

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

ANKARA ve KONYA İLLERİ MARUL EKİM ALANLARINDA  
SOLGUNLUĞA NEDEN OLAN *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin  
IRKLARININ ve VEJETATİF UYUM GRUPLARININ BELİRLENMESİ

Olgaç Doğu YILMAZ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ANKARA  
2025

Her hakkı saklıdır

## ÖZET

Doktora Tezi

ANKARA ve KONYA İLLERİ MARUL EKİM ALANLARINDA SOLGUNLUĞA NEDEN OLAN *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin IRKLARININ ve VEJETATİF UYUM GRUPLARININ BELİRLENMESİ

Olgaç Doğu YILMAZ

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatma Sara DOLAR

Çalışmamızda Ankara ve Konya marul üretim alanlarından elde edilen 51 adet *Fusarium* spp. izolatının SCoT ve iPBS markörleri ve tef1-a ve rpb2 gen bölgelerinin sekans analizleriyle yapılan teşhislerinde kırk sekiz tanesinin *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (Fol) olduğu tespit edilmiştir. Diğer üç izolat ise *F. redolens*, *F. equiseti* ve *F. clavum* olarak teşhis edilmiştir. Marulda solgunluk ve kök boğazı çürüklüğü etmeni olan Fol izolatlarının yapılan patojenisite denemeleri sonucunda hastalık şiddeti değerleri %20-90,92 arasında değişmiştir. Fol izolatlarının vejetatif uyum gruplarını belirlemek için yapılan nit mutantları testinde 36 adet Ankara ve Konya izolatından ve 4 adet yurt dışı referans izolatından 730 adet nit1, 25 adet nit3 ve 50 adet nitM olmak üzere toplam 805 adet mutant elde edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen ve yurt dışı referans izolatlarından elde edilen nit mutantlarının (nit1 ve nitM/nit3) her türlü kombinasyonları minimal ortamda eşleştirilerek toplam 314 adet vejetatif uyum grubu testi yapılmıştır. BKK T-1 k B-1 ve BTK y-A-x kodlu Ankara Fol izolatları, VCG 0303/ırk 4'ü temsil eden Fol 896 ve Fol 888 kodlu referans izolatları ile heterekaryon oluşturmaları nedeni ile VCG 0303 olarak tanımlanmışlardır. Bu iki izolatla vejetatif olarak uyumlu bulunan sekiz izolatın VCG 0303 olduğu tespit edilmiştir. VCG 0300/ırk 1'in referans izolatları olan GT Fus 1, GT Fus 2, Ankara ve Konya izolatlarının hiçbir mutantiyla heterekaryon oluşturmamıştır. İki izolatın self-incompatible olduğu belirlenmiştir. Dokuz izolatın self-compatible olduğu bulunmuş, ancak herhangi bir referans izolatıyla vejetatif uyumluluk gözlenemediğinden uyum grupları VCG 030- olarak adlandırılmıştır. Sekiz mutanttan sadece nit1 mutanti elde edildiğinden vejetatif uyumluluk durumları tam olarak belirlenememiştir.

İrk belirleme çalışmasında K 1/6 Konya ve BTK y-A-x Ankara Fol izolatları ayırıcı test çeşitlerinde ırk 4 referans izolatları ile aynı reaksiyonu göstermelerinden dolayı ırk 4 olarak tanımlanmışlardır. *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*'de VCG nin irka spesifik olmasından dolayı VCG 0303 olarak tanımlanan diğer izolatların da ırk 4 olabileceği düşünülmektedir.

Eylül 2025, 74 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Marul, *Fusarium* spp., solgunluk, ırk, vejetatif uyum grubu

## ABSTRACT

PhD Thesis

DETERMINATION of VEGETATIVE COMPATIBILITY GROUPS and RACES of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* CAUSING WILT in LETTUCE CULTIVATION AREAS in ANKARA and KONYA PROVINCES

Olgaç Doğu YILMAZ

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Fatma Sara DOLAR

In our study, 51 *Fusarium* spp. isolates obtained from lettuce production areas in Ankara and Konya were identified using SCoT and iPBS markers and sequence analyses of *tef1-a* and *rpb2* gene regions. Forty-eight of them were identified as *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (Fol). The other three isolates were identified as *F. redolens*, *F. equiseti*, and *F. clavum*. Pathogenicity tests on Fol isolates, which are the causative agents of wilt and root collar rot in lettuce, showed disease severity values ranging from %20 to %90,92. In the nit mutant test performed to determine the vegetative compatibility groups of Fol isolates, a total of 805 mutants, including 730 nit1, 25 nit3, and 50 nitM, were obtained from 36 Ankara and Konya isolates and 4 foreign reference isolates. In this study, all combinations of nit mutants (nit1 and nitM/nit3) obtained from reference isolates abroad were matched on minimal medium and a total of 314 vegetative compatibility group tests were performed. The Ankara Fol isolates coded BKK T-1 k B-1 and BTK y-A-x were designated VCG 0303 because they formed a heterokaryon with the reference isolates coded Fol 896 and Fol 888 representing VCG 0303/race 4. Eight isolates vegetatively compatible with these two isolates were identified as VCG 0303. VCG 0300 did not form a heterokaryon with any mutant of GT Fus 1 and GT Fus 2, the Ankara and Konya isolates, which are the reference isolates of race 1. Two isolates were determined to be self-incompatible. Nine isolates were found to be self-compatible, but because vegetative compatibility was not observed with any reference isolate, their compatibility groups were designated VCG 030-. Because only the nit1 mutant was obtained from eight mutants, their vegetative compatibility could not be fully determined. In the race identification study, the K 1/6 Konya and BTK y-A-x Ankara Fol isolates were identified as race 4 because they exhibited the same reactions as the race 4 reference isolates in differential test varieties. Because VCG is race-specific in *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*, it is thought that the other isolates identified as VCG 0303 may also be race 4.

**September 2025, 74 pages**

**Key Words:** Lettuce, *Fusarium* spp., wilt, race, vegetative compatibility groups

## TEŞEKKÜR

Öncelikle danışman hocam sayın Prof. Dr. Fatma Sara DOLAR'a (Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı) bana "Ankara ve Konya İlleri Marul Ekim Alanlarında Solgunluğa Neden Olan "*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*'nın Irklarının ve Vejetatif Uyum Gruplarının Belirlenmesi" adlı doktora tezini verdiği ve bu tezi hazırlamamda bana her türlü destek, katkı ve sabrından dolayı çok teşekkür ederim. Ayrıca bu tez çalışmasını yürütmemde bana değerli katkıları olan hocam sayın Prof. Dr. Harun BAYRAKTAR'a (Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı) teşekkür ederim. İzolatların moleküler çalışmalarını yapan ve analizler konusunda bize verdiği bilgi ve desteğinden dolayı sayın Prof. Dr. Göksel ÖZER'e (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı) çok teşekkür ederim. Yardımlarından dolayı hocam sayın Doç. Dr. Arzu ÇELİK OĞUZ'a (Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı) teşekkür ederim. Çalışmamızda kullandığımız Fol 4 ve Fol 1 ırklarını bize temin eden Dr. Johan Meffert ve Dr. George S. Karaoglanidis'e sonsuz teşekkürler. Çalışmamıza yaptığı değerli katkılarından dolayı Mehtap ALKAN'a teşekkür ederim. Bu tez çalışmasına katkıda bulunan Dr. Senem TÜLEK'e, Nergis Zeynep YEĞİN'e ve Zeynep YUMLUYA çok teşekkür ederim. Destek ve yardımlarından dolayı Cemre AKSOY MİRZA'ya çok teşekkür ederim. Bu tezi hazırlamamdaki yardımlarından ve hayatım boyunca verdikleri destek, fedakârlık ve motivasyonla her zaman yanımda olan abim Dr. Doğaç Sencer YILMAZ'a ve kız kardeşim Gaye Ezgi YILMAZ ÖZCAN'a çok teşekkür ediyorum. Beni bu günlere getiren ve bana her zaman her konuda destek olan sevgili anne ve babama sonsuz teşekkürler. Öncelikli alanlar kapsamında hazırlanan bu tez çalışmasına destek olan T.C. Yüksek Öğretim Kurulu Başkanlığına teşekkür ediyorum.

Olgaç Doğu YILMAZ  
Ankara, Eylül 2025

## İÇİNDEKİLER

### TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	iv
SİMGELER DİZİNİ .....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	7
2.1 Ülkemizde Marul Hastalıkları ile İlgili Yapılan Çalışmalar .....	7
2.2 Marulda <i>Fusarium</i> Türlerinin Neden Olduğu Ekonomik Olarak Önemli Hastalıklar .....	8
2.3 <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> ile İlgili Yapılmış Vejetatif Uyum Grubu, İrk ve Bazı Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları .....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	21
3.1 Materyal .....	21
3.2 Yöntem .....	22
3.2.1 <i>Fusarium</i> türlerinin teşhisi.....	22
3.2.1.1 Morfolojik teşhis .....	22
3.2.1.2 Moleküler analizler .....	22
3.2.2 Patojenisite testleri .....	26
3.2.2.1 Tohum hipokotil testi.....	26
3.2.2.2 Ayırıcı test çeşitlerinin inokulasyonu .....	27
3.2.2.3 Hastalık değerlendirmesi.....	28
3.2.3 Vejetatif uyum gruplarının belirlenmesi .....	29
3.2.3.1 Nit mutantlarının elde edilmesi .....	29
3.2.3.2 Nit mutantlarının ve VCG tanınması.....	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....	32
4.1 <i>Fusarium</i> Türlerinin Teşhisi .....	32
4.1.1 Morfolojik teşhis .....	33
4.1.2 Moleküler analizler .....	34

4.1.2.1 iPBS analizlerine ilişkin sonuçlar .....	34
4.1.2.2 SCoT analizlerine ilişkin sonuçlar .....	37
4.1.2.3 Farklı grupların temsilen seçilen izolatların DNA sekans analizi sonuçları .....	39
4.1.2.4 Filogenetik analiz sonuçları.....	42
4.2 Patojenisite Sonuçları .....	44
4.2.1 Tohum hipokotil testi.....	44
4.3 Nit Mutantlarının Elde Edilmesi .....	46
4.4 İzolatların Vejetatif Uyumluluklarının ve Gruplarının Belirlenmesi .....	47
4.5 İzolatların Ayırıcı Test Çeşitleriyle Irklarının Belirlenmesi .....	52
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	56
KAYNAKLAR .....	67
ÖZGEÇMİŞ.....	74

## SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
g	Gram
L	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
ng	Nanogram
µL	Mikrolitre
NaOCl	Sodyum hipoklorit
NaNO <sub>3</sub>	Sodyum Nitrat
NaNO <sub>2</sub>	Sodyum Nitrit

### **Kısaltmalar**

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
ATG	Adenin, Timin, Guanin Bazları
BM	Bazal Ortam
CTAB	Cetyltrimethylammonium bromide
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoksinükleotid Trifosfat
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
Fol	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
iPBS	Inter-Primer Binding Site
MM	Minimal Ortam
MMC	Kloratlı Minimal Ortam
PDA	Patates Dekstroza Agar
RNA	Ribonükleik Asit
PBS	Primer Binding Site
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphisms
rpb2	RNA Polymerase II Core Subunit
SCoT	Start Codon Targeted
SSAP	Sequence Specific Amplified Polymorphism
TE	Tris-EDTA
tef1-a	Translation Elongation Factor 1 Alpha Gene
Tris-HCl	Tris(hydroxymethyl)aminomethane hydrochloride
UPGMA	Unweighted Pair Group Method Algorithm
VCG	Vejetatif Uyum Grubu

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Petri kaplarında yapılan tohum hipokotil testi. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> 'nin PDA ortamında gelişen kolonilerinden alınarak su agarına aktarılan diskler (a) tohum ekilmiş petri (b) .....	27
Şekil 3.2 İnokulum hazırlanışı (a) ve ayırıcı test çeşitlerinin (Costarica, Patriot ve Banchu Red Fire) 106 spor/ml konsantrasyonda inokulum içerisinde bekletilmesi (b) .....	28
Şekil 3.3 Kloratlı minimal ortamda (MMC) zayıf gelişen sektörler .....	30
Şekil 3.4 Minimal ortamda (MM) iki farklı Fol izolatu mutanları arasında heterekaryon oluşumu .....	31
Şekil 4.1 <i>Fusarium oxysporum</i> izolatlarının PDA ortamında farklı renklerde oluşturduğu koloni gelişimi .....	33
Şekil 4.2 <i>Fusarium oxysporum</i> 'un mikro, makro konidileri (a, b) ve monofiyaliti (c) ..	34
Şekil 4.3 Çalışmada elde edilen farklı <i>Fusarium</i> izolatlarına ait iPBS2395 markeri kullanılarak elde edilen DNA parmak izleri .....	35
Şekil 4.4 <i>Fusarium</i> spp. iPBS profillerine dayalı UPGMA dendogramı .....	36
Şekil 4.5 Çalışmada elde edilen farklı <i>Fusarium</i> izolatlarına ait SCoT32 markeri kullanılarak elde edilen DNA parmak izleri .....	37
Şekil 4.6 <i>Fusarium</i> spp. SCoT profillerine dayalı UPGMA dendogramı .....	38
Şekil 4.7 Her iki markör yönteminden elde edilen UPGMA dendogramı .....	39
Şekil 4.8 Bu çalışmada elde edilen izolatlar ile NCBI'dan alınan referans izolatların MEGA 12 yazılımı kullanılarak maximum likelihood yöntemiyle oluşturulmuş filogenetik ağacı .....	43
Şekil 4.9 Konya K 1/6 kodlu <i>Fusarium oxysporum</i> izolatının kök ve hipokotilde oluşturduğu belirtiler (a) kontrol petrisi (b) .....	45
Şekil 4.10 Konya K 1.9 kodlu <i>Fusarium oxysporum</i> izolatının kök ve hipokotilde oluşturduğu belirtiler (a) kontrol petrisi (b) .....	46
Şekil 4.11 Aynı vejetatif uyum grubunda bulunan BKK T-1 k B-1 nitM mutantının Fol 896 ırk 4 nit1 (a), BTK y-A-x nit1 (b) ve K 19a nit1 (c) mutantlarıyla minimal ortamda heterekaryon oluşturması .....	51
Şekil 4.12 Minimal ortamda (MM) BKK T-1 k A-1 NitM mutantının Nit1 mutanıyla heterekaryon oluşturması (a), BTA 6 Kök B/y ve KHA y 6-A izolatının herekaryon oluşturması (b) .....	52
Şekil 4.13 Fol 896 (a) ve Fol 888 (b) ırk4 referans izolatlarının mutantlarının kendi aralarında oluşturdukları zayıf ve güçlü heterekaryonlar .....	52
Şekil 4.14 Fol ırk denemesinde kullanılan ayırıcı marul çeşitleri; Patriot (a), Costarica (b), Banchu Red Fire (c) .....	53
Şekil 4.15 Sağlıklı ayırıcı marul çeşitleri .....	54
Şekil 4.16 Fol 896 ırk 4, K 1/6 ve BTK y-A-x izolatları ile inokuleli ve kontrol Banchu Red Fire bitkileri .....	54
Şekil 4.17 BTK y-A-x izolatının Banchu Red Fire çeşitinde oluşturduğu bodurluk ve solgunluk belirtisi .....	55

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Ankara ve Konya illerinde 2024 verilerine göre marul ekim alanları (da)....	5
Çizelge 2.1 <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> 'nin ırkları ve vejetatif uyum grupları .	13
Çizelge 3.1 <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> ırklarının belirlenmesinde kullanılan ayırıcı test çeşitleri .....	21
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan ekstraksiyon lizis-buffer içeriği .....	23
Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan izolatların <i>tef1-a</i> ve <i>rpb2</i> gen bölgelerinin amplifikasyon koşulları .....	25
Çizelge 3.4 Nit mutant üretimi ve nit mutantlarının belirlenmesinde kullanılan ortamlar .....	29
Çizelge 4.1 Konya ve Ankara illeri marul ve aysberg ekili alanlarından elde edilen <i>Fusarium</i> spp. izolatları .....	32
Çizelge 4.2 Tanımlanan türlerin örneklere göre dağılımı .....	40
Çizelge 4.3 <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> izolatlarının hastalık şiddeti değerleri	44
Çizelge 4.4 Nit mutantlarının tanılanması .....	46
Çizelge 4.5 Konya, Ankara ve referans izolatlarının mutant tipleri, sayıları, VCG ve hastalık şiddeti değerleri.....	48

## 1. GİRİŞ

Marul, Asteracea familyası ve *Lactuca sativa* türüne ait yaprağı, gövdesi ve sürgünleri yenen tek yıllık bir bitkidir (Tezcan vd. 2022). Çeşitli şekil, boyut ve renge sahip birçok çeşidi vardır. Çeşitler yaprak şekli, boyutu ve dokusunun yanı sıra baş gelişimi ve gövde tipine göre ayrılmışlardır (Bhatta 2022).

Çok fazla tür sayısı içermesine rağmen üretimi yapılan başlıca çeşitleri; kıvrıkcık yaprak salata (*Lactuca sativa* var. *crispa*), baş salata (*Lactuca sativa* var. *capitata*), marul (*Lactuca sativa* var. *longifolia*) dur (Kökpınar vd. 2024).

Marul kendi kendine tozlaşan tek yıllık bir bitkidir. Genellikle ana kök üzerinde su ve besin emilimini sağlayan toprak yüzeyine yakın çok miktarda yan kök oluşturmaktadır (Mou 2008). Soğuk iklim sebzesi olan marulun çimlenmesi ve büyümesi için gerekli optimum sıcaklık 20-25°C dir. Gerekli su ve oksijen olduğunda genellikle ekimden 3-7 gün sonra çimlenmektedir. Hasat zamanı marul türüne ve iklime göre değişmekle birlikte genellikle ekimden 60-120 gün sonra yapılmaktadır (Raid 2004).

Taze olarak tüketilen marul insan beslenmesinde önemli vitamin ve mineral kaynağıdır (Kibar 2018). Bol miktarda K, A, C vitamini, folat (folik asit) ve yüksek oranda demir içermektedir (Bhatta 2022).

Dünyada marul tarımı, küresel sebze pazarında önemli bir yere sahiptir. 2023 yılında toplam marul üretim miktarı yaklaşık 28 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Bu üretimin büyük kısmını Çin ve ABD karşılamaktadır (FAO 2025).

Ülkemizde 2024 yılı verilerine göre, toplam marul üretimi 502.848 ton olarak kayıtlara geçmiştir. Bu üretimin 263.829 tonu kıvrıkcık marul, 225.542 tonu göbek marul ve 113.477 tonu ise aysberg maruldan oluşmaktadır. En yaygın üretimi yapılan illerimiz arasında sırasıyla Ankara, Adana ve Antalya yer almaktadır (TÜİK 2024).

Marul yetiştiriciliği dünya genelinde yaygın bir şekilde yapılmakta olup farklı üretim yöntemleri kullanılmaktadır (Smith ve Johnson 2020). Ülkemizde örtü altı ve açık alan olmak üzere yılın farklı dönemlerinde üretimi yapılabilmektedir (Şahin vd. 2021).

İnsan beslenmesinde önemli rolü olan marulun üretimini sınırlayan pek çok faktör bulunmaktadır. Özellikle fungal hastalıkların birçoğu uygun koşullar altında, verim ve kalitede yıkıcı kayıplara neden olabilmektedir (Raid 2004). Dünyada şu ana kadar marulda hastalığa neden olan 45 adet fungal, 7 adet bakteriyel ve 25 adet viral etmen saptanmıştır. Dünya'nın farklı bölgelerinde bulunan marul üretim alanlarında yapılan çalışmalar sonucu farklı türde fungal patojenler saptanmıştır. Marul üretim alanlarında rastlanılan fungal hastalıklar; Alternaria Yaprak Lekesi (*Alternaria sonchi*), Antraknoz (*Microdochium panattonianum* syn. *Marssonina panattoniana*), Siyah Çürüklük (*Ceratocystis fimbriata*), Siyah Kök Çürüklüğü (*Thielaviopsis basicola* syn. *Chalara elegans*), Dip Çürüklüğü (*Rhizoctonia solani* syn. *Thanatephorus cucumeris*), Cercospora Yaprak Lekesi (*Cercospora apii* ve *C. lactucae-sativae*), Çökerten (*R. solani*, *Pythium dissotocum*, *P. irregulare*, *P. myriotylum*, *P. sylvaticum*, *P. ultimum*, *P. uncinulatum* ve *P. violae*), Mildiyö (*Bremia lactucae* ve *Plasmopara lactucae-radiceis*), Beyaz Çürüklük (*Sclerotinia sclerotiorum* ve *Sclerotinia minor*), *Fusarium* Solgunluğu (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*), Kurşuni Küf (Hasat öncesi ve sonrası); (*Botrytis cinerea* syn. *Botryotinia fuckeliana*), *Phoma* Yaprak Lekesi ve Bazal Çürüklüğü (*Boeremia exigua* syn. *Phoma exigua*), *Phoma tropica*, *Phytophthora* Gövde ve Kök Çürüklüğü (*Phytophthora cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. lactucae*, *P. pseudolactucae*), Külleme (*Golovinomyces cichoracearum* syn. *Erysiphe cichoracearum*), *Pythium* Solgunluk ve Yaprak Yanıklığı (*Pythium aphanidermatum*, *P. megalacanthum*, *P. polymastum*, *P. spinosum*, *P. tracheiphilum*, *P. ultimum*, *P. uncinulatum*), Pas (*Puccinia dioicae* syn. *P. extensicola* var. *hieraciata*), Septoria Yaprak Lekesi (*Septoria birgatae* ve *S. lactucae*), Güney Yanıklığı (*Athelia rolfsii* syn. *Sclerotium rolfsii*), *Stemphylium* Yaprak Yanıklığı (*Stemphylium botryosum* f.sp. *lactucae* syn. *Pleospora tarda* ve *S. solani*), Teksas Kök Çürüklüğü (*Phymatotrichum* Kök Çürüklüğü); (*Phymatotrichopsis omnivora* syn. *Phymatotrichum omnivorum*), *Verticillium* Solgunluğu (*Verticillium dahliae*, *V. isaacii* ve *V. klebahnii*) dur (Anonymous 2022).

Marulda solgunluk ve kök çürüklüğüne neden olan *Fusarium* spp. ilk olarak Japonya’da 1955 yılında yağlı baş marullarda bulunmuş ve etmen Matuo ve Motohashi tarafından *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* olarak (Fol) tanımlanmıştır. Daha sonra etmen 1990 yılında ABD’ de, 1998 yılında Tayvan’da ve 2002 yılında İtalya’ da görülmüştür (Garibaldi vd. 2004).

*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (Fol) marullarda (*L. sativa* L.), *Fusarium* solgunluğunun başlıca etmenidir (Gilardi vd. 2017b) ve marul üretim alanlarında şiddetli ürün kayıplarına neden olan toprak (soil-borne) ve tohum (seed-borne) kökenli bir fungustur (Sanna vd. 2022). Dünyada marul yetiştirilen alanların çoğunda görülen toprak kökenli bu hastalık son yıllarda ciddi kayıplara neden olmaktadır (Pintore vd. 2017).

Hastalık etmeni marul fidelerinde solgunluğa neden olmakta ve enfekteli fideler ölmektedir. Enfekteli bitkinin kök ve vasküler dokularında kırmızı kahverengi renk değişiklikleri görülmektedir. Bunun yanı sıra enfekteli olgun bitkilerin yapraklarının sararıp solması ve sonunda nekrotik bir hal alması da belirtilerindendir. Hastalanan bitkiler genellikle bodur kalmakta ve baş oluşturmamaktadır. *Fusarium* solgunluğu belirtileri amonyum toksisitesi ve *Verticillium*’un neden olduğu belirtilere de benzerlik göstermektedir. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* diğer *Fusarium* solgunluk patojenleri gibi klamidospore üreterek toprakta uzun süre canlılığını sürdürebilmektedir. Üretim sezonunun daha sıcak aylarında ekilen marullarda hastalık daha şiddetli görülmektedir (Koike vd. 2007).

*Fusarium oxysporum*, üretimi yapılan 100’den fazla bitki türünde hastalığa neden olan filamentli Ascomycota grubu bir fungustur. Geniş bir konukçu dizisi olmasına rağmen *F. oxysporum* izolatları genellikle bir veya birkaç bitki türünü enfekte etmektedir. Bu nedenle patojenik izolatlar konukçu bitki türüne göre özel forma speciales (f.sp.) ayrılmıştır ve ayrıca konukçu bitkiye spesifik olarak ırklara ayrılmıştır. Forma speciales içerisindeki genetik ilişkileri tanımlamak için *F. oxysporum* izolatları heterokaryon (genetik olarak farklı çekirdekler içermeye) yeteneklerine bağlı olarak vejetatif uyum grupları (VCG) halinde gruplandırılmıştır (Pasquali vd. 2008). Vejetatif uyum grubu *F.*

*oxysporum* popülasyonlarının patojenik ve patojenik olmayan ırklarını sınıflandırmak için kullanılan bir tekniktir (Pasquali vd. 2005).

*Fusarium oxysporum*'un formae speciales karakterizasyonunda 1980'li yılların ortalarından itibaren VCG belirlenmesine başlanılmıştır (Puhalla 1985). Patojen popülasyonlarındaki genetik farklılıkları en iyi şekilde anlamada vejetatif uyum grupları en faydalı yöntemlerdendir (Ogiso vd. 2002).

Hastalık etmeninin dünyada şu ana kadar tespit edilmiş 4 ırkı bulunmaktadır. *F. oxysporum* ırklarını ve formae specialesler arasındaki ayrımı ve genetik ilişkileri ortaya çıkarmak için vejetatif uyum grupları (VCG) kullanılmaktadır (Yamauchi vd. 2004) ve etmenin VCG0300, VCG0301, VCG0302, VCG0303 olmak üzere 4 VCG grubu tespit edilmiştir (Pintore vd. 2017).

Yapılan gözlemlerde kıvırcık, göbekli ve aysberg salata grubunda kök çürüklüğü ve solgunluğa neden olan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin ülkemizde Konya ve Ankara illeri ekim alanlarında yaygın olarak görüldüğü ve önemli verim kayıplarına neden olduğu saptanmıştır. Dünyada bu konular ile ilgili yapılan detaylı araştırmalar ile kayıpların azaltılmasına çalışırken ülkemizde marullardaki solgunluk hastalığına gerekli önem verilmemiştir.

