar kapsamında yaptıkları çalışmalarda; 2007 yılında 5, 15 ve 25 cm toprak derinliklerinde solarizasyon uygulanan alanda sıcaklıkların sırasıyla 49.0°, 45.3° ve 40.2 °C'ye ulaşırken, solarizasyon uygulanmayan alanda 42.9°, 39.6° ve 36.0 °C olduğunu; 2009 yılında yürütülen çalışmada ise sıcaklığın 10 ve 20 cm toprak derinliklerinde 47.5° ve 43.0 °C, solarizasyon uygulanmayan alanda ise 40.0° ve 37.1 °C sıcaklıklara ulaşıldığını, sonuç olarak solarize edilen alanlarda sıcaklığın, kontrole göre 7.5 °C ile 5.9 °C gibi bir atış kaydettiğini bildirmişlerdir.

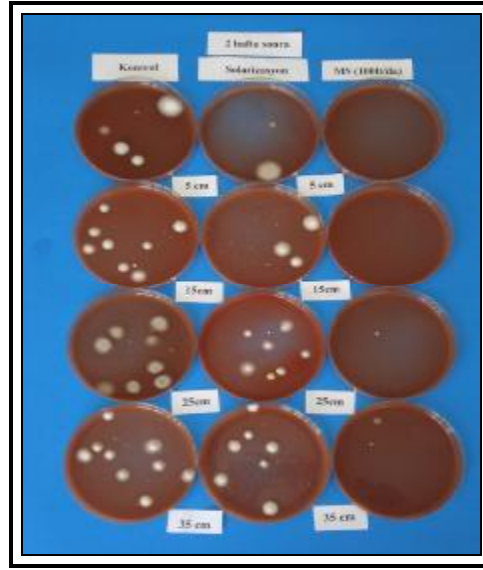
4.5.2. Solarizasyon ve Metham Sodium Uygulamalarının Topraktaki FORL İnokulumu Üzerine Etkisi

2008 yılı solarizasyon uygulaması öncesi deneme alanın 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerinde sırasıyla 4.8, 5.7, 6.3 ve 4.0 x 10⁴ propagül/g toprak FORL popülasyonu bulunmuştur. Solarizasyondan 2., 4. ve 6. hafta sonrasında deneme

alanın 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerinde bu miktarlar sırasıyla $1.7-0-0 \times 10^4$, $3.1-1.4-0.1 \times 10^4$, $4.1-3.2-2.5 \times 10^4$ ve $3.6-3.4-3.3 \times 10^4$ propagül/g toprak FORL popülasyonu saptanmıştır. Solarizasyon + MS (100lt/da) uygulamasında 2.,4. ve 6. hafta sonrasında FORL popülasyonu deneme alanının 5, 15 cm ‘derinliğinde 0×10^4 , 25 ve 35 cm toprak derinliklerinde $1.9-1.2-1 \times 10^4$ ve $2.3-1.8-1.3 \times 10^4$ propagül/g toprak olarak bulunmuştur. Hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrol parselinin 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerinde bu miktarlar sırasıyla $4.4-3.1-3 \times 10^4$, $4.6-3.9-4 \times 10^4$, $6-5.7-5.5 \times 10^4$ ve $3.9-4.7-4.1 \times 10^4$ propagül/g toprak FORL popülasyonu saptanmıştır (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.45). Sonuç olarak, 2008 yılı deneme sezonunda FORL popülasyonu 5, 15, 25 ve 35cm toprak derinliklerinde yalnız solarizasyon uygulamasında sırasıyla % 100, 82.4, 60.4 ve 17.5 azalış gösterirken; solarizasyon + MS (100lt/da) uygulamasında 5 ve 15 cm’de %100, 25 ve 35 cm derinliklerinde sırasıyla % 84.1 ve % 70 azalma sağlanmıştır. Solarizasyon uygulanmayan kontrol parsellerindeki 5, 15, 25 ve 35cm toprak derinliklerinde FORL popülasyonunda sırasıyla % 37.5, 29.8, 12.7 ve 0.0 arasında azalma görülmüştür,

Çizelge 4.9. 2008 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasından önce ve sonra topraktaki FORL popülasyonu (propagül/g toprak)

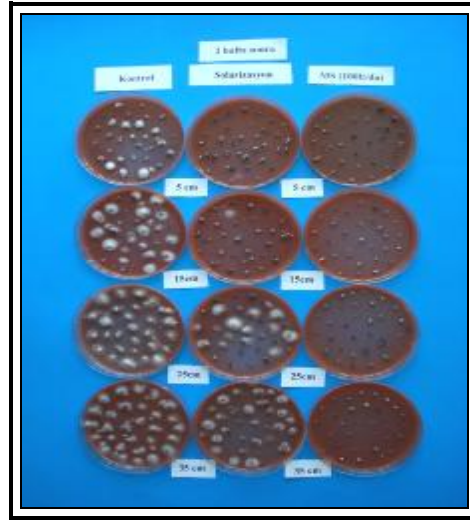
Uygulamalar	Toprak derinlikleri (cm)	Sol. öncesi	Sol. 2. hafta	Sol.4. hafta	Sol 6.hafta	Populasyon azalma (%)
Solarizasyon ($\times 10^4$)	5	4.8	1.7	0	0	100
	15	5.7	3.1	1.4	0.1	82.4
	25	6.3	4.1	3.2	2.5	60.4
	35	4.0	3.6	3.4	3.3	17.5
Sol + MS (100lt/da) ($\times 10^4$)	5	4.8	0	0	0	100
	15	5.7	0	0	0	100
	25	6.3	1.9	1.2	1	84.1
	35	4.0	2.3	1.8	1.3	70.0
Kontrol ($\times 10^4$)	5	4.8	4.4	3.1	3	37.5
	15	5.7	4.6	3.9	4	29.8
	25	6.3	6	5.7	5.5	12.7
	35	4.0	3.9	4.7	4.1	0.0



Şekil 4.45. 2008 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasından sonra farklı toprak derinliklerindeki FORL popülasyonunun varlığını gösteren koloniler

Çizelge 4.10. 2008 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasının toprağa gömülen FORL kültürü canlılığına etkisi (30 parça/10 petri)

Uygulamalar	Toprak derinlikleri (cm)	Sol. 2. hafta	Sol.4.hafta	Sol 6.hafta
Solarizasyon	5	0	0	0
	15	2	1	1.2
	25	15.6	12.4	10.3
	35	25.9	22.1	18.4
Sol +MS (100lt/da)	5	0	0	0
	15	0	0	0
	25	0	0.1	0.1
	35	0	0	0
Kontrol	5	18.2	6.8	8.4
	15	22.3	24.7	22
	25	30	27.8	28
	35	30	29.8	30



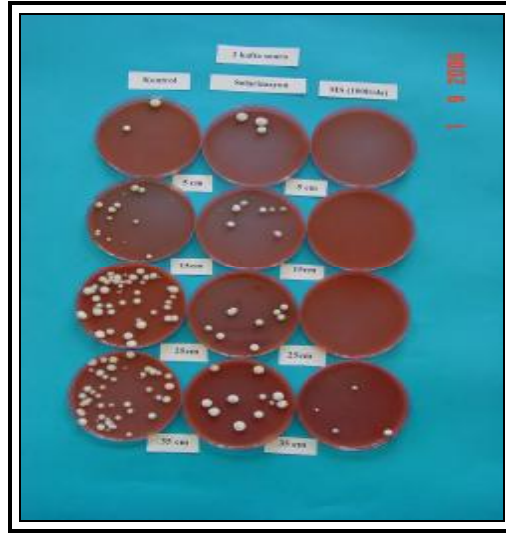
Şekil 4.46. 2008 yılı Solarizasyon ve MS uygulanmış toprağa gömülen FORL inokulumunun kültüre alınmasında canlı propagüllerden gelişen koloniler

2009 deneme sezonunda FORL popülasyonu 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerinde yalnız solarizasyon uygulamasında sırasıyla %100, 100, 69.2 ve 28.1 azalış gösterirken; solarizasyon + MS (100 lt/da) uygulamasında 5, 15 cm’de %100, 25cm ve 35cm derinliklerinde sırasıyla % 93.8 ve % 87.7 azalma görülmüştür. Solarizasyon uygulanmayan kontrol parsellerindeki FORL popülasyonu sırasıyla % 26.8, 23.6, 9.2 ve 0.0 arasında azalma görülmüştür (Çizelge 4.11). Solarizasyon uygulaması öncesi deneme alanın 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerinde sırasıyla $4.1, 5.5, 6.5$ ve 5.7×10^4 propagül/g toprak FORL popülasyonu bulunmuştur. Solarizasyondan 2.,4. ve 6. hafta sonrasında deneme alanın 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerinde bu miktarlar sırasıyla $3.1-0-0 \times 10^4$, $3.5-0.6-0 \times 10^4$, $4.7-2.7-2 \times 10^4$ ve $4.2-3.8-4.1 \times 10^4$ propagül/g toprak FORL popülasyonu saptanmıştır. Solarizasyon + MS (100lt/da) uygulamasından sonra 2. 4. ve 6. hafta sonrasında deneme alanın 5, 15 cm’de 0×10^4 , 25 ve 35 cm toprak derinliklerinde bu miktarlar $1.2-0.6-0.4 \times 10^4$ ve $1.4-1.1-0.7 \times 10^4$ propagül/g toprak FORL popülasyonu bulunmuştur. Hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrol parselinin 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerinde bu miktarlar sırasıyla $2.9-3.1-3 \times 10^4$, $4.9-3.9-4.2 \times 10^4$, $6.2-5.5-5.9 \times 10^4$ ve $5.3-4.7-6.2 \times 10^4$ propagül/g toprak FORL popülasyonu saptanmıştır (Şekil 4.46).

Her iki deneme sezonunda yalnız solarizasyon ve solarizasyon+ MS (100lt/da) uygulamalarının FORL patojeninin canlılığına etkisi toprağın 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerine gömülen inokulumdan gelişen koloni sayısı olarak Çizelge 4.10 ve 4.12’ de verilmiştir. Bu çizelgelerdeki bulgular uygulamaların FORL popülasyonu üzerine azaltıcı etkisini gösteren Çizelge 4.9 ve 4.11 ile uyumludur. FORL patojeninin canlılığı uygulama yapılan alanlardan yalnız solarizasyon yapılan parsellerde 5, 15 ve 25 cm toprak derinliklerinde azaltıcı yönde etkili olurken, 35 cm’ de etkili olamamıştır (Şekil 4.46 ve Şekil 4.48). Solarizasyon +MS uygulamalarında ise tüm toprak derinliklerinde FORL canlılığı üzerine etkili olmuştur.

Çizelge 4.11. 2009 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasından önce ve sonra topraktaki FORL popülasyonu (propagül/g toprak)

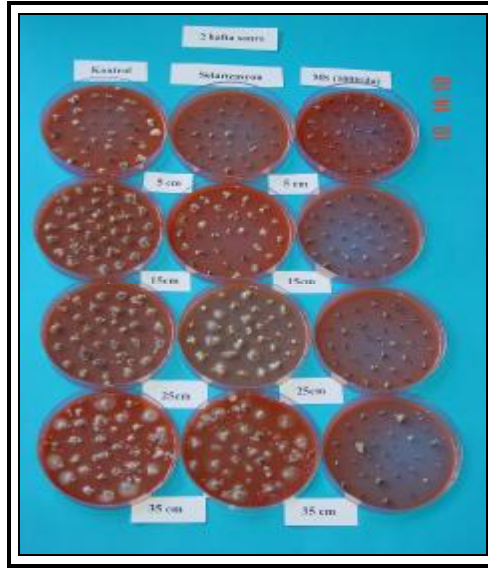
Uygulamalar	Toprak derinlikleri (cm)	Sol. öncesi	Sol. 2. hafta	Sol. 4.hafta	Sol 6.hafta	Popülasyon azalma (%)
Solarizasyon ($\times 10^4$)	5	4.1	3.1	0	0	100
	15	5.5	3.5	0.6	0	100
	25	6.5	4.7	2.7	2.0	69.2
	35	5.7	4.2	3.8	4.1	28.1
Sol +MS (100lt/da) ($\times 10^4$)	5	4.1	0	0	0	100
	15	5.5	0	0	0	100
	25	6.5	1.2	0.6	0.4	93.8
	35	5.7	1.4	1.1	0.7	87.7
Kontrol ($\times 10^4$)	5	4.1	2.9	3.1	3	26.8
	15	5.5	4.9	3.9	4.2	23.6
	25	6.5	6.2	5.5	5.9	9.2
	35	5.7	5.3	4.7	6.2	0.0



Şekil 4.47. 2009 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasından sonra farklı toprak derinliklerindeki FORL populasyonunun varlığını gösteren koloniler

Çizelge 4.12. 2009 yılı Solarizasyon ve MS uygulamasının gömülen FORL inokulumunun canlılığına etkisi (30 parça/10 petri)

Uygulamalar	Toprak derinlikleri (cm)	Sol. 2. hafta	Sol. 4.hafta	Sol. 6.hafta
Solarizasyon	5	0	0	0
	15	4.1	1.6	0.3
	25	22.7	18.5	10.6
	35	30	28.5	23.7
Sol + MS (100lt/da)	5	0	0	0
	15	0	0	0
	25	0.2	0.3	0.2
	35	0.6	0.3	0.2
Kontrol	5	21.5	14.3	9.7
	15	29.1	27.2	20
	25	30	30	29.7
	35	30	30	30



Şekil 4.48. 2009 yılı Solarizasyon ve MS uygulanmış toprağa gömülen FORL inokulumunun kültüre alınmasında canlı propagüllerden gelişen koloniler

Solarizasyon uygulaması için oldukça uygun iklim koşullarına sahip bölgemizde açıkta ve örtü altında sebze yetiştiriciliğinde toprak kökenli fungal patojenlere karşı solarizasyonun 1985'ten beri kullanıldığı bilinmektedir. Yürütülen bu çalışmada farklı toprak derinliklerine gömülen FORL inokulumu üzerine solarizasyonun ve solarizasyon + MS uygulamalarının azaltıcı etkisi olduğu saptanmıştır. Her iki yıl solarizasyon uygulamalarında toprağın özellikle 5 ve 15 cm toprak derinliklerinde sırasıyla 52,01-49,77 °C ve 47,79- 47,25 °C sıcaklıklara ulaşmıştır. Bu değerler birçok toprak kökenli patojenin ölüm sıcaklığı olan 40-60°C arasındadır (McGoven ve Obreza, 2007; Ozbay ve Steven, 2004). Solarizasyon uygulamasının başarısını artıran faktörlerden toprağın sürekli nemli kalması ve bu katmanlardaki artan sıcaklık faktörü ile çimlenen FORL sporlarının ölmesi olarak öngörülebilir. Gerek topraktan alınan örneklerde gerekse gömülü FORL inokulumunda patojenin canlılığı üzerine etkili bir azalma olduğu bu çalışma sonuçları ile kanıtlanmıştır.

Bazı araştırmacılar bitki patojenik fungusların topraktaki popülasyonunun azalmasının toprak sıcaklığının 41 °C'yi aşması ve termal ölüm sıcaklığının 50 °C'ye yakın sıcaklıklar ile olabileceğini belirtmişlerdir. Birçok araştırmacı tarafından

birçok önemli bitki patojeni, böcek ve yabancı otların 65 °C’de 30 dk. ölebileceğini bildirmişlerdir. Toprak kökenli fungal patojenlerin ve bakterilerin 45 °C’ nin altındaki sıcaklıkların uzun bir dönem öldürücü olabileceği bildirilmiştir. (Katan ve ark., 1976, Freeman ve Katan, 1988, Pulman ve ark., 1981).

