

T.C.  
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



PATATES YAPRAKLARINDA *Phytophthora infestans*'ın  
OOSPOR ÜRETİMİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TOLGA YAMAN

BOLU, AĞUSTOS - 2019

T.C.  
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI



**PATATES YAPRAKLARINDA *Phytophthora infestans*'ın  
OOSPOR ÜRETİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TOLGA YAMAN**

**BOLU, AĞUSTOS - 2019**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

TOLGA YAMAN tarafından hazırlanan “Patates Yapraklarında *Phytophthora infestans*'ın Oospor Üretimi” adlı tez çalışması Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda 20.08.2019 tarihinde savunularak **Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü** Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

Danışman  
Prof. Dr. M. Erhan GÖRE  
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye  
Doç. Dr. Göksel ÖZER  
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye  
Doç. Dr. Nedim ALTIN  
Düzce Üniversitesi

### İmza



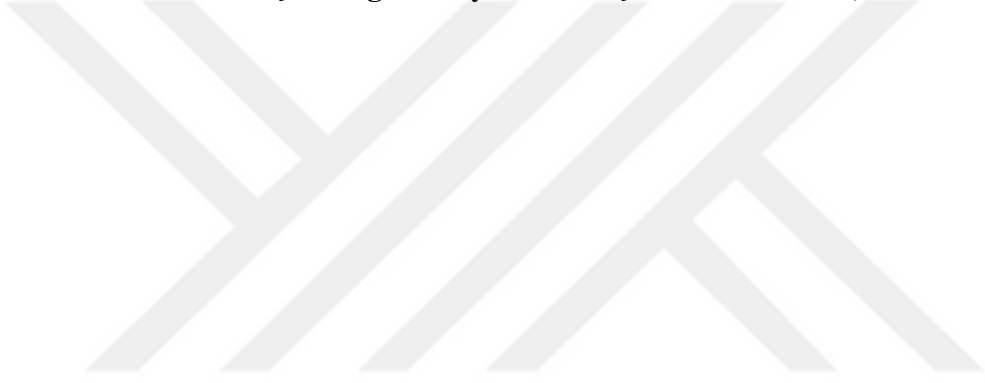




Prof. Dr. Ömer ÖZYURT.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü V.

**Çok değerli hayat arkadaşım SETENAY'a,**



## ETİK BEYAN

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

TOLGA YAMAN



## ÖZET

**PATATES YAPRAKLARINDA *Phytophthora infestans*'ın OOSPOR ÜRETİMİ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**TOLGA YAMAN**  
**BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**  
**(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. MEHMET ERHAN GÖRE)**

**BOLU, AĞUSTOS - 2019**

*Phytophthora infestans*'ın neden olduğu geç yanıklık hastalığı patatesin en önemli ve yıkıcı hastalıklarından birisidir. Önemli patates üretim alanlarından biri olan Bolu ilinde yürütülen bu çalışmada, patojenin oospor oluşturma potansiyeli farklı koşullarda incelenmiştir. Bu amaçla sörvey programı kapsamında yer alan üretim alanlarından 46 *P. infestans* izolatu elde edilmiştir. Her iki eşleşme tipi moleküler yöntemlerle S1-a/S1-b ile W16-1/W16-2 primer seti kullanılarak ve sonrasında W16 amplifikasyon ürününün HaeIII enzimiyle kesilmesi sonrasında belirlenmiştir. Analizler tüm izolatların A2 eşleşme tipinde olduğunu ortaya koymuştur. İzolatların fenotipik karakterlerinin belirlenmesinde kullanılan parametrelerden biri olan metalaxyl'e duyarlılık testleri; 19 izolatın preparata karşı orta dayanıklı, 27 izolatın ise dayanıklı olduğunu ortaya koymuştur. In-vitro ve yarı-in-vivo koşullarda izolatların oospor oluşturma yetenekleri metalaxyl uygulanmış ve uygulanmamış Pea agar ortamlarında ve 6-8 haftalık bitkilerin yapraklarından alınan disklerde test edilmiştir. Bunun yanında patojenin tarla koşullarında hastalıklı yaprak kalıntılarında ve bulaşık yumrularda oospor oluşturabilme yetenekleri de araştırılmıştır. Araştırma sonuçları patojenin in-vitro ve yarı-in-vivo koşullarda rahatlıkla oospor oluşturabildiğini, ancak tarla koşullarında oospor oluşturamadığını göstermiştir.