Hastalığın mücadelesinin oldukça zor olması, etmenin ırk oluşturabilmesi, son yıllarda yayılma göstermesi ve ülkemizde bu hastalıkla ilgili yeterince çalışma yapılmaması nedeniyle bu çalışmada İç Anadolu Bölgesinde önemli ekiliş alanına sahip olan Ankara ve Konya illerimizde (Çizelge 1.1) marullarda *Fusarium* solgunluğunun durumu ve etmeninin vejetatif uyum grupları ile mevcut ırklarının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Çizelge 1.1 Ankara ve Konya illerinde 2024 verilerine göre marul ekim alanları (da)  
(TUIK 2024)

İller	Marul- (da)	Kıvırcık	Marul-Göbekli (da)	Marul –Aysberg (da)	TOPLAM
Ankara	4.325		5.563	16.728	26.616
Konya	328		2.907	250	3.485
<b>Toplam</b>	<b>4.653</b>		<b>8.470</b>	<b>16.978</b>	<b>30.101</b>

*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin ülkemizdeki durumu ve genetik farklılığı ile ilgili hâlihazırda bilgi bulunmamaktadır. Bilindiği üzere etmenlerin ırk veya patotiplerine göre çeşitlerin dayanıklılıklarında farklılıklar görülmektedir. VCG, patojen popülasyonlarının genetik yapısını anlamada güçlü bir araç olmakla birlikte, bu yöntemin moleküler tekniklerle desteklenmesi, genetik çeşitliliğin daha yüksek bir çözünürlükle ortaya konmasını sağlamaktadır. Bitki patojeni fungusların tespit edilmesinde kullanılan moleküler yöntemler klasik teşhis yöntemlerine kıyasla DNA ve RNA düzeyinde patojen tanısı yaparak daha hızlı ve güvenilir sonuç vermektedir. Ayrıca çok düşük konsantrasyonlardaki patojen DNA'sını tespit ederek klasik yöntemlere göre daha yüksek hassasiyet ve özgüllük sunmaktadır. Moleküler yöntemler patojenin epidemiyolojiyi yaptığı durumlarda doğrudan tanı yaparak zaman avantajı sağlamanın yanı sıra patojenlerin tür ve ırk düzeyinde tespit edilmesinde de sağlamaktadır. Patojenin yayılımı, genetik çeşitliliği, enfeksiyon kaynakları ve bulaşma yolları ancak moleküler çalışmalarla ortaya konulabilmektedir. Patojenin direnç mekanizmalarının, virülens genlerinin ve konukçu-patojen etkileşiminin moleküler yöntemlerle ortaya çıkarılarak anlaşılması patojene karşı yapılacak mücadelelerde dayanıklı çeşit gelişimine katkı sağlaması açısından oldukça önemli olmaktadır (Capote vd. 2012; Luchi vd. 2020; Hariharan ve Prasannath 2021; Bhunjun vd. 2021; Zhang vd. 2021). SCoT ve iPBS DNA markör sistemlerini kullanarak yapılan moleküler çalışmalar bir popülasyondaki tür içi ve türler arası genetik ilişkileri ve genetik çeşitlilikleri belirlemek ve ortaya çıkarmak amacıyla kullanılmaktadır. Türlerin genetik çeşitliliği, popülasyon yapısının belirlenmesi ve filogenetik (akrabalık) ilişkilerinin ortaya konulması gibi uygulamalarda kullanılan iPBS markörleri bir türün

genomunda yaygın olarak bulunan 5' uçlarındaki "primer binding site (PBS)" bölgelerini hedefleyen PCR temelli DNA markör sistemidir. Bu markörler evrimsel süreçte oldukça korunan bölgeleri hedefleyerek genom çapında geniş bilgi sağlamaktadır. Ayrıca DNA kalitesi yüksek olmasa bile stabil ve tekrarlanabilir sonuçlar vermektedir. Kodlanamayan bölgelerdeki değişimleri yakalayabildiğinden popülasyonlar arası çeşitliliği güçlü bir şekilde belirleyebilmektedir. SCoT markörleri genlerin ATG başlatma kodununun çevresinde korunmuş bölgeleri hedefleyen gen odaklı DNA markörleridir. Gen bölgelerine yakın çalıştığından dolayı fonksiyonel ve biyolojik olarak anlamlı varyasyonlar ortaya çıkarmakla birlikte yüksek oranda tekrarlanabilirlik ve polimorfizm sağlamaktadır. SCoT markörleri genetik çeşitliliği tanımlamada güçlüyken iPBS markörleri retrotranspozan temelli olduklarından genom genelindeki varyasyonları yakalayarak özellikle tür içi ve türler arası genetik ilişkileri değerlendirmede güçlüdür. Her iki markörün birlikte kullanılması fonksiyonel (SCoT) ve genomik (iPBS) düzeyinde kapsamlı bir genetik analiz sağlamaktadır (Amom vd. 2020; Apana vd. 2021; Güngör vd. 2022). Bu nedenle çalışmada, VCG analizlerine ek olarak, izolatların tanımlanması amacıyla SCoT ve iPBS gibi DNA markör sistemleri ile tür teşhisini doğrulamak ve filogenetik ilişkileri aydınlatmak amacıyla *tefl-a* ve *rpb2* gen bölgelerinin sekans analizleri de gerçekleştirilmiştir. Bu bütüncül yaklaşım, hastalığın ülkemizdeki durumunu ortaya koymasından oldukça önemli olup, hastalığa karşı yapılacak olan dayanıklı çeşit çalışmalarında büyük ölçüde katkı sağlayacaktır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Ülkemizde Marul Hastalıkları ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Akbaş vd. (2021) yılında yapmış oldukları çalışmada Ankara, Eskişehir ve Konya illerinde marul üretim alanlarında görülen viral hastalık etmenlerinin yoğunluğunu belirlemişlerdir. Çalışmalarında enfekteli marul alanlarında 14 farklı viral etmen saptamışlardır. Bu etmenlerden en yaygın olanlarının marul iri damar hastalığı virüs kompleksini oluşturan MiLBVV ve LBVaV olduğunu belirtmişlerdir. Marul iri damar hastalığı ile enfekteli marul alanlarında %70'e varan ürün kayıplarının olabileceğini ve bu iki virus kompleksi ile enfekteli marul bitkisinin yapraklarında aşırı şişkinlik belirtilerinin görüldüğünü bildirmişlerdir.

Antalya ili Finike ilçesi marul ekim alanlarında yapılan çalışmada LMV (Marul Mozaik Virüsü) bu bölgede ilk kez tespit edilmiştir. Enfekteli bitkilerin yapraklarında mozaiklenme, damar açılması ve baş boyunda azalma belirtileri gözlenmiştir (Çulal-Kılıç ve Erdaş 2023).

Marmara Bölgesinde marul yetiştirilen alanlarda viral hastalık etmenlerinden ; yonca mozaik virüsü (AMV), hıyar mozaik virüsü (CMV), marul mozaik virüsü (LMV), domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) ve şalgam mozaik virüsü (TuMV), fungal hastalık etmenlerinden *B. cinerea* (kurşuni küf) ve *S. sclerotiorum* tespit edilmiştir. *S. sclerotiorum* un açık üretim alanlarında *B. cinerea*' nın örtü altında daha yaygın bulunduğu rapor edilmiştir (Uzunoğulları vd. 2022).

Soylu vd. (2017) Hatay ili marul ekim alanlarında 2015-2016 yılları arasında yapmış oldukları çalışmada *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, *Golovinomyces cichoracearum* ve *Bremia lactucae*' yi en yaygın görülen fungal patojenler olarak saptamışlardır. Ek olarak marul bitkisinin kök bölgesinde çürüklüğe neden olan *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Enterobacter cloacae*' yi, yapraklarda lekelere neden olan *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* bakteriyel hastalık etmenlerini belirlemişlerdir.

Ebrahimzadh (2020) İç Anadolu ve Marmara bölgesi marul ekili alanlarda marul mildiyösü etmeni *Bremia lactucae*' yi tespit etmiştir. Çalışmasında kıvırcık, marul ve aysberg ekimi yapılan bölgelerdeki marul mildiyösü ırklarını belirlemiştir. Bu bitkilerden elde ettiği 64 izolatı 16 ayırıcı test çeşidi üzerinde test etmiş ve *B. lactucae*'nin Türkiye'de 15 patotipinin ve bölgesel ırkının olduğunu ortaya koymuştur.

Canpolat ve Tülek (2019) Orta Anadolu Bölgesinde yaprağı yenen sebzelerde fungal hastalık etmenlerini belirledikleri çalışmalarında marul ekili alanlardaki enfekteli bitkilerde *A. alternata*, *F. oxysporum*, *R. solani* ve *S. sclerotiorum* funguslarını tespit etmişlerdir.

Yumlu (2024) çalışmasında Ankara ili marul ekim alanlarındaki fungal hastalık etmenlerini tespit etmiştir. Enfekteli bitkilerden elde ettiği izolatlarda *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. equiseti*, *Rhizoctonia* spp., *A. alternata*, *S. minor* ve *S. sclerotiorum* funguslarını saptamış ve en yaygın etmenin *F. oxysporum* türüne ait olduğunu bildirmiştir.

## **2.2 Marulda *Fusarium* Türlerinin Neden Olduğu Ekonomik Olarak Önemli Hastalıklar**

Dünyada marulda *Fusarium* türlerinin neden olduğu hastalıklar ile ilgili yapılan çalışmalarda *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ve *F. equiseti* olmak üzere ekonomik olarak önemli iki tür ortaya çıkmaktadır. *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* marullarda solgunluğa neden olurken *F. equiseti* ise marullarda yaprak lekelerine neden olmaktadır (Koike vd. 2007; Garibaldi vd. 2016; Matić vd. 2020; Tziros vd. 2022).

*Fusarium equiseti* ülkemizin çeşitli bölgelerinde farklı kültür bitkilerinde tespit edilmiştir (Özer ve Soran 1991). Marulda ise Yumlu (2024) tarafından yapılan yüksek lisans çalışmasında ilk kez 2022 yılında Ankara'da marul üretim alanlarında kaydedilmiştir. Bunun dışında ülkemizde marul ekili alanlarda *F. equiseti* ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Garibaldi vd. (2016) İtalya'daki marul seralarında yaprak lekeli oluşan *F. equiseti*yi ilk kez rapor etmişlerdir. Çalışmalarında enfekteli bitkilerin yapraklarında 1-3 mm çapında gri-kahverengi küçük dairesel yaprak lekeleri gözlemlemişlerdir.

Matić vd. (2020) *F. incarnatum-equiseti* tür kompleksinin bir üyesi olan *F. equiseti*'yi İtalya'da yaprağı yenen sebzelerde tespit etmişlerdir. Patojenin marul ve diğer yaprağı yenen sebzelerde yaprak lekeli belirtileri oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Tziros vd. (2022) Yunanistan'da yapmış oldukları çalışmada marul ekim alanlarında yaprak lekeli belirtisi gösteren marul bitkilerinden *F. equiseti*'yi izole etmişler ve yaptıkları patojenite çalışmaları sonucunda etmenin marulda patojen olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, patojenin tohum kökenli bir fungus olduğunu, toprakta ve ürün artıklarında saprofit olarak hayatta kalabildiğini bu nedenle yetiştiricilik yapılan alanlara kolaylıkla adapte olabildiğini belirtmişlerdir. Ayrıca marulun patojene karşı yüksek oranda hassas olduğunu ve önemli ölçüde zarar oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Ek olarak patojenin yüksek oranda mikotoksin üretebilme eğiliminde olduğunu bu mikotoksinlerin insan ve hayvan sağlığı için potansiyel risklerinin olabileceğini de belirtmişlerdir.

*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin neden olduğu *Fusarium* solgunluğu ilk olarak Japonya'da 1955 yılında tanımlanmış, daha sonra diğer Asya ülkelerinden İran (1995 yılı), Tayvan (1998 yılı), Kore Cumhuriyeti (2006 yılı)'nde rapor edilmiştir. A.B.D'de ise ilk olarak 1990 yılında kaydedilmiştir (Anonymous 2009). Avrupa'da ilk görüldüğü ülke olan İtalya'da (2002 yılı) %70'e varan ürün kayıplarına neden olan etmen bulaşık ticari tohumlar vasıtasıyla kısa sürede Portekiz, Fransa, Hollanda gibi diğer ülkelere yayılmıştır (Marques Ramalhete vd. 2006; Gilardi vd. 2017a; Gilardi vd. 2017b).

Ülkemizde Canpolat ve Tülek (2019) Orta Anadolu bölgesinde yaprağı yenen sebzelerde fungal hastalık etmenlerini belirledikleri çalışmalarında marul ekiliş alanlardaki enfekteli bitkilerden *F. oxysporum*'u izole etmişler, Sağlık ve Altın (2022) tarafından da Sakarya ilinde marul ekim alanlarında etmenin var olduğu bildirilmiştir.

Yumlu (2024) Ankara ili marul ekim alanlarındaki fungal hastalık etmenlerinin belirlenmesi ile ilgili yaptığı tez çalışmasında hastalıklı bitkilerden elde ettiği izolatlarda *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. equiseti*, *Rhizoctonia* spp., *A. alternata*, *S. minor* ve *S. sclerotiorum* funguslarını saptamış ve en yaygın etmenin *F. oxysporum* türüne ait olduğunu bildirmiştir. Bunun dışında ülkemizde hastalık etmeni ile ilgili çalışma yapılmamıştır.

*Fusarium* solgunluğu marullarda ciddi verim ve ürün kaybına neden olmakta ve küresel marul üretimini tehdit etmektedir. Etmen marullarda bodur gelişme, yapraklarda kloroz, damarlarda renk değişiklikleri ve solgunluk gibi karakteristik belirtiler oluşturmaktadır. Patojen konukçusunda karakteristik belirtiler oluşturmaya karşılık brokoli, ıspanak ve karnabahar bitkilerinin kazık köklerinde herhangi bir belirti göstermeden bulunduğu bildirilmiştir. Klamidosporları ile toprakta birkaç yıl canlı kalabilmektedir. Patojen geniş alanlara enfekteli tohumlar ile yayılmaktadır (Murray vd. 2021).

*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin bilinen 4 ırkı mevcuttur (Pintore vd. 2017). Bu ırlardan en yaygın olanı ırk 1' dir ve bu ırk ilk olarak 1967 yılında Japonya' da ortaya çıkmıştır. Daha sonra ABD, İran, Tayvan, Brezilya, Portekiz, Arjantin ve İtalya' da bulunduğu bildirilmiştir. Yeni yapılan araştırmalarda ırk 1 Fransa, İspanya, Norveç, Belçika, Yunanistan ve İrlanda' da bulunmuştur. ırk 2' nin sadece Japonya'da, ırk 3'ün Japonya ve Tayvan'da görüldüğü, ırk 4'ün ise henüz Hollanda'da yeni bir ırk olarak tanımlandığı bildirilmektedir (Yamauchi vd. 2004; Fujinaga vd. 2005; Pasquali vd. 2008; Lin vd. 2014; Pintore vd. 2017; Gilardi vd. 2017a; Gilardi vd. 2017b; Ortega vd. 2018, Guerrero vd. 2020; Herrero vd. 2021; Claerbout vd. 2023; van Amsterdam vd. 2023; Tziros ve Karaoglanidis 2023). Claerbout vd. (2018) Belçika'daki marul üretim alanlarında 2015 yılında solgunluk belirtisi gösteren bitki oranının %10-20 olduğunu ve bu tarihten itibaren de hızla yayıldığını tespit etmişler ve yapılan izolasyon ve teşhis çalışmaları sonucunda bu ülkede de ırk 4'ün bulunduğunu bildirmişlerdir. Yapılan son çalışmalarda araştırmacılar İrlanda, İngiltere, İtalya ve İspanya'da ırk 4 ü tespit etmişlerdir (Taylor vd. 2019; Gilardi vd. 2019; Gálvez vd. 2023).

*Fusarium oxysporum* formae speciales ve ırklarını ayırt etmek için patojenisite testleri ve moleküler yöntemleri içeren çeşitli teknikler kullanılmaktadır (Fujinaga vd. 2003; Fujinaga vd. 2005). Patojenisite testleri ve makrokonidi şekli, mikrokonidi varlığı, koloni rengi vb. gibi morfolojik yöntemler *F. oxysporum* türleri içerisindeki formae specialeslerin doğru bir şekilde tanımlanması için yeterli olmamaktadır. Moleküler yöntemler *F. oxysporum* formae specialeslerin tanımlanması geliştirmekte ve bu amaçla Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLP), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) ve Sequence Specific Amplified Polymorphisms (SSAP) gibi moleküler yöntemler kullanılmaktadır (Baayen vd. 2000; Pasquali vd. 2008; Suga vd. 2013; Gilardi vd. 2017b).

SCoT ve iPBS gibi DNA markör sistemleri son yıllarda fungus tür teşhisini doğrulamak ve filogenetik ilişkileri aydınlatmak amacıyla kullanılmaktadır (Özer vd. 2016; Palacıoğlu vd. 2023). *tef1-a* ve *rpb2* gen bölgelerinin sekans analizleri ile forma speciales (f.sp.) belirlenmesi de doğru bir şekilde yapılabilmektedir (Hong vd. 2010; Tang vd. 2024).

*Fusarium oxysporum* tür kompleksi içindeki filogenetik ilişkilerin çözümlenmesinde translasyon uzama faktörü 1-alfa (*tef1-a*) geninin kullanılmaktadır. O'Donnell vd. (1998) yaptıkları çalışmada EF1 ve EF2 primerleri kullanılarak *tef1-a* geninin, morfolojik olarak ayırt edilemeyen *F. oxysporum* f.sp. *cubense* izolatları arasında genetik olarak farklı soyları başarılı bir şekilde ortaya koyduğu gösterilmiştir.

Fungusların filogenetik analizinde RNA polimeraz II'nin ikinci en büyük alt birimini (*rpb2*) kodlayan genin önemi değişik çalışmalar ile ortaya koyulmaktadır. Liu vd. (1999). *rpb2* geni için geliştirdikleri 5f2 ve 7cr gibi primerlerin, Ascomycota şubesi içindeki hem yüksek (sınıf, takım) hem de düşük (tür, cins) taksonomik seviyelerdeki filogenetik ilişkileri aydınlatmada son derece etkili olduğunu göstermiştir.

*Fusarium* spp. izolatları arasındaki genetik varyasyonu, retrotranspozon temelli bir markör sistemi olan iPBS (İnter-Primer Binding Site) tekniği kullanarak değerlendirmektedir. Alkan vd. (2019) kışlık buğdaylarda kök ve kök boğazında

çürüklüğe neden olan *Fusarium* spp. izolatlarındaki genetik varyasyonu tespit etmek için iPBS tekniğini kullanmayı amaçladıkları çalışmalarında 2017 ve 2018 yıllarında Türkiye ve Azerbaycan'daki buğday üretim alanlarından toplanan hastalıklı bitkilerden 32 adet *Fusarium* izolatu elde etmişlerdir. İzolatlar arasında en yaygın türün *F. culmorum* (23 izolat) olduğu, bunu *F. pseudograminearum* (5 izolat) ve *F. graminearum*'un (4 izolat) takip ettiğini belirlemişlerdir. Analizde kullanılan yedi iPBS primeri, %86,8'lik yüksek bir polimorfizm oranıyla toplam 114 bant üretmiştir. Ağırlıksız Çift Grup Metodu ile Aritmetik Ortalama (UPGMA) metoduyla oluşturulan dendrogram, iPBS verilerine dayanarak izolatları tür düzeyindeki taksonomik gruplarına ve coğrafi kökenlerine göre üç ana kümeye ayırmıştır. Popülasyon yapısı analizi de bu kümelenmeyi desteklemiştir. Sonuçlar, iPBS markörlerinin türler arası seviyede yüksek polimorfizm ürettiğini ve farklı *Fusarium* türlerinin birbirinden ayrılmasına olanak tanıdığını göstermiştir. Bu çalışma, buğdaydaki *Fusarium* spp. izolatlarının genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısı üzerine iPBS markörlerinin kullanıldığı ilk çalışma olması bakımından önemlidir.

Bitki patojeni fungusların genetik çeşitliliğini, filogenetik analizini ve teşhisini gerçekleştirmek için geliştirilmiş moleküler markör sistemlerinden biri olan Start Codon Targeted (SCoT) tekniği *Fusarium* türleri içinde kullanılmaktadır. Palacıoğlu vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada çeşitli bitki türlerinden izole edilmiş 10 farklı fungus türüne ait 96 izolatu türler arası ve tür içi polimorfizmleri, 36 farklı SCoT primeri kullanılarak incelenmiştir. Analiz sonucunda, seçilen altı primerin %97,28'lik yüksek bir polimorfizm oranıyla 331 adet belirgin ve tekrarlanabilir bant deseni oluşturduğu rapor edilmiştir. Tüm primerlerin, incelenen bütün fungus türlerini ayırt edebilen bilgilendirici profiller ürettiği vurgulanmıştır. UPGMA analizleri, izolatları morfolojik sınıflandırmalarına göre başarılı bir şekilde gruplandırmış ve hem türler arasında hem de tür içinde önemli genetik varyasyonlar olduğunu ortaya koymuştur. Çalışma, SCoT markörlerinin, bitki patojeni fungusların tanımlanmasında, genetik çeşitliliklerinin ve popülasyon yapılarının belirlenmesinde diğer DNA markörleri kadar etkili ve güçlü bir araç olduğu sonucuna varmıştır.

### 2.3 *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ile İlgili Yapılmış Vejetatif Uyum Grubu, Irk ve Bazı Moleküler Karakterizasyon Çalışmaları

*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* nin günümüzde bilinen 4 ırkının (ırk1, 2, 3 ve 4) dört vejetatif uyum grubu bulunmaktadır (Çizelge 2.1). Ogiso vd. (2002) Fol'un ırkları ve VCG arasında yakın ilişki olduğunu ve Fol'un Kaliforniya ve Japon ırk 1 izolatlarının aynı VCG (VCG 0300) grubuna ait olduğunu yaptıkları çalışmalar sonucunda göstermişlerdir. Fujinaga vd. (2005) *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin ırkları ve vejetatif uyum grupları arasındaki genetik ilişkiyi Ribozomal DNA'nın IGS (Intergenicspacer) bölgesinin analizi ile tanımlayarak Fol'un üç ırkının üç farklı VCG grubunda yer aldığını, üç ırkın genetik olarak oldukça farklı oldukları ve filogenetik gruplar ve VCG'ler ile kuvvetli bir korelasyonun bulunduğunu belirtmişlerdir.

Pintore vd. (2017) İtalya, Almanya ve Hollanda'daki bitki örneklerinden izole edilen Fol izolatlarını kullanarak yaptıkları çalışmalarında, ırk 1, 2 ve 3'ün sırasıyla VCG 0300, VCG 0301 ve VCG 0302 vejetatif uyum gruplarına ait olduklarını tespit etmişler, ayrıca Hollanda'da tespit edilen yeni ırkın doğruluğunu onaylayarak VCG 0303 vejetatif uyum grubuna ait olduğunu bulmuşlardır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin ırkları ve vejetatif uyum grupları (Pintore vd. 2017)

VEJETATİF UYUM GRUPLARI (VCG)	IRKLAR
VCG0300	Irk 1
VCG0301	Irk 2
VCG0302	Irk 3
VCG0303	Irk 4

VCG konukçu-patojen etkileşiminden ziyade fungusun genetiğine bağlı olarak alt spesifik grupların yanı sıra popülasyonun patojenik olmayan bölümünün de tanımlanmasını sağlamaktadır. *F. oxysporum* izolatları %1.5-4,0 potasyum klorat içeren ortamda oluşturulan nitrat kullanmayan mutantların eşleştirilmesiyle vejetatif uyumluluk açısından kolaylıkla test edilebilmektedirler. Genellikle bu ortamda koloni gelişimi büyük ölçüde sınırlanmaktadır. Sınırlı bir gelişme görülen bu kolonilerde 7-14 gün sonra hızlı bir şekilde gelişen klorata dirençli bölgeler gözlemlenebilmektedir. Bu klorata dirençli

bölgeler tek azot kaynağı olarak düşük miktarda nitrat-nitrojen içeren bir ortamda geliştirildiklerinde nit mutantının göstergesi olmayan tipik olarak havai miselyum içermeyen ince geniş bir morfolojiye sahiptir. Nit mutantları daha sonra birkaç farklı azot kaynağının biri ile değiştirilmiş bir ortamda gelişmelerine göre fenotipik olarak sınıflandırılabilirler. Fenotipik olarak farklı mutantlar (özellikle nit1 ve nitM) tek azot kaynağı olarak düşük miktarda nitrat içeren bir ortamda eşleştirildiklerinde iki nit mutant kolonisinin temas ettiği bir büyüme bölgesi (havai miselyum) üretmektedir. Bu oluşum genetik olarak farklı çekirdekler içeren heterokaryotik hücrelerde farklı homozigot resesif mutasyonlara sahip iki izolatin hifsel birleşmesinin ve beslenmesinin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Correll 1991).

Ogiso vd. (2002) Japonya'da marul üretimi yapılan bir bölgedeki 85 farklı üretim alanında 116 adet Fol izolatu elde etmişlerdir. Bu izolatlardan nitrata kullanamayan nit mutantları (nit1, nit3 ve nitM) elde ederek bunların tüm kombinasyonlarını birbirleriyle minimal ortamda (MM) eşleştirerek vejetatif uyum gruplarını belirlemişlerdir. Ek olarak bu izolatları ayırıcı test çeşitleri olan Patriot, Costa Rica ve Banchu Red Fire marullarıyla test ederek ırk tespiti yapmışlardır. Çalışmaları sonucu test çeşitlerinde oluşturdukları reaksiyona göre 66 izolatu ırk 1 ve 50 izolatu ise ırk 2 olarak saptamışlardır. Yaptıkları vejetatif uyumluluk testinde patojen izolatların aralarında oluşturdukları heterokaryon durumuna göre VCG1 ve VCG2 olmak üzere iki adet vejetatif uyum grubu oluşturduklarını belirlemişlerdir.

Fujinaga vd. (2003) 32 adet Fol izolatını Costa Rica, Banchu Red Fire ve Patriot ayırıcı test çeşitlerinde denemişlerdir. Çalışmalarında 16 adet izolata Patriot ve Banchu Red Fire'in hassas, Costa Rica'nın dayanıklı reaksiyon gösterdiğini belirlemişler ve bunları ırk 1 olarak tespit etmişlerdir. On iki adet izolata Patriot ve Costa Rica'nın hassas, Banchu Red Fire'in dayanıklı reaksiyon gösterdiğini gözlemlemişler ve bunları ırk 2 olarak tanımlamışlardır. K-4S, K-6S, N-8S ve N11-S kodlu 4 izolatu ise bu üç çeşide karşı hassas reaksiyon gösterdikleri, diğer ırklardan farklı reaksiyona sahip oldukları görülerek bu izolatlar yeni bir ırk olan Fol ırk 3 olarak tanımlamışlardır. Kaliforniya HL-2 (ırk 1) ve Japonya SB1-1 (ırk 1) izolatını vejetatif uyumluluk açısından test etmişler ve bu iki ırk 1 izolatının aynı vejetatif uyum grubunda olduklarını gözlemlemişlerdir.

Pasquali vd. (2005) Japonya, Tayvan, ABD ve İtalya'daki enfekteli bitki ve tohumlardan elde ettikleri 47 adet Fol izolatının VCG'lerini belirlemek için test etmişlerdir. Farklı bölgelerden elde edilen izolatlar arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek için klorat'a dirençli nitrat kullanmayan mutantlar kullanmışlardır. ABD ve İtalya'dan elde ettikleri tüm izolatları ırk 1 (Japonya) ve ırk 2 (Tayvan) den elde ettikleri vejetatif uyum grupları VCG 0300 ve VCG 0301 olan izolatlar ile test etmişlerdir. Nitratlı minimal ortamda nit1 ve nitM mutantlarını birbirleri ile eşleştirerek aralarında oluşturdukları heterekaryon durumuna göre bu izolatların VCG lerini belirlemişlerdir. Aralarında heterekaryon oluşan izolatların aynı VCG grubuna ait olduklarını belirtmişlerdir. Çalışmaları sonucunda ABD ve İtalya'daki tüm izolatların ve Japonya'dan elde edilen iki adet izolatın VCG 0300'e Tayvan'dan elde edilen iki izolatın VCG 0301'e ait olduğunu saptamışlardır.