Chellemi ve ark., (1994), 1992 ve 1993 yıllarında yaptıkları çalışmada solarizasyon uygulaması ile ulaştıkları 5, 15 ve 25 cm toprak derinliklerindeki maximum toprak sıcaklıkları sırasıyla 43.9-49.5, 38.9-46.0 ve 36.5-41.5 °C olmuştur. Bu solarizasyon uygulamasında toprağın 5 cm derinliğinde ulaşılan sıcaklıkların *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*’nin kontrolünde önemli derecede etkili olduğunu, 35 cm alt katmanda ise solarizasyon ile birlikte fumigant uygulamasının *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ve *Phytophthora nicotianae* populasyonlarında önemli derecede bir azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Katan ve ark., 1976’da yaptıkları çalışmada solarizasyon uygulaması sonucu toprağın 5, 15 ve 25 cm derinliklerinde *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* populasyonunda sırasıyla % 94-100, % 68-100 ve % 54-63 oranında azalma olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada maximum toprak sıcaklığının 5 ve 15cm’de sırasıyla 49-52 °C ve 42 °C’ye ulaştığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada solarizasyonun başarısında önemli bir faktör olan toprak neminin *F. oxysporum* canlılığı üzerine etkinliği ayrıca araştırılmış ve nemli toprakta 50°C’de 1 saat etkili olurken, kuru toprakta ise 55 °C’nin 1 saat uygulanmasında bile başarı sağlanamadığı ifade edilmiştir.

4.5.3. Serada FORL İnfeksiyonun Entegre Mücadelesi

Kök ve kök boğazı çürüklüğünün entegre hastalık yönetimi amacıyla, domates yetiştirilecek toprağa solarizasyonu (S) takiben uygulandığında domates köklerine kolaylıkla kolonize olabilen ve bu hastalık nedeni özel formaya karşı bir ön savunma hattı meydana getirerek baskılayıcı bir etki sağlayabilme özelliğinde olan bitki büyüme düzenleyici rhizobakterilerden (PGPR) *Bacillus subtilis* QST 713 (BS)’ in, antagonist fungus *Trichoderma harzianum* (T-22)’un toz ve garanül (TH-T

ve TH-G) preparatlarının, kompost uygulamasının (KOM) ve toprak kökenli patojenlere karşı etkili bir fumigant olan, Methyl bromide alternatif, Metham Sodium'un (MS) etkileri örtü altı sera koşullarında araştırılmıştır

4.5.3.1. Seraya Fide Dikimi ve Uygulamalar

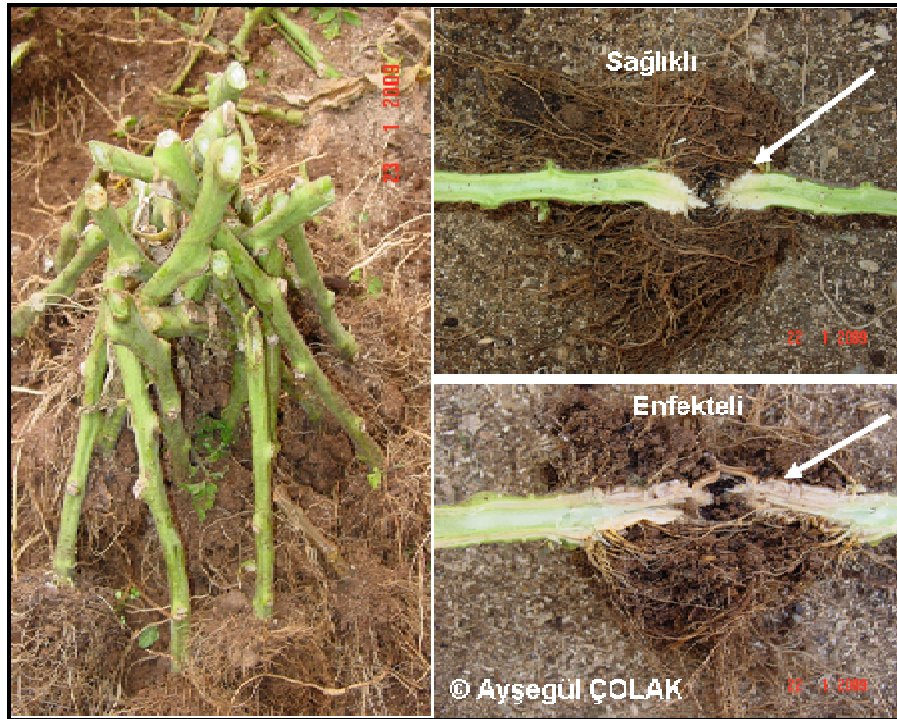
2008 -2009 üretim yılında deneme serasına 24. 09. 2008 tarihinde ve 2009-2010 üretim yılında ise 19. 08. 2009 tarihinde Alsancak F1 domates fideleri dikilmiştir (Şekil 4.49). Her iki yıl dikimle birlikte FORL ile mücadele için 20 gün arayla 3 uygulama halinde her bitkiye 50 ml olacak şekilde, *Trichoderma harzianum* (1×10^7 cfu/g içeren tozdan 2 gr/20lt su ve granül 30 gr/20 lt su oranlarında), *Bacillus subtilis* (1×10^9 cfu/ml, 100ml/20lt su oranında) ve kompost uygulanmıştır. Bu uygulamalar yalnız solarizasyon ve solarizasyon + MS (100lt/da) gibi iki ayrı deneme halinde tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekrarlı olacak şekilde düzenlenmiştir.



Şekil 4.49. Deneme serasına fidelerin dikimi ve parsellere preparatların uygulanmasından bir görüntü

4.5.4. Seradaki Uygulamaların Hasat ve Hastalık Çıkışına Etkisinin Değerlendirilmesi

Sera koşullarında *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*'i (FORL) mücadelesi için entegre hastalık yönetimi Solarizasyon ve Metham Sodium uygulamalarına 4 farklı biyolojik ajan (TH-T, TH-G, BS, KOM) dahil edilerek ve toprağa yalnız biyolojik ajan uygulanmış kontrol parselleri düzenlenerek 2008-2009 deneme yıllarında iki yıl süre ile araştırılmıştır. 2008 (I.yıl) - 2009 (II.yıl) deneme yıllarında serada FORL ile mücadelede uygulamaların verime ve hastalık çıkışına (%) etkisi araştırılmış ve elde edilen değerlere varyans analizi uygulanmış ve uygulamalara ait ortalamalar LSD analizi yapılarak karşılaştırılmıştır. Değerlendirmeler parsellerdeki 25 bitki sökülerek hastalık belirtileri var /yok şeklinde yapılmıştır (Şekil 4.50).



Şekil 4.50. FORL ile mücadelede seradaki bitkilerin değerlendirilmesinden bir görüntü

2008 ve 2009 yılı sera denemelerinde uygulamalar arasında istatistiksel anlamda farklılık önemli bulunmuştur (Şekil 4.14). Her iki yıl sera denemelerinde enfekteli bitki oranı en az S+MS uygulamasından sırasıyla % 29.5- % 24.0 elde edilmiş, bunu Solarizasyon uygulaması (% 48.0 -% 47.0) ve kontrol parselleri (% 81.3 - % 75.7) izlemiştir. FORL çıkışının en az olduğu S + MS denemesinde uygulama yapılan parsel değerleri için istatistiksel analiz sonuçları hiçbir uygulama yapılmayan kontrol parsellere göre biyolojik ajanlar açısından farklılık % 95 güvenle (p: 0.05) önemli bulunmuştur (Çizelge 4.13). Ancak uygulanan biyolojik ajanları FORL enfeksiyonlarına karşı etkinlikte LSD testine göre aynı grupta yer alıp aynı harfi almışlardır. Bu duruma göre istatistiksel % enfekteli bitki oranı en düşük olan uygulama birinci yıl % 21.3 oranla BS uygulaması, ikinci yıl % 20.0 ile TH-T uygulaması olmuştur. Bunu sırasıyla birinci yıl % 26.7 TH-T, % 28.0 KOM ve % 38.7 TH-G izlemiş olup; ikinci yıl % 22.7 BS, % 24.0 KOM ve % 29.3 TH-G uygulamaları takip etmiştir. Uygulamaların % etkisine bakıldığında, kök ve kökboğazı çürüklüğü (FORL) hastalığı oluşumu birinci yıl BS, ikinci yıl TH-T biyolojik ajan uygulamaları ile sırasıyla % 73.8 ve % 73.6 oranında engellemiş ve en az % etki TH-G (% 52.4 -% 61.3) uygulamasından elde edilmiştir. Biyolojik preparatların kök ve kökboğazı çürüklüğü (FORL) hastalığı mücadelesinde S+MS uygulamasında birinci yıl etkisi % 52.4 -% 73.8 oranında olurken, iken ikinci yıl % 61,3 -73, 6 oranında değişmiştir. Biyolojik preperatlar içerisinde en ümit var sonuçlar birinci yıl BS uygulaması (% 73.8) ve ikinci yıl TH-T uygulaması (% 73.6) uygulamasında elde edilmiştir. Çalışmamızda yıllar itibariyle biyolojik ajanlar arasında etkinlikteki değişikliğin, Howell (2003)'inde ifade ettiği üzere biyolojik mücadele etmenine, patojen ve konukçu bitki interaksyonuna, mikrofloradaki diğer organizmalara bağlı olarak etkilendiği kanısına varılmıştır.

Çizelge 4.13. 2008-2009 yıllarında uygulamaların FORL enfekteli bitki oranı (%)

Uygulamalar	Enfekteli Bitki (%)	
	2008	2009
S +MS	29.5 a	24.0
S	48.0 b	47.0
KONTROL	81.3 c	75.7
LSD %5	7.01	5.03

İkinci deneme olan Solarizasyon parsellerinde biyolojik mücadele etmenlerinin hastalık çıkışına etkisi hiçbir uygulama yapılmayan parsellere göre ayrıca önemli bulunmuştur. Uygulamaların ortalama değerlerinin karşılaştırıldığı LSD testine göre FORL ile mücadele etkinliği araştırılan biyolojik ajanlar yine hep aynı harfleri almışlardır. Enfekteli bitki oranı ve uygulamaların etkinliği açısından her iki deneme yılında en iyi sonuçlar BS uygulamasından sırasıyla % 41.3 – 44.0 ve % 49.2 – 41.9 olarak elde edilmiştir. Uygulamaların % etkinliği açısından en düşük değerler ise birinci yıl % 34.7 TH-G ve ikinci yıl % 32.9 KOM uygulamasından elde edilmiştir.

Uygulamaların yapıldığı toprakta FORL ile mücadelede başarıyı etkileyen en önemli faktörlerden biri patojenin topraktaki populasyon yoğunluğudur. 2005-2006 yılı yetiştirme sezonunda bölgemiz örtü altı domates seralarında yapılan bir çalışmada, FORL infeksiyonunun yüksek olduğu serada (% 82.4) solarizasyon ve Metham Sodium'un düşük dozları (1000 l / ha⁻¹) ile yapılan kombinasyonda hastalık çıkışı % 22.4, etki % 42.5 olmuş, yalnız solarizasyon uygulamasında ise hastalık çıkışı % 49.9, etki % 39.0 olarak yeterli bir etki sağlanamamıştır (Yücel ve ark., 2007). Bunun yanı sıra uygulamaların başarılı bir şekilde yapılması, sonradan oluşabilecek sulama suyu, işleme aletleri ve patojenin rekolonize olma yeteneği FORL mücadelesinde kritik faktörler olarak değerlendirilmiştir.

Toprak kökenli patojenlerle mücadelede etkinliğin artırılması ve çevre direncinin korunması için tek başına uygulamalardan ziyade sistemin bütün olarak düşünülmesi ve mücadelede solarizasyon, fumigant, biyo-fungusitler yada diğer ajanların kombinasyonları ile yapılan uygulamaların kontroldeki başarıyı artıracığı bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Eshel ve ark., 2000; Munito ve ark., 2000, Yücel ve ark., 2007). Çalışmamızda FORL ile mücadelede yalnız başına solarizasyon uygulamasına göre 6 haftalık uygulanan solarizasyon ve MS (100lt/da) kombinasyonu hastalığa karşı en etkili uygulama olarak belirlenmiştir. Nitekim Metham Sodium'un bir çok araştırmacı tarafından toprak kökenli patojenler ile mücadelede Methyl Bromide alternatif bir fumigant olduğu bildirilmiştir (McGoven ve ark., 1998; Warton ve Matthiessen, 2000; Cao ve ark., 2001; Gullino ve ark., 2002; McGoven ve Obreza, 2007). Ayrıca, Steve (2000), 100 gal/acre dozunda

(yaklaşık 94.6 L/da) Metham Sodium ile toprak fumigasyonunun 6 hafta süreyle solarizasyon uygulaması ile birlikte uygulandığında çok iyi sonuç alındığını bildirmiştir. Bu bulgular sonuçlarımızla hep paraleldir. Güneybatı Florida’da domateste yaygın olarak görülen FORL hastalığıyla ve bir çok toprak kökenli patojenle mücadelede etkili olan Methyl Bromide (MeBr) ve chloropicrin kombinasyonlarının, MeBr’un ozon tabakasını deldiği sebebiyle uygulamadan kaldırılacak olması bilimcileri alternatif kontrol metotları üzerinde araştırmalara yöneltmiştir. Yapılan bir çalışmada, 6 haftalık solarizasyon ve Metham Sodium (935 l/ha) uygulamasının patojenin kontrolünde Methyl Bromide alternative olabileceği bildirilmiştir (McGoven ve Obreza, 2007).

Çizelge 4.14. 2008-2009 yılı sera denemelerinde uygulamaların FORL enfekteli bitki oranı ve % etkisi

Uygulamalar		Enfekteli Bitki (%)		Etki (%)	
		2008	2009	2008	2009
S+MS	KOM	28.0 a	24.0 a	65.6	68.2
	BS	21.3 a	22.7 a	73.8	69.9
	TH-G	38.7 a	29.3 a	52.4	61.3
	TH-T	26.7 a	20.0 a	67.1	73.6
	Kontrol	81.3 b	75.7 b	-	-
	LSD %5	19.76	12.72		
S	KOM	50.6 a	50.8 a	37.8	32.9
	BS	41.3 a	44.0 a	49.2	41.9
	TH-G	53.3 a	46.7 a	34.4	38.3
	TH-T	46.6 a	46.7 a	42.7	38.3
	Kontrol	81.3 b	75.7 b	-	-
	LSD %5	14.78	15.04		

Her iki yıla ait çalışma sonuçlarına göre Çizelge 4.15’ de görüldüğü gibi BS ve TH-T biyolojik ajan uygulamalarının FORL nedeni kök ve kökboğazı çürüklüğü hastalığı mücadelesinde önemli derecede etkili olmuştur. Bir çok araştırmacı *Bacillus subtilis* streylerinin toprak kökenli patojenlerle mücadelede etkili olduğunu rapor etmiştir (Hibar ve ark., 2006; Cavaglieri ve ark., 2005; Kloepper ve ark., 2004; Collins ve Jacobsen, 2002). Bu BS streynleri ile yapılan çalışmalarda Hibar ve ark. (2006) *Bacillus subtilis* QST - 713 streyninin (Sereneda) etmeni *Fusarium*

oxysporum f. sp. *radicis lycopersici* (FORL) olan domateste kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı oluşumunu önemli derece azalttığını, Estevez ve ark. (2002), *Bacillus subtilis* GBO 3 streyninin fasulye’de kök çürüklüğü etmeni *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* mücadelesinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. *Bacillus subtilis* tarafından üretilen iturin’in bir anti-fungal antibiyotik olduğu belirlenmiş ve *Fusarium oxysporum*, *F.moniliforme*, *Aspergillus niger* ve *A. flavus* gibi bitki patojenlerine etkili olduğu bulunmuştur (Latoud ve ark., 1987).