Sonuç olarak çalışma, hastalık yönetim stratejileri içerisinde metalaxyl'den başka etkili maddeye sahip fungusitlere ve karışımlarına yer verilmesini önemli bulmuş ve patojenin Bolu şartlarında eşeyli üreme yeteneğinin bulunmadığını ortaya koymuştur.

**ANAHTAR KELİMELELER:** *P. infestans*, patates geç yanıklığı, eşleşme tipi, fungusit dayanıklılığı, oospor oluşumu

## ABSTRACT

**OOSPORE PRODUCTION OF *Phytophthora infestans* POTATO LEAVES**  
**MSC THESIS**  
**TOLGA YAMAN**  
**BOLU ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY GRADUATE SCHOOL OF**  
**NATURAL AND APPLIED SCIENCES**  
**DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION**  
**(SUPERVISOR: PROF. DR. MEHMET ERHAN GÖRE )**

**BOLU, AUGUST 2019**

Late blight caused by *Phytophthora infestans* is one of the most important and destructive diseases of potato. In this study carried out in the province of Bolu which is one of the important potato production areas, oospore formation potential of the pathogen was investigated under different conditions. For this purpose, 46 *P. infestans* isolates were obtained from the cultivation areas within the survey program. Both mating types were determined by molecular methods using the primer set S1-a / S1-b and W16-1 / W16-2, followed by cutting of the W16 amplification product with HaeIII enzyme. Analysis revealed that all isolates were A2 mating type. Metalaxyl susceptibility tests, one of the parameters used to determine the phenotypic characteristics of the isolates, revealed that 19 isolates were moderately resistant to fungicide and 27 isolates were resistant. The in-vitro and semi-in-vivo conditions of the isolates were tested for oospore-forming ability in metalaxyl-treated and untreated pea agar medium, and on discs from the leaves of 6-8-week-old plants. In addition, the pathogen's ability to form oospores in diseased leaves and inoculated tubers under field conditions was investigated. The results of the research showed that the pathogen could easily produce oospores in in-vitro and semi-in-vivo conditions, but not oospores in the field conditions.

As a result, the study found that it is important to include fungicides and mixtures with active ingredients other than metalaxyl in the disease management strategies and showed that the pathogen does not have sexual reproduction ability under Bolu conditions.

**KEYWORDS:** *P. infestans*, potato late blight, mating type, fungicide resistance, oospore formation

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	v
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	x
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ.....	xi
TEŞEKKÜR.....	xii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ .....</b>	<b>5</b>
2.1 <i>P. infestans</i> 'ın Taksonomideki Yeri .....	5
2.2 Etmenin Ekolojisi ve Epidemiyolojisi .....	6
2.3 Etmenin Yaşam Çemberi .....	9
2.3.1 Eşsezsiz Çoğalma .....	9
2.3.2 Eşeyli Üreme .....	10
2.4 Ülkemizde <i>P. infestans</i> Çalışmaları.....	11
2.5 Yurt Dışında <i>P. infestans</i> Çalışmaları.....	12
2.5.1 Eşleşme tipi.....	13
2.5.2 Oospor Oluşumu .....	14
2.5.3 Oospor Oluşumunu Etkileyen Faktörler .....	16
2.5.4 Oosporların Kışı Geçirmesi, Çimlenme ve Enfeksiyon Yeteneği.....	18
2.6 Fungisitlere Dayanıklılık.....	20
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>23</b>
3.1 Materyal .....	23
3.1.1 Test Patojeni.....	23
3.1.2 Test bitkileri .....	24
3.1.3 Kullanılan Besiyerleri.....	24
3.1.4 Metalaxyl Duyarlılık Testleri.....	25
3.1.5 DNA İzolasyonu.....	25
3.2 Yöntem.....	26
3.2.1 İzolasyon ve koleksiyon oluşturma .....	26
3.2.2 Kullanılan Besiyerleri.....	27
3.2.2.1 Rye A Agar.....	27
3.2.2.2 Rye B Agar .....	27
3.2.2.3 Pea Agar .....	27
3.2.3 DNA izolasyonu: .....	28
3.2.4 PCR koşulları ve Eşleşme Tipi (Mating Type) Belirleme.....	30
3.2.5 Agaroz Jelin Hazırlanması.....	30
3.2.6 Jel Elektroforezi .....	31
3.2.7 Metalaxyl Duyarlılığı: .....	33
3.2.8 Konukçu Dokuda Oospor Oluşumu: .....	33