SSAP (Sequence Specific Amplified Polymorphism) tekniği DNA'nın iki farklı enzimle kesilerek bir ucuna adaptör bağlanması ve adaptörün diziyeye ve transpozisyona özgü iki primer kullanılarak PCR yapılmasıdır. PCR sonucunda bant profillerinin incelenmesiyle polimorfizm belirlenmektedir (Yılmaz 2013). Paquali vd. (2008) İtalya ve ABD'deki marul ekim alanlarından elde ettikleri VCG 0300 grubundan olan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ırk 1 izolatlarının SSAP tekniğini kullanarak izolatların arasındaki genetik polimorfizmi belirlemişlerdir. Araştırmacılar, *F. oxysporum* genomunun iki uzun uç tekrarından (LTRs) geliştirilen spesifik primerleri AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) türevi MseI primerleri ile birleştirmişlerdir. Çalışmaları sonucunda VCG 0300 olan ABD ve İtalyan ırk 1 izolatları arasındaki polimorfizmi ve bunların dünya çapındaki kolonizasyonunu doğrulamışlardır. Ek olarak SSAP tekniğinin patojenin strainlerinin ayrımı için güvenilir bir teknik olarak kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır. Çalışmaları sonucunda farklı bölgelerden elde edilen vejetatif uyum grubu VCG 0300 olan ırk 1 izolatları arasında genetik çeşitliliğin olduğunu saptamışlardır.

Lin vd. (2014) Tayvan'dan elde ettikleri 8 adet Fol izolatını ve SB1-1 (ırk 1), F9501 (ırk 2), MAFF744085 kodlu (ırk 3) izolatları Costa Rica, Patriot ve Banchu Red Fire ayırıcı marul test çeşitleri üzerinde denemişlerdir. SB1-1 (ırk 1) izolatına Patriot ve Banchu Red Fire'in hassas, Costa Rica'nın dayanıklı, F9501 (ırk 2) izolatına Costa Rica ve Patriot'un hassas Banchu Red Fire'in dayanıklı, MAFF744085 (ırk 3) izolatına üç test çeşidinin de

hassas reaksiyon gösterdiklerini belirlemişlerdir. Fola-18, Fola-2, Fola 11-13, Fola 106-1, Fola 32-14 ve Fola 106-3 kodlu 6 adet Tayvan Fol izolata Patriot ve Banchu Red Fire'in hassas, Costa Rica'nın dayanıklı reaksiyon gösterdiklerini belirlemişler ve bu izolatlara ırk 1 olarak tespit etmişlerdir. Fola 40 ve Fola 10 kodlu Tayvan izolatlara üç test çeşidinde hassas reaksiyon gösterdiklerini gözlemişler ve bu izolatlara ırk 3 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmaları sonucunda ırk 3'ün Tayvan'da ilk kez ortaya çıktığını rapor etmişlerdir.

Pintore vd. (2017) İtalya ve Hollanda'daki marul üretim alanlarından elde ettikleri Fol izolatlara yanısıra İtalya ırk 1, Japonya ırk 2 ve Japonya ırk 3 Fol izolatlardan elde ettikleri mutantların (nit1, nit3 ve nitM) tüm kombinasyonlarını eşleştirmiş ve vejetatif uyum gruplarını belirlemişlerdir. Çalışmalarında 40 izolattan 184 adet mutant elde etmişlerdir. Test sonucunda İtalyan izolatlara hepsinin VCG 0300 grubuna, Japonya'dan elde edilen 9501 kodlu ırk 2 ve MAFF744086 kodlu ırk 3 izolatlara VCG 0301 ve VCG 0302 gurubuna ait olduklarını saptamışlardır. Hollanda'dan elde ettikleri 04750896 ve 04750888 kodlu izolatlara yeni bir vejetatif uyum gurubu oluşturduğunu gözlemlemişler ve bu grubu VCG 0303 olarak adlandırmışlardır. Çalışmaları sonucunda Fol ırk 4'ün Hollanda üretim alanlarında bölgesel olarak bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Paugh ve Gordon (2020) Kaliforniya ve Arizona'daki marul üretim alanlarında solgunluk etmeni *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*'yi tespit etmişlerdir. Araştırmacılar enfekteli alanlardan 170 adet Fol izolata elde etmişlerdir. Bu izolatlardan elde ettikleri nitrat kullanmayan nit mutantlarının (nit1 ve nitM) aralarında oluşturdukları heterokaryon durumuna bakarak izolatlara somatik uyumluluk durumlarını test etmişlerdir. Araştırmacılar bu izolatlara somatik uyumluluklarına dayalı popülasyon yapılarını transkripsiyon uzama faktörü 1-alfa geni (TEF-1a) ve rDNA-IGS dizilerine dayanarak karakterize etmişlerdir. Çalışmalarında 170 adet izolata somatik uyumluluk açısından 5 alt grupta toplandığını ve aynı alt grupta bulunan izolatlara arasında güçlü heterokaryonlar oluştuğu buna karşılık farklı alt gruptakilerin arasında zayıf ve gecikmeli heterokaryonlar oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Ayırıcı test çeşidi marul bitkileriyle yaptıkları patojenisite testleri sonucunda tüm izolatlara Fol ırk 1 ait olduğunu ve VCG'nin VCG 0300 olduğunu tespit etmişlerdir.

Tziros ve Karaoglanidis (2023) marulda solgunluğa neden olan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*'yi Yunanistan'da aysberg marul üretim alanlarında ilk kez tespit etmişlerdir. Enfekteli bitkilerin yapraklarında kloroz, bitkilerde bodur gelişme, kazık kök ve taç dokularında kahverengi renk değişikliği gözlemlenmiştir. Enfekteli alanlarda elde ettikleri 84 adet Fol izolatının patojenisite testleri ve moleküler yöntemlerle ırklarını belirlemişlerdir. Çalışmalarında bu izolatlara ek olarak Belçika ırk 1 (Fus 1.39) ve ırk 4 (Fus1.01), Hollanda ırk 4 (04750888), Norveç ırk 1 (231724 ve 231725), Japonya ırk 1 (MAFF244120), ırk 2 (MAFF244121) ve ırk 3 (2441222) referans test izolatlarını kullanmışlardır. Moleküler tekniklerin *F. oxysporum* kompleksindeki f.sp. lerin ayırt edilmesinde ve Fol ırklarının karakterize edilmesinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca, rDNA-IGS bölgesinin, mitokondriyal küçük alt birimin (mtSSU) ve translasyon uzama faktörü 1-alfa (TEF1-a) geninin sekans analizlerini kullanarak Fol içerisindeki genetik çeşitliliğin belirlenebileceğini de bildirmişlerdir. TEF1-a geni ve IGS bölgesinin sekans analizlerinin kullanılarak Kaliforniya ve Arizona'da Fol popülasyon yapısının karakterize edildiğini ve yine bu analizlerin Hollanda'da Fol ırk 4'ün tanımlanmasına katkıda bulunduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar solgunluk belirtisi gösteren aysberglerden elde ettikleri 84 adet izolatın translasyon uzama faktörü 1-alfa geni (TEF1-a) ve rDNA-IGS bölgesinin sekans analizlerini yapmış ve bu izolatların Fol ırk 1'e ait olduklarını tespit etmişlerdir. Bu çalışmaya ek olarak ırk 1 ve ırk 4'e ait olan spesifik primerleri kullanarak yaptıkları PCR çalışması sonucunda da izolatların tek bir ırk'a ait olduğunu saptamışlardır.

Ülkemizde *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* 'nin VCG ve ırklarının belirlenmesi ile ilgili çalışma bulunmamakla birlikte farklı konukçularda hastalığa neden olan *Fusarium* türlerinin VCG'lerinin belirlenmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda mevcuttur. Bunlardan bazıları aşağıda özetlenmektedir.

Altınok ve Can (2010) Doğu Akdeniz bölgesi (Adana ve Mersin) patlıcan üretimi yapılan alanlarda patlıcanda solgunluk etmeni *F. oxysporum* f.sp. *melongenae*'yi tespit etmişlerdir. Bu bölgelerden elde ettikleri 20 adet izolatı patojen olarak saptamışlar ve bunları Fomg olarak adlandırmışlardır. Araştırmacılar 20 adet Fomg izolatının aralarındaki

vejetatif uyumluluk durumlarını ve RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) analiziyle patojen izolatlar arasındaki genetik ilişkiyi incelemişlerdir. VCG testlerinde 20 adet Fomg izolatını ve İsrail'den temin ettikleri VCG 0320 olan 3 adet (FOMGG-TN5, FOMGG-TN7 ve FOMGG-TN9) test izolatının mutantlarının (nit1, nit3 ve nitM) tüm kombinasyonlarını minimal ortamda eşleştirerek aralarında oluşturdukları heterekaryon durumuna göre vejetatif uyum gruplarını belirlemişlerdir. VCG çalışmalarında 20 adet Fomg izolatının hepsinin VCG 0320 grubuna ait olduğunu saptamışlardır. RAPD analizinde 20 Fomg izolatı ve 1 adet Fom izolatının profillerinin ve aralarındaki genetik farklılaşmayı belirlemek için yedi adet primer kullanmışlar ve 179 farklı bant elde etmişlerdir. Çalışma sonucunda bu izolatların aralarındaki genetik ilişkiye göre üç alt popülasyonda toplandıklarını belirlemişlerdir. Alt popülasyon 1 de Mersin ilinden elde ettikleri 17 izolat arasında %68 oranında genetik benzerlik bulunduğunu ve Fomg 10, Fomg 45, Fomg 24 izolatlarının dendogram üzerinde %99 üzerinde benzerlik oranıyla grup içerisindeki en yüksek benzerlik oranını gösterdiklerini tespit etmişlerdir. Alt popülasyon 2 de Adana ve Mersin'den elde edilen iki izolat arasında %73 oranında benzerlik gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Alt popülasyon 3 te ise Fomg 36 ve Fom izolatının amplifikasyon desenlerinin diğer izolatlardan oldukça farklı olduklarını belirlemişlerdir.

Bayraktar vd. (2010) Türkiye'nin yedi farklı ilinden (Ankara, Amasya, Bursa, Çorum, Eskişehir, Tokat ve Yozgat) elde ettikleri 75 adet soğanda bazal kök çürüklüğü etmeni *F. oxysporum* f.sp. *cepae* izolatı ile ABD'den temin ettikleri 16 adet referans test izolatlarının vejetatif uyumluluk durumlarını ve ayrıca RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms) yöntemiyle rDNA'nın IGS bölgelerindeki restriksiyon polimorfizmini kullanarak izolatların popülasyon yapısını incelemişlerdir. Çalışmalarında Türkiye'den elde edilen 75 adet *F. oxysporum* f.sp. *cepae* izolatından ve 16 adet referans izolatından elde ettikleri mutantların (ni1 ve nitM) tüm kombinasyonlarını minimal ortamda (MM) eşleştirerek vejetatif uyum gruplarını belirlemişlerdir. Türkiye'den elde edilen 48 izolatın nit1 ve nitM mutantlarının kendi aralarında güçlü heterekaryonlar oluşturduğunu gözlemlemiş ve bunların aynı vejetatif uyum grubunda olduklarını tespit etmişlerlerdir. Bu vejetatif uyum grubunu VCG 042- olarak adlandırmışlardır. Araştırmacılar s137, s62, s40, s34 ve s24 izolatlarının hiçbir

izolatla heterokaryon oluşturmadığını gözlemlemiş ve bunları kendileriyle uyumsuz (self-incompatible) olduklarını belirlemişlerdir. Çorum'dan elde ettikleri s6 izolatu dışında 5 adet VCG (0421, 0422, 0423,4 ve5) 'yi temsil eden 16 adet referans izolatlarıyla diğeri izolatların mutantları arasında heterokaryon oluşmadığını gözlemlemişlerdir. Çorum'dan elde edilen s6 izolatının mutantlarının sadece VCG 0423 olan test izolatlarının mutantlarıyla güçlü heterokaryon oluşturması nedeni ile bu izolat VCG 0423 olarak değerlendirilmiştir. Araştırmacılar altı farklı enzimle (EcoRI, MspI, RsaI, Eco88I, BsuRI ve Hind6I) yaptıkları RFLP-PCR analizinde ABD' den elde edilen 16 adet test izolatının ve Türkiye'den elde edilen 75 adet *F. oxysporum* f.sp. *cepea* izolatları arasında 13 IGS tipi belirlemişlerdir.

Tok (2010) Akdeniz bölgesinde kavun ve hıyar yetiştiriciliği yapılan alanlarda enfekteli bitkilerden 114'ü kavun ve 47'si hıyar bitkisinden olmak üzere toplam 161 adet *F. oxysporum* izolatu elde etmiştir. Yaptığı patojenisite çalışması sonucunda 114 kavun izolatının 89'unun kavun fidelerinde enfeksiyon oluşturması nedeni ile bu izolatlar *F. oxysporum* f.sp. *melonis* (Fom) olarak, 47 hıyar izolatından hıyar fidelerinde enfeksiyona neden olan 40 tanesi *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* (Forc) olarak adlandırılmıştır. Ayırıcı test çeşitleri ile yapılan ırk çalışmasında Fom izolatlarının %75 ini ırk 1, %17'sini ırk0 ve %6'sını ırk 1-2 olarak saptanmıştır. Seksen dokuz Fom izolatının nitratu kullanamayan nit mutantlarının tüm kombinasyonları minimal ortamda eşleştirilerek aralarında oluşturdukları heterokaryon durumuna göre vejetatif uyum grupları belirlenmiştir. Bu izolatların %79'unun VCG 0138, %15'inin VCG 0134 ve %6'sının VCG 0133 ile uyumlu olduğu, 40 Forc izolatının ise %95' inin VCG0260, %5'inin VCG0261 grubu ile uyumlu oldukları belirlenmiştir.

Geçioğlu-Erincik ve Döken (2017) Aydın ili karpuz ekili alanlarda karpuzda *Fusarium* solgunluğuna neden olan *F. oxysporum* f.sp. *niveum* (Fon)'u tespit etmişlerdir. Bu alandan topladıkları 56 adet tarla izolatından elde ettikleri mutantlar ile 2 VCG (VCG 0080 ve VCG 0082) test izolatlarının mutantları ile eşleştirilerek aralarındaki vejetatif uyum gruplarını belirlemişlerdir. İzolatların aralarında oluşturdukları heterokaryon durumuna göre 28 izolatın VCG 0080'e, 13 izolatın ise VCG 0082 grubu ile uyumlu olduklarını 15 izolatın bu iki gruba uyumluluk oluşturmayarak sadece kendi aralarında

uyumlu olduklarını gözlemlemişlerdir. Çalışmaları sonucunda Aydın ilinde 3 farklı VCG grubunun olduğunu bildirmişlerdir.

Uzgan vd. (2019) Ege bölgesi domates üretim alanlarında solgunluk etmeni *F. oxysporum*'un VCG'larını saptamışlardır. Yetiştiricilik yapılan farklı bölgelerden 60 adet *F. oxysporum* izolatu ve bu izolatlardan nitratu kullanamayan nit mutantları elde etmişlerdir. Her bir bölgeden elde edilen 6'şar adet nit1 ve nitM mutantları ile 5 adet nit 3 mutantı bunların tüm kombinasyonlarını eşleştirerek 66 adet VCG elde etmişlerdir. Bu izolatların aralarında oluşturdukları heterekaryon durumuna göre 27 çift (8 nit1x nit3 ve 19 nit1x nitM) aynı VCG de, 39 çiftinin farklı VCG de toplandığını tespit etmişlerdir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Çalışmanın ana materyalini oluşturan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatları Prof. Dr. F. Sara Dolar ve çalışma ekibi tarafından daha önce Konya ve Ankara illeri marul ekim alanlarından toplanan hastalıklı marul grubu bitkilerden yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen izolatlardan oluşan kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Fol ırklarının belirlenmesinde Çizelge 3.1’de verilen universal ayırıcı test çeşitleri Rijk Zawaan (Hollanda) tohum şirketinden temin edilerek çoğaltılmıştır.

Referans olarak kullanılacak Fol ırklarından ırk 1, Dr. George S. Karaoglanidis (Aristotle University of Thessaloniki Faculty of Agriculture, Forestry and Natural Environment Plant Pathology Laboratory, Selanik, Yunanistan) ve ırk 4 Dr. Johan Meffert (Ministry of Agriculture, Nature and Food Quality, Hollanda)’dan temin edilmiştir.

Patojenisite testinde kullanılan Yedikule marul çeşidinin tohumları Makrogen tohumculuk şirketinden satın alınmıştır.

Çizelge 3.1 *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ırklarının belirlenmesinde kullanılan ayırıcı test çeşitleri (Fujinaga vd. 2003; Gilardi vd. 2017b; Anonymous 2022)

Irklar	ÇEŞİTLER		
	Patriot	Costa Rica No.4	Banchu Red Fire
FOL 1	Hassas	Yüksek Dayanıklı	Hassas
FOL 2	Hassas	Hassas	Yüksek Dayanıklı
FOL 3	Hassas	Hassas	Hassas
FOL 4	Orta Dayanıklı	Hassas	Orta Dayanıklı

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 *Fusarium* türlerinin teşhisi

#### 3.2.1.1 Morfolojik teşhis

Çalışmanın ana materyalini oluşturan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin Ankara izolatları Zeynep Yumlu'nun Yüksek Lisans tez çalışmasının materyalinden temin edildiği için bu izolatlar için teşhis çalışması yapılmamıştır. Konya ili ekiliş alanlarından temin edilerek tek spor halinde filtre kâğıtlarında +4°C'te saklanmış olan *Fusarium* spp. İzolatları için teşhis çalışması yapılmıştır.

*Fusarium* türlerinin teşhisi için, filtre kağıtlarında +4 °C'de saklanmış olan izolatlar PDA (Potato Dextrose Agar, Merck) ortamına aşılansak, 23±1 °C'de 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık periyot içeren inkübasyon odasında 10–15 gün süreyle geliştirilmiştir. Bu sürenin sonunda morfolojik ve kültürel özellikleri esas alınarak Booth (1971; 1977), Leslie ve Summerell (2006) teşhis anahtarlarına göre teşhis edilmiştir.

#### 3.2.1.2 Moleküler analizler

**Genomik DNA izolasyonu:** *Fusarium oxysporum* izolatlarının moleküler düzeyde tanımlanması amacıyla, öncelikle morfolojik ve kültürel yöntemlerle teşhis edilen izolatlar kullanılmıştır. Bu doğrultuda, daha önce tek spordan elde edilmiş olan izolatlar, PDA besiyeri içeren petri kaplarına ekilerek 24°C'de 7 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda, *F. oxysporum*'a ait fungal kütle, steril bir bistüri aracılığıyla kazınarak 2 ml'lik Eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Önceden 65°C'ye ısıtılmış 750 µl ekstraksiyon-lizis tamponu Dart dna izolasyon yöntemi ([https://ordering.diversityarrays.com/files/DArT\\_DNA\\_isolation.pdf](https://ordering.diversityarrays.com/files/DArT_DNA_isolation.pdf)) ve içeriğine göre hazırlanmıştır. İlave edilen örneklere, steril çelik bir ezici vasıtasıyla homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Homojenize edilen örnekler, 65°C'de 60 dakika süreyle kuru blok

ısıtıcıda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon periyodu boyunca homojenliği artırmak amacıyla her 15 dakikada bir tüpler hafifçe alt üst edilmiştir. Süre sonunda, kuru blok ısıtıcıdan alınan örnekler oda sıcaklığına soğutulduktan sonra, üzerlerine 750 µl kloroform/izoamil alkol (24:1, w/w) karışımı eklenmiş ve 10 dakika boyunca yavaşça karıştırılarak 12.000 x g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. İzolatların genomik DNA'sının izolasyonu hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB)'a dayalı bir metodu olan ve DArT DNA izolasyon (<https://www.diversityarrays.com>) yönteminde belirtilen ekstraksiyon–lizis tamponu modifiye edilerek kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan ekstraksiyon lizis-buffer içeriği

<b>Ekstraksiyon-Lizis Tamponu İçeriği</b>	<b>Miktar</b>
Fresh Buffer 120 ml için	
Tris HCl pH 8.0 ml	15
5 M NaCl ml	20
EDTA pH 8.0 ml	5.5
CTAB g	1
Sorbitol g	3.19
Sarcosyl g	1
PVP-40 g	2.4
Sodyum disülfid g	0.6
Elde edilen karışım distile su ile 120 ml'ye tamamlanmıştır.	

Çalışmada kullandığımız primerlerin sentezi ve dizileme hizmetleri BM Labosis (Ankara, Türkiye) ticari firma tarafından temin edilmiştir.

Elde edilen süpernatant fazı, yeni 1.5 ml'lik santrifüj tüplerine aktarılmış ve DNA'nın çökeltilmesi için 0.6 hacim soğuk izopropanol ilavesi yapılmıştır. Bu aşamayı takiben, 12.000 x g'de 5 dakikalık bir santrifüj işlemi daha gerçekleştirilerek süpernatantlar uzaklaştırılmış ve oluşan peletler, iki kez %70'lik soğuk etanole tabi tutularak yıkanmış ve oda sıcaklığında 30 dakika süreyle kurutulmuştur. İzole edilen DNA, 100 µl steril ultra saf su içerisinde çözülmüş, konsantrasyonu DS-11 FX+ model bir nanospektrofotometre (Denovix Inc., Wilmington, DE, ABD) kullanılarak ölçülmüştür ve PCR çalışmaları için 50 ng/µl konsantrasyonuna ayarlanmıştır (Özer ve Bayraktar 2018).

**iPBS markörleri ile DNA amplifikasyonu:** Bu çalışma kapsamında, Kalendar vd. (2010) tarafından geliştirilen iPBS retrotranspozon temelli moleküler markörler kullanılmıştır. Bu primerlerin farklı baz dizilimlerine sahip olmaları, kalıp DNA'ya bağlanma afinitelerinde ve dolayısıyla erime sıcaklıklarında (T<sub>m</sub>) farklılıklara neden olmaktadır. Optimum PCR koşullarını ve en yüksek polimorfizm oranına sahip markörleri saptamak amacıyla tesadüfi seçilen 4 adet fungal izolatlara ait DNA örnekleri kullanılarak bir Gradient PCR optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu tarama neticesinde, polimorfik gücü en yüksek iPBS2395 (TCCCCAGCGGAGTCGCCA) retrotranspozon primeri tüm fungal izolatların moleküler karakterizasyonunda kullanılmak üzere seçilmiştir.

iPBS retrotranspozons analizleri Alkan vd. (2019)'a göre gerçekleştirilmiştir. Reaksiyona ilk önce 95°C'de 4 dakika denatürasyon ile başlanmış ve 30 döngü 95°C'de 15 saniye denatürasyon, 53°C'de 1 dakika bağlanma, 68°C'de 1 dakika ve son uzama safhası 72°C'de 5 dakika bekletilmiştir. iPBS analizleri için elde edilen PCR ürünleri 1×TAE (Tris, acetate ve EDTA) tampon çözeltisi kullanılarak %1,4'lik agaroz jelde yürütülerek etidyum bromür ile boyanmış ve UV altında G: BOX F3 jel görüntüleme sistemi (Syngene, Cambridge, İngiltere) ile görselleştirilmiştir. Çalışmalar iki kere tekrarlanarak çalışmayan örneklerden değerlendirilebilir bant profili elde edilene kadar optimizasyon çalışmalarına devam edilmiştir.

**SCoT markörleri ile DNA amplifikasyonu:** SCoT analizleri için, Collard ve Mackill (2009) tarafından geliştirilen 36 adet SCoT primeri kullanılmıştır. Optimum PCR reaksiyon koşullarını ve en polimorfik markörleri belirlemek amacıyla, rastgele seçilmiş 4 adet fungal izolatlardan elde edilen DNA örnekleri ile bir Gradient PCR optimizasyonu yapılmıştır. Bu optimizasyon çalışması sonucunda, polimorfik gücü yüksek olduğu tespit edilen SCoT32 primeri, tüm fungus izolatlarının moleküler karakterizasyonunda kullanılmak üzere seçilmiştir. PCR karışımları DreamTaq DNA polimeraz tamponu 10x, 0.24 mM dNTPs, 0.8 µM primer, 0.5 ünite Dream Taq DNA polimeraz ve 20 ng DNA içermektedir. Reaksiyona ilk önce 94°C'de 3 dakika denatürasyon ile başlanmış, 35 döngü 94°C'de 60 saniye denatürasyon, 50°C'de 1 dakika bağlanma, 72°C'de 2 dakika ve son uzama safhası 72°C'de 5 dakika bekletilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri 1xTAE

tampon çözeltisi kullanılarak %1.7-2'lik agaroz jelde yürütülerek etidyum bromür ile boyanmış ve UV altında jel görüntüleme sistemi ile görselleştirilmiştir.

**iPBS ve SCoT çalışmalarında elde edilen verilerin analizi:** iPBS ve SCoT markörleriyle yapılan analizler en az iki kez tekrarlanmış ve sadece tekrarlanabilir sonuçlar elde edilen bantlar değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Elde edilen tüm bantlar, ikili bir veri matrisi oluşturmak suretiyle pozisyonlarda mevcut (1) veya yok (0) olarak skorlanarak, iPBS ve SCoT markörlerinin kullanılabilirliğini ölçmek için Resolving Power (RP) ve Polymorphic Information Content (PIC) değerleri hesaplanmıştır (Prevost ve Wilkinson 1999; Roldan-Ruiz vd. 2000). Her bir markörün PIC değeri,  $PIC=2f(1-f)$  formülü kullanılarak hesaplanmış ve f, amplifiye edilen allelin frekansını ifade etmektedir (Roldan-Ruiz vd., 2000). Diğer taraftan, RP değerini hesaplamak için ilk olarak bant bilgisi (Ib) şu formülle hesaplanmıştır:  $Ib=1 - (2 \times |0.5-p|)$ , burada p fungus izolatlarının oranını temsil etmektedir. Markörlerden elde edilen veri matrislerini değerlendirmek için NTSYS ver. 2.02 kullanılarak kofenetik matris değerleri hesaplanmaya alınmıştır (Rohlf 1998). Jaccard'ın benzerlik katsayısı kullanılarak iPBS ve SCoT markörlerinin kümeleme analizlerinden elde edilen UPGMA dendrogramı oluşturulmuştur.

**Farklı fungus türlerinin DNA sekans analizi:** SCoT ve iPBS sonuçlarına göre farklı grupları temsil eden izolatların *tefl-a* ve *rpb2* gen bölgeleri Çizelge 3.3'de verilen koşullar kullanılarak çoğaltılmıştır.

Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan izolatların *tefl-a* ve *rpb2* gen bölgelerinin amplifikasyon koşulları

Kodu	Primer Sekansı (5'-3')	Amplifikasyon Koşulları	Referans
EF1	ATGGGTAAGGA(A/G)GA CAAGAC	1 döngü 94°C 5 d, 35 döngü 94°C 30 s, 54°C 45 s, 72°C 60 s ve 72°C 10 d	O'Donnell, Cigelnik ve Nirenberg 1998
EF2	GGA(G/A)GTACCAGT(G/ C)ATCAT GTT		
5f2	GGGGWGAYCAGAAGA AGGC	1 döngü; 94°C 5 d, 35 döngü 94°C 45 s, 54°C 45s, 72°C 2 d, ve 72°C 10 d	Reeb, Lutzoni ve Roux 2004
7cR	CCCATRGCTTGYYTTRCC CAT		Liu, Whelen ve Hall 1999

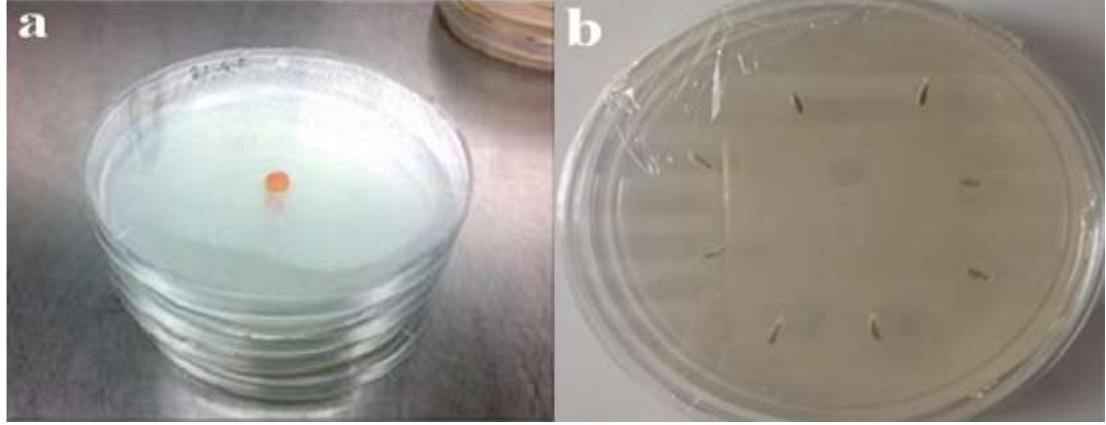
Bu amaçla izolatların genomik DNA'sının *tefl-a* gen bölgesine ait EF1 ve EF2 primerleri ve *rpb2* gen bölgesine ait 5f2 ve 7cR primerleri kullanılarak amplifiye edilmiştir. Her 50 µL PCR reaksiyonu, 20 ng DNA, 5 µL 10x tampon solüsyonu, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTPs, 0.4 µM ileri primer, 0.4 µM geri primer, 1.5 ünite Taq polimeraz ve moleküler saflıkta su (ddH<sub>2</sub>O) içeren karışım halinde gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri 1x TAE tampon solüsyonunda %1,2'lik agaroz jel içerisinde 100 voltta 60 dakika elektroforetik ayırma tabi tutulmuş ve 15-20 dakika etidyum bromit içeren solüsyonda bekletilerek boyanması sağlanmıştır. Elektroforez sonucu bantların varlığı anlaşılan ürünlerin geri kalan 40 µL'si ABI Prism® 3730xi cihazı yardımı ile sekans bilgilerinin elde edilmesi amacı ile ticari bir şirkete (BM Labosis, Ankara, Türkiye) gönderilmiştir. Sekanslama çift yönlü olarak gerçekleştirilmiştir. Sekanslama sonunda elde edilen veriler MEGA 12 bilgisayar programı ile analiz edilmiştir. Veriler National Center for Biotechnology Information (NCBI) GenBank veri kütüphanesine kayıtlı referans izolatlarla Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) analizi ile kıyaslaması yapılmıştır.

### **3.2.2 Patojenisite testleri**

#### **3.2.2.1 Tohum hipokotil testi**

Teşhisleri yapılan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatları petri kaplarında hassas marul (Yedikule) çeşidi kullanılarak ön patojenisite testine tabi tutulmuştur. Bu amaç için monokonidial Fol izolatları Patates Dextroz Agar (PDA, Merck) ortamına aktararak, 25±1°C sıcaklık, 12 saat aydınlık (beyaz floresan ışık) 12 saat karanlık periyot içeren koşullarda 10-12 gün inkübe edilmiştir. Gelişen kültürlerin kenarlarından alınan 5 mm çaplı agar parçaları %2'lik su agarına aktararak aynı koşullarda 2-3 gün tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Denemede kullanılan hassas marul çeşitlerine ait tohumlar %1'lik NaOCI'de 1-2 dakika yüzeysel dezenfeksiyona tabi tutularak iki seri sterilize saf sudan geçirilip steril kurutma kağıtları üzerinde kurutulduktan sonra gelişmekte olan kültürlerin misel uçlarına temas edecek ve her petride 8'er tohum olacak şekilde toplam 3 petriye ekimleri yapılmış ve petriler 25±1°C'de 10-15 gün inkübe edilmişlerdir (Şekil 3.1). Bu süre sonunda gelişen fidelerin kök ve hipokotilleri incelenerek hastalık

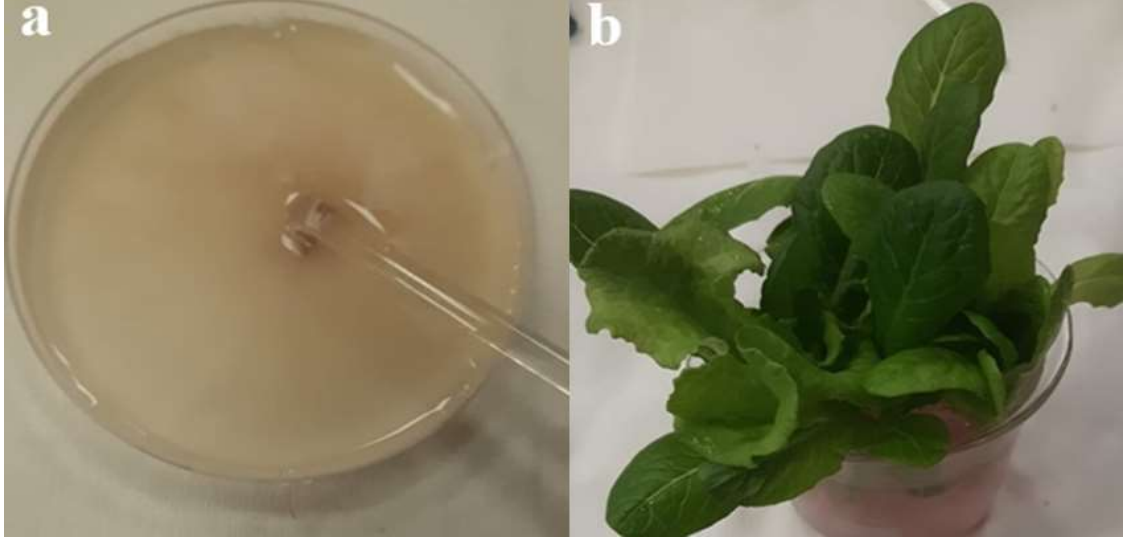
değerlendirmesi Ichielevich-Auster vd. (1985)'nin hipokotildeki nekrotik alan büyüklüğünün esas alındığı 0-5 skalasına göre yapılmıştır.



Şekil 3.1 Petri kaplarında yapılan tohum hipokotil testi. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin PDA ortamında gelişen kolonilerinden alınarak su agarına aktarılan diskler (a) tohum ekilmiş petri (b)

### 3.2.2.2 Ayırıcı test çeşitlerinin inokulasyonu

Ön patojenisite testi sonucunda patojen olarak değerlendirilen izolatlar PDA ortamında 12 saat aydınlık (beyaz floresan ışık) 12 saat karanlık periyot ve  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklık içeren koşullarda 15 gün süreyle geliştirildikten sonra her petriye 10 ml steril saf su ilave edilmiştir ve steril spatül kullanılarak sporların suya geçmesi sağlanmıştır (Şekil 3.2). Thoma lamı yardımıyla spor süspansiyonun konsantrasyonu  $1\times 10^6$  spor/ml olacak şekilde ayarlaması yapılmıştır. Çizelge 3.1'de verilen ayırıcı test çeşitlerinin 2-3 gerçek yapraklı dönemdeki fidelerinin kökleri bu süspansiyonlarda yaklaşık 30 dakika sürede tutulduktan sonra steril toprak, kompost, perlit karışımı içeren viollere transfer edilmişlerdir (Giraldi vd. 2016). Saksılar  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklık 12 saat aydınlık periyot içeren koşullara sahip iklim dolabında muhafaza edilmiştir. Her bir izolat için her bir çeşitte 3 bitki esas alınarak inokulasyondan 3 hafta sonra değerlendirmeler Fujinaga vd. (2003)'un 0-3 skalasına göre yapılmıştır.



Şekil 3.2 İnokulum hazırlanışı (a) ve ayırıcı test çeşitlerinin (Costarica, Patriot ve Banchu Red Fire)  $10^6$  spor/ml konsantrasyonda inokulum içerisinde bekletilmesi (b)

### 3.2.2.3 Hastalık değerlendirme

Hipokotil testi hastalık değerlendirmesinde kullanılan Ichievich- Auster vd. (1985) tarafından geliştirilen 0-5 skalası;

- 0=Hastalık belirtisi yok
- 1= Hipokotilin % 1-10'u enfekteli
- 2= Hipokotilin % 11-30'u enfekteli
- 3= Hipokotilin % 31-50'si enfekteli
- 4= Hipokotilin % 51-80'ni enfekteli
- 5= Hipokotilin tamamı enfekteli (Ölü bitki)

Ayırıcı test çeşitlerinin değerlendirilmesinde kullanılan Fujinaga vd. (2003)'ün 0-3 skalası;

- 0 = bitkiler sağlıklı, belirti yok
- 1 = yaprak sararması
- 2 = yaprak nekrozu, bodurluk ve solgunluk
- 3 = bitkilerde ölüm

Patojenisite testleri sonucunda elde edilen veriler hastalık indeksi ve % hastalık şiddeti olarak aşağıda verilen formüllere göre hesaplanmıştır. Hastalık indeksi değeri  $<1$  olan çeşitler dayanıklı, 1-2 arası olanlar orta dayanıklı ve  $\geq 2$  olan çeşitler hassas olarak kabul

edilmiştir. Dayanıklı olarak değerlendirilen çeşitlerin dayanıklılık durumlarının derecelendirilmesi neden oldukları hastalık şiddeti değerleri esas alınarak yapılmıştır.

**Hastalık İndeksi (Dİ):**  $\frac{\sum(Xi \cdot xni)}{N}$

Xi: Skala değeri, ni: skala değerindeki bitki sayısı, N: değerlendirilen toplam bitki sayısı

**% Hastalık Şiddeti:**  $\frac{\sum(\text{Her bir skala değeri} \times \text{skala değerindeki bitki sayısı})}{\text{En büyük skala değeri} \times \text{toplam bitki sayısı}} \times 100$

### 3.2.3 Vejetatif uyum gruplarının belirlenmesi

#### 3.2.3.1 Nit mutantlarının elde edilmesi

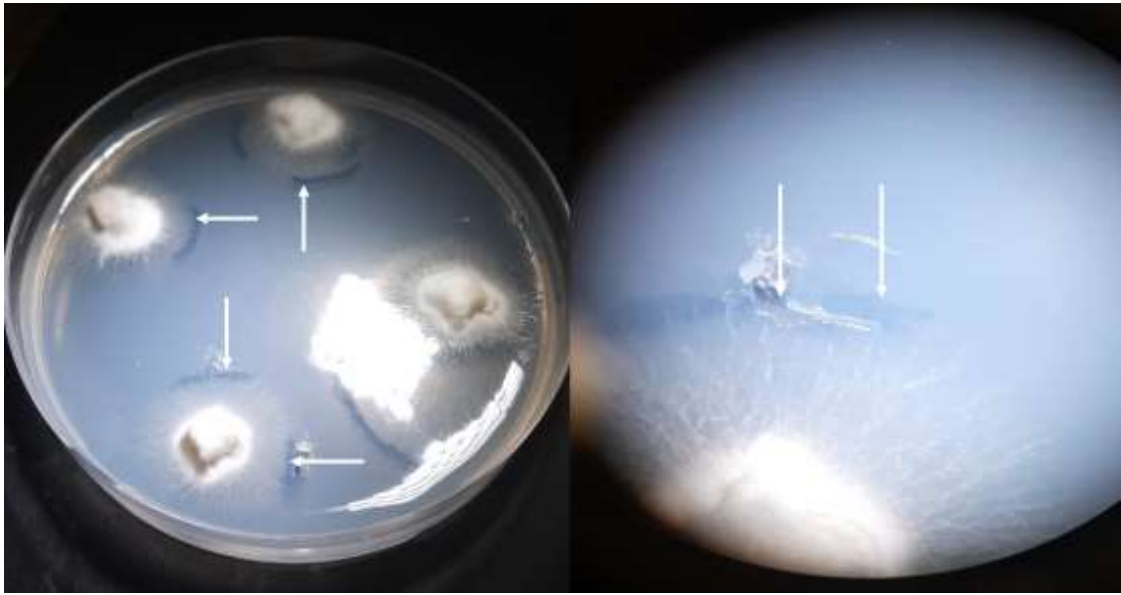
Monokonidial izolatlar PDA ortamına aşılansak 5 gün süreyle  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de geliştirildikten sonra Minimal Ortama (MM) aktarılmış ve aynı sıcaklıkta 5 gün inkübe edilmiştir (Pasquali vd. 2005). Bu sürenin sonunda gelişen kolonilerden yaklaşık 1 mm çapında diskler alınarak her petride 4 adet ve her izolat için 5 petri olacak şekilde nit mutant üretimi için klorat içeren MMC (Çizelge 3.4) ortamına aşılansmıştır (Puhalla 1985).

Çizelge 3.4 Nit mutant üretimi ve nit mutantlarının belirlenmesinde kullanılan ortamlar (Correll vd. 1987)

Bazal Ortam (BM)	Minimal Ortam (MM)	Kloratlı Minimal Ortam (MMC)
1L Destile Su	1L BM ortamı	1L MM ortamı
30 g Sakkoroz	2 g $\text{NaNO}_3$	15 g $\text{KClO}_3$
1 g $\text{KH}_2\text{PO}_4$		
0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$		
0.5 g KCl		
10 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$		
20 g Agar		
0.2 ml iz element solüsyonu (95 ml destile su, 5g sitrik asit, 5g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1g $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.25 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 50 mg $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 50 mg $\text{H}_3\text{BO}_4$ , 50 mg $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )		

Petriler,  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık periyot içeren ortamda 7-15 gün inkübe edilmiştir (Vannacci ve Cristani 1998). Bu süreçte periyodik olarak gözlemler yapılarak “klorat’a” dayanıklı (zayıf gelişen) sektörler (Şekil 3.3) MMC ortamlarında belirlenmiş (Puhalla 1985) ve bu sektörler her petri de 3 adet olmak üzere MM ortamı içeren petrilere aktarılmıştır.

Mutant tipini belirlemek için petrilere oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve 3-4 gün sonra mutant kontrolü yapılarak, MM ortamında havai misel olmaksızın zayıf fakat geniş yayılan sektörler nit mutantları olarak değerlendirilmiştir (Correll vd. 1987). Bu şekilde elde edilen nit mutantları MM ortamında tekrar geliştirilerek kullanılmaya kadar  $1\text{ mm}^3$  parçalar halinde eppendorf tüplerinde  $+4^{\circ}\text{C}$  buz dolabı içerisinde 1-1.5 ay saklanmıştır.



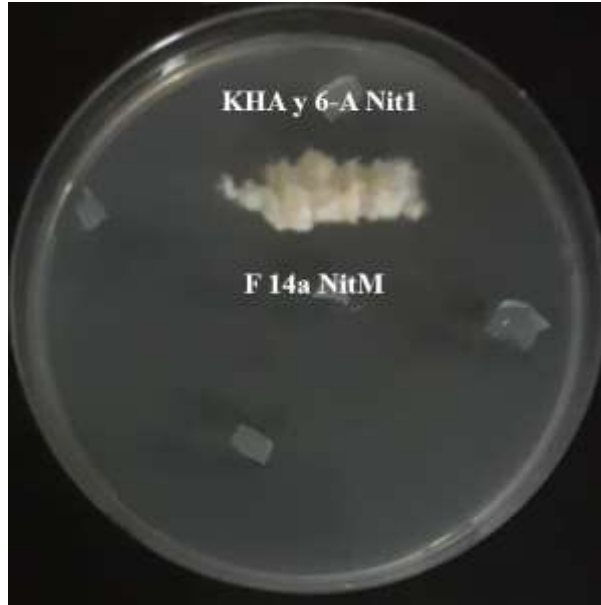
Şekil 3.3 Kloratlı minimal ortamda (MMC) zayıf gelişen sektörler

### 3.2.3.2 Nit mutantlarının ve VCG tanımlanması

Nit mutant fenotipi belirlemek için her bir mutant nitrat (MM), nitrit ( $\text{BM}+0.5\text{ g/L NaNO}_2$ ) ve hypoxanthine ( $\text{BM}+0.2\text{ g/L hypoxanthine}$ ) içeren ortamlarda geliştirilmiştir. Bu amaçla PDA ortamında geliştirilen nit mutantlarından alınan yaklaşık 2 mm çapındaki diskler farklı nitrojen içeren ortamlara aktarılmış ve petrilere 4 gün süreyle  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de

inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda mutantlar nitrat, nitrit ve hypoxanthine içeren ortamlardaki gelişmelerine göre sırasıyla nit1, nit3 ve nitM olarak tanımlanmıştır (Correll vd. 1987). Vejetatif uyumluluk için her bir izolatin farklı tipteki tüm nit mutantları tüm olası kombinasyonlar için eşleştirmiştir.

Bu amaçla iki farklı nit mutanını (nit1/nitM ve nit1/nit3) MM ortamına birbirlerine 3 cm uzaklıkta aşılanmış ve  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 7-14 gün inkübe edilmiştir. İki nit mutanını arasında birbirleri ile temas noktasında yoğun havai misel gelişimi olup olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.4). Bu tip misel gelişimi heterokaryon formasyonu olduğunu ve bu izolatların aynı VCG grubunda yer aldığını göstermektedir. Her bir izolatin VCG'sini belirlemek için standart VCG test mutantlarından VCG0300 ve VCG0303 kullanılarak heterokaryon oluşumu incelenmiştir (Nishimura 2003; Ogiso vd. 2002). VCG0301 ve VCG0302 referans izolatları temin edilemediği için bu gruplar ile eşleştirme yapılamamıştır. Aynı izolatin mutantları arasında uyum olmadığı takdirde bu izolatlar kendisi ile uyumsuz olarak tanımlanmıştır (Correll vd. 1987).



Şekil 3.4 Minimal ortamda (MM) iki farklı Fol izolati mutantları arasında heterokaryon oluşumu

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 *Fusarium* Türlerinin Teşhisi

Materyal ve yöntem bölümünde belirtildiği şekilde Ankara ili Beypazarı (Tacettin, Kayabükü ve Kızılcık), Ayaş ve Konya (Çumra, Kaşınhanı, Fakılı mevki) bölgelerinde solgunluk belirtisi gösteren marul ve aysberg bitkilerinden yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen ve +4°C’de tek spor halinde filtre kağıdında saklanan Çizelge 4.1 de belirtilen izolatların teşhisleri klasik ve moleküler yöntemler ile yapılmıştır.

Çizelge 4.1 Konya ve Ankara illeri marul ve aysberg ekili alanlarından elde edilen *Fusarium* spp. izolatları

İzolat No	Konya İli	Ankara İli
	İzolat Adı	İzolat Adı
1	K 1/17a1	BKK T-1 Kök A/z
2	K 19b	BTA 2/4 Kök B
3	F 14b2	BKK T-2 y-A
4	K 17a2	KHA 3y-A
5	Kaşınhanı 4	BKK T-1 k/B/x
6	K 1/6	KHA Kök 7A
7	K 1/7b2	KHA 6-B
8	F 11 K-Fakılı	BTA 3-k A-y
9	K 1.5	BTA No:1 k-A-y
10	K 1/5a	BTA 2/3 k-B
11	KÇY 1/1a	KHA 1/y A-x
12	KHA 11	BTA 2/1 k-A/y
13	Kaşınhanı 3	BKK T-1 k B-1
14	K 1.9	BKK T-1 k A-1
15	K 1/10	KHA y 6-A
16	K 17b2	BTK y-A-x
17	K 19a	BKK T-1/k/A
18	K 16	BTA 2/k/B
19	F 15a	Ayaş 4/1
20	F 12a	BTA 4/k/B
21	F 15b	BTA 3/k/B/x
22	K 1/7a	BKK T-1/k/A/x
23	F 14a	BTA Kök B/x
24	K 1-3	BKK T-1/k/A/w
25	F 14-10-1	BTA/6/Kök/B/y
26		KHA Kök 1 Beyaz

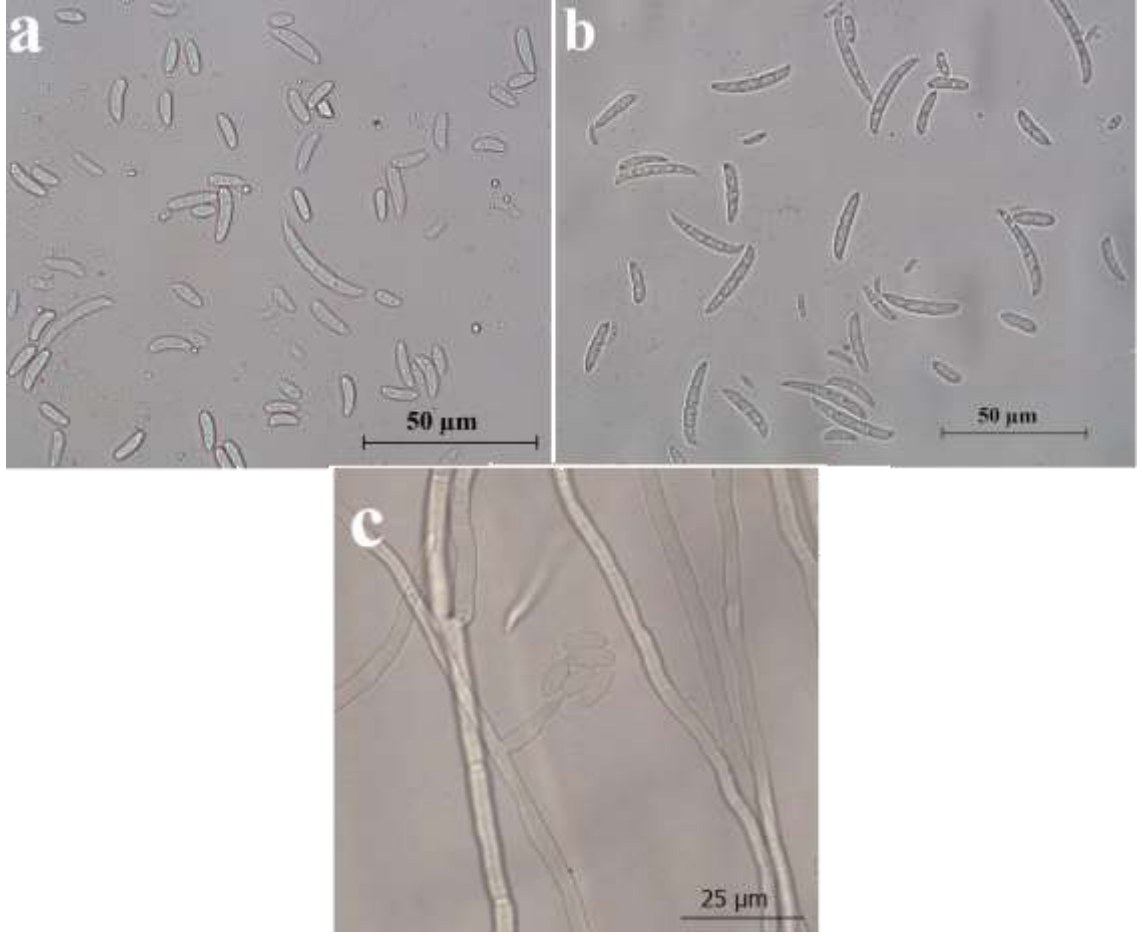
#### 4.1.1 Morfolojik teşhis

Tez çalışmasında kullanılan toplam 26 adet Ankara izolatu Zeynep Yumlu'nun Yüksek Lisans tez çalışmasının materyalinden temin edildiği için bu izolatlar için morfolojik ve kültürel özellikleri esas alınarak teşhis çalışması yapılmamıştır. Konya iline ait olan 25 adet *Fusarium* spp. izolatu Booth (1971; 1977), Leslie ve Summerell (2006) teşhis anahtarlarına göre teşhis edilmiştir.

*Fusarium oxysporum* olarak teşhis edilen izolatların PDA ortamındaki koloni gelişimi izolatlar arasında farklılık göstermekle birlikte açık şeftali renginden morumsu renklere kadar değişmiştir (Şekil 4.1). Koloni çapı 24±2°C 12-15 günde 80-85 mm'ye ulaşmıştır. Klamidospor oluşumu mevcuttur. Mikrokonidileri ortalama 7,2 x 2,8 µm boyutlarında ve bölmesiz, genellikle oval veya böbrek şeklinde gözlenmiştir. Hifler üzerinde bulunan mikrokonidileri taşıyan monofiyalitlerin boyu kısadır. İki ucu iğ şeklinde ve sivri uçlu olan makrokonidi genellikle 3-5 bölmeli olup, boyutları ortalama 29,8 x 3,6 µm dir (Şekil 4.2).



Şekil 4.1 *Fusarium oxysporum* izolatlarının PDA ortamında farklı renklerde oluşturduğu koloni gelişimi



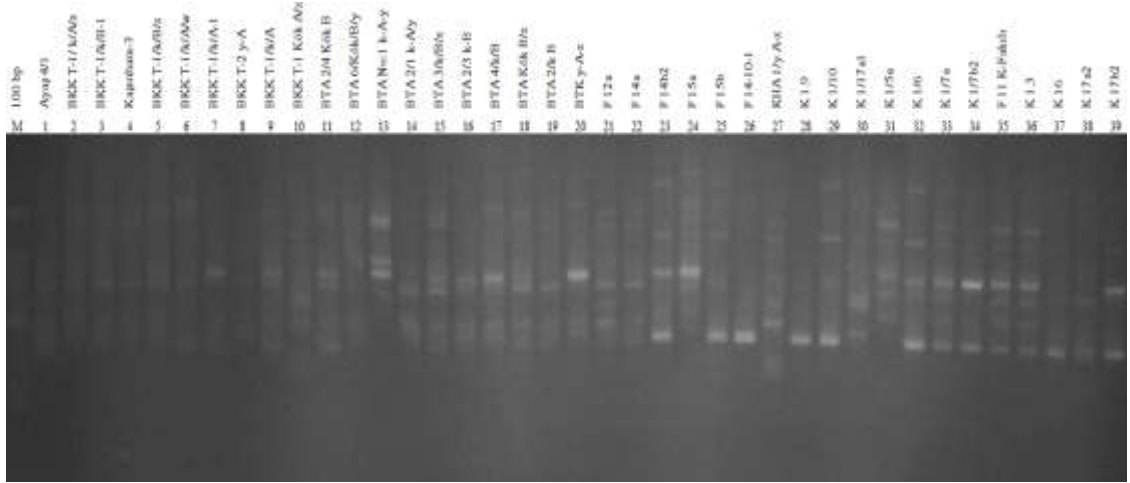
Şekil 4.2 *Fusarium oxysporum*'un mikro, makro konidileri (a, b) ve monofiyaliti (c)

#### 4.1.2 Moleküler analizler

Toplam 51 adet olan ve klasik teşhis yöntemlerine göre *Fusarium* spp. olarak teşhis edilmiş izolatlar arasındaki genetik farklılıkları belirlemek ve tür teşhisini doğrulamak için SCoT ve iPBS analizi gerçekleştirilmiştir. Seçilen izolatların kesin teşhisi ise *tefl-α* ve *rpb2* gen bölgelerinin sekans analizleri ile doğrulanmıştır.