Çalışmamızda uygulanan biyolojik ajanlardan FORL infeksiyonlarını etkilemede başarılı olan TH-T ile ilgili olarak *Trichoderma* türlerinin biyolojik mücadele ajanı olma potansiyeli 1930’lu yıllardan beri bilinmektedir (Harman 2006). Bu grup içerisinde yer alan *Trichoderma harzianum* biyolojik mücadelede yaygın olarak kullanılan bir ajandır (Elad ve ark., 1984, Sivan ve Chet 1986, Howell, 2003, Küçük ve Kıvanç, 2004). Çalışmamızda kullanılan *Trichoderma harzianum* T-22 içeren RootShield isimli biyopreparat yapılan bir çalışmada, saksıda yetiştirilen ve tarlaya şaşırtılan domateslerde kök ve kök boğazı çürüklüğünü önemli ölçüde kontrol etmiştir (Datnoff ve ark., 1995). *T. harzianum* izolatlarının patojenlere etki mekanizmalarında antibiosis, mikoparazitizm ve fungus tarafından üretilen enzimlerin rol alabileceği düşünülmektedir. Monaco ve ark. (2004) *T. harzianum*’un ürettiği metabolitlerin patojenlerin gelişmesini engelleyici etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. Cherif ve Benhamou (1990), yaptıkları çalışmada *T. harzianum*’ un hastalık azaltıcı aktivitesini rapor etmişlerdir. Kitinaz üreten *T. harzianum*’un bir izolatını ikili kültür çalışmasında bir araya getirmek suretiyle FORL’un gelişimini inhibe ettiği bulunmuştur. FORL’un gelişimini % 65’den daha fazla sınırlayan *T. harzianum*’un lokal bir izolatının kullanımı bu patojenin miseloyal gelişimini inhibe etmiştir. Sivan ve ark. (1987), domateste *Fusarium* kök ve kök boğazı çürüklüğü (*Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis- lycopersici* :FORL) hastalığının biyolojik kontrolü üzerine yaptıkları çalışmada domates köklerine *Thricoderma harzinaum* uygulanması ile onun rhizosferde ve kök bölgesinde hızla çoğalarak, FORL popülasyonunu önemli derecede azalttığı ve üründe uygulama yapılmayan parsellere göre % 26,6 oranında bir artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Marois ve Mitchell (1981b), domateste Kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığına neden *Fusarium oxysporum f.sp. radicle lycopersici*'ye karşı beş fungal antagonistin konidial süspansiyonlarının etkinliğinin araştırıldığı çalışmada; üç izolat *Thricoderma harizanum*, bir izolat *Aspergillus ochraceus* ve bir izolat *Penicillium funiculosom*'un 5×10^5 konidi süspansiyonlarının dikimden önce ve sonra bitkilere uygulamasında hastalıkla mücadelede etkili olduğunu, ancak uygulamaların verimde önemli bir artışa neden olmadığını bildirmişlerdir. Biyolojik kontrol mücadele etmenlerinin başarısında bir kaç faktörün önemli olduğunu; bu tür hastalıklarla mücadelede doğru antagonistlerin seçimi ve uygulamanın uygun dönemde yapılmasının başarıyı artıracaklarını; domateste FORL nedeni hastalığını epidemik şiddetinin uygulama yapılan toprakta patojenin hızlı bir şekilde çoğalmasına bağlı olduğunu, bu nedenle patojen hızlı bir şekilde çoğalmadan antagonist uygulamalarının başarılı olduğunu vurgulamıştır. Biyolojik kontrol mücadele etmenleri ile kök ve kök boğazı çürüklüğü (FORL) hastalığının başarılı bir şekilde kontrolünde, patojenin biyolojisi, antagonistin uygulanması ve seçiminde kullanılan metodlara bağlı olduğu bildirilmiştir.

Çizelge 4.15. 2008-2009 yılına ait seradaki uygulamaların verime etkisi

Uygulamalar		Bitki başına verim (kg/bitki)	Toplam verim (kg/da)	Pazarlanamayan ürün (%)
		2008 - 2009	2008 - 2009	2008 - 2009
S+MS	KOM	5.05 a - 4.83 a	6314 - 6034	20.20 - 23.30
	BS	5.09 a - 5.54 a	6359 - 6927	24.35 - 21.55
	TH-G	4.10 a - 5.15 a	5131 - 6440	27.06 - 23.98
	TH-T	5.25 a - 6.18 a	6559 - 7727	17.35 - 19.68
	Kontrol	2.65 b - 2.87 b	3317 - 3583	34.55 - 31.92
	LSD %5	1.16 - 1.75		
S	KOM	5.02 a - 4.70 ab	6273 - 5875	21.09 - 22.16
	BS	4.73 a - 4.77 a	5911 - 5963	22.43 - 24.39
	TH-G	4.45 a - 4.74 a	5559 - 5925	24.74 - 26.22
	TH-T	5.11 a - 5.44 a	6390 - 6800	19.97 - 20.53
	Kontrol	2.65 b - 2.87 b	3317 - 3583	34.55 - 31.92
	LSD %5	1.27 - 1.84		

Çizelge 4.16. 2008-2009 yılı sera denemelerinin bitki başına verime etkisi (kg/bitki)

Uygulamalar	Bitki başına verim (kg/bitki)	
	2008	2009
S +MS	4.87 a	5.42 a
S	4.82 a	4.91 a
KONTROL	2.65 b	2.87 b
LSD %5	1.04	1.02

Uygulamaların verime olan etkinliğini belirlemek için bitki başına verim (kg/bitki), toplam verim (kg/da) ve pazarlanmayan ürün (%) açısından tartımlar yapılmış ve elde edilen değerler Çizelge 4.15’de verilmiştir. Yapılan varyans analiz sonucunda uygulamaların uygulama yapılmayan parsellere oranla verimde artışa neden olduğu görülmüştür (Çizelge 4.15). Bitki başına verim her iki yıl verilerine göre uygulamalar arasında istatistiksel açıdan önemli bulunurken; ilk yıl S +MS ve S uygulamalar aynı harfi alıp verim açısından bir fark olmamıştır ve verim sırasıyla 4.87 kg/bitki ve 4.82 kg/bitki olmuştur. İkinci yıl en yüksek değer S+MS (5.42 kg/bitki) olurken, bunu S uygulaması (4.91 kg/bitki) izlemiştir. Kontrol parsellerinde ise birinci yıl % 2.65 kg/bitki ve ikinci yıl % 2.87 kg/bitki olarak en düşük verim değerleri olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.16).

Her iki yıl bitki başına en yüksek verim değerleri S+MS denemesinden alınmıştır. Ancak her iki yıl deneme parsellerine uygulanan biyolojik preparatlar arasında bitki başına verim (kg/bitki) açısından bir fark görülmemiş olup ve LSD testi sonucu hep aynı harfleri almışlardır. 2008-2009 yıllarında bitki başına verim açısından en yüksek değer 5,25 -6,18 kg/bitki ile TH-T uygulamasından elde edilmiş bunu sırasıyla BS (5,09 -5,54 kg/bitki), KOM (5,05 – 4,83 kg/bitki) ve TH-G (4,10 - 5,15 kg/bitki) izlemiştir (Çizelge 4.15).

Yalnız Solarizasyon denemesinde parsellerdeki biyolojik mücadele etmenlerinin uygulamalarının her iki yıl bitki başına en yüksek verim değerleri kontrol parsel değerlerine göre istatistiksel anlamda farklı bulunmuştur. Birinci yıl biyolojik preparatlar arasında fark yokken, ikinci yılda BS, TH-T ve TH-G uygulamaları benzer sonuçlarla hep aynı harfi almıştır. Ancak KOM bu uygulamalardan farklı bulunarak en düşük değeri almıştır. Her iki yılda bitki başına

en yüksek verim TH-T uygulamasından (5.11 kg/bitki – 5.44 kg/bitki) alınmış, bunu birinci yıl 5.02 kg/bitki ile KOM uygulaması, ikinci yıl ise 4.77 kg/bitki ile BS uygulaması izlemiştir (Çizelge 4.15).

Çalışmamızda verimde artışa neden olan TH-T uygulaması ile ilgili olarak *Trichoderma* türlerinin uygulanan bitkilerde bitkinin vejetatif ve kök gelişimini teşvik etmesi sonucu bazı patojenlerin hastalık oranını azalttığı ve üründe artışa neden olduğu bir çok çalışmada bildirilmiştir (Sivan ve ark., 1987; Inbar ve ark., 1994; Harman ve Kubicek, 1998; Altomare ve ark., 1999 Howell, 2003; Hibar ve ark., 2005; Ayed ve ark., 2006; Daam-Remadi ve ark., 2006; Harman, 2006). FORL'un nedeni olduğu domates kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı ile mücadelede sera denemelerinde biyo-fungisitlerden yalnız T-22'nin ve bir kimyasal fungusitin (Hymexazol) etkinliği araştırılmış ve ümit var sonuçlar elde edilmiştir. Hibar ve ark. (2006) tarafından yürütülen bu çalışmada T-22 kullanımı % 5.5 oranında ölü bitki yüzdesini azaltmıştır. Ayrıca T-22 uygulamalarındaki bitkilerin vejetatif büyüme ve meyve özellikleri (kalite ve irilikleri) Hymexazol'a göre daha iyi sonuçlar vermiştir. *Trichoderma harzianum*'un FORL nedeni bu hastalıkla mücadelede önemli derecede etkili olmasının yanı sıra, *Trichoderma*'nın bir başka özelliği de toprakta fosfor, mangan, bakır, demir gibi maddeleri çözünür bir forma dönüştürmesidir. Böylece kökler ihtiyacı olan bu besin maddelerini topraktan kolaylıkla kazanabilmekte ve bitkinin büyüme hızı artmaktadır.

Toplam verim açısından bakıldığında en yüksek verim S+MS denemesinde TH-T (6559 - 7727 kg/da) uygulamasından alınmış ve bunu yalnızca solarizasyon uygulanan denemedeki biyolojik ajanlardan TH-T (6390 – 6800 kg/da) uygulaması izlemiştir (Çizelge 4.15). Kontrol parsellerde toplam verim ise 3317 -3583 kg /da olarak bulunmuştur. Yücel ve ark. (2009), Bölgemizde örtü altı domates seralarında FORL ile mücadelede için solarizasyon, düşük doz Metham Sodium (MS- 1000-750 l l ha⁻¹) ve Dazomet (DZ)'nin araştırıldığı denemelerinde, verim açısından uygulamalar ile kontrol arasında farklılık görülürken düşük doz solarizasyon ile MS (750 l l ha⁻¹) ve DZ kombinasyonları arasında fark görülmediği rapor edilmiştir.

Çalışmamızda ayrıca şekil olarak bozuk, zararlanmış ve pazar değeri düşük olan meyveler sayılarak tartılmış ve toplam verim içerisinde pazarlanamaz ürün %

olarak hesaplanarak belirlenmiştir. Çizelge 4.15’de görüldüğü gibi tüm uygulamalarda % pazarlanamaz meyve değerleri her iki yıl ve her iki denemede en düşük TH-T biyolojik ajan uygulamasından elde edilmiş olup, S+MS denemesinde değerler % 17.35 -% 20.53 olmuş ve bunu solarizasyon denemesindeki % 19.97 - % 20.53 değerleri izlemiştir. Kontrol parsellerde ise pazarlanamaz meyve değerleri % 34.55 -% 31.92 oranında bulunmuştur.

Domates kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı ile mücadelede son yıllarda toprağa uygulanan buhar ve kimyasallarla fumigasyon yöntemleri kullanılarak ve tek genle dayanıklı bazı çeşitler geliştirilmiş olsa da, patojenin önlenmesi sınırlıdır. Çünkü toprakta fungusun tamamiyle erdike edilmemesi, patojeni popülasyonunda fungusitlere dayanıklı streynlerin mevcut olmasından tam anlamıyla sağlanamamıştır. Bu çalışma sonuçları doğrultusunda FORL ile mücadelede tek başına uygulamalardan ziyade kullanılan mücadele yöntemlerinin kombinasyonlarının başarıyı artırdığı sonucuna varılmıştır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu proje; Doğu Akdeniz Bölgesi örtü altı domates yetiştiriciliğinde sorun olan *Fusarium oxysporum*'un FORL ve FOL gibi formlarının neden olduğu sırasıyla domates kök ve kök boğazı çürüklüğü ve domates *Fusarium* solgunluğu hastalıklarının Bölge düzeyinde oluşum, şiddet ve yaygınlıklarını belirleme; bu hastalık etmenlerinin simptomatolojik, kültürel ve moleküler yöntemlerle (PCR) ayrımı FORL'un fiziksel (solarizasyon), kimyasal (fumigasyon) ve biyolojik ajanları içeren entegre bir mücadele yaklaşımı ile önlenmesi çalışmalarını içermektedir. Bunun için, domates seralarında yapılan bir sörvey programı ile tipik solgunluk ve kök ve kök boğazı belirtileri gösteren domates bitkilerinden intesite bilgileri ve hastalık etmeni izolatlar elde edilmiştir. Elde edilen izolatların moleküler yöntemlerle FOL ve FORL olup olmadıkları ilk kez bu çalışmayla belirlenmiş, bunların Bölge itibariyle yaygınlıkları ortaya konulmuştur. Moleküler tanımlamada *Fusarium oxysporum* tarafından üretilen polygalacturonase enzimini belirleyici hızlı ve güvenilir bir yöntem olan PCR ile çalışılmıştır. Sera koşullarında; kök ve kök boğazı çürüklüğü (FORL) ile mücadele için entegre hastalık yönetimi amacıyla, toprağa solarizasyonu takiben uygulandığında domates köklerini kolonize ederek, patojenleri bastıran bitki büyüme düzenleyici *Bacillus subtilis* QST - 713 ile antagonist fungus *Trichoderma harzianum* (T-22) preparatlarının, toprağa kompost ilavesinin ve Metham Sodium'un kombine etkileri araştırılmıştır. Ek olarak Bölgede yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan ticari domates çeşitlerinin FORL'a karşı duyarlılıkları belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda elde edilen bulgulara aşağıda özetlenmiştir.

1- Survey çalışması Mersin iline bağlı Merkez, Silifke, Erdemli ve Tarsus (16652 da) ile Adana iline bağlı Yüreğir, Seyhan, Ceyhan (188 da) ilçelerinde toplam 16840 da örtü altı domates yetiştirilen alanların % 4.5' i dikkate alınarak yaklaşık 756 da alanda yürütülmüştür. Bölgede 756 da örtü altı domates serasından alınan hastalıklı domates bitkisi örneklerinden 447.4 da alanın simptomatolojik olarak *Fusarium oxysporum* ile bulaşık olduğu belirlenmiştir.