3.2.9	Metalaxyl'in Oospor Oluşumuna Etkisi .....	33
3.2.10	Tarla Koşullarında Oospor Oluşumu .....	34
3.2.10.1	Oosporlu yaprak-toprak karışımı .....	34
3.2.10.2	Yumruda oospor oluşumu .....	34
<b>4.</b>	<b>BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>35</b>
4.1	Bulgular.....	35
4.1.1	İzolat Koleksiyonu .....	35
4.1.2	DNA İzolasyonu.....	40
4.1.3	PCR Reaksiyonu ve Jel Elektroforezi ile Eşleşme Tiplerinin Belirlenmesi.....	42
4.1.4	Metalaxyl Duyarlılığı .....	43
4.1.5	Konukçu Dokuda Oospor Oluşumu .....	44
4.1.6	Ticari Fungisit Formülasyonlarının oospor Oluşumuna Etkileri ..	47
4.1.7	Tarla Koşullarında Oospor Oluşumu .....	47
4.2	Tartışma .....	50
<b>5.</b>	<b>SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>54</b>
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>55</b>
<b>7.</b>	<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>63</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 2.3.1 <i>P. infestans</i> 'ın yaşam çemberi .....	9
Şekil 3.2.3.1 DNA izolasyonu işlemlerinde kullanılan bazı cihazlar (a. Kuru blok ısıtıcı b. Spektrofotometre c. Vortex d. Santrifüj) .....	29
Şekil 3.2.6.1 Jel Elektroforezi aşamaları (a. Elektroforez işlemi bitmiş olan jelde örneklerin görünümü b. Güç kaynağı c. Elektroforez tankı d. Ethidium Bromide ile boyama e. UV Transilluminatör'e yerleştirilmesi) ....	32
Şekil 4.1.1.1 Yaprakta ilk enfeksiyonun görünümü .....	36
Şekil 4.1.1.2 Laboratuvara getirilen örneklerden etmenin izolasyonuna dönük çalışmalar .....	37
Şekil 4.1.1.3 Enfekteli yaprakların su-agar'da 24-48 saat sonraki sporulasyonu	37
Şekil 4.1.1.4 Sporulasyonlu yapraklara ısıtılarak temas ettirilen Bintje patates çeşidine ait yapraklarda 5-7 gün sonra oluşan yeni sporulasyonlar	38
Şekil 4.1.1.5 Bintje patates çeşidine ait yapraklarda sporangium demetlerinin mikroskop altındaki görüntüsü.....	38
Şekil 4.1.1.6 -135°C'de saklanmak üzere stok kültüre eklenen <i>P. infestans</i> izolatları .....	39
Şekil 4.1.1.7 15 °C'de saklanmak üzere stok kültüre eklenen <i>P. infestans</i> izolatı	39
Şekil 4.1.1.8 Etmenin Rye A agar ortamında gelişimi .....	40
Şekil 4.1.2.1 Spektrofotometre ile DNA miktarı ölçülen izolat örneği .....	41
Şekil 4.1.3.1 W16 primeriyle elde edilen örnek jel görüntüsü(İlk sırada DNA ladder ve baz uzunlukları, 1-5 örnekler A1 eşleşme tipindeki izolatlar ve karakteristik 557bp, 457bp ve 100bp uzunluğunda ki bantları, 6-18 örnekler A2 eşleşme tipindeki izolatlar ve karakteristik 457bp ve 100bp uzunluğunda ki bantları).....	42
Şekil 4.1.3.2 S1 primeriyle elde edilen örnek jel görüntüsü (İlk sırada DNA ladder ve baz uzunlukları, 1-5 örnekler A1 eşleşme tipindeki izolatlar ve S1 primerinin 1250 bp. uzunluğunda ki karakteristik bandı, 1-15 örnekler A2 eşleşme tipindeki izolatlar).....	43
Şekil 4.1.4.1 Metalaxyl'e orta dayanıklı bulunan 1 numaralı izolatın kontrol (solda) ve 100 ppm ilaçlı ortamda gelişimi (sağda) .....	44
Şekil 4.1.4.2 Metalaxyl'e dayanıklı bulunan 21 numaralı izolatın kontrol (solda) ve 100 ppm ilaçlı ortamda gelişimi (sağda) .....	44
Şekil 4.1.5.1 Yaprak disklerine eşleşme tiplerinin inokulasyonu .....	45
Şekil 4.1.5.2 40x objektifle görüntülenmiş Oospor.....	45
Şekil 4.1.5.3 10x objektifle görüntülenmiş Oosporlar.....	46
Şekil 4.1.7.1 Oospor enfeksiyonu için hazırlanan küvet .....	48
Şekil 4.1.7.2 Oospor enjeksiyonu için inkübasyona bırakılmış Agria çeşidine ait yapraklar.....	48
Şekil 4.1.7.3 Hastalıklı yumrular (İnokülasyondan 6 ay sonra).....	49
Şekil 4.1.7.4 Hastalıklı yumruda enine kesit (inokülasyondan 6 ay sonra) .....	49
Şekil 4.1.7.5 Farklı dozlarda spor süspansiyonu verilen 5-7 mm kalınlığındaki kesitlerde oluşan sporangial kitle .....	50