##### 4.1.2.1 iPBS analizlerine ilişkin sonuçlar

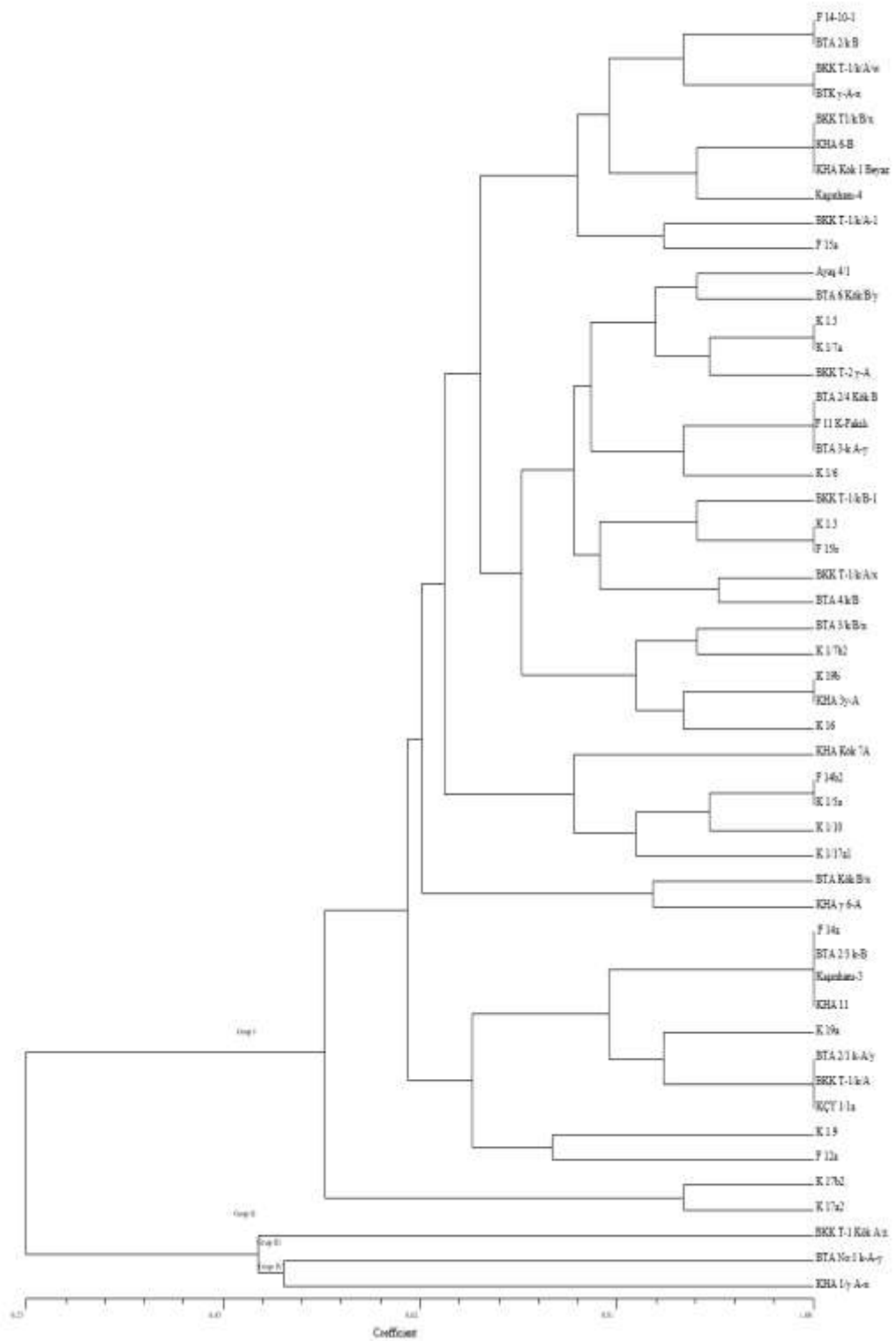
Toplam 83 iPBS primeri arasından yapılan ön denemeler sonucu polimorfik gücü en yüksek olan iPBS2395 (TCCCCAGCGGAGTCGCCA) primeri seçilmiştir. Primer iPBS2395'den elde edilen izolatlar için temsili bant desenleri Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3 Çalışmada elde edilen farklı *Fusarium* izolatlarına ait iPBS2395 markeri kullanılarak elde edilen DNA parmak izleri

Seçilen iPBS2395 primeri, 51 adet fungus izolatu arasındaki genetik varyasyonu değerlendirmek için toplamda 25 tekrarlanabilir ve skorlanabilir bant üretmiştir. Primerin polimorfik bant yüzdesi (PBY) %88,00 olarak hesaplanmıştır. iPBS2395 primeri farklı *Fusarium* türleri arasında yüksek düzeyde bir ayırım sağlamıştır.

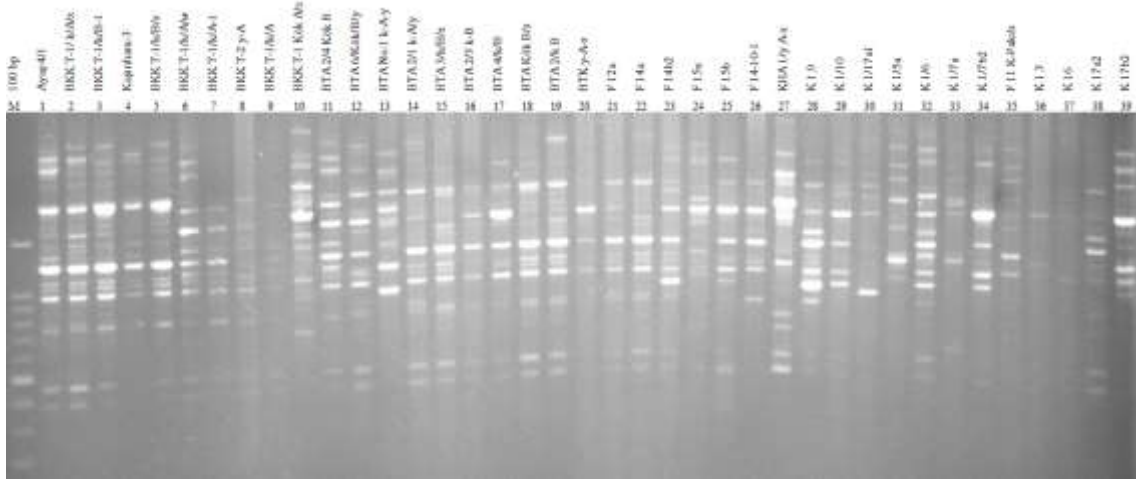
Jaccard'ın benzerlik katsayısı kullanılarak iPBS markörlerinin kümeleme analizlerinden elde edilen UPGMA dendrogramı, 51 adet *Fusarium* spp. türünün 4 ana gruba ayırmıştır (Şekil 4.4) Markör analizlerinin sonuçları herhangi tür altı bir karakterle birlikte bu çalışmada değerlendirilmemiştir.



Şekil 4.4 *Fusarium* spp. iPBS profillerine dayalı UPGMA dendrogramı

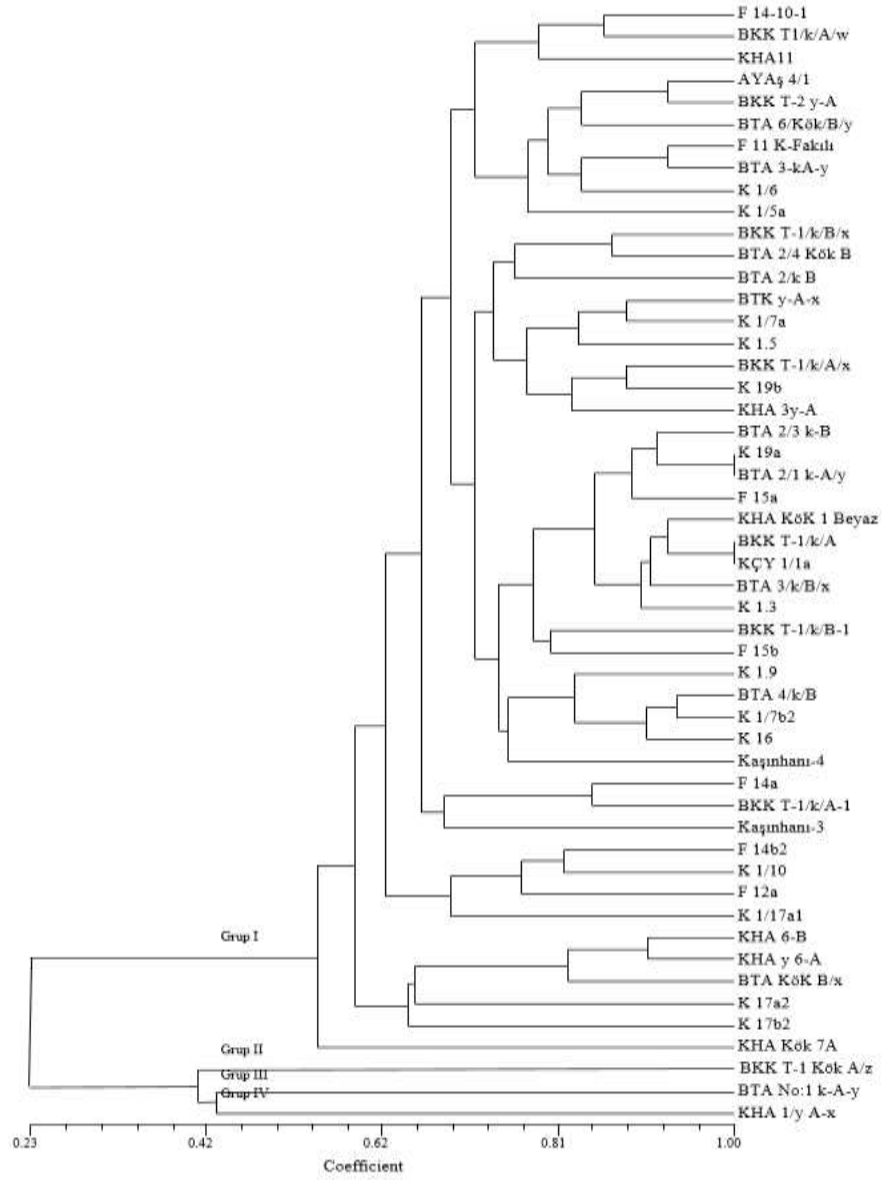
#### 4.1.2.2 SCoT analizlerine ilişkin sonuçlar

Toplam 36 SCoT primeri arasından yapılan ön denemeler sonucu polimorfik gücü en yüksek olan SCoT32 (CCATGGCTACCACCGCAC) primeri seçilmiştir. SCoT32'den elde edilen temsili bant desenleri Şekil 4.5'de gösterilmektedir.

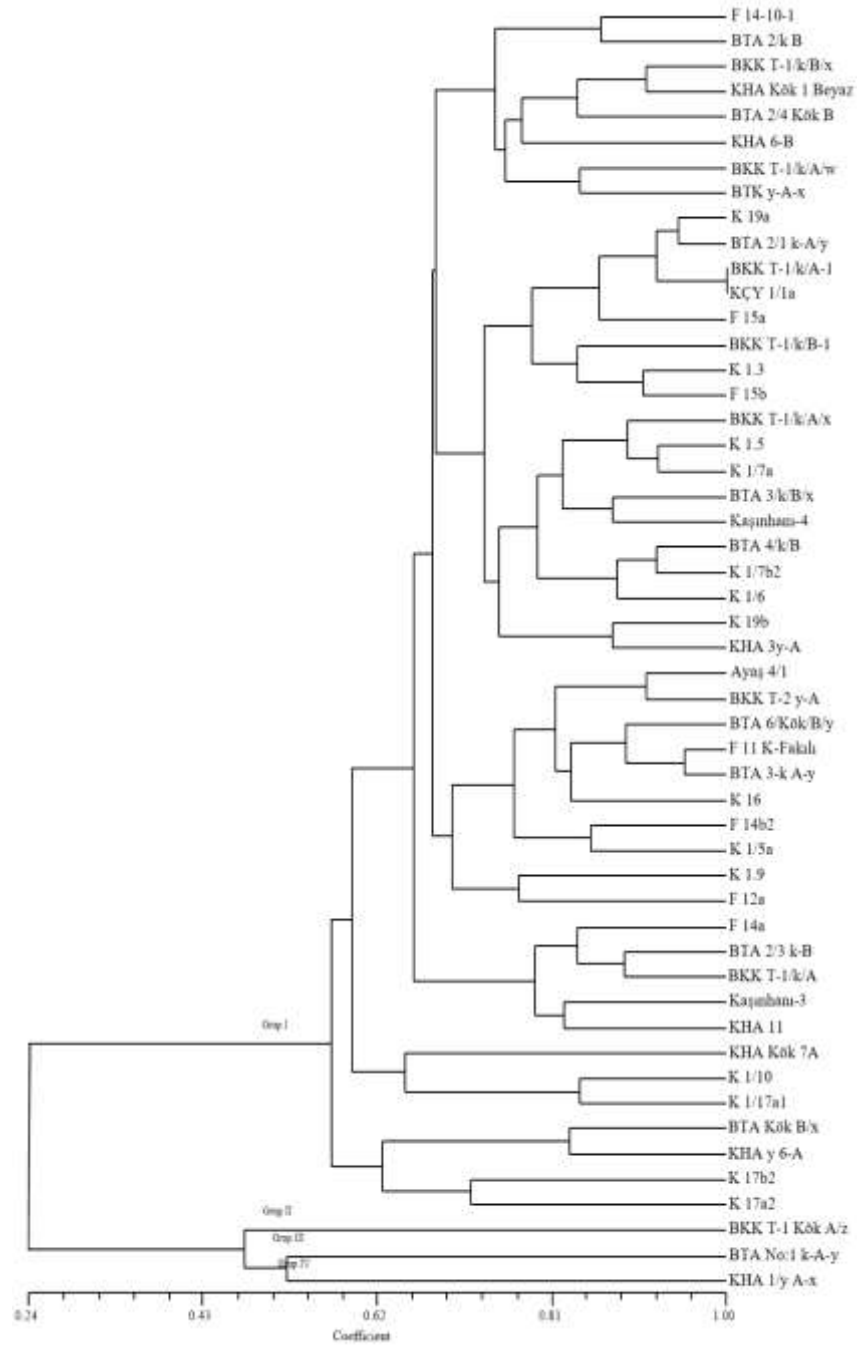


Şekil 4.5 Çalışmada elde edilen farklı *Fusarium* izolatlarına ait SCoT32 markeri kullanılarak elde edilen DNA parmak izleri

Bu çalışmada, SCoT32 primerinin 51 adet fungus izolatı arasındaki genetik varyasyonu değerlendirmede başarılı olduğu ve %92,11 gibi yüksek bir polimorfik bant yüzdesi (PBY) ortaya koyduğu görülmüştür. Bu değere göre SCoT32 primeri farklı *Fusarium* türleri arasında yüksek düzeyde bir ayırım sağlamış olup sonuçlar iPBS primeri ile uyumludur. Jaccard'ın benzerlik katsayısı kullanılarak SCoT32 markörünün kümeleme analizlerinden elde edilen UPGMA dendrogramı, 51 adet fungus izolatını 4 ana gruba ayırmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 *Fusarium* spp. SCoT profillerine dayalı UPGMA dendrogramı



Şekil 4.7 Her iki markör yönteminden elde edilen UPGMA dendrogramı

#### 4.1.2.3 Farklı grupların temsilen seçilen izolatların DNA sekans analizi sonuçları

iPBS ve SCoT markörleriyle elde edilen DNA parmak izlerine göre oluşan farklı grupları temsilen seçilen bazı izolatların *tefl-a* ve *rpb2* gen bölgeleri çoğaltılarak sekans hizmet alımı yoluna gidilmiş olup izolatların tür bazında tanımlaması gerçekleştirilmiştir. Bu

bağlamda farklı tür oldukları düşünülen ve aynı türlere ait farklı polimorfik türlerden toplam 51 adet fungus izolatını temsil eden 4 izolat seçilmiştir. Sekans verileri MEGA 12 programı ile analiz edildikten sonra NCBI web sitesinde yer alan BLASTn algoritması kullanılarak GenBank'taki her tür için karşılık gelen izolatlarla karşılaştırılmıştır. BLAST analiz sonuçları bütün izolatlar içerisinde 48 izolat *F. oxysporum* olarak tanımlanmış ve toplamda 3 adet örnek (%5,88) *F. oxysporum* dışında olduğu anlaşılmıştır: 1 tanesi *F. clavum*, 1 tanesi *F. equiseti*, 1 tanesi *F. redolens* (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Tanımlanan türlerin örneklere göre dağılımı

İzolat Kodu	iPBS grup	SCoT grup	Türler (Sekans analizine dayandırılmıştır)
1	Ayaş 4/1	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
2	BKK T-1/ k/A/x	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
3	BKK T-1/k/B-1	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
4	Kaşınhanı-3	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
5	BKK T-1/k/B/x	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
6	BKK T-1/k/A/w	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
7	BKK T-1/k/A-1	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
8	BKK T-2 y-A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
9	BKK T-1/k/A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
10	BKK T-1 Kök A/z	B	<i>F. redolens</i>
11	BTA 2/4 Kök B	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
12	BTA 6/Kök/B/y	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
13	BTA No:1 k-A-y	C	<i>F. equiseti</i>
14	BTA 2/1 k-A/y	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
15	BTA 3/k/B/x	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
16	BTA 2/3 k-B	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
17	BTA 4/k/B	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
18	BTA Kök B/x	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
19	BTA 2/k B	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
20	BTK y-A-x	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
21	F 12a	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
22	F 14a	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
23	F 14b2	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
24	F 15a	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
25	F 15b	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
26	F 14-10-1	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
27	KHA 1/y A-x	D	<i>F. clavum</i>
28	K 1.9	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
29	K 1/10	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
30	K 1/17a1	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
31	K 1/5a	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>

Çizelge 4.2 Tanımlanan türlerin örneklere göre dağılımı (devam)

İzolat Kodu	iPBS grup	SCoT grup	Türler (Sekans analizine dayandırılmıştır)
32 K 1/6	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
33 K 1/7a	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
34 K 1/7b2	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
35 F 11 K-Faklı	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
36 K 1.3	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
37 K 16	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
38 K 17a2	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
39 K 17b2	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
40 BTA 3-k A-y	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
41 KHA Kök 7A	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
42 KHA 6-B	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
43 K 19a	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
44 KHA Kök 1 Beyaz	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
45 KHA 11	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
46 KÇY 1/1a	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
47 Kaşınhanı-4	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
48 K 19b	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
49 K 1.5	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
50 KHA y 6-A	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
51 KHA 3y-A	A	A	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>

Çalışmada, marul bitkilerinden izole edilen ve *F. oxysporum* olduğundan şüphelenilen izolatların moleküler düzeyde kimliklendirilmesi hedeflenmiştir. Çalışmanın temel bulgusu, hastalık semptomu gösteren bitkilerden izole edilen fungus popülasyonunun sadece *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* olmadığını; *F. clavum*, *F. equiseti* ve *F. redolens* gibi farklı *Fusarium* türlerini de içerdiğini göstermesidir. Çalışmanın başlangıcında, izolatlar arasındaki genetik polimorfizmi ve farklılıkları hızlı bir şekilde saptamak amacıyla iPBS ve SCoT moleküler markörleri kullanılmıştır. Bu ön tarama, tüm izolatları sekanslamak yerine, oluşan farklı grupları temsil eden izolatların seçilerek daha ileri ve kesin bir tanımlama olan DNA sekans analizine geçilmesine olanak tanımıştır. Bu durum, hem zaman hemde maliyet açısından verimlilik sağlamıştır.

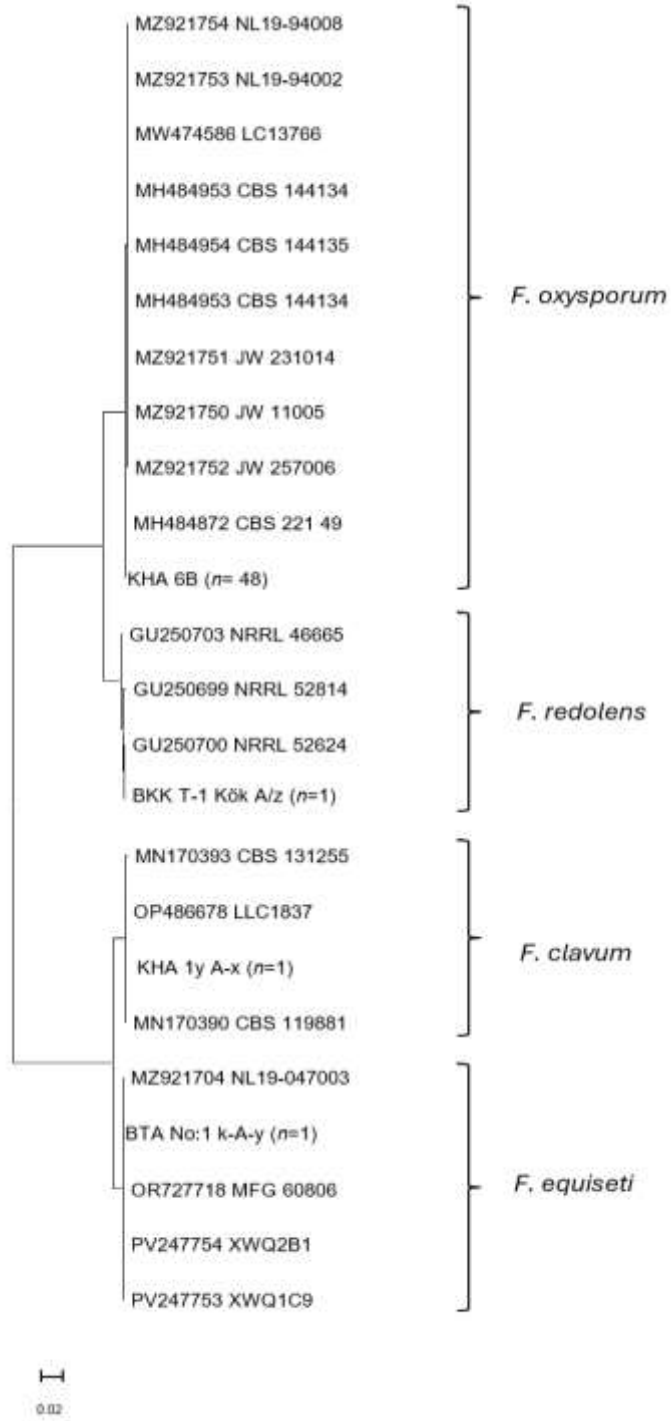
Çalışmanın en dikkat çekici sonuçlarından biri, incelenen 51 fungal izolatın 48'nin (%94,12) *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* olarak tanımlanırken, 3 izolatın (%5,88) ise (*F. clavum*, *F. equiseti*, *F. redolens*) türleri olarak tanımlanmasıdır. Bu bulgu, başlangıçta yapılan morfolojik ve kültürel yöntemlere dayalı teşhislerin, özellikle *Fusarium* gibi

morfolojik olarak birbirine çok benzeyen türleri barındıran bir cinste, tür düzeyinde kesin bir ayırım için yetersiz kalabileceğini ortaya koymaktadır. Tarlada gözlemlenen hastalık belirtilerinin arkasında tek bir patojen yerine bir "tür kompleksi" bulunabileceği, bu çalışmanın en önemli çıkarımlarından biridir.

iPBS ve SCoT markörleriyle yapılan gruplandırmanın doğrulanması ve türlerin kesin kimliklendirilmesi amacıyla *Fusarium* spp. taksonomisinde yaygın olarak kabul gören *tef1-a* ve *rpb2* gen bölgelerinin DNA sekans analizi yapılmıştır. Elde edilen sekans verilerinin, NCBI GenBank veritabanı kullanılarak BLAST ile analiz edilmesi, kimliklendirmenin ulusal verilerle karşılaştırılarak yüksek bir doğrulukla yapılmasını sağlamıştır.

#### **4.1.2.4 Filogenetik analiz sonuçları**

İzolatların filogenetik ağacı, Maximum Likelihood yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur (Nei ve Kumar 2000). Filogenetik analizler izolatlar arasında belirli düzeyde bir polimorfizm ortaya koymuştur (Şekil 4.8). Filogenetik ağaç tüm izolatları 4 ana gruba ayırmıştır.



Şekil 4.8 Bu çalışmada elde edilen izolatlar ile NCBI'dan alınan referans izolatların MEGA 12 yazılımı kullanılarak maximum likelihood yöntemiyle oluşturulmuş filogenetik ağacı

## 4.2 Patojenisite Sonuçları

### 4.2.1 Tohum hipokotil testi

Teşhisleri yapılan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatlarının petri kaplarında hassas marul (Yedikule) çeşidi kullanılarak yapılan tohum hipokotil testi sonuçları Çizelge 4.3'te verilmektedir.