2- Adana ilinin Seyhan, Yüreğir, Karataş ve Ceyhan ilçelerinde toplam 180 da alanı temsil eden 41 serada gözlemler ve örneklemeler yapılmış, bunun 122,5 da'lık kısmını oluşturan 23 seranın *Fusarium oxysporum* hastalığı ile infekteli olduğu belirlenmiştir. Mersin iline bağlı Merkez, Erdemli, Silifke ve Tarsus ilçelerinde toplam 576 da alanı temsil eden 174 serada gözlemler ve örneklemeler yapılmış, bunun 324.9 da'lık kısmını oluşturan 104 seranın *Fusarium oxysporum* ile infekteli olduğu belirlenmiştir. Adana ilinde hastalık yaygınlığı hastalıklı sera sayısı açısından % 56.1, hastalıklı sera alanı açısından ise % 68.1 olarak bulunurken, Mersin ilinde hastalık yaygınlığı hastalıklı sera sayısı açısından % 59.7, hastalıklı sera alanı % 56.4 olarak hesaplanmıştır.

3- Adana ilinde örtü altı domates yetiştirilen seralarda ortalama *Fusarium oxysporum* hastalık oluşumu ve şiddeti sırasıyla, % 35.0 ve % 18.1 olarak saptanmıştır. Adana iline bağlı bölgeler arasında en yüksek hastalık oluşumu ve şiddeti % 41.2 ve % 21.0 oranıyla Ceyhan ilçesinde saptanırken bunu hastalık oluşumu açısından sırasıyla, Yüreğir, Karataş ve Seyhan ilçesi izlemiştir. Hastalık şiddeti açısından Ceyhan ilçesini % 19.1'lik bir oranla Karataş, Yüreğir ve Seyhan takip etmiştir. Mersin ili örtü altı domates seralarında belirlenen *Fusarium oxysporum* hastalığının ortalama hastalık oluşumu % 43.2 ve hastalık şiddeti % 20.4 olarak saptanmıştır. Mersin ilinde yapılan survey çalışmasında en yüksek *Fusarium oxysporum* hastalığına % 57.3 hastalık oluşumu ve % 30.0 hastalık şiddeti ile domates yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Merkez ilçe Adanalıoğlu beldesinde belirlenmiştir. Bunu sırasıyla Erdemli, Tarsus ve Silifke ilçeleri izlemiştir.

4- Adana ve Mersin il ve ilçelerindeki örtüaltı domates üreten üreticilerden elde edilen bilgilerden, özellikle alan olarak yoğun yetiştiricilik yapan beldelerde ekim nöbeti uygulamasına dikkat edilmediği tespit edilmiştir. *Fusarium oxysporum* ile bulaşık alanlardaki seralarda hasat artıklarının sökülmesi sırasında sera toprağından iyi bir şekilde temizlenmediği ve sera dışında imha edilmesine dikkat edilmediği, bitki artıklarının sera yakınındaki sulama kanallarına atıldığı, bu nedenle her yıl potansiyel bir inokulum kaynağının oluşmasına ve bu inokulumun uzun yıllar canlılığını devam ettirmesine olanak sağlandığı düşünülmektedir. Özellikle örtü altı domates yetiştiriciliğinin alan olarak yoğun olduğu Mersin ili Adanalıoğlu,

Yenitaşkent ve Kocahasanlı beldelerinde sera çevresine ve sulama kanallarına hasat artıklarının atılması sonucu bitişik seralarda bu hastalıklara sıkça rastlanmıştır. Bu nedenle, toprakta ve bitki atıklarında klamidospore formunda uzun yıllar canlı kalabilen *Fusarium oxysporum*'un bu beldelerde sorun teşkil edeceği ve önemli ekonomik zarara neden olabileceği kaçınılmazdır. Özellikle, *Fusarium oxysporum f.sp. radicle lycopersici* ile bulaşık olan bitkilerin kök sistemi ve kök boğazı üzerinde aşırı düzeyde spor oluşturması nedeniyle sera içinde kolaylıkla yayılabildiği için bulaşık ve ölen bitkilerin dikkatli bir şekilde imha edilmeleri gerekmektedir.

5- Adana bölgesindeki survey yapılan domates seralarından alınan toprak örneklerinde pH değerleri 5.4 – 7.0 olarak hafif asit- nötr toprak arasında saptanmıştır. Tuzluluk oranları ise 0.45 – 1.45 tuzsuz- az tuzlu toprak özelliklerine sahip olduğu belirlenmiştir. Toprak pH'sının Mersin ilinde hastalığın oluşumunda etken olmadığı fakat Adana ili beldelerinde *Fusarium oxysporum*'un patojen olan FORL ve FOL formlarının yaygınlığının artmasında etken olabileceği düşünülmektedir. Özellikle FORL'un artmasında düşük toprak pH' sı, amonyum azotu (2 kg/da) uygulamasının etken olabileceği kanısına varılmıştır.

6- Mersin il ve ilçelerinde toprak pH'sı alkali yapıda olup, çoğunlukla nitrat formunda gübre kullanıldığı tespit edilmiştir. Mersin ilinde domates yetiştiriciliğinin yoğun yapıldığı alanlarda özellikle FORL infeksiyonlarının artmasında; kötü sera koşulları, ısıtma problemi, sera içerisindeki su birikintileri, bitki artıklarının sera toprağından iyi temizlenmemesi ve sera çevresine atılarak inokulum kaynağı oluşturması, serada her yıl aynı domates çeşidi yetiştiriciliği yapılması, sera konstrüksiyon dezenfeksiyonuna önem verilmemesi sonucu FORL mikrokonidilerinin yayılmasına imkan tanınması ile tekrarlı infeksiyonların olması başlıca nedenler olarak düşünülmektedir.

7- Patojenite denemelerinde, her seradan elde edilen izolatlardan rastgele bir tanesi ile bitkiler inokule edilmiştir. Toplam 127 izolatın denendiği bu çalışmada, 123 izolatın patojenik özellik gösterdiği belirlenmiştir. Patojenite çalışmaları sonucu hastalık şiddeti % 70 ve üzeri olan, farklı bölgelere ait, 87 izolat PCR çalışmalarında kullanılmış bunların hastalık indeksi, hastalık şiddeti, semptomatolojik ve kültürel

tanımları açıklanmıştır. Böylece 87 farklı bölgelere ait izolatın tanımlanmasında simptomatolojik ve PCR sonuçları karşılaştırılmıştır.

8- Adana ve Mersin bölgelerinde örtü altı domates seralarından elde edilen ve patojenite çalışmaları sonucunda virülenslikleri belirlenen farklı beldelere ait 87 *Fusarium oxysporum* izolatın formae specialis ve ırkları PCR çalışması ile tespit edilmiştir. Bu çalışmada uni (*Fusarium oxysporum*), sp13 (FOL 1 ve FOL 3 ırklarını), sp23 (FOL 2 ve FOL 3 ırklarını) ve sprl (FORL) olmak üzere 4 farklı primer seti kullanılmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda toplam 87 izolattan % 60'ı (52 izolat) *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (FORL) olarak belirlenirken, % 40'ı (35 izolat) *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) olarak tespit edilmiştir.

PCR çalışma sonuçlarına göre bölgede hakim olan türün FORL ve FOL 3 ırkı olduğu bulunmuştur. Bazı bölge izolatlarının domates bitkilerinde oluşturdukları simptomlar esasından yapılan ayrımları ile PCR sonuçları arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Simptomatolojik olarak belirlemede 87 izolatın 61'i (%70) FORL ve 26'sı (%30) izolatı FOL olarak tespit edilirken, PCR sonuçlarında 52 (%60) izolat FORL ve 35 (%40) izolat FOL olarak saptanmıştır. Ancak, PCR sonuçlarının tanımlama açısından daha güvenilir ve kesin olması nedeniyle, bu yöntemin pratiğe aktarılması sonucu hastalığın tanısı daha çabuk ve kolay olacaktır.

9- PCR çalışmaları sonucunda bölgede hakim olduğu belirlenen 5 farklı beldeden FORL ve FOL 3 ırkına ait izolatlar alınarak, PDA ve CLA ortamlarında makroskopik ve mikroskopik tanımlama çalışması yapılmıştır. FORL olarak belirlenen 5 izolat da beyaz ve açık mor renk vermiş, alt yüzeyde ise özellikle merkezde belirgin koyu mor rengin hakim olduğu gözlemlenmiştir. FOL izolatlarından FOL3 ırkının PDA ortamında koloni üst yüzeyinin beyaz ve alt yüzeyinin ise çoğunlukla beyaz ve azda olsa soluk pembe renkte olduğu belirlenmiştir. CLA ortamında FORL izolatlarında makrokonidilerin uzunlukları 32.5 – 57.5 µm ve mikrokonidi uzunlukları 12-20 µm arasında değişirken ve FOL3 ırkına ait izolatlarda makrokonidiler 27.5 - 50 µm ve mikrokonidiler 10.5 - 15 µm arasında olmuştur. Bu her iki formun makroskopik ve mikroskopik özellikleri *Fusarium*

oxysporum'un tanılanmasında aynı morfolojik özellikleri gösterdikleri gözlemlenmiştir.

10- Çeşit reaksiyonu denemelerinde, farklı domates çeşitlerinin kök ve kök boğazı çürüklüğü etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici*'ye karşı reaksiyonlarını belirlemede; bütün çeşitlerde gelişmede bir gerileme, yapraklarda solma ve turgor kaybı, kök ve kök boğazında belirgin şekilde kararmalar görülmüştür. FORL enfeksiyonuna en duyarlı domates çeşidi sırasıyla 2.83 hastalık indeksi ve % 94.44 hastalık şiddeti ile Etna F₁ çeşidi olmuş, bunu 2.75 ve % 91.67 ile Alsancak F₁ çeşidi, Mondi F₁, Tuana F₁, Zümrüt F₁, May Klado F₁, Sultan F₁, Redo F₁, Maydo F₁, Grando F₁, Jana F₁ ve Aksu F₁ domates çeşitleri izlemiştir

11- FORL enfeksiyonunun entegre hastalık yönetimi çalışmaları;

a- Solarizasyon uygulaması; 2008 yılında sera toprağının 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerinde maksimum toprak sıcaklık değerleri solarizasyon uygulanan parsellerde sırasıyla 52.0°, 47.8°, 41.5° ve 36.6 °C olurken; solarizasyon uygulanmayan kontrol parselinde 43.2°, 40.6°, 37.7°, 33.8 °C olarak ölçülmüştür. 2009 yılında 5, 15, 25 ve 35 cm toprak derinliklerindeki maksimum toprak sıcaklık değerleri solarizasyon uygulanmış parsellerde sırasıyla 49.7°, 47.3°, 42.4° ve 36.2 °C olurken, solarizasyon uygulanmayan kontrol parselinde sırasıyla 38.6°, 36.3°, 34.2° ve 32.6 °C olarak belirlenmiştir. Uygulama öncesi toprak ve gömülen FORL inokulumuna karşı solarizasyon ile ulaşılan bu sıcaklıklarda 5, 15, 25 cm'de patojenin ölümü için gereksinilen seviyelere eriştiği belirlenmiştir. Toprağın üst tabakalarında daha yüksek sıcaklıklar nedeniyle solarizasyon etkili olurken 35 cm'de öldürücü sıcaklığa ulaşmadığı saptanmıştır. Ancak gerek toprakta gerekse gömülü inokulum halindeki patojen popülasyonuna bu derinlikte Solarizasyon +MS uygulaması etkili olurken, yalnız solarizasyon uygulanan parsellerde patojenin daha az azaldığı belirlenmiştir.

b- Sera koşullarında domates üretiminde *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*'i (FORL) mücadelesinde sürdürülebilirlik ilkesinden hareket edilerek *Thricoderma harzianum*, *Basillus subtilis* ve kompost gibi doğal ve biyolojik çevre dostu girdiler Solarizasyon ve Metham Sodium uygulamalarına dahil edilerek 2008 - 2009 yıllarında iki yıl süreyle araştırılmıştır. Böylece ürün üretimi yapılırken

çevrenin korunması suretiyle başta insan olmak üzere hedef patojen FORL dışında kalan canlıların olumsuz bir şekilde etkilenmelerine müsaade edilmemiştir. Her iki yıl sera denemelerinde enfekteli bitki oluşumu en az S+MS uygulamasından sırasıyla % enfekteli bitki oranı en düşük olan uygulama birinci yıl % 21.3 oranla BS uygulaması, ikinci yıl ise % 20.0 ile TH-T uygulamasından elde edilmiştir. Uygulamaların % etkisine bakıldığında, FORL hastalığı oluşumu birinci yıl BS, ikinci yıl TH-T biyolojik ajan uygulaması ile sırasıyla % 73.8 ile % 73.6 oranında engellemiş ve en az % etki TH-G (% 52.4 -% 61.3) uygulamasından elde edilmiştir. Biyolojik prepertalar içerisinde en ümit var sonuçlar birinci yıl uygulamalarında BS (% 73.8) ve ikinci yıl uygulamalarında TH-T (% 73.6) uygulamasında elde edilmiştir. Yalnız Solarizasyon uygulanan parsellerde biyolojik ajanların enfekteli bitki oranı ve uygulamaların etkinliği açısından her iki deneme yılında en iyi sonuçlar BS uygulamasından sırasıyla % 41.3 – 44.0 ve % 49.2 – 41.9 elde edilmiştir.

Her iki yıla ait çalışma sonuçlarına göre BS ve TH-T biyolojik mücadele etmenleri uygulamalarının FORL nedeni kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığının mücadelesinde önemli derecede etkili olmuştur. Çalışmamızda yıllar itibariyle biyolojik ajanlar arasında etkinlikteki değişikliğin, Howell (2003)'in de ifade ettiği üzere biyolojik mücadelenin etmene, patojene, konukçu bitki interaksyonuna ve mikrofloradaki diğer organizmalara bağlı olması ile ilişkili olabileceği kanısına varılmıştır.

Çalışmamızda FORL ile mücadelede yalnız başına solarizasyon uygulamasına göre, 6 haftalık uygulanan solarizasyon ve MS (100lt/da) kombinasyonu hastalık çıkışına karşı en etkili uygulama olarak belirlenmiştir. Çalışma sonuçları, toprak kökenli patojenlerle mücadelede etkinliğin artırılması ve çevre direncinin korunması için tek başına uygulamalardan ziyade, sistemin bütün olarak düşünülmesi ve mücadelede solarizasyon, fumigant, biyo-fungusitler, yada diğer ajanların kombinasyonları ile yapılan uygulamaların kontroldeki başarıyı artıracağını ortaya koymuştur.

c- Uygulamaların verime olan etkisi açısından, her iki yıl verilerinde uygulamaların uygulama yapılmayan parsellere oranla verimde artış sağladığı

görülmüştür. Solarizasyon ve Solarizasyon + MS uygulamalarına dahil edilen biyolojik preperatlarda en yüksek verim TH-T ve BS uygulamalarından elde edilmiştir. S ve S+MS uygulamalarının domatesin pazarlanabilir kalitesini artırmıştır. Ayrıca bu iki biyolojik preperatın bitki kök gelişiminde ve büyümesinde etkili olduğu kanısına varılmıştır.