# ÇİZELGE LİSTESİ

## Sayfa

Çizelge 1.1	FAO 2017 yılı istatistiksel verilerine göre dünyada patates üretim verileri.....	2
Çizelge 1.2	TUIK 2018 yılı istatistiksel verilerine göre Türkiye’de son on yıllık patates üretim verileri .....	2
Çizelge 1.3	TUIK 2018 yılı istatistiksel verilerine göre en çok ekiliş yapılan 10 il	3
Çizelge 2.1.1	<i>P. infestans</i> ’ın geçmişten günümüze sınıflandırması.....	5
Çizelge 3.1.1.1	Test patojenlerine ait izolat numarası, lokasyon ve eşleşme tipi bilgileri.....	23
Çizelge 3.1.3.1	Kullanılan besi yerlerinin içerikleri.....	24
Çizelge 3.1.4.1	Patojene etkisi araştırılan fungusitler .....	25
Çizelge 3.1.5.1	DaRT protokolüne göre Fresh Buffer hazırlanışı.....	25
Çizelge 4.1.1.1	Elde edilen izolatların lokasyon, koordinat, eşleşme tipi ve metalaxyl dayanıklılığı bilgileri .....	35
Çizelge 4.1.2.1	Elde edilen tüm DNA’ların ölçüm değerleri.....	41
Çizelge 4.1.5.1	Farklı eşleşme tipi kombinasyonlarının verdikleri oospor sayıları, oospor saptanan disk sayısı ve yaygınlık oranı .....	46
Çizelge 4.1.6.1	Fungisit bulunan-bulunmayan ortamda oospor sayıları ve etkililik oranı (%) .....	47

## KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

<i>P. infestans</i>	: <i>Phytophthora infestans</i>
<b>mg</b>	: Miligram
<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>ha</b>	: Hektar
<b>da</b>	: Dekar
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>°C</b>	: Santigrat Derece
<b>Ppm</b>	: Milyonda bir
<b>g</b>	: Gram
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>L</b>	: Litre
<b>WP</b>	: Islanabilir toz
<b>FAO</b>	: Gıda ve Tarım Örgütü
<b>TUIK</b>	: Türkiye İstatistik Kurumu
<b>vd</b>	: ve diğerleri
<b>CAPS</b>	: Cleaved Amplified Polymorphic Sequence
<b>SCAR</b>	: Sequence Characterized Amplified Region
<b>bp</b>	: base pair
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>RNA</b>	: Ribo Nükleik Asit
<b>HCl</b>	: Hidroklorik Asit
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
<b>NaCl</b>	: Sodyum Klorür
<b>CTAB</b>	: Cetyldimethylethyl Ammonium Bromide
<b>PVP-40</b>	: Polyvinylpyrrolidone
<b>g</b>	: G kuvveti
<b>dk</b>	: Dakika
<b>mM</b>	: Mili Molar
<b>dNTP</b>	: Deoxynucleotide
<b>TBE</b>	: Tris-borate-EDTA
<b>UV</b>	: Ultraviole
<b>ng</b>	: Nanogram

## TEŞEKKÜR

Tez alıŐma konusunun seçiminde, yurütulmesinde, değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen ve her konuda tecrübeleriyle bana yol gösteren, gerek yazım gerekse laboratuvar çalıŐmalarımnda yardımlarını esirgemeyen hocalarım Sayın Prof. Dr. M. Erhan GÖRE'ye ve Doç. Dr. Göksel ÖZER'e sonsuz Őükranlarımı sunar, teşekkür ederim.