Çizelge 4.3 *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatlarının hastalık şiddeti değerleri

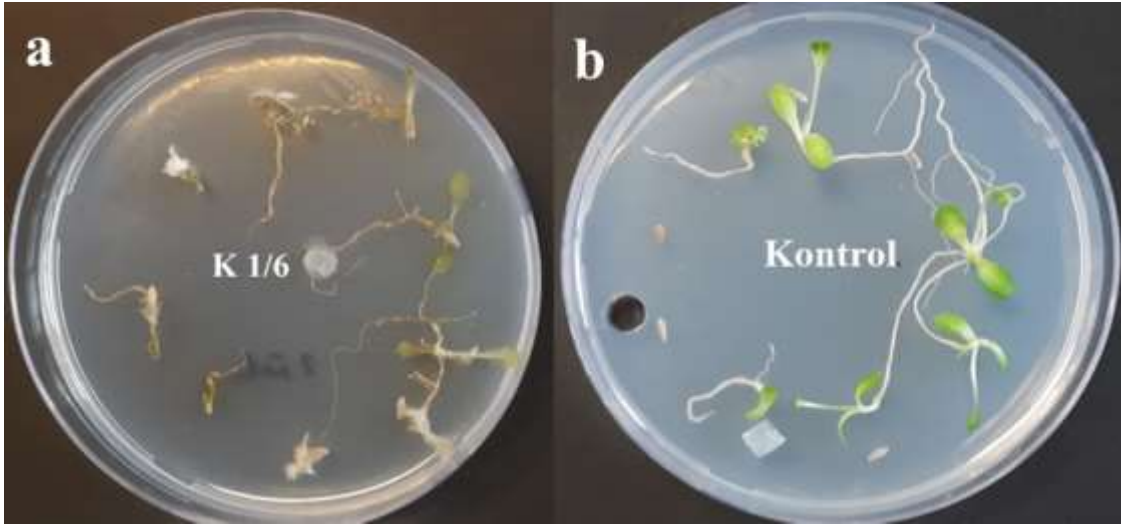
İzolot No	Konya İli		Ankara İli	
	İzolot Adı	Hastalık Şiddeti (%)	İzolot Adı	Hastalık Şiddeti (%)
1	K 1/17a1	76,66	BTA 2/4 Kök B	51,30
2	K 19b	70,66	BKK T-2 y-A	27,70
3	F 14b2	74,33	KHA 3y-A	13,30
4	K 17a2	87,40	BKK T-1 k/B/x	42,00
5	Kaşınhanı-4	60,00	KHA Kök 7A	63,70
6	K 1/6	90,92	KHA-6B	76,00
7	K 1/7b2	76,29	BTA 3-k A-y	56,00
8	F 11 K-Fakılı	81,48	BTA 2/3 k-B	51,60
9	K 1.5	69,62	BTA 2/1 k-A/y	34,00
10	K 1/5a	82,81	BKK T-1/k/B-1	20,00
11	KÇY 1/1a	66,47	BKK T-1/k/A-1	62,50
12	KHA 11	68,33	KHA y 6-A	38,80
13	Kaşınhanı-3	82,02	BTK y-A-x	67,00
14	K 1.9	47,40	BKK T-1/k/A	81,00
15	K 1/10	78,88	BTA 2/k/B	65,00
16	K 17b2	80,55	Ayaş 4/1	70,83
17	K 19a	65,00	BTA 4/k/B	75,00
18	K 16	85,92	BTA 3/k/B/x	45,00
19	F 15a	82,22	BKK T-1/k/A/x	20,00
20	F 12a	88,88	BTA Kök B/x	54,00
21	F 15b	84,44	BKK T-1/k/A/w	38,00
22	K 1/7a	76,29	BTA 6 Kök B/y	40,00
23	F 14a	86,00	KHA Kök 1 Beyaz	30,00
24	K 1.3	63,13		
25	F 14-10-1	70,72		

İzolatların oluşturduğu hastalık şiddeti ile markör çalışmaları sonucu elde edilen dağılımın korelasyonu bu çalışma kapsamında araştırılmamıştır. Deneme sonucunda

Konya ilinden elde edilen 25 adet *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatının hastalık şiddeti oranları %47,40 ile %90,92 arasında değişmiştir (Çizelge 4.3). Genel olarak hastalık şiddeti değerlerinin %70 -80 aralığında dağılım gösterdiği görülmüştür.

Toplam 26 adet olan Ankara izolatlarından üç tanesinin Fol olmaması nedeniyle patojenisite denemesine alınmamıştır. *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* olarak kesin teşhisleri yapılan 23 izolatın hastalık şiddeti oranları ise %20 ile %81 arasında değişmiştir.

Konya izolatları arasında en yüksek hastalık şiddeti (%90,92) değerine sahip olan izolat K 1/6 izolatı olurken (Şekil 4.9) en düşük hastalık şiddeti (47,40) değerine sahip olan izolat K 1.9 olarak saptanmıştır (Şekil 4.10). Ankara izolatları içerisinde BKK T-1/k/A izolatı %81 hastalık şiddeti değeri ile en yüksek patojenisiteye sahip izolat olarak değerlendirilmiştir. Patojenisite denemeleri sonucunda *F. oxysporum* Konya izolatlarının hastalık şiddetlerinin Ankara izolatlarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.9 Konya K 1/6 kodlu *Fusarium oxysporum* izolatının kök ve hipokotilde oluşturduğu belirtiler (a) kontrol petrisi (b)



Şekil 4.10 Konya K 1.9 kodlu *Fusarium oxysporum* izolatının kök ve hipokotilde oluşturduğu belirtiler (a) kontrol petrisi (b)

#### 4.3 Nit Mutantlarının Elde Edilmesi

On dokuz adet Konya ve 17 adet Ankara Fol izolatu ile Fol 888 (ırk 4), Fol 896 (ırk 4), GT Fus1 (ırk 1) ve GT Fus2 (ırk 1) referans izolatlarının nit1, nit3 ve nit M mutantları Çizelge 4.4 belirtilen reaksiyonlara göre elde edilmiştir.

Çizelge 4.4 Nit mutantlarının tanılanması (Correll vd. 1987)

Mutant Tipi	Nitrat ( $\text{NaNO}_3$ )	Nitrit ( $\text{NaNO}_2$ )	Hipoksantin
Nit 1	-	+	+
Nit 3	-	-	+
Nit M	-	+	-

Konya; F 11 K-Fakılı, K 1.5, F 15a, F 12a, F 15b, K 1/7a ve Ankara; BTA 3 k A-y, KHA 3y-A, BKK T-1 k A, BTA 2 k B, BTA 3 k B x, BKK T-1 k A x izolatlarının kloratlı minimal ortamdaki (MMC) sektörleri minimal ortamda (MM) hifsel geliştiğinden dolayı bu izolatlardan mutant elde edilememiştir. Nit mutantlarının elde edilmesinde Konya, Ankara ve referans izolatlarından toplam 805 adet mutant elde edilmiştir. Bunların 730'u

nit1, 25'i nit3 ve 50'si nitM mutantları olarak bulunmuştur. Konya, Ankara ve referans izolatlarından; K 19b, Kaşınhanı-4, KÇY 1/1a, K 1.3, BKK T-2 y-A, KHA y 6-A, Ayaş 4/1 ve GT Fus2 ırk 1'den sadece nit1 mutantları elde edilmiştir. K 1/17a1, KHA 11, K 1.9, K 16, BTA 2/3 k-B, BTA 4/k/B ve Fol 888 ırk 4 izolatlarından 3 mutant tipi tespit edilmiştir. Bunların dışındaki izolatlardan nit1 mutantıyla birlikte nit3 veya nitM mutantlarından herhangi birisi bulunmuştur. Konya, Ankara ve referans izolatlarından elde edilen mutant tipi ve sayısı Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

#### **4.4 İzolatların Vejetatif Uyumluluklarının ve Gruplarının Belirlenmesi**

Mutant tipi belirlenen 19 adet Konya, 17 adet Ankara ve 4 adet referans izolatlarının her türlü kombinasyonları minimal ortamda (MM) eşleştirilerek vejetatif uyumluluk durumları belirlenmiştir.

Konya ve Ankara izolatlarının mutantları kendi aralarında sırasıyla 75 ve 52 adet, Ankara ve Konya izolatları birbirleriyle 125 adet ve Yurtdışı referans izolatları hem birbirleriyle hem de kendileriyle 62 adet olmak üzere toplam 314 adet vejetatif uyumluluk grubu testi yapılmıştır.

Yapılan çalışma sonucunda izolatların aralarında heterekaryon oluşturma durumlarına göre vejetataif uyum grupları belirlenmiş ve Çizelge 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5 Konya, Ankara ve referans izolatlarının mutant tipleri, sayıları, VCG ve hastalık şiddeti değerleri

İzolat No	İzolat Adı	Lokasyon	Nit1	Nit3	NitM	VCG	Hastalık Şiddeti (%)
1	K 1/17a1	Konya	21	2	2	VCG 030-	76,66
2	K 19b	Konya	23	-	-	**	70,66
3	F 14b2	Konya	15	-	2	VCG 030-	74,33
4	K 17a2	Konya	20	4	-	VCG 030-	87,40
5	Kaşınhanı-4	Konya	20	-	-	*	60,00
6	K 1/6	Konya	10	1	-	SC	90,92
7	K 1/7b2	Konya	17	-	2	HSI	76,29
8	K 1/5a	Konya	17	3	-	SC	82,81
9	KÇY 1/1a	Konya	11	-	-	*	66,47
10	KHA 11	Konya	17	1	2	VCG 0303	68,33
11	Kaşınhanı-3	Konya	27	-	5	SC	82,02
12	K 1.9	Konya	13	1	2	VCG 0303	47,40
13	K 1/10	Konya	19	-	1	SC	78,88
14	K 17b2	Konya	15	-	2	VCG 030-	80,55
15	K 19a	Konya	17	1	-	VCG 0303	65,00
16	K 16	Konya	20	2	2	HSI	85,92
17	F 14a	Konya	12	-	2	VCG 030-	86,00
18	K 1.3	Konya	13	-	-	*	63,13
19	F 14-10-1	Konya	30	-	3	VCG 030-	70,72
20	BTA 2/4 Kök B	Ankara	11	2	-	VCG 0303	51,30
21	BKK T-2 y-A	Ankara	19	-	-	*	27,70
22	BKK T-1 k/B/x	Ankara	27	-	2	VCG 0303	42,00
23	KHA Kök 7A	Ankara	15	1	-	SC	63,70
24	KHA 6-B	Ankara	18	-	1	VCG 030-	76,00
25	BTA 2/3 k-B	Ankara	20	1	2	VCG 0303	51,60
26	BTA 2/1 k-A/y	Ankara	30	-	-	**	34,00
27	BKK T-1 k/B-1	Ankara	16	-	2	VCG 0303	20,00
28	BKK T-1 k/A-1	Ankara	18	-	2	VCG 0303	62,50
29	KHA y 6-A	Ankara	26	-	-	**	38,80
30	BTK y-A-x	Ankara	12	-	2	VCG 0303	67,00
31	Ayaş 4/1	Ankara	14	-	-	*	70,83
32	BTA 4/k/B	Ankara	13	2	2	SC	75,00
33	BTA Kök B/x	Ankara	15	-	2	VCG 030-	54,00
34	BKK T-1 k/A/w	Ankara	14	-	2	VCG 0303	38,00
35	BTA 6 Kök B/y	Ankara	25	-	3	VCG 030-	40,00
36	KHA Kök 1 Beyaz	Ankara	18	3	-	SC	30,00
37	GT Fus 1 ırkl	Yunanistan	20	-	2	VCG 0300	-
38	GT Fus 2 ırkl	Yunanistan	23	-	-	VCG 0300	-
39	Fol 888 ırk4	Hollanda	22	1	2	VCG 0303	-
40	Fol 896 ırk4	Hollanda	17	-	1	VCG 0303	-
<b>Toplam</b>			<b>730</b>	<b>25</b>	<b>50</b>		

\*; sadece Nit1 mutanlığı elde edilen ve heterokaryon oluşturmayan izolatlar, \*\*; sadece Nit1 mutanlığı elde edilen heterokaryon oluşturan izolatlar, VCG 030-; heterokaryon oluşturan VCG'si belli olmayan izolatlar, SC; Self-competible (kendileriyle uyumlu) sadece kendi Nit1 mutantlarıyla heterokaryon oluşturan VCG'si belli olmayan izolatlar, HSI; heterokaryon self-incompatible (kendileriyle uyumsuz) izolatlar.

Konya; K 1/17a1, F 14a, F 14b2, F 14-10-1, K17b2 ve Ankara; KHA 6B, KHA yaprak 6A, BTA Kök B/x ve BTA 6 Kök B/y izolatları hem kendi hemde birbirlerinin

mutantlarıyla heterokaryon oluşturdıkları görülmüş ve bu izolatların birbirleriyle vejetatif uyumlu oldukları tespit edilmiştir. Ancak bu izolatların Fol 1 ve 4 referans izolatlarıyla heterokaryon oluşturmadığı gözlenmiş ve vejetatif uyum grupları belirlenememiştir. Bu izolatların vejetatif uyum grupları VCG 030- olarak adlandırılmıştır. Ayrıca bu izolatların mutantlarının hiç biri diğer Konya ve Ankara izolatlarının mutantlarıyla heterokaryon oluşturmamıştır. KHA yaprak 6A Ankara izolatının nit1 mutanı bu izolatların nitM ve nit3 mutantlarıyla heterokaryon oluturmasına rağmen (Şekil 3.1 ve 4.1) nitM mutanı elde edilemediğinden vejetatif uyum grubu tam olarak belirlenememiştir.

Konya; K 19a, K 19b, KHA 11, K 1.9 izolatlarının mutantları kendi aralarında ve ortak olarak sadece BTK y-A-x Ankara izolatının mutantlarıyla heterokaryon oluşturarak vejetatif olarak uyumlu oldukları saptanmıştır. K 1.9 dışındaki diğer üç Konya izolatının mutantları Ankara izolatlarından BKK T-1/k/A-1, BKK T-1/k/A/w, BKK T-1/k/B-1 ve BKK T-1/k/B/x mutantlarıyla heterokaryon oluşturmuştur. Bunların dışında bu 5 adet Konya izolatının hiç biri diğer Konya, Ankara ve referans izolatının herhangi bir mutanı ile heterokaryon oluşturmamıştır. K 19b izolatının nit1 mutanı bu izolatların mutantlarıyla heterokaryon oluşturmalarına rağmen nitM mutanı elde edilemediğinden vejetatif uyum grubu tam olarak belirlenememiştir.

BKK T-1/k/B/x Ankara izolatının mutantları Konya; KHA 11, K 19b, K 19a ve Ankara; BKK T-1/k/B-1, BTK y-A-x izolatlarının mutantlarıyla heterokaryon oluşturarak vejetatif olarak uyumlu oldukları ve aynı vejetatif uyum grubunda buldukları gözlenmiştir. Bunun dışında BKK T-1/k/B/x Ankara izolatı başka herhangi bir izolatın mutanı ile heterokaryon oluşturmamıştır.

BTA 2/3 k-B, BTA 2/4 Kök B ve BTA 2/1k-A/y Ankara izolatlarının mutantları birbirleriyle ve BKK T-1/k/B-1 Ankara izolatının mutantlarıyla heterokaryon oluşturmuş ve vejetatif olarak uyumlu oldukları belirlenerek aynı VCG de buldukları saptanmıştır. Bunun dışında bu 3 adet Ankara izolatı diğer izolatların mutantlarıyla heterokaryon oluşturmamıştır. BTA 2/1k-A/y Ankara izolatından nitM mutanı elde edilemediğinden VCG'si tam olarak belirlenememiştir.

BKK T-1/k/A-1 ve BKK T-1/k/A/w Ankara izolatının mutantları birbirleriyle ve Konya; K 19a, K 19b, KHA 11, Ankara; BKK T-1/k/B-1, BTK y-A-x izolatlarının mutantlarıyla heterokaryon oluşturarak vejetatif olarak uyumlu oldukları ve aynı vejetatif uyum grubunda buldukları gözlenmiştir. Bunların dışında bu iki Ankara izolatının mutantları başka hiçbir izolatın mutantıyla heterokaryon oluşturmamıştır.

BKK T-1/k/B-1 Ankara izolatının mutantları Konya; KHA 11, K 19b, K 19a ve Ankara; BTK y-A-x, BKK T-1/k/A-1, BKK T-1/k/A/w, BKK T-1/k/B/x, BTA 2/3 k-B, BTA 2/4 Kök B, BTA 2/1k-A/y A ve Fol 888 ve Fol 896 ırk 4 referans izolatlarının mutantlarıyla heterokaryon oluşturmuş ve vejetatif olarak bu izolatlarla uyumlu olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.11). BKK T-1/k/B-1 Ankara izolatının ve bu izolatla uyumlu diğer izolatların VCG 0303'e ait olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Bunun dışında başka herhangi bir izolatla heterokaryon oluşturmamıştır.

BTK y-A-x Ankara izolatının mutantları Konya; KHA 11, K 19b, K 19a, K 1.9, Ankara; BKK T-1/k/B-1, BKK T-1/k/A-1, BKK T-1/k/A/w, BKK T-1/k/B/x ve Fol 896 ırk 4 referans izolatlarının mutantlarıyla heterokaryon oluşturmuş ve bu izolatla vejetatif olarak uyumlu oldukları gözlenen diğer izolatların VCG 0303'e ait oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Bu izolatın mutantları başka diğer izolatların hiçbir mutantıyla heterokaryon oluşturmamıştır.

K 16 ve K 1/7b2 izolatlarının mutantlarının hem kendi arasında hem de diğer izolatların mutantları arasında heterokaryon oluşturmadıkları tespit edilmiş ve bu izolatlar kendileriyle uyumsuz (self-incomptable) oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

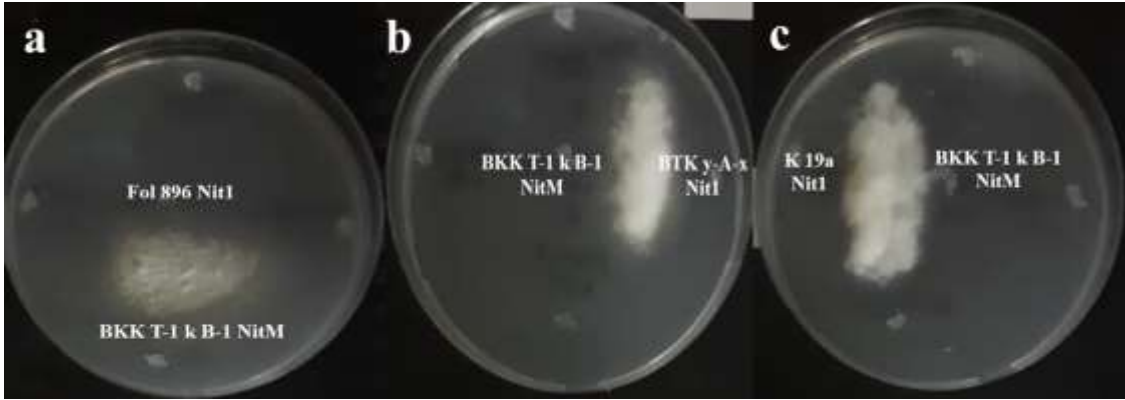
Kaşınhanı-3, K 1/5a, K 1/6 ve K 1/10 Konya ve BTA 4/k/B, KHA Kök 7A ve KHA Kök 1 Beyaz Ankara izolatlarının nitM ve nit3 mutantları sadece kendi nit1 mutantlarıyla heterokaryon oluşturmuş ve sadece kendi mutantlarıyla uyumlu oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Sadece kendi mutantlarıyla uyumlu olan bu izolatların Konya, Ankara ve referans izolatlarının hiç birisiyle heterokaryon oluşturmadığı saptanmıştır. Bu durumun patojenin mutasyon hızının yüksek olması sonucu alt ırklara ayrılarak ortaya çıkmış olabileceği tahmin edilmektedir.

Kaşınhanı-4, K 1.3, KÇY 1/1a Konya ve Ayaş 4/1 ve BKK T-2 y-A Ankara izolatlarının nit1 mutantları diğer izolatların nitM ve nit3 mutantlarıyla heterokaryon oluşturmadığı gözlenmiştir. Bu izolatlardan nitM ve nit3 mutantları elde edilemediğinden kendileriyle uyumsuz oldukları tam olarak belirlenememiştir.

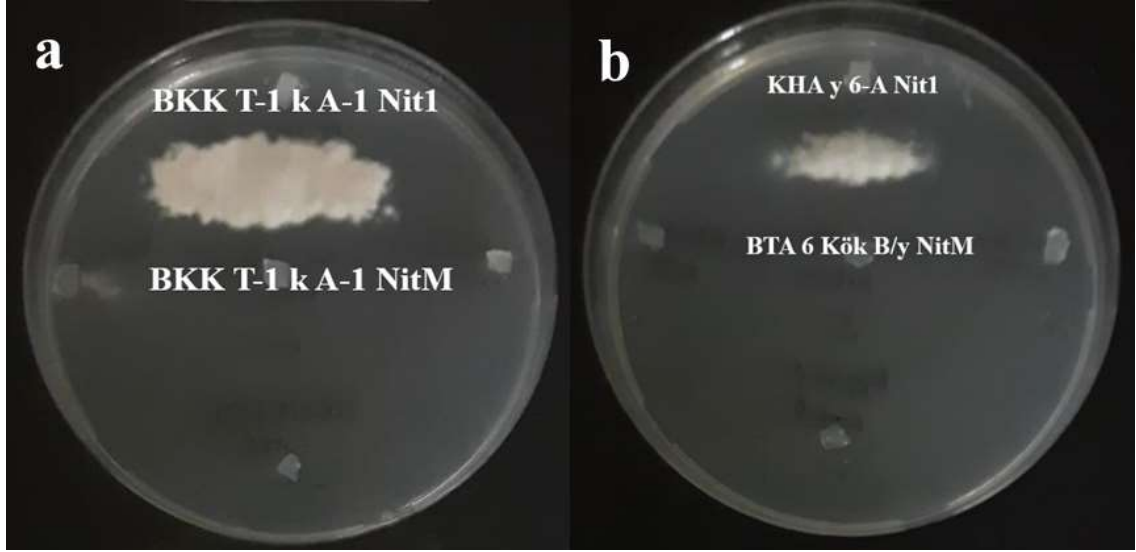
GT Fus1 ve GT Fus2 ırk 1 izolatlarının mutantları kendi aralarında heterokaryon oluşturmasına karşılık Ankara ve Konya ve Fol ırk 4 referans izolatlarının hiç bir mutantıyla heterokaryon oluşturmamıştır.

Fol 888 ırk 4 izolatının mutantları Fol 896 ırk4 izolatı (Şekil 4.13) ve Ankara BKK T-1/k/B-1 izolatının mutantlarıyla heterokaryon oluşturmuş bunların dışında Ankara, Konya ve Fol ırk 1 referans izolatlarının hiçbir mutantıyla heterokaryon oluşturmamıştır.

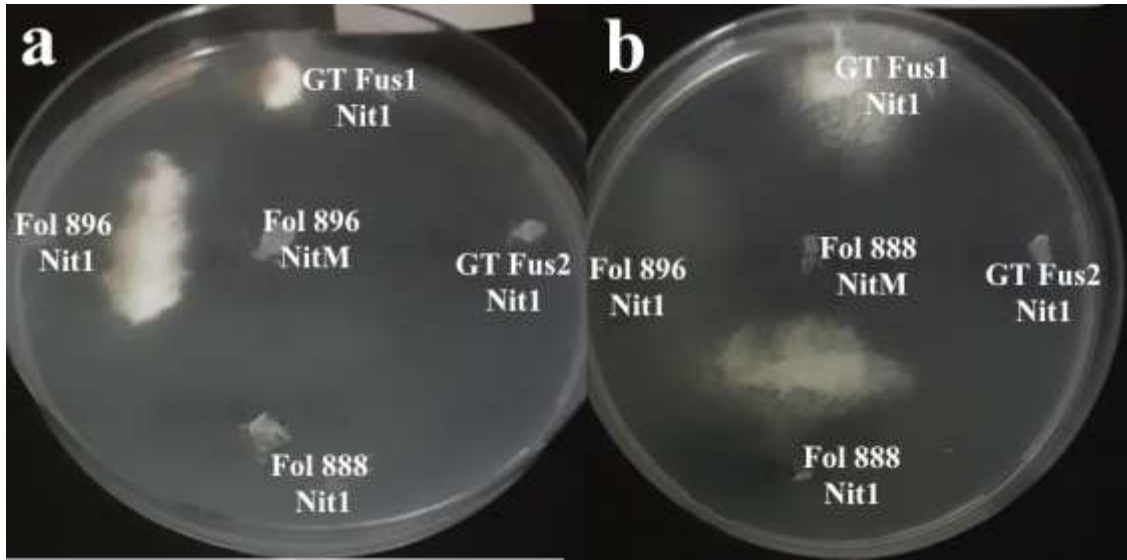
Fol 896 ırk 4 izolatının mutantları Fol 888 ırk 4 izolatı (Şekil 4.13) ve Ankara BKK T-1/k/B-1, BTK y-A-x izolatının mutantlarıyla heterokaryon oluşturmuş bunların dışında GT Fus ırk 1, Ankara ve Konya izolatlarının hiçbir mutantıyla heterokaryon oluşturmamıştır.



Şekil 4.11 Aynı vejetatif uyum grubunda bulunan BKK T-1 k B-1 nitM mutantının Fol 896 ırk 4 nit1 (a), BTK y-A-x nit1 (b) ve K 19a nit1 (c) mutantlarıyla minimal ortamda heterokaryon oluşturması



Şekil 4.12 Minimal ortamda (MM) BKK T-1 k A-1 NitM mutantının Nit1 mutanıyla heterokaryon oluşturması (a), BTA 6 Kök B/y ve KHA y 6-A izolatının heterokaryon oluşturması (b)



Şekil 4.13 Fol 896 (a) ve Fol 888 (b) ırk4 referans izolatlarının mutantlarının kendi aralarında oluşturdukları zayıf ve güçlü heterokaryonlar

#### 4.5 İzolatların Ayırıcı Test Çeşitleriyle Irklarının Belirlenmesi

*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatlarının ülkemizdeki ırklarının belirlenmesi amacı patojenisite testi sonucunda virulensi yüksek olan izolatlar ile VCG grupları dikkate alınarak Konya izolatlarından; K 1/6, K 17a2, K 17b2 ve F 14a, Ankara

izolatlarından; BKK T-1 k/B/x, KHA 6-A KHA 6-B, BTK y-A-x, , BTA Kök B/x izolatları seçilmiş ve referans izolatlardan ırk 4'ü temsil eden Fol 896 izolatlarından hazırlanan spor süspansiyonları ile 3.2.2.2 kısmında belirtildiği gibi ayırıcı test çeşitleri olan Patriot, Costarica ve Banchu Red Fire (Şekil 4.14) fideleri inokule edilmişlerdir.



Şekil 4.14 Fol ırk denemesinde kullanılan ayırıcı marul çeşitleri; Patriot (a), Costarica (b), Banchu Red Fire (c)

İklim dolabında  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve 12 saat aydınlık periyot içeren koşullarda muhafaza edilen K 17a2, K 17b2, F 14a, KHA 6A, KHA 6B, BTA Kök B/x, BKK T-1 k b x kodlu Konya ve Ankara izolatları ile inokule edilen ayırıcı test çeşitlerinin fidelerinin fazla nemden çürüyerek ölmesi sonucu bu izolatların ırk teşhisleri yapılamamıştır.

Konya K 1/6 ve Fol 896 ırk 4 izolatının Costarica ve Patriot fidelerinin de aşırı nemden ölmesi sonucu bu izolatların sadece Banchu Red Fire fideleri değerlendirilmiştir. Ankara BTK y-A-x izolatının Costarica fidelerinin ölmesi sonucu bu izolatın Patriot ve Banchu Red Fire fideleri değerlendirilmiştir.

Konya K 1/6 ve Ankara BTK y-A-x ve Fol 896 ırk 4 izolatlarının ayırıcı test çeşitleri kontrol bitkileriyle kıyaslanarak Fujinaga vd. (2003) 0-3 skalasına göre hastalık indeksleri belirlenmiştir. K 1/6 ve Ankara BTK y-A-x ve Fol 896 ırk 4 izolatlarının Banchu Red Fire test çeşidindeki hastalık indeksleri sırasıyla 2, 1.5 ve 2 olarak bulunmuştur. Bu değerlerde orta dayanıklılığı ifade etmektedir.