Bu çalışma sonuçları doğrultusunda; Doğu Akdeniz Bölgesi'nde örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda FORL'un neden olduğu domates kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığının önemli fungal hastalıklardan biri olduğu belirlenmiştir. Solgunluk ve kök ve kökboğazı hastalık patojenlerinin yaygınlık oranları ile toprak ve sulama suyunda bulunan inokulum oranının ilişkili olması ve bu inokulumun uzun yıllar toprakta klamidospore formunda canlı kalabilmesi nedeniyle ekim nöbeti uygulanmayan alanlarda çok tahripkar sonuçlara neden olabileceği muhakkaktır. Bu nedenle, üreticilerin toprak kökenli patojenlerin kontrolündeki zorluklar, ekim nöbeti, gübreleme, uygun toprak pH'sı, sera ve çevresindeki bitki artıklarının imhası gibi konularda yeterli bilgileri olmadıkları açıktır. Bu çalışma sonucu simptomatolojik ve moleküler yöntemle (PCR) bölgede ilk kez örtüaltı domates yetiştiriciliğinde yaygın olan patojenin FORL ve FOL 3 ırkı olduğu ortaya konulmuştur. Böylece bölge için belirlenen bu form ve ırka dayanıklı çeşitlerin geliştirilerek yetiştiricilikte kullanılması daha uygun olacaktır. Islah çalışmaları yapacak araştırmacılara bu çalışmaların temel teşkil edeceğine inanmaktayız. Bu çalışma sonuçları doğrultusunda FORL ile mücadelede kullanılan biyolojik ajanların birlikte kullanılmaları ayrıca araştırılmalıdır. Böylece birbirine rekabetçi olmayan birbirini tamamlayıcı biyo ajanların FORL ile mücadelede etkinliği ne derece artırabileceği anlaşılmış olacaktır. Ayrıca bu hastalıkla mücadelede toprağa uygulanan fumigant dozunu azaltarak, fumigantla birlikte solarizasyon uygulamasında süre kısaltılarak (2-4 hafta) ve solarizasyon uygulandıktan sonra fumigant verilmesinin hastalık oluşumuna etkinliği araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- ABAK, K., 2006. VI. Sebze Tarımı Sempozyumu, 19-22 Eylül, K. Maraş, s: 1-5.
- AGRIOS, G. N., 2005. Plant pathology. Fifth edit., Elsevier Academic Pres, Amsterdam, 922 pp.
- AKSAY, A., M. BIÇICI VE Ö.ÇINAR, 1988. Determination of antagonistic mikroorganisms against white rot disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. J. Turk. Phytopath.
- AKSOY, U., 1999. Dünyada ve Türkiye’de ekolojik tarım. Türkiye I. Ekolojik Tarım Sempozyumu Bildiri Özetleri, 21-23 Haziran 1999, S: 1.
- ALTOMARE, C., NORVELLI W.A., BJORKMAN, T. AND HARMAN, G.E., 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai strain 1295-22. Appl. Environ Microbiol 65: 2926-2933.
- AMY LC., JONATHAN S., SUCHETA T., JOHN W EATON AND JASON, 2007. Virus detection and indentification using random multiplex (RT)-PCR with 3’-locked random primers Chesney. Virology Journal:65
- ANDY VIESTRACTE, 1999. Principle of the PCR. Web site: <http://users.ugent.be/~avierstr/principles/pcr.htmlb> (erişim 2010)
- ANONYMOUS, 2007. ATTRA question of the week- How can I image Fusarium on tomatoes. ATTRA National Sustainable Agriculture Information Service, NCAT and USDA.
- ANONYMOUS, 2010. <http://agraquest.com/products/serenade/pdfs/SerenadeASO-Label-2005 PDF>.
- ANONİM, 2007. Adana ve Mersin il Müdürlüğü İstatistik Şubesi, Örtü altı domates alanları
- ARDA, M., 1995. Biyoteknoloji (Bazı Temel İlkeler). Kükem Derneği Bilimsel Yayınları, Baskı, Ankara, No: 3, s. 432.
- ARI, Ş., 1999. DNA’nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılması. (G. Temizkan, N. Arda, eds) Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Biyogem, yayın no: 1, s: 57-67.

- ARIE, T., GOUTHU, S., SHIMAZAKI, S., KAMAKURA, T., KIMURA, M., INOUE, M., TAKIO, K., OZAKI, A., YONEYAMA, K. AND YAMAGUCHI, I., 1998. Immunological detection of *endo* oligalacturonase secretion by *Fusarium oxysporum* in plant tissue and sequencing of its encoding gene. Annual Phytopathol Soc Jpn 64:7–15.
- ATTITALLA, I. H., FATEHI, J., LEVENFORS, J., AND BRISHAMMAR, S., 2004. A Rapid molecular method for differentiating two special forms (*lycopersici* and *radicis-lycopersici*) Of *Fusarium oxysporum*. Mycol. Res., 108 (7):787-794.
- ATTITALLA, I., 2004. Biological and molecular characteristics of microorganism-Stimulated defence response in *Lycopersicon esculentum*-L., 2004. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology 943.
- AYED, F., DAAMI-REMADI, M., JABNOUN- KHIAREDDINE, H., AND EL MAHJOUB, M. 2006. Potato Vascular *Fusarium* wilt in Tunisia: Incidence and biocontrol by *Trichoderma* spp. Plant Pathology Journal 5: 92-98.
- BACKMAN, P. A., AND J. C. JACOBI. 1997. Developing thresholds for plant disease management. Pp 114-127 In: Economic Thresholds for Integrated Pest Management. L. Higley and L. Pedigo eds. University of Nebraska Press 356p.
- BLANCARD, A., 1993. Maladies de la Tomate. (Domates Hastalıkları Çeviri). Bitkisel Üretim Serisi 2, Hasat Yayıncılık, 170-179.
- BALALI, G.R AND IRANPOOR, M., 2006. Identification and Genetic variation of *Fusarium* species in Isfahan, Iran, Using pectic zymogram technique. IRANIAN Journal of Science & Technology, Trans.A, 30(A1), p: 91-102.
- BALMAS, V., SCHERM, B., DI PRIMO, P., RAU, D., MARCELLO, A., AND MIGHELÌ, Q., 2005. Molecular characterisation of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and f. sp. *lycopersici* by random amplification of polymorphic DNA and microsatellite-primed PCR. European Journal of Plant Pathology, 111:1-8.

- BAO, J., D. FARVEL, G. LAZAROVITS, D. CHELLEMI, P. VAN BERKUM AND N. O'NEILL, 2001. Population structure of *Fusarium oxysporum* in conventional and organic tomato production in Florida. APS. SON. MSA, Joint Meeting Salt Lake City, Utah Poster Session B.
- BASSALLOTE, M. AND J.M.MELERO, 1994. Biological control of White rot of garlic in southern Spain. Proceedings 9 th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası, Türkiye, 225-227.
- BAYRAKTAR, K., 1981. Sebze Yetiştirme, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 169, Ders Kitabı, Cilt II, 2. Basım, s: 479.
- BENITEZ, T., RINCON, A.M., LIMON, M.C. AND CODON, A.C., 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7 (4), p: 249-260.
- BECKER, J. O. AND SCHWINN, F. J. 1993. Control of soil-borne pathogens with living bacteria and fungi, status and outlook. *Pestic. Sci.* 37: 355 -363.
- BECKMAN, C.H., 1987. The Nature of Wilt Diseases of Plant. APS Press, St. Paul, MN, USA
- BEN-YEPHET, Y., SITI, E., AND FRANK, Z., 1983. Control of *Verticillium dahliae* by Metham-sodium in loessial soil and effect on potato tuber yields. *Plant Diseases* 67: 1223-1225.
- BLUM, L.E.B., 2000. Reduction of incidence and severity of *septoria lycopersici* leaf spot of tomato with bacteria and yeasts. *Ciencia Rural*:30(5), 761 -765.
- BOLWERK, A., LAGOPODI, A. L., WIJFJES, A. H. M., LAMERS, G. E. M., CHIN-A-WOENG, T. F. C., LUGTENBERG B. J. J., AND BLOEMBERG, G. V. 2003. Interaction in the tomato rhizosphere of two *Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Molecular Plant Microbe Interaction* 16: 983-993.
- BROADBENT, P., BAKER, K. F., FRANKS, N., HOLAND, J. 1977. Effect of *Bacillus* spp. On increased growth of seedlings in steamed and in nontreated soil. *Phytopathology* 67: 1027-1034.
- BOADO, I., E. QUINTANA, E. PELAYO, N. GONZALEZ AND D. MARTIN, 1999. Report on *Pseudomonas putida* and Its Effect on *Phytophthora*

- parasitica* Dastur in Tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Miller). Cultivos-Tropicales:20/2, 21-31.
- BOGALE, M., WINGFIELD, B. D., WINGFIELD, M. J., AND STEENKAMP, E. T, 2007. Species-specific primers for *Fusarium redolens* and PCR-RFLP technique to distinguish among three clades of *Fusarium oxysporum*. FEMS Microbiol Lett, 271:27-32.
- BORA, T. VE KARACA, İ., 1970. Kùltür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi, E.Ü. Matbaası, İzmir,43s
- BORA, T., H. ÖZAKTAN VE M. YILDIZ, 1995. Tarla koşullarında kavun ve karpuz fusarium solgunluklarının siderofor üreten fluorescent Pseudomonas'larla önlenmesi üzerine araştırmalar. VII. Türk. Fit. Kong. 26-29 Eylül 1996 Adana, 216-220.
- BOOT, C., 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 237
- BOWMAN, P., AND J.R. BLOOM, 1966. Breaking the resistance of tomato varieties to *Fusarium* wilt by *Melodiogyne incognita*. Phytopathology 56: 871
- BURGESS, L.W., SUMMERELL, B.A., BULLOCK, S., GOTT K.P. AND BACKHOUSE, D., 1994. Laboratory manual for *Fusarium* research, 3rd edition. University of Sydney, Australia
- CAI, G., ROSEWICH, G.L., SCHNEIDER, R.W., KISTLER, H.C., DAVIS, R.M., ELIAS, K.S. AND MIYAO, E.M., 2003. Origin of race -3 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* at a single site in California. Ecology and Population Biology, APS Pres, Phtopathology, p: 1014-1022.
- CAN, C., H. ELEKCİOĞLU, S. YÜCEL VE M. ÖZARSLANDAN, 2003. Seralarda Domates Fusarium Solgunluğuna Neden Olan Türlerin Tanısı, Hastalık Oluşumunda Nematodlar ile İlişkileri ve mücadele Olanaklarının Belirlenmesi. Tubitak Sonuç Raporu, Proje No: TARP-2371.
- CAN, C., S. YUCEL, N. KOROLEV AND T. KATAN, 2004. First report of fusarium crown and root rot of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in Turkey, Plant Pathology, 53(6):814 -814.

- CAO, A., DUAN, X., ZHANG, X., AND GU, M., 2001. Current status of application of methyl bromide and alternatives in China. Workshop on 'Towards the phase out of Methyl bromide, the Chinese and Italian experience' Beijing, 1-2 March 2001, pages:23-27.
- CAVAGLIERI, L., ORLANDO, J., RODRIGUEZ, M. I., CHULZE, S., AND ETCHEVERRY, M. 2005. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level. Research in Microbiology 156:748-754.
- CHERIF, M. AND BENHAMOU, N. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Phytopathology 80:1406-1414.
- CHELLEMI, D.O., OLSON, S.M., AND MITCHELL, D.J., 1994. Effects of soil solarization and fumigation on survival of soilborne pathogens of tomato in Northern Florida. Plant Disease 78: 1167-1172.
- CHET I., Y. ELAD, A. KALFON, Y. HADAR AND J. KATAN, 1982. Integrated control soil-borne and bulb-borne pathogens in iris. Phytoparasitica, 10: 229-231.
- CHET, I. AND INBAR, J., 1994. Biological control of fungal pathogens. Applied Biochemistry and Biotechnology, 48 (1), p: 37-43.
- CHIN-A-WOENG, T. F. C., BLOEMBERG, G. V., VAN DER BIJ, A. J., VAN DER DRIFT, K. M. G. M., SCHRIPSEMA, J., KROON, B., SCHEFFER, R. J., KEEL, C., BAKKER, P. A. H. M., TICHY, H. V., DE BRUIJN, F. J., THOMAS-OATES, J. E., AND LUGTENBERG, B. J. J. 1998. Biocontrol by phenazine-1-carbox-amideproducing *Pseudomonas chlororaphis* PCL139 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Molecular Plant Microbe Interaction 11: 1069-1077.
- CSINOS, A.S., SUMNER, D.R., JOHNSON, W.C., JOHNSON, A.W., MCPHERSON, R.M., DOWLER, C.C., 2000. Methyl bromide alternatives in tobacco, tomato and pepper transplant production. Crop Protection, 19 (1): 39-49.

- COOK, R. J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathology* 31: 53 -80.
- COLLINS, D. P. AND JACOBSEN, B., 2002. Optimizing a *Bacillus subtilis* isolate for biological control of sugar beet cercospora leaf spot. *Biological Control* 26:153-161.
- ÇINAR, Ö. AND BİÇİCİ, M., 1985. The group studies on investigating various methods as and alternative to chemical control measures for pathogenic fungi. *Journal of Turkish Phytopathology* 14 (3): 88-89.
- DAAMI-REMADI, M., HIBAR, K., JABNOUN- KHIAREDDINE, H., AYED, F., AND EL MAHJOUR, M. 2006. Effect of two *Trichoderma* species on severity of potato tuber dry rot caused by Tunisian *Fusarium* complex. *International Journal of Agricultural Research* 1: 432-441.
- DARLING, D.C. AND BRICKELL, P.M., 1994. *Nucleic Acid Blotting: The basics* Oxford University Press Inc., New York, p:111.
- DATNOFF L.E., NEMEC, S., PERNEZNY, K. 1995. Biological control of *Fusarium* crown and root rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. *Biological Control* 5:427-31.
- DEKKERS, L. C., MULDER, I. H. M., PHOELICH, C. C., CHIN-A-WOENG, T. F. C., WIJFJES, A. H. M., AND LUGTENBERG, B. J. J. 2000. The colonization gene of the tomato-*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* spp. bacteria. *Molecular Plant Microbe Interaction* 13:1177-1183.
- DELEN, N., 1999. Pestisitlerin çevre ve sağlık sorunları yönünden irdelenmesi. ekolojik tarım eğitimi ders notları, ETO (Ekolojik Tarım Organizasyonu Derneği), Kasım 1999, 9-19.
- DI PIETRO, A. AND RONCERO, M.I.G., 1998. Cloning, expression, and role in pathogenicity of *pg1* encoding the major extracellular *endo* polygalacturonase of the vascular wilt pathogen *Fusarium oxysporum*. *Mol Plant Microbe Interact* 11: 91–98
- DUNLEAVY, J., 1955. Control of damping off of sugarbeet by *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 45: 252-258.

- EDEL, V., STENBERG, C., AVELANGE I., LAGUERRE, G., AND ALA BOUVETTE, C. 1995. Comparasion of three moleculer methods for the characterization of *Fusarium oxysporum* strains. *Phytopathology* 85: 579-585.
- ELAD, Y., BARAK, R. AND CHET, I. 1984. Parasitism of *Sclerotium rolfsii* sclerotia by *Trichoderma harzianum*. *Soil. Bio. Biochem*, 16: 381-386.
- EL-ABYAD M.S., M.A EL-SAYED, A.R. EL-SHANSOURY AND S.A. EL-SABBAGH, 1993. Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic *Streptomyces* spp. *Plant Soil* 149, 185–195.
- ELEKÇIOĞLU, İ.H. VE UYGUN, N., 1994. Occurence and distirbution of plants parasitic nematodes in cash crop in Eastren Mediterranean region of Turkiye. *Proc. of 9th Congress of the Mediterreanean Phytopathological Union*, Kuşadası/Türkiye, s: 409-410.
- EL-SHANSHOURY A.R., S.M. EL-SOUOUD, O.A. AWADALLA AND N.B. EL-BANDY, 1996. Effects of *Streptomyces corchorusii*, *Streptomyces mutabilis*, mendimethalin and metribuzin on the control of bacterial and Fusarium wilt of tomato. *Canadian Journal of Botany* 74, 1016–1022.
- ERKILIÇ, A. VE A. ÇINAR, 1991. Hıyar seralarında toprak kökenli bitki patojenlerine karşı solarizasyon ile methyl-bromide'nin etkinliği üzerinde bir araştırma. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 7-11 Ekim 1991, 111-114. İzmir.
- ERKILIÇ, A., ÇINAR, O. AND AYSAN, Y., 1994. Effects of soil solarization and chemical methods on bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) on tomato. 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası, Turkey, p:397-399.
- ESHEL, D., GAMLIEL, A., GRINSTEIN, A., DI PRIMO, P., AND KATAN J. 2000. Combined soil treatments and sequence of application in improving the control of soilborne pathogens. *Phytopathology* 90: 751-757.