Laboratuvar çalıŐmalarını gerçekleŐtirdięim Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi yüksek lisans çalışma arkadaşlarım Hüseyin KABAKCI ve Mehtap ALKAN'a yardımları ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimine başlama sürecinde ve yüksek lisans eğitimim boyunca ihtiyaç duyduğum her anda desteğini esirgemeyen çok değerli hayat arkadaşım Setenay DEMİR'e sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, öğretim hayatım süresince maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili aileme yürekten sonsuz teşekkür ederim.

# 1. GİRİŞ

Patates (*Solanum tuberosum*) bitkisi, Solanaceae (Patlıcangiller) familyasına ait tek yıllık bir kültür bitkisi olup orijini ve kültüre alındığı bölge Güney Amerika Kıtası'ndaki And dağlarının yüksek kesimleri olduğu bildirilmektedir. *Solanum* cinsinin kültür patatesini de içine alan 2000 kadar türü bulunmakla birlikte bunların yaklaşık 180 kadarı yumru oluşturma özelliğine sahiptir. *Solanum* cinsinin sekiz türü insan beslenmesinde gıda kaynağı olarak kullanılmaktadır. *Solanum tuberosum* yaklaşık 8.000 yıldır bilinmektedir ve dünyada yaygın yetiştiriciliği yapılmaktadır (Rowe, 1993).

Patates dünya nüfusunun beslenmesi noktasında önemli bir nişasta kaynağı olup temel besinlerden birisidir ve yapısında ortalama %15-25 kuru madde içermekle birlikte karbonhidratın yanı sıra, protein, vitamin (Folate, pantothenic acid, C, K, B1, B3 ve B6) ve mineral maddeler (K, Mg, P, Mn, Fe ve Cu) bulundurmaktadır (Çalışkan vd., 2010). Global bitkisel üretim bakımından ise dünyada pirinç, buğday ve mısırdan sonra dördüncü sırada gelmektedir (FAOSTAT, 2018). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından içerdiği zengin içerikten dolayı "gizli hazine" olarak tanımlanan patates bitkisi az gelişmiş ülkelerde önemli besin kaynağıdır. Fiyatı, birim alandan alınan verimin yüksek oluşu, sindirim kolaylığı, besin değeri, kullanım alanının genişliği ve hemen hemen her iklim bölgesinde yetişmesi açısından, neredeyse bütün dünya ülkeleri tarafından üretilmekte ve tüketilmektedir.

FAO'nun son istatistiksel verilerine göre 2017 yılında dünya genelinde yaklaşık 19,3 milyon hektarda ekilişine karşılık 388 milyon ton patates üretim gerçekleştirilmiştir. Ülkeler içerisinde Çin, dünya patates üretiminin yaklaşık %25,5'ini gerçekleştirmekte olup bunu Hindistan %12,5 ve Rusya %7,6'lık değerle takip etmektedir (Çizelge 1.1). Türkiye ise 142.851 hektar alanda 4,8 milyon ton üretim ile ülkeler sıralamasında 16. sırada yer almaktadır.

**Çizelge 1.1** FAO 2017 yılı istatistiksel verilerine göre dünyada patates üretim verileri

Sıra	Ülkeler	Ekiliş Alanı (ha)	Üretim (ton)	Verim (ton/ha)
1	Çin	5.765.144	99.147.000	17,2
2	Hindistan	2.179.000	48.605.000	22,3
3	Rusya	1.889.208	29.589.976	15,7
4	Ukrayna	1.323.200	22.208.220	16,8
5	ABD	415.010	20.017.350	48,2
16	Türkiye	142.851	4.800.000	33,6
17	Kanada	342.218	4.410.829	12,9
Toplam	Dünya	19.302.642	388.190.674	20,1