Çizelge 3.1 de verilen ayırıcı test çeşitlerinin ırklara göre verdiği reaksiyona bakılarak yapılan değerlendirmelerde, sadece Fol ırk 4'e karşı Banchu Red Fire çeşidi orta derece dayanıklı reaksiyon vermektedir. O nedenle iki izolatın ırk 4 olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.15 Sağlıklı ayırıcı marul çeşitleri



Şekil 4.16 Fol 896 ırk 4, K 1/6 ve BTK y-A-x izolatları ile inokuleli ve kontrol Banchu Red Fire bitkileri



Şekil 4.17 BTK y-A-x izolatının Banchu Red Fire çeşitinde oluşturduğu bodurluk ve solgunluk belirtisi

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*'nin marulda solgunluk ve kök boğazı çürüklüğü hastalığına neden olduğu ve etmenin dünyada marul üretilen alanlarda önemli ürün kayıplarına yol açtığı bilinmektedir (Garibaldi vd. 2004; Sanna vd. 2022). Ülkemizde İç Anadolu bölgesinde önemli marul ekiliş alanına sahip Ankara ve Konya illerimizde patojenin yaygın olarak görüldüğü ve önemli kayıplara yol açtığı belirlenmiştir. Marulda solgunluk hastalığı etmeni Fol ile ilgili ülkemizde herhangi bir çalışma yapılmaması, etmenin ırk oluşturabilmesi, bulaşık tohumlar vasıtasıyla son yıllarda hızla yayılması ve küresel marul üretimini büyük ölçüde tehdit etmesi bakımından etmenin ülkemizdeki durumunu vejetatif uyum gruplarıyla birlikte mevcut ırklarının da tespit edilerek ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda 83 iPBS primeri arasından polimorfik gücü en yüksek olan iPBS2395 primeri kullanılarak 51 adet *Fusarium* izolatu arasındaki genetik varyasyon değerlendirilmiştir. iPBS2395 primeri toplamda 25 tekrarlanabilir ve skorlanabilir bant üretmiş ve primerin polimorfik bant yüzdesi (PBY) %88,00 olarak hesaplanmıştır. Alkan vd. (2019) 7 adet iPBS primeri kullanarak buğdayda farklı *Fusarium* türlerini belirlemişlerdir. Çalışmalarında kullandıkları iPBS primerinin %86,80 lik polimorfizm oranıyla toplam 114 bant ürettiğini gözlemlemiş ve bu verilere dayanarak *Fusarium* türlerinin taksonomik gruplara ve coğrafik kökene göre 3 ana kümeye ayrıldığını tespit etmişlerdir. Bu kaynak, bizim tezimizde *Fusarium* popülasyonunu incelemek için iPBS yöntemini kullanmamızın, türleri ayırt etme ve genetik yapıyı ortaya koyma konusundaki gücünü kanıtlayan değerli bir referanstır. Bizim çalışmamızda primerler için hesaplanan PIC ve RP indeks değerleri sırasıyla 0,16 ve 6,00 olarak bulunmuş olup iPBS2395 primerinin farklı *Fusarium* türleri arasında yüksek düzeyde bir ayırım sağladığı tespit edilmiştir. Birinci grupta *F. oxysporum*, ikinci grupta *F. redolens*, üçüncü grupta *F. equiseti* ve dördüncü grupta *F. clavum* izolatlarının kümelendiği görülmüştür. *F. oxysporum*'un toplandığı grubun çok sayıda alt gruba ayrıldığı belirlenmiştir.

Aydın vd. (2020) farklı gıda matrislerinden izole edilen 8 farklı türe ait 112 suşun türler arası ve tür içi genetik varyasyonunu 8 farklı iPBS primerini kullanarak incelediği

çalışmada elde edilen 278 bantın tümünün polimorfik olduğunu bildirmiştir. Elde edilen bu değer mevcut çalışmada elde edilen ortalama PBY değerinden yüksektir. Tür içi polimorfizm çalışılan türlere göre değişkenlik gösterebilmektedir. Aradaki farklılığın temel sebebinin çalışılan türlerin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, retrotranspozonlar çevresel etkilerden dolayı genomun bir yerinden diğer yerine kendilerini kopyalayarak genomun boyunu uzatmakta, bu da polimorfik bantların tespit edilmesine yol açmaktadır (Feschotte ve Pritham 2007). Bu sebeple çevresel faktörlerin de iPBS yöntemi ile tespit edilen polimorfizmi etkileyebileceği düşünülmektedir. Diğer yandan, mevcut çalışmada elde edilen ortalama PBY değerleri ile benzer sonuçlar farklı fungus türlerinde iPBS markörleri kullanılarak bildirilmiştir (Özer vd. 2016; Özer ve Bayraktar 2018). iPBS yönteminin temeli, retrotranspozonların genom içindeki hareketliliğine dayanmaktadır. Retrotranspozonlar, özellikle çevresel stres faktörlerinin etkisiyle genom içinde yer değiştirerek veya kendilerini kopyalayarak genomik polimorfizmlere neden olurlar (Feschotte ve Pritham 2007). Bu nedenle izolatların elde edildiği coğrafi konum, konukçu bitki veya maruz kaldıkları çevresel koşullardaki farklılıklar, gözlemlenen genetik varyasyon düzeyini etkilemiş olabilir. Bu durum, iPBS belirteçlerinin sadece genetik farklılığı değil, aynı zamanda çevresel adaptasyonun genomik izlerini de yansıtabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda 36 adet SCoT primeri arasından polimorfik gücü en yüksek SCoT32 primeri kullanılmış ve bu primerin %92,11 oranında polimorfik bant yüzdesi (PBY) oluşturmuştur. Bu orana göre SCoT32 primerinin 51 adet *Fusarium* izolatu arasındaki genetik farklılıkları ayırt etme gücünün yüksek olduğu tespit edilmiştir. SCoT32 primerinin PIC ve RP indeks değerleri sırasıyla 0,18 ve 9,41 olarak hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar iPBS primeriyle uyumlu bulunmuştur. Literatürde SCoT32 primer ile *Fusarium* türleri izolatlarına ait herhangi bir karakterizasyona rastlanmamıştır. Çalışmamızda SCoT markörlerden elde edilen toplam bant sayısı iPBS markörlerinden daha yüksek bulunmuştur. Jaccard'ın benzerlik katsayısı kullanılarak elde edilen SCoT32 markörlerinin kümelenme analizlerinde 51 adet *Fusarium* izolatının 4 ayrı gruba ayrıldığı belirlenmiştir. SCoT32 dendogramında izolatların aynı iPBS dendogramında olduğu gibi tür bazında kümelendiği saptanmıştır. Palacıoğlu vd. (2023) çalışmasında 36 farklı SCoT primeri kullanarak 10 farklı fungus türüne ait 96 izolatın türler arası ve tür içi

polimorfizimlerini belirlemişlerdir. Çalışmalarında 6 primerin %97,28 oranında polimorfizm ve 331 adet belirgin bant deseni oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Primerlerin inceledikleri fungus türlerini ayırt edebilen profiller ürettiklerini belirleyerek SCoT markörlerinin bitki patojeni fungusların hem tanımlanmasında hem de genetik çeşitliklerinin belirlenmesinde etkin olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu kaynak, bizim tezimizde *F. oxysporum* popülasyonunun genetik yapısını analiz etmek için SCoT markörlerini kullanmamızın metodolojik geçerliliğini ve gücünü destekleyen güncel ve doğrudan ilişkili bir çalışmadır. Elde edilen bulgular literatürle karşılaştırıldığında ise ilginç sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada SCoT markörleri ile elde edilen toplam bant sayısının, Aydın vd. (2020) tarafından bildirilen değerlerden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılık, çalışılan organizmaların türü, kullanılan primerlerin kombinasyonu veya incelenen popülasyonların kendi içindeki genetik çeşitlilik seviyeleri gibi faktörlerden kaynaklanabilir. Her çalışmanın kendi biyolojik materyali ve deneysel koşulları içinde değerlendirilmesi gerektiğini göstermesi açısından bu sonuç önemlidir. Diğer yandan, bu çalışmadaki bant sayısının Liu vd. (2021) tarafından Inter Simple Sequence Repeat (ISSR)-PZR yöntemiyle bildirilen değerlerden daha yüksek olması, SCoT tekniğinin potansiyelini vurgulayan bir başka bulgudur. ISSR da yaygın bir markör sistemi olmasına rağmen, SCoT'un bu karşılaştırmada daha fazla bant üretmesi, genomda daha fazla polimorfik bölgeyi tarayarak genetik çeşitliliği daha kapsamlı bir şekilde ortaya koyma potansiyeline sahip olabileceğini ima etmektedir. Kalendar vd. (2010) tarafından geliştirilen ve retrotranspozonlara dayalı olan iPBS markörleri ile Collard ve Mackill (2009) tarafından geliştirilen ve başlangıç kodonlarını hedefleyen SCoT markörleri, fungal popülasyonlar içindeki genetik çeşitliliği belirlemede güçlü moleküler araçlardır. Bu çalışmada, her iki markör sisteminin de izolatları başarılı bir şekilde farklı gruplara ayırdığı görülmüştür. Çalışmada iPBS ve SCoT markörleriyle elde edilen gruplara ait izolatların *tefl-a* ve *rpb2* gen bölgeleri çoğaltılarak sekans analizleri yapılmış ve izolatların türleri teşhis edilmiştir. Bunun sonucunda 48 adet izolat *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ve 3 izolat BKK T-1 Kök A/z; *F. redolens*, BTA No:1 k-A-y; *F. equiseti* ve KHA 1yA-x; *F. clavum* olarak tespit edilmiştir.

Çalışmada *Fusarium* solgunluğuna hassas olan Yedikule marul çeşidi kullanılarak yapılan tohum hipokotil patojenisite testinde izolatlar arasında farklı oranlarda hastalık şiddeti

meydana gelmiştir. İzolatların agresivitesindeki farklılıklar, farklı patotip veya ırklarının olması nedeni ile hastalık şiddetlerinde de farklılıklar görülebilmektedir. Bunların yanı sıra kullanılan çeşitler, izolatların saklama koşulları ve süresi gibi faktörlerde hastalık etmenlerinin patojenisitesinde rol oynayan ve göz ardı edilmemesi gereken faktörlerdir. Bütün bunların yanı sıra *in vivo* da gerçekleştirilecek patojenisite testlerin de alınacak sonuçlarda da farklılıklar olabilecektir.

*Fusarium oxysporum* izolatları arasındaki genetik ilişkileri ve farklılıkları belirlemek için vejetatif uyum grupları kullanılmaktadır. Bu uyum gruplarının *F. oxysporum* izolatlarından farklı özel ortamlarda elde edilen nit mutantlarının aralarında oluşturduğu heretekaryon yeteneklerine göre belirlendiği bilinmektedir (Ogiso vd. 2002; Pasquali vd. 2008). Çalışmamızda bu amaçla Konya, Ankara ve Yurtdışı referans izolatlarının vejetatif uyumluluklarını belirlemek için izolatların potasyum klorat içeren ortamda sınırlı gelişen bölgelerinden alınan sektörlerin minimal (nitrat) ortama aktarılarak yüzeysel gelişen bölgelerden Nit mutantları elde edilmiştir. Puhalla (1985) yaptığı çalışmasında *F. oxysporum* izolatlarının klorat (KClO<sub>3</sub>) içeren minimal ortamda (MMC) sınırlı gelişme gösteren bölgelerinden elde ettikleri sektörlerin minimal ortama aktarıldıklarında nitrati kullanamadıklarından dolayı zayıf ve yüzeysel bir gelişme göstererek mutant oluşturduklarını belirlemiştir. Çalışmasında kloratlı ortamda sınırlı gelişme gösteren izolatlardan elde edilen sektörlerin minimal ortamda azot kaynağı olarak nitrati kullanmaları sonucunda hifsel gelişim göstererek yabani tipe döndüklerini ve mutant oluşturmadıklarını saptamıştır. Aynı metodu kullanarak yapmış olduğumuz çalışmamızda F 11 K-Fakılı, K 1.5, F 15a, F 12a, F 15b, K 1/7a, BTA 3 k A-y, KHA 3y-A, BKK T-1 k A, BTA 2 k B, BTA 3 k B x ve BKK T-1 k A x kodlu Konya ve Ankara izolatlarında benzer durum görülmüş ve bu izolatların kloratta zayıf gelişen sektörlerinin minimal ortamda azot kaynağı olarak nitrati kullanmaları sonucunda hifsel gelişen bu izotatlardan mutant elde edilememiştir. Geriye kalan izolatların nitrati kullanma yeteneklerinin olmadığı belirlenmiş ve bunlardan Nit mutantları elde edilmiştir.

Araştırmacılar *F. oxysporum* nit mutantlarının farklı ortamlarda farklı fenotiplerde gelişme gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışmalarında azot kaynağı olarak nitrati kullanamayan nit mutantlarının; hipoksantin ve nitrit ortamında yüzeysel gelişenlerini sırasıyla nitM ve

nit3, her iki ortamda hifsel gelişenlerini ise nit1 mutantı olarak adlandırmışlardır. Çalışmalarında nit1 mutantların nit3 ve nitM mutantına göre daha yoğun olarak bulunduğunu belirlemişlerdir (Correll vd. 1987). Çalışmamızda bu metoda göre izolatlardan elde edilen toplam 805 adet nit mutantının %90,70 si Nit1, %3,10'u nit3 ve %6,20'si nitM olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz bu mutantların minimal ortamda tüm kombinasyonları eşleştirilerek toplam 314 adet vejetatif uyumluluk testi yapılmış ve izolatların aralarında oluşturdukları heterekaryon durumuna göre vejetatif uyum grupları belirlenmiştir.

Correll vd. (1986) vasküler solgunluğa neden olan *F. oxysporum* strainlerinin belirli bir konukçuda veya konukçu grubunda oluşturduğu enfeksiyon durumlarına göre forma speciales ve ırklara ayırdıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar *F. oxysporum*'un toprakta bulunan ve herhangi bir konukçuda enfeksiyona neden olmayan strainlerinde bulunduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar *F. oxysporum*'un patojen olmayan strainlerinin ırklarının ve f.sp.'in belirlenmesinin patojen strainlerine karşı yapılacak biyolojik mücadele uygulamalarında faydalı olabileceğine değinmişlerdir. *F. oxysporum* strainlerinin patojen olan ırklarının f.sp.'in belirlenmesinde kullanılan enfeksiyon şiddeti oranının etmenin patojen olmayan ırklarının formaspecialleslerinin belirlenmesinde ve sınıflandırılmasında yetersiz olduğunu bildirmişlerdir. Bu amaçla patojen ve patojen olmayan strainlerin f.sp.'in sınıflandırılmasında vejetatif uyum gruplarının kullanılabilceğini önermişlerdir. Çalışmalarında fenotipik özellikleri belirlenmiş nitratı kullanamayan nit mutantlarının (nit1 ve nitM) minimal ortamda eşleştirerek iki mutantın temas ettiği noktada yoğun bir havai miselyum üretilmesi durumunda bunların vejetatif olarak uyumlu olduklarını ve aynı vejetatif uyum grubunda bulduklarını saptamışlardır. Vejetatif olarak uyumlu olan izolatların genetik olarak benzer olabileceklerini belirtmişlerdir. Ek olarak heterekaryon oluşturmayan izolatların vejetatif olarak uyumsuz olduğunu aktarmışlar ve bunların self-incompatible kendileriyle uyumsuz izolatlar olarak adlandırmışlardır. Çalışmalarında bir izolatın sadece tek vejetatif uyum grubuna ait olduğunu saptamışlar ve vejetatif olarak uyumsuz izolatların alt popülasyonlar halinde gruplanmasının bir sonucu olarak ortaya çıkabileceğine değinmişlerdir. Çalışmamızda Konya ve Ankara izolatlarında ayrı vejetatif uyum grupları oluşturdukları gözlenmiştir. Bunlardan ilki; K 1/17a1, F 14a, F 14b2, F 14-10-1, K 17b2, K 17a2, KHA 6B, KHA

Yaprak 6A, BTA Kök B/x ve BTA 6 Kök B/y izolatlarının mutantları aralarında heterekaryon oluşturarak aynı vejetatif uyum gruplarında oldukları belirlenmiştir. İkincisi; K 19a, K 19b, KHA 11, K 1.9, BKK T-1/k/B-x, BKK T-1/k/B-1, BTK y-A-x, BTA 2/3 k-B, BTA 2/4 Kök B, BTA 2/1 k-A/y, BKK T-1/k/A-1 ve BKK T-1/k/A/w izolatlarının mutantları yine aralarında heterekaryon oluşturarak aynı vejetatif uyum gurubunda oldukları saptanmış ancak bu grupta bazı izolatlar aynı VCG de bulunmasına rağmen bazıları arasında heterekaryon oluşmadığı gözlenmiştir. Üçüncü grupta; Kaşınhanı-3, K 1/5a, K 1/6, K 1/10, BTA 4/k/B, KHA Kök 7A ve KHA Kök 1 Beyaz Konya ve Ankara izolatları nitM ve nit3 mutantları sadece kendi nit1 mutantlarıyla heterekaryon oluşturmuştur.

Correll vd. (1987) *F. oxysporum* izolatlarının vejetatif uyumluluk testlerinde nitM ve nit1 mutantları arasında heterekaryon oluşumunun nit3 ve nit1 mutantlarına kıyasla daha sağlam ve hızlı geliştiğini gözlemlemişler ve vejetatif uyum gruplarının tanımlanmasında nitM mutantının belirleyici olduğunu saptamışlardır. Çalışmalarında nit3 ve nit1 mutantları arasında zayıf veya hiç heterekaryon oluşmadığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da nitM mutantına kıyasla nit3 ve nit1 mutantları arasında zayıf heterekaryon oluşumu görülmüştür. K 19b, KHA Yaprak 6A ve BTA 2/1 k-A/y izolatlarının nit1 mutantları diğer izolatların nitM ve nit3 mutantlarıyla heterekaryon oluşturmalarına rağmen bu izolatlardan nitM mutantı elde edilemediğinden vejetatif uyum grupları tam olarak belirlenememiştir. Diğer izolatların nitM ve nit3 mutantlarıyla nit1 mutantları uyumsuz olan Kaşınhanı-4, K 1.3, KÇY 1/1a, Ayaş 4/1 ve BKK T-2 y-A izolatlarından yine nitM mutantı elde edilemediğinden self-incompatible oldukları belirlenememiştir.

Sapuhomotti (1998) çalışmasında aynı vejetatif uyum grubunda bulunan *F. oxysporum* izolatlarının bazılarının aralarında heterekaryon oluşmadığını bu nedenle vejetatif olarak uyumsuz olduklarını gözlemlemiştir. Ancak vejetatif olarak uyumsuz olan iki izolatın her birinin üçüncü bir izolatla vejetatif olarak uyumlu olduğunu belirlemiştir. Araştırmacı self-incompatible olarak saptadığı *F. oxysporum* izolatlarının kendi nit mutantları arasında heterekaryon oluşturma yeteneklerinin olmadığını saptamıştır. Bizim çalışmamızda aynı vejetatif uyum grubunda bulunan BKK T-1/ k/ B/x, BKK T-1/k/A-1 ve BKK T-1/k/A/w

izolatları arasında heterokaryon oluşturmayarak vejetatif olarak uyumsuz olduğu görülmüştür. Ancak bu üç izolatin BTK y-A-x ve BKK T-1/k/B-1 Ankara izolatları ile vejetatif olarak uyumlu oldukları saptanmıştır. BTA 2/3 k-B ve BTA 2/4 kök B izolatlarının aynı VCG de bulunan BKK T-1/ k/ B/x, BKK T-1/k/A-1, BKK T-1/k/A/w ve BTK y-A-x Ankara izolatları arasında vejetatif uyumsuzluk gözlenmiş ancak bu izolatların hepsinin BKK T-1 k B-1 Ankara izolatıyla vejetatif olarak uyumlu olduğu saptanmıştır. Vejetatif olarak birbirleriyle uyumlu bulunan KHA 11, K 19a ve K 1.9 Konya izolatları aynı VCG de bulunan BKK T-1/ k/ B/x, BKK T-1/k/A-1, BKK T-1/k/A/w, BKK T-1 k B-1 ve BTK y-A-x izolatlarıyla ortak olarak sadece BTK y-A-x ile heterokaryon oluşturmuşlardır. K 1.9 dışındaki diğer iki Konya izolatu aynı VCG de bulunduğu bu dört adet Ankara izolatıyla heterokaryon oluşturmuştur. Bunların dışında başka herhangi bir izolatla heterokaryon oluşturmadıkları tespit edilmiştir. Çalışmamızda aynı bu çalışmada olduğu gibi K 16 ve K 1/7b2 Konya izolatlarının nit mutantlarının kendileriyle ve diğer mutantların nit mutantlarıyla heterokaryon oluşturmadığı tespit edilmiş ve bu iki izolatlar self-incompatible olduğu belirlenmiştir.

Paugh ve Gordon (2020) Kaliforniya ve Arizona marul üretim alanlarından elde ettikleri solgunluk etmeni *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* izolatlarının somatik uyumluluk durumlarını incelemişlerdir. Aynı bölgeden alınan izolatların çoğunun kendi mutantlarıyla heterokaryon oluşturduğunu diğer izolatların mutantlarının bazılarıyla zayıf bazılarıyla da hiç heterokaryon oluşturmadıklarını gözlemlemişlerdir. Ayırıcı test çeşitleri ve moleküler çalışmalarla bu izolatların Fol ırk 1 ve vejetatif uyum gruplarının VCG 0300 olduklarını saptayarak hepsinin aynı vejetatif uyum grubunda olduklarını tespit etmişlerdir. Aynı vejetatif uyum grubunda olmasına rağmen aralarında heterokaryon oluşturmayan bu izolatları tef 1a-IGS bölgesinin çoğaltılmasıyla yaptıkları moleküler çalışma sonucunda 5 alt ırka ayrıldıklarını bu alt ırkların 4 tanesinin de tek bir alt ırktan meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Çalışmalarında bu durumun Fol etmeninin mutasyon hızının yüksek olması sonucunda kaynaklanabileceğini aktarmışlardır. Bizim çalışmamızda Konya ve Ankara izolatlarından Kaşınhanı-3, K 1/5a, K 1/6, K1/10, BTA 4/k/B, KHA Kök 7A ve KHA Kök 1 Beyaz'ın sadece kendi mutantları arasında heterokaryon oluşumu gösterdiği bu izolatlarında bu çalışmada olduğu gibi mutasyon hızının yüksek olması sonucunda alt ırklara ayrılmış olabileceğini göstermektedir.

Ogiso vd. (2002) çalışmalarında Japonyadaki marul üretim alanlarından elde ettikleri Fol izolatlarını ayırıcı test çeşitleri olan Patriot, Costarica ve Banchu Red Fire bitkilerinde oluşan reaksiyona göre Fol ırk 1 ve ırk 2 olarak tespit etmişlerdir. Japonya SB-1 ırk 1, F-9501 ırk 2, Kalifornya HL-1 ve HL-2 ırk 1 referans izolatlarıyla kendi ırk 1 ve ırk 2 izolatlarının mutantlarının her türlü kombinasyonlarını minimal ortamda eşleştirerek vejetatif uyumluluklarını belirlemişlerdir. Çalışmalarında ırk 1 ve ırk 2 izolatlarının ayrı VCG ler oluşturduklarını gözlemlemiş ve aynı ırkta bulunan izolatların yine aynı ırktan olan izolatlarla vejetatif olarak uyumlu olduklarını tespit etmişlerdir. Farklı ırktan olan izolatların arasında vejetatif uyumluluk gözlemlemeyerek, bir ırkın sadece bir vejetatif uyum grubunu temsil ettiğini belirlemiş ve Fol izolatlarının ırkları ile vejetatif uyum grupları arasında güçlü bir bağlantının olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayırıcı test çeşitlerinden Costarica ve Banchu Red Fire'in dayanıklılık gösterdiği Fol izolatlarını sırasıyla ırk 1 ve ırk 2 olarak belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da benzer durum görülmüş ayırıcı test çeşitleriyle ırkı belirlen Fol izolatlarından bir tanesinin aynı ırktan olan referans izolatıyla vejetatif olarak uyumluyken başka bir referans ırkının mutantıyla vejetatif olarak uyumsuz olduğu belirlenmiştir.

Benzer bir çalışma olan Yamauchi vd. (2004) Japonya'dan elde ettikleri Fol izolatlarının bazılarında bu üç ayırıcı test çeşidinin hassas reaksiyonlar gösterdiklerini belirlemiş ve bu izolatlardan elde edilen mutantların kendileri arasında vejetatif uyumluluk oluşturduklarını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bu izolatların mutantlarının ırk 1 ve ırk 2 izolatları mutantlarıyla vejetatif olarak uyumsuz olduğunu gözlemleyerek farklı bir vejetatif uyum grupları oluşturduklarını saptamışlardır. Çalışmalarında ilk kez üç ayırıcı test çeşitlerinin Fol izolatlarına hassas reaksiyon göstermesi ve kendi aralarında heterokaryon oluşturarak farklı bir vejetatif uyum gruplarında bulunmaları nedeniyle Fol ırk 3'ün varlığını ortaya çıkarmışlardır. Bu çalışma VCG gruplarının ırka özgü spesifik olduğunu gösteren bir çalışmadır.