- ESTEVEZ DE JENSEN, C., PERCICH, J. A., AND GRAHAM, P. H., 2002. Integrated management strategies of bean root rot with *Bacillus subtilis* and *Rhizobium* in Minnesota. Field Crops Research 74: 107-115.
- FARLEY, J., G. OAKES, AND C. JABERG, 1975. A new greenhouse tomato root rot disease caused by *Fusarium oxysporum*. A preliminary report. Ohio Agr. Res. Dev. Cent. Res. Summary 82: 27-29.
- FATTAH, F. VE J.M. WEBSTER, 1983. Ultrastructural changes caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in *Meloidogyne javanica* induced giant cells in Fusarium resistant and susceptible tomato cultivars, Journal of Nematology 15(1):128-135.
- FRANK, Z. R., Y. BEN-YEPHET, AND J. KATAN. 1986. Synergistic effect of metham and solarization in controlling delimited shell spots of peanut pods. Crop Protection 5:199.
- FRAVEL, D.R., 2000. Commercial Biocontrol Products Available for use Against Plant Pathogens Online web: <http://www.oardc.ohio-state.edu/apsbcc/productlist2005USA.htm>
- FRAVEL, D. R., BAILEY, B. A., AND BAO, J., 2002. Differences in gene expression between pathogenic and biocontrol Fusarium. USDA, ARS, Beltsville, MD.
- FREEMAN, S. AND KATAN, J., 1988. Weakening effect on propagules of Fusarium by sublethal heating. Phytopathology 78: 1656-1661.
- FUENTES, P., ABALLAY, E., MONTEALEGRO, J.R., 1997. Soil solarization and fumigation for the control of nematodes in a monocultivated soil with tomatoes. Lima Peru, Association Latinoamerica de Fitopatologia (AFL) Fitopatologia 32 (1).
- FAWCET, C.H. AND SPENCER, D. M., 1970. Plant chemotherapy with natural products. Annual Rew. Of Phytopathology; 403- 418.
- GALE, L.R., KATAN, T. AND KISTLER, H.C ., 2003. The probable center of origin of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* VCG 0033. Plant Disease 87: 1433–1438.

- GARIBALDI, A., 1975. Race differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Prill. et Del.) Snyd. et Hans. Meded Fac Landbouwwet Rijksuniv Gent 40:531–537
- GARIBALDI, A., 1995. Soilborne pathogens in greenhouse crops and their control. Integrated Pest and Disease Management in Protected crops, 19-20 June, 1995, IAMZ, Zaragoza
- GERSON, U., YATHOM, S. AND KATAN, J., 1981. A demonstration of bulb mite control by solar heating of the soil. *Phytoparasitica* 9: 153-155.
- GRISTEIN, A., KATAN, J., ABDUL RAZIK, A., ZEYDAN, O. AND ELAD, Y., 1979. Control of *Sclerotium rolfsii* and weeds in peanuts by solar heating of the soil. *Plant Disease* 63: 1056-1059.
- GRISTEIN, A. AND A.HETZRONI, 1989. The technology of soil solarization. International symposium on new applications of solar energy in agriculture siracusa 11-14 Dicembre Universita degli studi di Catania.
- GULLINO, M.L., MINUTA, A., GARIBALDI, A., AND AJWA A.A., 2002. Technical advances in fumigant application for soil disinfestation. International conference, The BCPC Conference, Pest and Diseases, 18-21 November, 2002. pages: 867-872.
- GUO, J.H., QI, H.Y., GUO, Y.H., GE, H.L., GONG, L.Y., ZHANG, L.X. AND SUN, P.H., 2004. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control*, 29 (1):66-72.
- HARMAN, G. E., 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96: 190-194.
- HARMAN, G. E. AND KUBICEK, C. P., 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*, Enzymes, Biological Control and Commercial Applications, Vol. 2. Taylor & Francis, London pages: 1-393 .
- HAJLAOUI, MR., HAMZA N., GARGOURI, S., GUERMECH, A., 2001. Apparition en Tunisie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-ycopersici*, agent de la pourriture des racines et du collet de la tomate. OEPP/EPPO Bull 31: 505–507.

- HAWKSWORTH, D. L., KIRK, P. M., SUTTON, B. C., AND PEGLER, D. N., 1995. Aisworth & Bisby's -Dictionary of Fungi. Eighth Ed., CAB international, Oxon, UK, 616 pp.
- HIBAR K., 2002. La fusariose du collet et des racines de la tomate: Pathogénicité et moyens de lutte. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies en Protection des Plantes et Environnement. Tunisie, Ecole Supérieure d'Horticulture et d'Elevage de Chott Mariem, 2002, 54 pp.
- HIBAR, K., DAAMI-REMADI, M., KHIAREDDINE, H., AND EL MAHJOUB, M. 2005. Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Biotechnologie Agronomie Société et Environnement 9: 163-171.
- HIBAR, K., DAAMI-REMADI, M., HAMADA W., AND EL-MAHJOUB M. 2006. Bio-fungicides as an alternative for tomato *Fusarium* crown and root rot control. Tunisian Journal of Plant Protection 1: 19-29.
- HIBAR, K., EDEL-HERMAN, V., STEINBERG, CH., GAUTHERON, N., DAAMI-REMADI, M., ALABOUVETTE, C., AND ELMAHJOUB, M., 2007a. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* populations isolated from tomato plants in Tunisia. Journal of Phytopathology, 155 (3):136-142.
- HIBAR, K., DAAMI-REMADI, M., AND EL MAHJOUB, M. 2007b. Induction of resistance in tomato plants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* by *Trichoderma* spp. Tunisian Journal of Plant Protection 2: 47-58.
- HIRANO, Y. AND ARIE, T., 2006. PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum* ff. sp. *lycopersici* and *radicis-lycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. J Gen Plant Pathology 72: 273–283.
- HOFFMAN, G.M. AND H.P.MALKOMES, 1974. Bromide residues in vegetable crops after soil fumigation with methyl bromide. Agric. Environ., 1:321-328.
- HOWELL, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease 87: 4-10.

- HUANG, C.J., WANG, T.K., CHUNG, S.C. AND CHEN, C.Y., 2005. Identification of an antifungal chitinase from a potential biocontrol agent, *Bacillus cereus* 28-9. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, 38(1), p: 82-88.
- INBAR, J., ABRAMSKY, M., COEN, D., AND CHET, I., 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. *Eur. Journal Plant Pathology* 100: 337-346.
- IOANNOU, N., 2000. Soil Solarization as a Substitute for Methyl Bromide Fumigation in Greenhouse Tomato Production in Cyprus. *Phytoparasitica* 28(3):248-256.
- JARVIS, W. R., AND SHOEMAKER, R. A., 1978. Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. *Phytopathology*, 68 (12):1679-1680.
- JONES, J. B., JONES, J. P., STALL, R. E., AND ZITTER, T. A., 1991. Compendium of Tomato Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN., p:14-15.
- JOHN, F. LESLIE AND SUMMERELL, A. BRETT., 2006. The *Fusarium* Laboratory manual, p. 212.
- JUAREZ-PALACIOS, C., FELIX-GASTELUM, R., WAKEMAN, R.J., PAPLOMATAS, E.J. AND DeVAY, J.E., 1991. Thermal sensitivity of three species of *Phytophthora* and the effect soil solarization on their survival. *Plant Diseases* 75: 1160-1164.
- KAPOOR I.J. AND B. KAR, 1988. Antagonistic effects of soil microbes *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopercici* causing tomato wilt. *International Journal of Tropical Plant Diseases* 6, 257–262.
- KATAN, J., GREENBERGER, A., ALON, H. AND GRINSTEIN, A., 1975. Increasing soil temperatures by mulching for the control of soil-borne diseases. *Phytoparasitica* 3: 69-70 .

- KATAN, J., GREENBERGER, A., ALON, H. AND GRINSTEIN, A., 1976. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soil-borne pathogens. *Phytopathology* 66: 683-688.
- KATAN, J., 1980. Solar pasteurization of soils for diseases control: Status and Prospects. *Plant Disease* 64 (5): 450-454.
- KATAN, J., 1981. Solar heating (Solarization) of soil for control of soilborne pests. *Ann. Rev. Phytopath.* 19: 211-236.
- KATAN, T., ZAMIR, D., SARFATI, M. AND KATAN, J., 1991. Vegetative compatibility groups and subgroups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology* 81: 255-262.
- KATAN, J. AND DeVAY, J.E., 1991. Soil Solarization (Editors of Books) CRC Press, Boca Raton, FL.
- KATAN, J., 1996. Soil solarization: Integrated control aspects. *in*: Hall, R. [Ed.] Principles and Practice of Managing Soilborne Plant Pathogens. APS Press, St. Paul, MN, USA. pp. 250-278.
- KATAN, T., 1997. Vegetative Compatibility in Populations of *Verticillium*-an Overview. (E.J.Tjamos, R.C.Rowe, J.B. Hale and D.r. Farvel, eds). *Advances in Verticillium Research and Diseases management*. APS Pres. St. Paul, Mnn., p:69-86.
- KATAN, T., SHLEVIN, E. AND KATAN, J., 1997. Sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on stem surfaces of tomato plants and aerial dissemination of inoculum. *Phytopathology* 87: 712-719.
- KAYGUSUZ, Y. K., VE BİÇİCİ, M., 2007. Adana yöresi sebze yetiştirilen alanlarda fungal hastalıklara karşı kullanılan fungusitlerin hastalıklarla mücadele ve çevre yönünden etkileri. Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, 27 - 29 Ağustos 2007, Isparta
- KAYRIN, L., AKSOY, K., TULI, A., ÇÜRÜK, M.A VE ATILLA, G., 2003. Tanıda DNA Teknikleri. Çukurova Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı, VI. Biyokimya, Yaz Okulu, Adna, 64s.
- KAWABE, M., KOBAYASH, Y., OKADA, G., YAMAGUCH, I., TERAOKA, T., AND ARIE, T., 2005. Three evolutionary lineages of tomato wilt pathogen,

- Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, based on sequences of IGS, *MAT1* and *pg1* are each composed of isolates of a single mating type, and a single or closely related vegetative compatibility groups. J Gen Plant Pathol 71: 263–272.
- KEEN, N.T. AND TAMAKI, S., 1986. Structure of two pectate lyase genes from *Erwinia chrysanthemi* EC16 and their high-level expression in *Escherichia coli*. J Bacteriol 168:595–606.
- KENNEY, D. S., REDDY, M. S., AND KLOEPPER, J. W., 1999, Commercial potential of biological preparations for vegetable transplants. Phytopathology 89: S39.
- KHAN, M.R AND S.M. KHAN, 2002. Effect of root-dip treatment with certain phosphate solubilizing microorganisms on the Fusarial wilt of tomato. Bioresource Technology:85/2, 213 -215
- KLOEPPER, J. W. 1996. Host specificity in microbe-microbe interaction. Bioscience 46: 406 -409.
- KLOEPPER, J. W., LEONG, J., TEINTZE, M., SCHROTH, M. N. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. Nature 286: 885 -886.
- KLOEPPER, J. W., RYU, C.-M., AND ZHANG, S., 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology 94: 1259-1266.
- KILIAN, M., STEINER, U., KREBS, H., JUNGE, G., SCHMIEDEKNECHT, G., AND HAIN, R. 2000. *Bacillus subtilis*-mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. FZB24.Pflanzenschutz- Nachrichten Bayer 1:72-93.
- KURAMAE, E.E. AND DE SOUZA, N.L., 2002. Variabilidade genética entre formas especiais de *Fusarium oxysporum* e Raças 1 e 2 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* através de RAPD e Sequências de Regiões ITS e rDNA. Acta Scientiarum 24 (5): 1481 -1485.
- KUCUK Ç. AND KIVANÇ, M. 2004. In vitro antifungal activity of strains of *Trichoderma harzianum*. Turk J.Biol., 28: 111-115.

- LAINE, U. L., PETTWAY, R. E., KATAN, T., AND KISTLER, H. C., 1999. Population genetic analysis corroborates dispersal of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis -lycopersici* from Florida to Europe. *Phytopathology*, 89: 623-631.
- LARKIN, R.P. AND D.R. FRAVEL, 1998. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Disease*:82/9, 1022 -1028.
- LARKIN, R. P., AND FRAVEL, D. R., 1999. Mechanisms of action and dose-response relationships governing biological control of *Fusarium* wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium* spp. *Phytopathology*, 89: 1152-1161.
- LATOUD, C., PEYPOUX, F., AND MICHEL, G., 1987. Action of iturin A. An antifungal antibiotic from *Bacillus subtilis* on the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Modification of membrane permeability and lipid composition. *Journal Antibiot.* 40, 1588-1595
- LUIGI CIAMPI P., JUAN NISSEN M., ELIZABETH VENEGAS G., RICARDO FUENTES P., MARCIA COSTA L., RENATE SCHÖBITZ T., EDUARDO ALVAREZ D., AND PILAR ALVARADO A., 2008. Identification of two species of *Fusarium* link that cause wilting of colored callas (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.) cultivated under greenhouse conditions in Chile. *Chilean Journal of agricultural research* 69 (4) : 516-525.
- LUMSDEN, R.D, LEWIS, J.A. AND FRAVEL, D.R., 1995. Formulation and delivery of biocontrol agents for use against soil-borne plant pathogens (unpubl. rep. cited in National Research Council. 1996. *Ecologically Based Pest Management: New Solutions for a New Century*. Washington, DC: Natl. Acad. Press. 144 pp.
- MAROIS, J.J. AND D.J. MITCHELL, 1981a. Effects of fumigation and fungal antagonists on the relationships of inoculum density to infection incidence and disease severity in *Fusarium* crown rot of tomato. *Phytopathology*, 71: 167-170.
- MAROIS, J.J. and MITCHELL, D.J., 1981b. Effects of fungal communities on the pathogenic and saprophytic activities of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersic*. *Phytopathology* 71: 1251 – 1256 .

- McGOVEN, R. J., 1994 . Integrated Management of Fusarium Crown and Root Rot of Tomato in Florida. University of Florida, web site: <http://mbao.org/1994airc/032.pdf>
- McGOVEN, R. J., VAVRINA, C. S., NOLING, J. W., DATNOFF, L. A., AND YONCE, H. D. 1998. Evaluation of application methods of metam sodium for management of Fusarium crown and root rot in tomato in southwest Florida. Plant Dis. 82: 919-923.
- McGOVEN, R. J., AND OBREZA, T. A., 2007. Reduction of Fusarium crown and root rot of tomato by combining soil solarization and metham sodium. USDA Agricultural Research Service.
- McSPADDEN GARDENER, B. B., AND FRAVEL, D. R. 2002. Biological control of plant pathogens: Research, commercialization, and application in the USA. Online web:<http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/review/biocontrol>
- McSORLEY, R AND PARRADO, J. L.,1986. Application of soil solarization to Rockdale soils in a subtropical environment. Nematopica 16:125-140.
- MENZIES, J. G., KOCH, C., AND SEYWERT, F., 1990. Additions to the host range of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Plant Disease, 74: 569-572.
- MOMOL, T., PINGSHENG JI, KEN PERNEZNY, ROBERT MCGOVERN, AND STEVE OLSON, 2005. Three Soilborne Tomato Diseases Caused by *Ralstonia* and *Fusarium* Species and their Field Diagnostics. Plant Pathology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Published February 2005. Web site : <http://edis.ifas.ufl.edu>
- MONACO C., SISTERNA, M., PERELLO, A. AND DAL BELLO, G. 2004. Preliminary studies on biological control of the blackpoint complex of wheat in Argentina. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 20 (3): 285-290.
- MULLIS, K., 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. Scientific American April 56-65
- MULLIS, K. and FALOONA, F., 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. Methods Enzymol 155: 335-350

- MUNITO, A., GILARDI, G., POME A., GARIBALDI, A. AND M.L. GULLINO., 2000. Chemical and Physical Alternatives to Methyl Bromide For Soil Disinfestation: Results Against Soilborne Diseases of Protected Vegetable Crops. *Journal of Plant Pathology*, 82 (3), 179-186.
- NEJAD P. AND P.A. JOHNSON, 2000. Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. *Biological Control* 18, 208– 215.
- NELSON, L. A., 1986. Use of statistics in planning, data analysis, and interpretation of fungicide and nematicide tests. Pages 11-23 in: *Methods for Evaluating Pesticides for Control of Plant Pathogens*. K. D. Hickey Ed., APS Pres, St. Paul, MN. 312 pp.
- NELSON, A.J., ELIAS, K.S., AREVALO, E.G., DARLUINGTON, L.C. AND BAILEY, B.A., 1997. Genetic Characterization by RAPD Analysis of Isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. associated with an Emerging Epidemic in Peru. *Phytopathology* 87: 1220-1225.
- NELSON, P.E., TOUSSOUN, T.A. AND MARASAS, W.F.O., 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park
- NETSCHER, C., AND SIKORA, R.A., 1990. Nematode Parasites on Vegetables. In: Luc, M., Sikora, R.A., Bridge, J. (eds). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. CAB Internatioanal, pp 231-283.
- OMAR,I., T. M. O'NEILL VE S. ROSSALL, 2006. Biological control of fusarium crown and root rot of tomato with antagonistic bacteria and integrated control when combined with the fungicide carbendazim. *Plant Pathology* 55: 92-99.
- OZBAY, N. AND STEVEN,E.N., 2004. Fusarium crown and root rot of tomato and control methods. *Plant Pathology Journal* 3 (1): 9-18, 2004
- OZTURK, A., S. YILMAZ, M. KEÇECİ, A. UNLU, A. DEVIREN, A. OZCELIK, S. CETINKAYA, H. CEVRI, F. AKKAYA, AND C.F. OZKAN, 2001. Alternatives to Methyl Bromide for Tomato and Cucumber Protuction in Turkey web site:http://ec.europa.eu/environment/ozone/conference/tomatoprod_spain.pdf

- OZTÜRK, M., 2006. Türkiye’de Yaş Sebze Sektörü ve Dış Ticareti. VI. Sebze Tarımı Sempozyumu, 19-22 Eylül 2006, Kahramanmaraş, s: 187-191.
- OZBAY, N., NEWMAN, S. E., AND BROWN, W.M., 2004. Evaluation of *Trichoderma harzianum* strains to control crown and root rot of greenhouse fresh market tomatoes. Proc. XXVI IHC- Managing Soil-Borne Pathogens, Ed. A. Vanachter, Acta Hort. 635: 79-85.
- PALA, H., BIÇICI, M. VE ÇINAR, Ö., 1991. Çilek kök çürüklüğü primer etmeni *Rhizoctonia solani* Kühn. ve hastalık çıkışı üzerine toprak solarizasyonunun etkilerinin araştırılması. Ç.Ü.Zir. Fak. Derg. 6 (2): 79-88.
- PARRY, D., 1990. Plant Pathology in Agriculture. Cambridge University Pres, Cambridge, 385 pp.
- PENA, R. J. H., 2005. Fusarium wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3, in Baja California Sur, Mexico. Plant Disease 89: 1360.
- PODILE A.R., G.S. PRASAD AND H.C. DUBE, 1985. *Bacillus subtilis* as antagonist to vascular wilt pathogens. Current Science 54, 864–865.
- POWELL, N. T., 1971. Interaction of plant parasitic nematodes with other disease-causing agents. In Plant Parasitic Nematodes Vol. 2: 119-137. (Edited by B. M. Zuckerman, W. F. Mai and R. A. Rohde.)
- PRESTING, G.G., SMITH, O.P., AND BROWN,C.R.,1995. Resistance to potato leafroll virus in potato plants transformed with the coat protein gene or with vector control constructs. Phytopathology 85: 436-442.
- PULLMAN, G.S., J.E. DeVAY AND R.H. GARBER., 1981. Soil solarization and thermal death: A logarithmic relationship between time and temperature for soilborne plant pathogens. Phytopathology 71: 959-964.
- PUNJA, Z.K. AND R. UTKHEDE, 2003. Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. Trends Biotechnol 21: 400-407.
- REDDY, M. S., RODRÍGUEZ-KABANA, R., KENNEY, D. S., RYU, C. M., ZHANG, S., YAN, Z., MARTÍNEZ-OCHOA, N., AND KLOEPPER, J. W., 1999. Growth promotion and induced systemic resistance (ISR) mediated by a biological preparation. Phytopathology 89: 65 p.

- REKAH, Y., SHITIENBERG, D., AND KATAN J., 2001. Population dynamics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in relation to the onset of Fusarium crown and root rot of tomato. *European Journal of Plant Pathology*, 107 (4):367-375.
- REIS, A., COSTA, H., BOITEUX, L. S. AND LOPES, C. A., 2005. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Brazil, *Fitopatologia Brasileira*, 30(4):426-428.
- ROBERTS, P. D., MCGOVERN, R. J., AND DATNOFF, L. E., 2001. Fusarium crown and root rot of tomato in Florida. University of Florida, IFAS Extension PP-52.
- RODGERS PB. 1993. Potential of biopesticides in agriculture. *Pesticide Sci.* 39: 117-29.
- ROSEWICH, U.L., PETTWAY, R.E., KATAN, T. AND KISTLER, H.C., 1999. Population genetic analysis corroborates dispersal of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* from Florida to Europe. *Phytopathology* 89: 623–630
- ROWE, R.C., 1980. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-grown tomatoes in North America and Japan. *Phytopathology* 70: 1143-1148.
- ROWE, R.C AND FARLEY, J. D., 1978. Control of fusarium crown and root rot of greenhouse tomatoes by inhibiting recolonization of steam – disinfested soil with a captafol drench. *Phytopathology* 68: 1221-1224.
- ROWE, R.C AND FARLEY, J. D., 1981. Strategies for controlling Fusarium crown and root rot in greenhouse tomatoes. *Plant Disease*, 65: 107-112.
- ROWE, R.C., FARLEY, J.D. AND COPLIN, D.L., 1977. Airborne spore dispersal and recolonization of steamed soil by *Fusarium oxysporum* in tomato greenhouses. *Phytopathology* 67: 1513– 1517.
- SABARATNAM, S AND J.A., TRAQUAIR, 2002. Formulation of *Streptomyces* biocontrol agent for suppression of *Rhizoctonia damping* –off in tomato transplants. *Biological Control*: 23/3, 245-253.

- SAEED, I.A.M., ROUSE, D. I., HARKIN, J.M. AND SMITH, K.P., 1997. Effects of soil water content and soil temperature on efficacy of metham-sodium against *Verticillium dahliae*. Plant Disease 81: 773-776.
- SAMBROOK, E., FRITSCH, F. AND MANIATIS, T., 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- SCHIPPERS, B., BAKKER, A. W. BAKKER, P. A. H. M., 1987. Interaction of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. Annu. Rev. Phytopathol. 25: 339-358.
- SCHUMANN, G. L., AND D'ARCY, C. T., 2006. Essential Plant pathology. APS Press, St. Paul, MN, 338 pp.
- SHERF, A. F., AND MACHAB, A. A., 1986. Fusarium wilt- *Fusarium oxysporum* Schl. F. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hansen. Vegetable Diseases and Their Control, Second Ed., 614-621.
- SIVAN, A. AND CHET, I. 1986. Biological control of *Fusarium spp.* in cotton, wheat and muskmelon by *Trichoderma harzianum*. In Microbial Communities In Soil, Ed. by V. Jenseñsen et al., Elsevier Applied Science Publishers, 89-95.
- SIVAN A., UCKO, O., AND CHET, I. 1987. Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. Plant Disease 71: 587-592.
- SREENIVASAPRASAD, S. AND K.MANIBHUSHANRAO, 1990. Biocontrol potential of fungal antagonists *Gliocladium virens* and *Trichoderma longibrachiatum*. Zeitschrift für Pflanz. Krank. und Pfl. Schutz. 97:6, 570-579
- STAPLETON, J.J., 1997. Modes of action of soil solarization and biofumigation. II. International Conference on Soil Solarization and Integrated Pest Management of Soilborne Pests. 16-21 March, 1997, Aleppo, Syria.
- STAPLETON, J.J. AND DEVAY, J.E., 1986. Soil solarization: a non-chemical approach for management of plant pathogens and pests. Crop Prot. 5: 190-198.

- STAUB, T., 2001. Induced disease resistance in crop health management. Online. Plant Health Progress doi:10. 1094/PHP-201-0913-01-PS.
- STEVE, T., 2000. Univ. Of California Cooperative Extension CORF News- Vol 4, Issue 4, p.6.
- STICHER, L., B.MAUCH-MANI AND JP. METRAUX, 1997. Sytemic acquired resistance. Annual Rev. Phyopathology, 35: 235-270.
- STIRLING, G.R., 1991. Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes. CAB International, Wallingford, Oxon, 50- 85.
- SUMMEREL, B.A, LESLIE,J.F., BACKHOUSE, D., BRYDEN, W.L. AND BURGESS,L.W., 2001. *Fusarium*.,Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Pres, St. Paul, Minnesota, p: 1-192.
- TAKAHASHI H, SHIMIZU A, ARIE T, ROSMALAWATI S, FUKUSHIMA S, KIKUCHI M, HIKICHI Y, KANDA A, TAKAHASHI A, KIBA A, OHNISHI K, ICHINOSE Y, TAGUCHI F, YASUDA C, KODAMA M, EGUSA M, MASUTA C, SAWADA H, SHIBATA D, HORI K, WATANABE Y., 2005. Catalog of Micro-Tom tomato responses to common fungal, bacterial, and viral pathogens. J Gen Plant Pathol 71: 8–22.
- THANASSOULOPOLOS, C.C., C.H. GLANNOPOLITIS AND G.T. KITSOS, 1970. Evaluation of Sensitiveness and Develeopment of Resistance of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* to benomly. Phytopathology 70: 114-120.
- THIRUMALACHAR M.J., P.W. RHALKAR, R.S. SUKAPURE, P.H. PAWAR AND P.V. DESIA, 1970. Control of damping-off and root rot with use of *Streptomyces* species. Hindustan Antibiotics Bulletin 12, 138–141.
- TJAMOS, E.C. , P.P. ANTONIOU AND S.E. TJAMOS, 2005. Soil Solarization and Control of Soilborne Pathogen in Plastic Houses. Agricultural University of Athens, Department of Plant Pathology, Votanikos 11855, Athens, Greece, Web site: www.minagric.gr/greek/data/TZIAMOS1.DOC
- TOKGÖNÜL, S., 1998. Ticari domates tohumlarında bakteriyal solgunluk etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)’nin saptanması ve etmen

- karşı mücadele olanakları üzerine araştırmalar. Doktora tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Adana.
- TURHAN, G., 1981. A new race of *Streptomyces ochraceiscleroticus* in the biological control of some soil-borne plant pathogens II. In vivo studies on the possibilities of using C/2-9 against some important diseases. Journal of Plant Diseases and Protection 88, 422–434.
- TURHAN, G. AND K.TURHAN, 1989. Suppression of damping-off on pepper caused by *Phythium ultimum* Trow and *Rhizoctonia solani* Kühn by some new antagonist in comparison with *Trichoderma harzianum* Rifai. Journal of Phytopath. 126: 2, 175-182.
- ULLOA, M., AND HANLIN, R. T., 2000. Illustrated Dictionary of Mycology. APS Press, St. Paul, MN, 448 pp.
- VAKALOUNAKIS, D.J., AND FRAGKIADAKIS, G.A., 1999. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber; Differentiation by Pathogenicity, vegetative Compatibility and RAPD Fingerprinting. Phytopathology 89: 161-168.
- VAN LOON, L. C., BAKKER, P.A.H.M. , PIETERSE, C. M. J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 36: 453-483.
- WARTON, B., AND MATTHIESSEN, J.N., 2000. Enhanced biodegradation of metham soidum soil fumigant in Australia. The BCPC Conference, Pest and Diseases 2000.4C:377-380.
- WELLER, D. 1988. Biological Control of Soilborne Plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 26: 379 -407.
- WELLER, D. M., 1997. Biological Control of Soilborne Plant Pathogens in t he Rhizosphere with Bacteria. Annual Rev. Phytopathology 26: 379-407.
- WELLER, D. M., RAAIJMAKERS, J.M., MCSPADDEN GARDENER, B. B. AND THOMASHOW, L. S. 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. Ann. Rev. Phytopath. 40: 309-348.

- WHITE, J.G. AND BUCZACKI, S.T., 1979. Observations on suppression of clubroot by artificial or natural heating of soil. Transactions of the British Mycological Society 73, 271-275.
- WINDLES, C.E., 1992. Fusarium. In: Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. APS Pres, st. Paul, Mnn., p: 115-129.
- WOO, S.L., ZOINA, A., DEL SORBO, G., LORITO, M., NANNI, B., SCALA, F. AND NEVIELLO, C., 1996. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* by pathogenic races, VCGs, RFLPs, and RAPD. Phytopathology 86: 966–973.
- YÜCEL, S., 1995. A study on soil solarization and combined with fumigant application to control Phytophthora crown blight (*Phytophthora capsici* Leon) on peppers in the East Mediterranean region of Turkey. Crop Protection 14: 8, 653-655.
- YÜCEL, S. VE ÇINAR, A., 1989. Domates Fusarium Solgunluğuna (*Fusarium Oxysporum* Schlecht, f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hans) Karşı Biyolojik Kontrolde Antagonistlerin ve Toprak Solarizasyon Uygulamasının Etkileri. Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi, cilt:13,sayı: 1372 -1393.
- YÜCEL, S., H.PALA, S.ÇALI AND A.ERKİLİÇ, 1998. Studies on the effect of soil solarization and some *Trichoderma* spp. applications to control soil-borne diseases in protected vegetable crops of the east Mediterranean region of Turkey. ICPP 98 7th International Congress of Plant Pathology, Edinburg, Scotland, 9-16 August1998.
- YÜCEL, S., H.PALA, S.ÇALI AND A.ERKİLİÇ, 1999. Seralarda toprak kökenli bazı hastalık etmenlerine karşı solarizasyon ve *Trichoderma harzianum* uygulamalarının etkisi. 4. Türkiye Biyolojik Mücadele Kongresi, 26-29 Ocak 1999.
- YÜCEL, S., ELEKÇİOĞLU, I. H., CAN, C., GÖZEL,U., U., SÖĞÜT, M.,ÖZARSLAN,M AND AKSOY, E., 2001. The Second Year Result of Methyl Bromide Alternatives in the Eastern Mediterranean Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions. International Driv Orlanda, Florida.