Gilardi vd. (2017b) çalışmalarını tamamlayıncaya kadar *F. oxsporum* f.sp. *lactucae* nin ırk 1, ırk 2 ve ırk 3 olmak üzere üç ırkının tanımlandığını ve bu ırkların farklı marul çeşitlerinde farklı oranlarda enfeksiyona neden olduklarını açıklamışlardır. Çalışmalarında Hollanda marul üretim alanlarında solgunluk belirtisi gösteren bitkilerden

elde ettikleri izolatların ırklarını ayırıcı test çeşitleriyle patojenisite çalışmalarını moleküler yöntemlerle destekleyerek belirlemişlerdir. Hollanda'da farklı bitkilerden elde ettikleri 04750896 ve 04750888 Fol izolatlarının yanısıra ATCCMya-3040 İtalya ırk 1 ve Japonyadan F9501 ırk 2 ile MAFF744085 ve MAFF 744086 ırk 3 Fol referans izolatlarını ayırıcı test bitkileriyle reaksiyon durumlarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda 04750896 ve 04750888 Hollanda Fol izolatlarının ayırıcı test bitkileriyle oluşturduğu dayanıklılık reaksiyonlarının Fol'ün bilinen üç ırkından farklı olduğunu gözlemlemiş ek olarak bu izolatları diğer üç ırkla birlikte yaptıkları moleküler çalışma sonucunda iki Hollanda izolatını Fol ırk 4 olarak tanımlamışlardır. Pintore vd. (2017) çalışmasında ırk 4 olarak bulunan 04750896 ve 04750888 Fol izolatlarının vejetatif uyum gruplarını diğer üç ırkinkiyle birlikte karakterize ederek Fol'ün bilinen 4 ırkının kendine karakteristik 4 vejetatif uyum grubuna sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bu grupları ırk 1; VCG 0300, ırk 2; VCG 0301, ırk 3; VCG 0302 ve ırk 4; VCG 0303 olarak adlandırmışlardır. Çalışmada bu araştırmacıardan temin ettiğimiz bu iki Fol ırk 4 izolatını ve Yunanistandan Trios ve Karaoglanidis (2023) temin ettiğimiz GT Fus1 ve GT Fus 2 Fol ırk 1 izolatlarının mutantlarını birbirleriyle ve Konya ve Ankara izolatlarının mutantlarıyla eşleştirerek vejetatif uyum grupları belirlenmiştir. BKK T-1 k B-1 Ankara izolatı, 04750896 ve 04750888 Fol ırk 4 referans izolatlarının ikisiyle de heterokaryon oluşturarak aynı vejetatif uyum grubunda oldukları saptanmış ve uyum grubu VCG 0303 olarak tanımlanmıştır. Diğer bir Ankara izolatı olan BTK y-A-x sadece Fol 04750896 ırk 4 izolatı ile heterokaryon oluşturarak vejetatif uyum grubunun yine VCG 0303 olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda iki ırk 4 Fol izolatının birbirleriyle vejetatif olarak uyumlu oldukları görülmüştür. Irk 4 Fol izolatlarının bu iki Ankara izolatı dışında ırk 1 izolatlarında dahil olmak üzere başka herhangi bir izolatla vejetatif olarak uyumlu bulunmadıkları gözlenmiştir. Ayrıca bu iki Ankara izolatı ile vejetatif olarak uyumlu bulunan KHA 11, K 19a, K 1.9, BKK T-1/ k/ B/x, BKK T-1/k/A-1, BKK T-1/k/A/w, BTA 2/3 k-B, BTA 2/4 kök B Konya ve Ankara izolatlarında vejetatif uyum grupları VCG 0303 olarak belirlenmiştir. Fol ırk 1 izolatlarının sadece kendi mutantları arasında heterokaryon oluşturarak birbiriyle uyumlu oldukları görülmüş bunun dışında başka herhangi bir izolatla vejetatif olarak uyumlu oldukları gözlenmemiştir. Çalışmamızda aynı vejetatif uyum grubunda bulunan K 1/17a1, F 14a, F 14b2, F 14-10-1, K 17b2, K 17a2, KHA 6B, BTA Kök B/x ve BTA 6 Kök B/y izolatları yurt dışı referans test

izolatlarının hiç birisiyle heterokaryon oluşturmadığı ve ayrıca ayırıcı test çeşitleriyle ırk denemesi yaptığımız K17a2, K 17b2, F14a, KHA 6B ve BTA Kök B/x'in bitkilerinin ölmesi sonucunda bu izolatların vejetatif uyumluluk grupları tam olarak tanımlanamadığından VCG 030- olarak adlandırılmışlardır.

Konya K 1/6 ve Ankara BTK y-A-x ve Fol 896 ırk 4 izolatlarının Banchu Red Fire ayırıcı test çeşitleri kontrol bitkileriyle kıyaslanarak yapraklarda oluşturduğu solgunluk ve nekrozlardan dolayı Fujinaga vd. (2003) 0-3 skalasına göre yapılan değerlendirmeler sonucu sırasıyla 2, 1.5 ve 2 olarak hesaplanan hastalık indeksi değerleri ile orta dayanıklı olarak belirlenmişlerdir.

Gilardi vd. (2017b) çalışmalarında ırk 4 Fol izolatlarının Banchu Red Fire test çeşitlerinde orta dayanıklı reaksiyon gösterdiklerini, daha sonra Perrot vd. (2022) Geveste yapmış oldukları çalışmada Fol ırk 4'ün Banchu Red Fire test çeşitlerindeki reaksiyonlarının orta dayanıklılık olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda Fol 896 ırk 4 izolatının Banchu Red Fire test çeşidinde oluşturduğu belirtilerle K 1/6 Konya ve BTK- y-A-x'in benzerlik göstermesi ve BTK y-A-x izolatında Fol 896 ırk 4 izolatıyla vejetatif olarak uyumlu bulunmasından dolayı bu iki izolatın ayırıcı test çeşitlerine göre ırk 4 oldukları tespit edilmiştir. K1/6 izolatının ayrıca ırk 4 olması ve VCG 0303 olarak bulunmasına rağmen diğer ırk 4 izolatlarıyla heterokaryon oluşturmaması bu izolatın mutasyon hızının yüksek olmasından dolayı alt ırklara ayrıldığına bir göstergesidir. Çalışmamızda ayrıca BKK T-1 k B-1 Ankara izolatının iki yurt dışı ırk 4 referans ve çalışmamızda ırk 4 olarak tespit ettiğimiz BTK y-A-x izolatlarıyla heterokaryon oluşturarak aynı vejetatif uyum grubunda bulunması ve uyum gruplarının Fol ırklarına spesifik olması sonucu bu izolatın da Fol ırk 4 olarak tanımlanabileceğini göstermektedir. Ayrıca tek ırkın tek VCG'sinin olması ve sadece aynı ırktan olan izolatlar arasında heterokaryon oluşabilmesinden dolayı da BKK T-1 k B-1 izolatıyla vejetatif olarak uyumlu diğer Ankara ve Konya izolatlarında Fol ırk 4'e ait olabileceği tahmin edilmektedir.

Ülkemizde ilk kez marul üretim alanlarında solgunluğa neden olan *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* vejetatif uyum grupları ve ırk 4'ün varlığı bu çalışma ile belirlenmiştir. Çalışmamızda Ankara ve Konya Fol izolatlarının vejetatif olarak birbiriyle uyumlu

oldukları belirlenmiştir. Her iki bölgede de izolatların vejetatif olarak birbiriyle uyumlu olması aynı enfekteli çeşitlerin iki bölgede yaygın olarak kullanıldığının bir göstergesi olduğunu düşündürmektedir.

Hastalık etmeninin toprakta sadece birkaç yıl canlı kalabildiği bu nedenle uzak mesafelere enfekteli tohumlarla taşındığı ve marul üretimini önemli ölçüde sınırlandırdığı bilinmektedir. Avrupa da yapılan çalışmalarda Fol ırk 4'ün hızla yayıldığı ve bu çalışmayla ülkemizde de varlığı bilinmektedir. Hastalık etmeninin mutasyon geçirmesi bu hastalığa karşı yapılacak kimyasal mücadeleyi imkânsız kılmaktadır. Hastalığın toprakta çok uzun süre hayatta kalamadığı ancak diğer yaprağı yenen sebzelerde belirti oluşturmadan bulunabildiği belirlendiğinden enfekteli alanlarda bu patojenin konukçusu olmadığı ürünlerle yapılacak ekim nöbetinin inokulum miktarını azaltmada önemli olabileceğini göstermektedir.

Patojenin uzak mesafelere tohumla yayılması ve ırk oluşturabilmesinden dolayı hastalıkla mücadele de en etkili yöntemlerin hastalıktan ari sertifikalı tohum kullanmak ve dayanıklı çeşit geliştirmek olduğu önerilmektedir. Konya ve Ankara bölgesindeki izolatların vejetatif olarak uyumlu olduklarının ortaya çıkarılması bu hastalığa karşı geliştirilecek dayanıklı marul çeşitlerinin her iki bölgede de güvenli bir şekilde kullanılabileceğinin önemli bir göstergesidir. Bu çalışmanın ileride ülkemizde yapılacak *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ırk ve vejetatif uyum grupları çalışmalarına ve hastalıkla mücadelede dayanıklı çeşit geliştirme çalışmalarına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Altınok, H. H., Can, C. 2010. Characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melongenae* isolates from eggplant in Turkey by pathogenicity, VCG and RAPD analysis. *Phytoparasitica*, 38(2), 149-157.
- Akbaş, B., Morca, A.F., Coşkan, S. 2021. Ankara, Eskişehir ve Konya İlleri Marul Üretim Alanlarında Görülen Viral Hastalık Etmenlerinin Tespiti. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi Cilt 31, Sayı 2.
- Alkan, M., Göre, M. E., Bayraktar, H., Özer, G. 2019. Genetic variation of *Fusarium* spp. isolates associated with root and crown rot of winter wheat using retrotransposon-based iPBS assays.
- Amom, T., Tikendra, L., Apana, N., Goutam, M., Sonia, P., Koijam, A. S., Nongdam, P., Potshangbam, A. M., Rahaman, H., Nonghdam, P. 2020. Efficiency of RAPD, ISSR, iPBS, SCoT and phytochemical markers in the genetic relationship study of five native and economical important bamboos of North-East India. *Phytochemistry*, 174, 112330.
- Anonymous, 2009 web Sitesi: <https://gd.eppo.int/reporting/article-377> Erişim Tarihi: 13.11.2022.
- Anonymous, 2022 Web Sitesi: <https://www.apsnet.org/edcenter/resources/commnames/Pages/Lettuce.aspx> Erişim Tarihi: 6.11.2022.
- Anonymous, 2022 Web Sitesi: <https://worldseed.org/document/differential-sets-fol-race-4/> Erişim Tarihi: 13.11.2022.
- Apana, N., Amom, T., Tikendra, L., Potshangbam, A. M., Dey, A., Nongdam, P. 2021. Genetic diversity and population structure of *Clerodendrum serratum* (L.) Moon using CBDP, iPBS and SCoT markers. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 25, 100349.
- Aydın, F., Özer, G., Alkan, M., Çakır, İ. 2020. The utility of iPBS retrotransposons markers to analyze genetic variation in yeast. *International Journal of Food Microbiology*, 325, 108647.
- Baayen, R. P., O'Donnell, K., Bonants, P. J., Cigelnik, E., Kroon, L. P., Roebroek, E. J., Waalwijk, C. 2000. Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot disease. *Phytopathology*, 90(8), 891-900.
- Bayraktar, H., Türkkan, M., Dolar, F. S. 2010. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* from onion in Turkey based on vegetative compatibility and rDNA RFLP analysis. *Journal of Phytopathology*, 158(10), 691-697.
- Bhatta, S., 2022. Influence of organic fertilizer on growth yield and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.): A review. *The Pharma Innovation Journal*. 11(6): 1073-1077.
- Bhunjun, C. S., Phillips, A. J., Jayawardena, R. S., Promputtha, I., Hyde, K. D. 2021. Importance of molecular data to identify fungal plant pathogens and guidelines for pathogenicity testing based on Koch's postulates. *Pathogens*, 10(9), 1096.
- Booth, 1971. The Genus *Fusarium*. *Com. Myc. Kew. Surrev. England*, 237.

- Booth, 1977. *Fusarium* a laboratory guide to the identification of the major species. C.M.I. Kew surrey, 58.
- Canpolat, S., Tülek, S. 2019. Determination of fungal diseases of leafy vegetables in Middle Anatolia Region. Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin, 2019, 59 (3): 39-46.
- Capote, N., Pastrana, A. M., Aguado, A., Sánchez-Torres, P. 2012. Molecular tools for detection of plant pathogenic fungi and fungicide resistance. Plant pathology, 7, 151-202.
- Claerbout, J., Venneman, S., Vandeveld, I., Decombel, A., Bleyaert, P., Volckaert, A., Neukermans, J. and Höfte, M. 2018. First Report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* Race 4 on Lettuce in Belgium. Plant Dis., 102(5), 1037.
- Claerbout, J., Van Poucke, K., Mestdagh, H., Delaere, I., Vandeveld, I., Venneman, S., Höfte, M. 2023. *Fusarium* isolates from Belgium causing wilt in lettuce show genetic and pathogenic diversity. *Plant Pathology*, 72(3), 593-609.
- Collard, B.C., Mackill, D.J. 2009. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Mol Biol Rep* 27:86–93.
- Correll, J. C., Puhalla, J. E., Schneider, R. W. 1986. Vegetative compatibility groups among nonpathogenic root-colonizing strains of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Botany*, 64(10), 2358-2361.
- Correll, J.C., Klittich, C.J.R., Lealie, J.F. 1987. Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* 77: 1640-1646.
- Correll, J. C. 1991. The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 81(9), 1061-1064.
- Çulal-Kılıç, H., Erdaş, E. 2023. Antalya İli Finike İlçesinde Marul Üretim Alanlarında Marul Mozaik Virüsü'nün Belirlenmesi. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 30-38.
- Ebrahimzadh, R. 2020. İç Anadolu ve Marmara Bölgelerinde Marul Mildiyösü Etmeni *Bremia lactucae*'nin Irklarının Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi.
- FAO, 2025 Web Sitesi: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Erişim Tarihi: 30.1.2025.
- Feschotte, C., Pritham, E. J. 2007. DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes. *Nature Reviews Genetics*, 8(5), 361-376.
- Fujinaga, M., Ogiso, H., Tuchiya, N., Saito, H., Yamanaka, S., Nozue, M., Kojima, M. 2003. Race 3, a new race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* determined by a differential system with commercial cultivars. *Journal of General Plant Pathology*, 69(1), 23–28.
- Fujinaga, M., Ogiso, H. and Shinohara, H. 2005. Phylogenetic relationships between the lettuce root rot pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* races 1, 2, and 3 based on the sequence of the intergenic spacer region of its ribosomal DNA. *Journal of General Plant Pathology* 71, 402–7.

- Garibaldi, A., Gilardi, G., Gullino, M. L. 2004. Varietal resistance of lettuce to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*. *Crop Protection*, 23(9), 845–851.
- Garibaldi, A., Gilardi, G., Ortu, G., Gullino, M. L. 2016. First report of leaf spot of lettuce (*Lactuca sativa*) caused by *Fusarium equiseti* in Italy. *Plant Disease*, 100(2), 531-531.
- Gálvez, L., Brizuela, A. M., Garcés, I., Cainarca, J. S., Palmero, D. 2023. First report of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* race 4 causing lettuce wilt in Spain. *Plant Disease*, 107(8), 2549.
- Geçioğlu-Erincik, B., Döken, M.T. 2017. Vegetative Compatibility Groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* in Aydın Province. *J. Turk. Phytopath.*, Vol. 46 No. 2, 79-87. ISSN 0378 – 8024.
- Gilardi, G., Pons, C., Gard, B., Franco-Ortega, S. and Gullino, M.L. 2017a. Presence of *Fusarium* wilt, incited by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*, on lettuce in France. *Plant Disease* 101:1053.
- Gilardi, G., Franco Ortega, S., van Rijswijk, P. C. J., Ortu, G., Gullino, M. L., Garibaldi, A. 2017b. A new race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* of lettuce. *Plant Pathol.* 66, 677–688.
- Gilardi, G., Garibaldi, A., Matic, S., Senatore, M. T., Pipponzi, S., Prodi, A., Gullino, M. L. 2019. First report of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* race 4 on lettuce in Italy. *Plant disease*, 103(10), 2680-2680.
- Guerrero, M. M., Martínez, M. C., León, M., Armengol, J., Monserrat, A. 2020. First report of *Fusarium* wilt of lettuce caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* race 1 in Spain. *Plant Disease*, 104(6), 1858-1858.
- Güngör, H., İlhan, E., Kasapoğlu, A. G., Filiz, E., Pour, A. H., Valchev, D., Valcheva, D., Haliloğlu, K., Dumlupınar, Z. 2022. Genetic diversity and population structure of Barley cultivars released in Turkey and Bulgaria using iPBS-retrotransposon and SCoT markers. *Journal of Agricultural Sciences*, 28(2), 239-250.
- Hariharan, G., Prasannath, K. 2021. Recent advances in molecular diagnostics of fungal plant pathogens: a mini review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 600234.
- Herrero, M. L., Nagy, N. E., Solheim, H. 2021. First Report of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* race 1 causing *Fusarium* wilt of lettuce in Norway. *Plant Disease*, 105(8), 2239.
- Hong, S. Y., Kang, M. R., Cho, E. J., Kim, H. K., Yun, S. H. 2010. Specific PCR detection of four quarantine *Fusarium* species in Korea. *The Plant Pathology Journal*, 26(4), 409-416.
- Ichielevich-Auster, M., Sneh, B., Koltin Y. and Barash, I. 1985. Suppression of Damping-Off Caused by *Rhizoctonia* Species by a Nonpathogenic Isolate of *R. solani*. *Phytopathology* 75, 1080-1084.
- Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P., Schulman, A. H. 2010. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(8), 1419-1430.

- Kibar, B. 2018. Marulda Bitkisel Özellikler, Bazı Kalite Özellikleri ve Elementler Arasındaki İlişkilerin Belirlenmesi. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi (UTYHBD), 4(2): 149 – 160.
- Koike, S.T., Gladders, P. and Paulus, A.O. 2007. Vegetable Diseases. A Colour Handbook, UK, Manson Publishing Ltd, pp. 296-324.
- Kökpinar, Ş.S., Sönmez, K., Ellialtıoğlu, ŞŞ., Beşirli, G., Sönmez, İ. 2024. Marulda (*Lactuca sativa* var. *longifolia* L.) Gen Havuzu Oluşturma Kapsamında Yerel Genetik Kaynakların Toplanması ve Morfolojik Karakterizasyon Çalışmaları. BAHÇE 53 (Özel Sayı 1): 189–196.
- Leslie, J.F. and Summerell, B.A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Professional, Ames, Iowa, USA.
- Lin, Y.H., Lai, P.J. and Chang, T.H. 2014. Genetic diversity and identification of race 3 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* in Taiwan. European Journal of Plant Pathology 140, 721–33.
- Liu, Y. J., Whelen, S., Hall, B. D. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: Evidence from an RNA polymerase II subunit. Molecular Biology and Evolution, 16(12), 1799-1808.
- Liu, J., Li, X., Liu, Y., Xing, C., Xie, Y., Cai, G., Lu, J. 2021. Evaluation of genetic diversity and development of core collections of industrial brewing yeast using ISSR markers. Archives of Microbiology, 203(3), 1001-1008.
- Luchi, N., Ioos, R., Santini, A. 2020. Fast and reliable molecular methods to detect fungal pathogens in woody plants. Applied microbiology and biotechnology, 104(6), 2453-2468.
- Marques Ramalhete, M., Goncalves Bastos, C. and Matias Furtado A.J. 2006. New diseases of lettuce in the region of Entre Douro e Minho. In: O Minho, a Terra e o Homem, Ministerio da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, pp 61-65 (in Portuguese).
- Matić, S., Tabone, G., Guarnaccia, V., Gullino, M. L., Garibaldi, A. 2020. Emerging leafy vegetable crop diseases caused by the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. Phytopathol. Mediterr, 59(2), 2.
- Mou, B. 2008. Lettuce. In: Prohens, J., Nuez, F. (eds) Vegetables I. Handbook of Plant Breeding, vol 1. Springer, New York, NY.
- Murray, J. J., Hisamutdinova, G., Sandoya, G. V., Raid, R. N., Slinski, S. 2021. Genetic Resistance of *Lactuca* spp. against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* Race 1. HortScience, 56(12), 1552-1564.
- Nei, M., Kumar, S. 2000. Phylogentic inference: maximum likelihood methods. Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press, New York, 147-163.
- Nishimura, N. 2003. Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* race 3 causing butter-head lettuce rootrot in Fukuoka. Kyushu Plant Prot Res 49: 37–40 (in Japanese with English summary).
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., Ploetz, R. C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence

- from nuclear and mitochondrial gene genealogies. Proceedings of the National Academy of Sciences, 95(5), 2044-2049.
- O'Donnell, K., Whitaker, B. K., Laraba, I., Proctor, R. H., Brown, D. W., Broders, K., Geiser, D. M., 2022. DNA sequence-based identification of *Fusarium*: A work in progress. Plant disease, 106(6), 1597-1609.
- Ogiso, H., Fujinaga, M., Saito, H., Takehara, T., Yamanaka, S. 2002. Physiological Races and Vegetative Compatibility Groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* Isolated from Crisphead Lettuce in Japan. Journal of General Plant Pathology, 68(4), 292–299.
- Ortega, S.F., Tomlinson, J., Gilardi, G., Spadaro, D., Gullino, M.L., Garibaldi, A., Boonham, N., 2018. Rapid detection of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* on soil, lettuce seeds and plants using loop-mediated isothermal amplification. Plant Pathology. 67, 1462–1473.
- Özer, N., Soran, H. 1991. *Fusarium* species of Turkey. Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi, 6(6).
- Özer, G., Bayraktar, H., Baloch, F. S. 2016. iPBS retrotransposons ‘A Universal Retrotransposons’ now in molecular phylogeny of fungal pathogens. Biochemical Systematics and Ecology, 68, 142-147.
- Özer, G., Bayraktar, H. 2018. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cumini* isolates analyzed by vegetative compatibility, sequences analysis of the rDNA IGS region and iPBS retrotransposon markers. Journal of Plant Pathology, 100(2), 225-232.
- Palacioğlu, G., Alkan, M., Derviş, S., Bayraktar, H., Özer, G. 2023. Molecular phylogeny of plant pathogenic fungi based on start codon targeted (SCoT) polymorphism. Molecular Biology Reports, 50(10), 8271-8279.
- Pasquali, M., Dematheis, F., Gilardi, G., Gullino, M. L., Garibaldi, A. 2005. Vegetative Compatibility Groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* from Lettuce. Plant Disease, 89(3), 237–240.
- Pasquali, M., Saravanakumar, D., Gullino, M.L., Garibaldi, A. 2008. Sequence-Specific Amplified Polymorphism (SSAP) Technique to Analyse *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* VCG 0300 Isolate from Lettuce. Journal of Plant Pathology. 90 (3), 527-535.
- Paugh, K. R., Gordon, T. R. 2020. The population of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* in California and Arizona. Plant disease, 104(6), 1811-1816.
- Perrot, S., Sérandat, I., Orgeur, G., Grimault, V., Pel, M., Villeneuve, F. 2022. Lettuce *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*, evolution of knowledge. (Poster). GEVES, SNES, Laboratoire de Pathologie, Angers, Fransa.
- Pintore, I., Gilardi G., Gullino M.L. and Garibaldi A., 2017. Analysis of vegetative compatibility groups of Italian and Dutch Isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*. Journal of Plant Pathology.99 (2), 517-521.
- Prevost, A., Wilkinson MJ. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. Theor Appl Genet 98:107–112.

- Puhalla, J.E. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany* 63: 179-183.
- Raid, R. N., 2004. Lettuce Diseases and their Management. *Diseases of Fruits and Vegetables: Volume II*, 121–147.
- Reeb, V., Lutzoni, F., Roux, C. 2004. Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with special emphasis on the lichen-forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32(3), 1036-1060.
- Rohlf, F. J. 1998. On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny. *Systematic biology*, 47(1), 147-158.
- Roldan-Ruiz, I., Dendauw, J., Van Bockstaele, E., Depicker, A., De Loose, M. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Molecular breeding*, 6(2), 125-134.
- Sağlık, R., Altın, N. 2022. Marulda solgunluğa neden olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* etmenine karşı *Metarhizium anisoplae*'nın biyokontrol potansiyelinin belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (35), 335-340.
- Sanna, M., Gilardi, G., Gullino, M.L., Mezzalama, M. 2022. A fast approach to discard false negative susceptible lettuce genotypes to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* race 1. *Journal of Plant Pathology*. 170: 614-615.
- Sapumohotti, W. P. 1998. Classification of *Fusarium oxysporum* strains associated with reddishbrown rot of asparagus on the basis of vegetative compatibility.
- Smith, J. D., Johnson, K. 2020. Vertical farming and its role in sustainable agriculture. *Journal of Horticultural Science*, 35(4), 12-19.
- Soylu, S., Sertkaya, E., Üremiş, İ., Bozkurt, İ.A., Kurt, Ş. 2017. Hatay ili marul (*Lactuca sativa* L.) ekim alanlarında görülen önemli hastalık etmenleri, zararlı ve yabancı ot türleri ve yaygınlık durumları. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 22(1):23-33.
- Suga, H., Hirayama, Y., Morishima, M., Suzuki, T., Kageyama, K., Hyakumachi, M. 2013. Development of PCR primers to identify *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*. *Plant Disease*, 97(5), 619-625.
- Şahin, GT., Kandemir, D., Balkaya, A., Karaağaç, O. 2021. Türkiye Orijinli Yedikule Tipi Marul (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*) Genotiplerinin Teksel Seleksiyon Yöntemiyle Islahı. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(Özel Sayı): 3353-3362.
- Tang, Z., Zhu, J., Song, Q., Daly, P., Kong, L., He, L., Li, A., Lou, J., Wang, Z., Zhang, L., Min, L. 2024. Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with tea wilt in Zhejiang Province, China. *BMC microbiology*, 24(1), 38.
- Taylor, A., Jackson, A. C., Clarkson, J. P. 2019. First report of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* race 4 causing lettuce wilt in England and Ireland. *Plant Disease*, 103(5), 1033-1033.
- Tezcan, Ş., Sönmez, K., Şeker, A., Ellialtıoğlu, Ş. 2022. Marul (*Lactuca sativa* L.) Polenlerinin Canlılık Oranları Üzerinde Saklama Koşulları ve Süresinin Etkileri. *Bahçe* 51 (Özel Sayı 1): 372–378. 2791-6375.

- TUİK, 2024. Web Sitesi: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr> Erişim Tarihi: 14.07.2025.
- Tok, F.M. 2010. Kavun ve Hıyar Patojeni *Fusarium oxysporum* İzolatlarının Patojenisite, Irk, Vejetatif Uyum Grubu ve AFLP Teknikleriyle Karakterizasyonu ve Dağılımları. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. 118sf.
- Tziros, G. T., Samaras, A., Karaoglanidis, G. S. 2022. *Fusarium equiseti* as an emerging foliar pathogen of lettuce in Greece: Identification and development of a real-time PCR for quantification of inoculum in soil samples. *Pathogens*, 11(11), 1357.
- Tziros, G. T., Karaoglanidis, G. S. 2023. Identification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* race 1 as the causal agent of lettuce *Fusarium* wilt in Greece, commercial cultivars' susceptibility, and temporal expression of defense-related genes. *Microorganisms*, 11(4), 1082.
- Uzgan, T., Terzi, Y., Uçar, F. B. 2019. Determination of Genetic Diversity by Classification of Vegetative Compatibility Groups of Tomato Pathogen *Fusarium oxysporum* in Aegean Region. *Mantar Dergisi*, 10(3), 17-22.
- Uzunoğulları, N., Hantaş, C., Dura, O., Tunalı, N., Hephızlı-Göksel, P., Polat, Z., Sönmez, İ. 2022. Marmara Bölgesi'nde Yaprağı Yenen Sebzelerde Görülen Hastalık ve Zararlıların Belirlenmesi. *BAHÇE* 51(1): 45-54.
- Vannacci, G., Cristani, C. 1998. Characterization of chlorate-resistant sectors from isolates of *Fusarium moniliforme* and *F. proliferatum*. *Journal of Microbiological Methods*, 31(3), 175–184.
- van Amsterdam, S., Jenkins, S., Clarkson, J. P. 2023. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* race 1 causing lettuce wilt in Northern Ireland. *Plant Disease*, 107(8), 2524.
- Yamauchi, N., Shimazu, J., Horiuchi, S., Satou, M. and Shirakawa, T. 2004. Physiological races and vegetative compatibility groups of butterhead lettuce isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* in Japan. *Journal of General Plant Pathology* 70: 308-313.
- Yılmaz, S. 2013 Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Doku Kültüründe Retrotranspozan hareketlerinin ve Ürünlerinin Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. 110sf.
- Yumlu, Z. 2024. Ankara İli Marul Ekim Alanlarında Görülen Fungal Hastalıkların Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. 77sf.
- Zhang, Z. Q., Chen, T., Li, B. Q., Qin, G. Z., Tian, S. P. 2021. Molecular basis of pathogenesis of postharvest pathogenic fungi and control strategy in fruits: progress and prospect. *Molecular Horticulture*, 1(1), 2.