- YÜCEL, S., OZARSLANDAN, A., COLAK, A., AY, T. AND CAN, C., 2007. Effect of Solarization and Fumigant Applications on Soilborne Pathogens and Root-knot Nematodes in Greenhouse-Grown Tomato in Turkey, *Phytoparasitica* 35(5):450-456.
- YÜCEL, S., A. OZARSLANDAN, A. ÇOLAK, T. AY, 2009. Methyl Bromide Alternatives for Controlling Fusarium Wilt and Root Knot Nematodes in Tomatoes in Turkey. *Acta Horticulturae ISHS* 2009, 381-385.

ÖZGEÇMİŞ

1993 yılında Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nü kazandı ve 1997 yılında mezun oldu. Aynı yıl Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde Araştırma görevlisi olarak yüksek lisansa başladı ve 1997-2000 döneminde Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yüksek lisans eğitimini tamamladı. Kasım 2000'de Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü'nde Fitopatoloji şubesinde göreve başladı. 2001 yılı eğitim döneminde Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji bölümünde Doktora eğitimine başladı. 2002 yılının Kasım – Haziran ayları arasında İtalya/Bari'de CIHEAM tarafından düzenlenen Akdeniz Bölgesinde Organik Tarım (Mediterranean Organic Agriculture) adlı 7 ay süreli kursa katıldı. Aynı Enstitüde ikinci yılında 'Effect of plant extracts on in-vitro development of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* and *Alternaria solani* that restrict tomato production grown under plastichouses in the Cukurova Region (In Organic Agriculture, 11 october 2004)' adlı ikinci master çalışmasını yaptı. Halen, Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Fitopatoloji Şubesi, Mikoloji laboratuvarında 'Sebze hastalıkları, Organik Tarım ve Moleküler Biyoloji' konularında çalışmalarını sürdürmektedir.

EKLER

EK1.

1-Deneme serası toprak analiz sonuçları

Deneme serası toprağı	Sınır Değerleri	Analiz Sonuçları	Değerlendirme
Bünye	Kum/Silt/Kil	62,3 / 10,4 / 27,3	Kumlu killi tınlı
Kireç (CaCO ₃) %	5-15	7,8	Az kireçli
Tuzluluk E.C. (mmhos/cm)	0-2,25<	0,28	Tuzsuz
Organik Madde (%)	3-4	3,2	Yeterli
pH (1:2,5)	>7,0<	7,8	Alkali
K ₂ O (kg/da)	0-100<	156,4	Yüksek
P ₂ O ₅ (kg/da)	>8<	8.9	Yeterli

2- Sera denemesinde kullanılan Kompost analizi sonuçları

Kompost	N (%)	P (%)	K (%)	Organik Madde (Yanma Kaybı) (%)	pH (1:2,5)	Tuzluluk E.C. (mmhos/cm)
	1,65	1,25	1,01	50,07	6,54	1,43

EK 2.

LABORATUAR VE SAKSI ÇALIŞMALARINDA KULLANILAN ORTAMLAR VE STOK SOLUSYONLAR

1- PDA (Patates Dekstroz Agar)

Patates..... 250 gr
Dekstroz.....20 gr
Agar..... 15 gr

2- Su Agar (Water Agar)

Saf su.....1L.
Agar20g.

3- CLA (Carnation Leaf-Piece Agar: Karanfil Yaprak Agarı)

Pestisit kullanılmamış genç karanfil yaprakları, musluk suyu altında yaklaşık 30 dakika yıkanıp 5 mm² büyüklüğünde kesilir.Kesilen karanfil yaprak parçaları etüvde 45 -55°C’ de 3 saat kurutulur. Yeşil rengini kaybetmemiş kurutulmuş yaprak parçaları steril steril petri kutusuna konulup yaklaşık 48 saat UV ışığı altında sterilize edilir.

Ortam hazırlanması;

- Su agarı (% 2) hazırlanır ve steril petrilere dökülür.
- Karanfil yapraklarından 4-5 parça su agar içerisine yerleştirilir.
- Ortam 3-4 gün oda sıcaklığında muhtemel kontaminasyon için (25°C) bekletilir ve daha sonra ekim yapılır.

4- FMM ortamı (1L)

FMM X 50.....20 ml
Trace Elementler.....200 µl
Sukroz.....30 gr
Agar.....20 gr

FMM X50 stok solusyonu (400ml)

NaNO ₃	40 gr
KH ₂ PO ₄	20 gr
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	10 gr
KCl.....	10 gr

FMM Trace Elementler

Sitrik Asit.....	5 gr
Zn SO ₄ .7H ₂ O.....	5 gr
Fe SO ₄ .7H ₂ O.....	4.75 gr
Fe(NH ₄) ₂ SO ₄ .6H ₂ O.....	1 gr
Cu SO ₄ .H ₂ O.....	250 mg
H ₃ BO ₃	50 mg
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O.....	50 mg
ddH ₂ O.....	95 ml

5- Pepton PCNB Agar (1L)

Peptone.....	15 gr
KH ₂ PO ₄	1 gr
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	500 gr
Agar.....	20 gr
PCNB (%75).....	1 gr
ddH ₂ O.....	1 L
Streptomycin (%5).....	20 ml/L
Neomycin (%1).....	12 ml/L

EK 3.

TOTAL GENOMİK DNA İZOLASYONUNDA KULLANILAN KİMYASALLAR VE SOLÜSYONLAR

1- Sigma DNA miniprep kit solusyonları ve malzemeleri

Malzeme adı	Katalog no	G2N70- 70 örnek miktarları
Lysis solusyon - A	L7910	30 ml
Lysis solusyon - B	L8035	4 ml
Precipitation solution	P9727	11 ml
Binding solusyon	B2177	60 ml
Column Preperation solution	C2112	60 ml
Wash solution Concentration	W3011	30 ml
Elution Solution (10nM Tris, 1mM EDTA, ph approx. 8.0)	T7688	20 ml
GenElute Filtration Columns in Tubes (Blue)	C9346	70 adet
GenElute Nucleic Acid Binding Columns in Tubes	C9471	70 adet
Collection Tubes (2.0 ml)	T7813	3 x 70 adet

2. Ekstraksiyon tamponu

Aşağıdaki kimyasallar 150 ml steril saf su içerisinde manyetik karıştırıcıda çözülmüş ve pH'sı ayarlanarak 200 ml tamamlanmıştır. Daha sonra 1/1000 v/v oranında 2.B.Mercaptoethanol ilave edilmiştir. (100 mM Tris-HCl (pH: 8.0), 50 mM EDTA (pH:7,0), 500 mM NaCl, 10 mM 2.B.Mercaptoethanol).

Tris- HCl	2.422 gr
EDTA	3,722 gr
NaCl	5,844 gr

3. %20 SDS (Sodium Dodecyl Sulphate)

20 gr SDS tartılmış ve 80 ml steril saf su içerisinde ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda çözdürülmüştür. Daha sonra saf su ilave edilerek 100 ml tamamlanmış ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

4. 5 M Potasyum Asetat (CH_3COOK)

60 ml steril saf su içerisinde 49,07 gr potasyum asetat çözdürülmüş ve daha sonra 100 ml'ye tamamlanarak oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

5. 3M Sodyum Asetat (CH_3COONa)

60 ml steril saf su içerisinde 40,82 gr sodyum asetat çözdürülmüş ve daha sonra 100 ml'ye tamamlanarak oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

6. %70 lik ETOH

% 99 Ethanol'den 707 ml alınarak 293 ml saf su ilave edilmiş ve hazırlanan bu %70 ETOH +4 °C'de kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.

EK 4.

**MOLEKÜLER ÇALIŞMALARDA KULLANILAN TAMPON
ÇÖZELTİLER**

1. TAE buffer (Tris + Asetik asit+ EDTA) pH:8,3

50 X TAE 1 lt için;

Tris.....242 gr

Galical Asetik asit.....57,1 ml

EDTA (pH: 8,0).....100 ml

2. TE Buffer (Tris +EDTA) pH:7,4

Tris (pH:7,4).....100 mM

EDTA (pH) 8,0).....10 mM

3. 0,5 M EDTA pH:8,0

186,1 gr /lt (Otoklav edilmeli)

4. 1 M Tris pH:8,0

121,1 gr tris/lt (Ooklav edilmeli)

5. % 20 SDS

SDS.....200 gr

900 ml suda 60-65 °C eritilir ve 1000 ml tamamlanır.

6. TBE (Tris + Borik asit + EDTA) pH:8,3

Tris.....108 gr

Borik Asit55 gr Borik asit

EDTA.....40 ml 0,5 M

7. Kristal Fenolun Saturasyonu

Kristal fenole 0,5 M Tris (pH: 7,4) ilave ederek 40 °C su banyosunda kristaller eriyene kadar bekletilir. Eriyen fenolu steril benchte bekleterek suyun üste çıkması beklenir ve bu faz alınarak eşit hacimde 0,1 M Tris (pH: 7,5) ilave edilerek, +4 °C’de muhafaza edilir.

8. Amplifikasyon reaksiyon bileşenleri ve stok solusyonları

PCR MIX	1X
ddH ₂ O	9,55 µl
PCR Buffer	5 µl
MgCl	2 µl
dNTP	1,25 µl
Taq Pol	0,2 µl
Primer Forwart	1 µl
Primer Rewerce	1 µl
cDNA	5 µl
TOPLAM	25 µl

dNTP hazırlama	
dATP	20 µl
dGTP	20 µl
dCTP	20 µl
dTTP	20 µl
d NTP mix (80 µl)	420 µl + ddH₂O 500 µl

Primer Sulandırma: İontek firmasından elde edilen primerların ürün katalog bilgilerinden

Primer
5 µl stok +95 µl ddH₂O= 100 µl

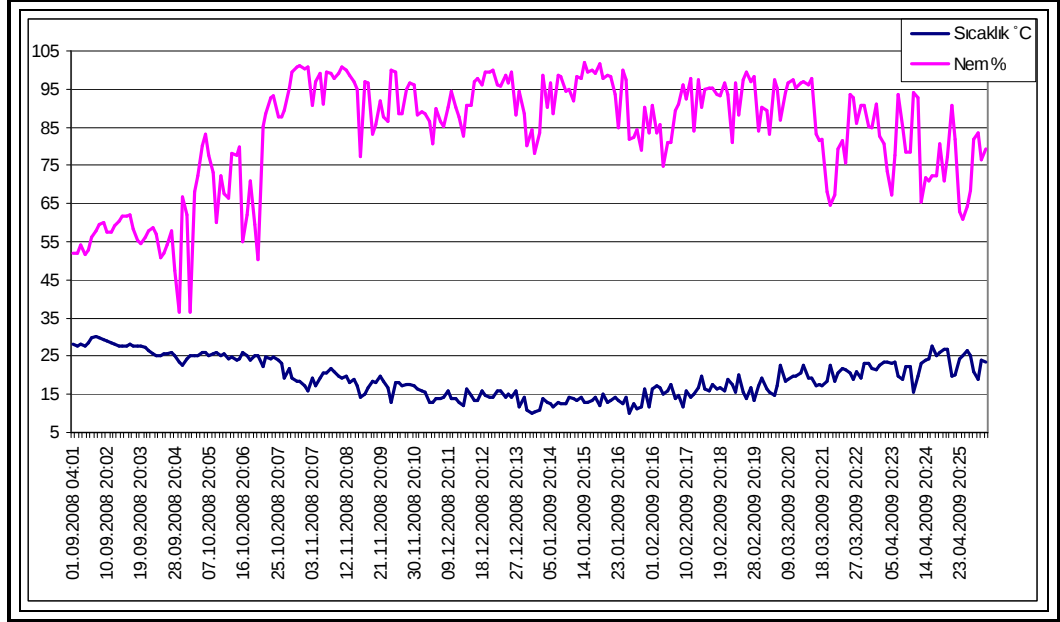
DNA sulandırma

DNA
45 µl ddH₂O + 10 µl DNA= 55 µl

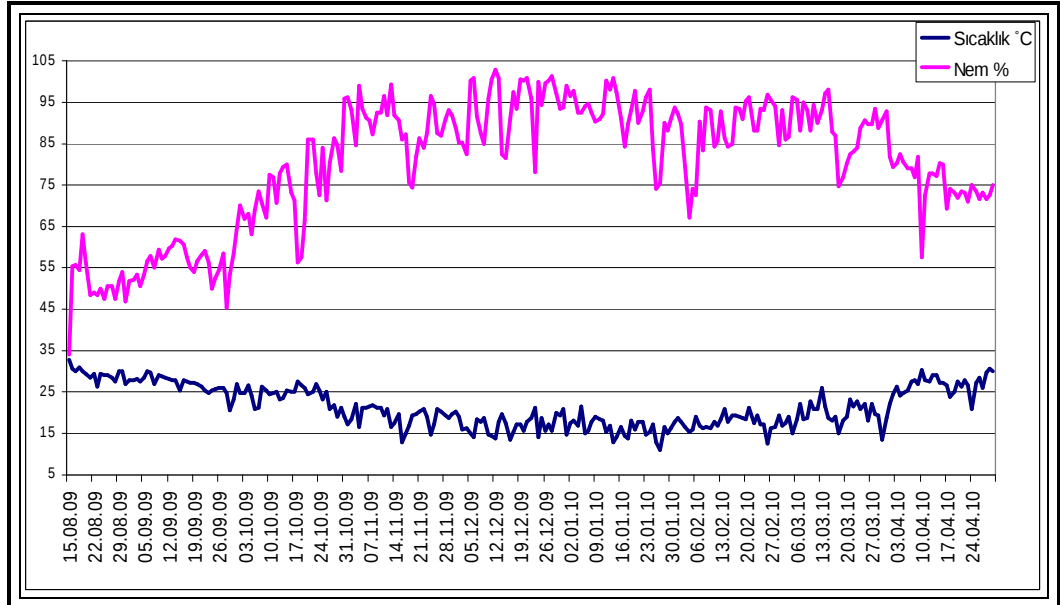
9. Ethidium Bromid (EtBr): PCR sonucu elde edilen ürünlerin elektroforez işleminden sonra %2’lik agaroz jelde yüklenmiş DNA bantlarının boyanabilmesi için 0.5 µg/ml oranında EtBr hazırlanmıştır. Son derece kansorejen bir madde olduğu için görüntüle işlemleri ayrı bir odada yapılmıştır.

EK.5

Deneme serasının 2008-2009 yılına ait sera içi sıcaklık ve nem değerleri



Deneme serasının 2009-2010 yılına ait sera içi sıcaklık ve nem değerleri



EK. 6**FORL VE FOL 3 İZOLATLARININ PDA VE CLA ORTAMINDA
BELİRLENEN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ**

İzolat Adı	PCR sonucu	Koloni Rengi	Mikrokonidi (µm)	Makrokonidi (µm)
AY-5	FORL	Beyaz,mor	12,5 x 3	45 x 3
AK-1	FORL	Beyaz,mor	20 x 2.5	57,5 x 3
AO-6	FORL	Beyaz,mor	15 x 2	32,5 x 3
EKH-23	FORL	Beyaz,mor	17,5 x 2.2	47,5 x 3
S-14	FORL	Beyaz,mor	12 x 3	42,5 x 3
ET-3	FOL 3	Beyaz	11,75 x 2	37,5 x 3
EKH-2	FOL 3	Beyaz	15 x 2	42,5 x 3
YT-10	FOL 3	Beyaz,soluk pembe	12,5 x 2	27,5 x 3
KZ-4	FOL 3	Beyaz	13,5 x 3	40,5 x 3
S-17	FOL 3	Beyaz,soluk pembe	10,5 x 3	50 x 3