Türkiye’de ise Türkiye İstatistik Kurumu (TUIK)’nun son 10 yıllık verileri incelendiğinde patates üretiminin yaklaşık 4,5 milyon ton olduğu görülmektedir (Çizelge 1.2). Ekiliş alanlarında, ekonomik getirinin az olması sebebiyle 2013 yılında 2012 yılına göre yaklaşık %18’lik bir düşüş görülmüştür ve bunun sonucunda 3,9 milyon ton patates üretimi gerçekleştirilmiştir. Ülkemizde Niğde, Konya, Afyonkarahisar, Kayseri, İzmir, Adana, Nevşehir, Sivas, Aksaray ve Bolu illeri patates üretiminde ön plana çıkmıştır ve bu iller ülkemiz patates üretiminin büyük bölümünü karşılamaktadır (Çizelge 1.3). Araştırmamızı gerçekleştirdiğimiz Bolu ilinde 2012-2016 yılları patates ekim alanları ortalaması 88.059 dekar (da) iken son yıllarda üründen istenilen oranda kazanç elde edilememesi, tarım arazilerinin imara açılması ve son 10 yılda yem bitkisi üretiminde yaşanan 34.964 dekarlık artış sonucunda son iki yılda üretim alanları ortalama 57.192 dekara gerilemiştir. Bunun sonucunda ise üretimde 5’inci olan Bolu ili 10’uncu sıraya gerilemiştir.

**Çizelge 1.2** TUIK 2018 yılı istatistiksel verilerine göre Türkiye’de son on yıllık patates üretim verileri

Yıllar	Ekiliş Alanı (da)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (ton/da)
2009	1.428.738	4.397.711	3.082
2010	1.388.660	4.513.453	3.251
2011	1.429.849	4.613.071	3.260
2012	1.720.867	4.795.122	2.814
2013	1.250.297	3.948.000	3.160
2014	1.297.032	4.166.000	3.245
2015	1.538.787	4.760.000	3.095
2016	1.448.572	4.750.000	3.283
2017	1.428.835	4.800.000	3.360
2018	1.359.373	4.550.000	3.348

**Çizelge 1.3** TUIK 2018 yılı istatistiksel verilerine göre en çok ekiliş yapılan 10 il

İller	Ekiliş Alanı (da)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (ton/da)
Niğde	202.990	732.188	3607
Konya	148.333	611.957	4126
Afyonkarahisar	129.925	455.352	3505
Kayseri	100.028	385.913	3858
İzmir	93.804	330.143	3519
Adana	64.033	219.076	3421
Nevşehir	62.118	269.620	4340
Sivas	59.202	169.737	2867
Aksaray	55.300	202.371	3660
Bolu	54.508	150.327	2760

Patates bitkisi oldukça yüksek verim potansiyeline sahip olmakla birlikte üretim aşamasındaki birçok biyotik ve abiyotik stres faktörü istenilen verim değerlerine ulaşmayı engellemektedir. Bitkinin üretimini tehdit eden 100'ün üzerinde hastalık bulunmaktadır ve bunlar içerisinde en dikkat çekenlerden biriside *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary'nin sebep olduğu geç yanıklık hastalığıdır (Pule vd., 2013; Stevenson vd., 2001).

*P. infestans* gerçek bir fungus olmayıp Chromista alemi Oomycota şubesi içerisinde yer almaktadır ve ilk defa 1845 yılında Montegne de Bary tarafından isimlendirilmiştir. Sporangioforlar üzerinde oluşan sporangiumlar etmenin eşeysiz olarak çoğalmasından sorumlu olup sekonder belirtilerin oluşumundan ve hastalığın yayılışından da sorumludurlar. Sporangiumlardan serin hava koşullarında çift kamçılı zoosporlar serbest kalırken daha sıcak havalarda sporangiumlar doğrudan çimlenme eğilimindedir. Etmen heterotalliktir, eşeyli dönemin oluşabilmesi için A1 ve A2 olarak isimlendirilen eşleşme tiplerine ihtiyaç duyar. Farklı eşleşme tiplerine ait erkek gamet (antheridium) ve dişi gametin (oogonium) bir araya gelmesi ile etmenin eşeyli spor yapısı olan oospor meydana gelir. Patojenin eşeyli döneminin oluşması özellikle hastalandırma yeteneği, fungusitlere dayanıklılık ve çevre özelliklerine karşı reaksiyonu farklı yeni bireyleri oluşturma potansiyeli açısından oldukça önem taşımaktadır.

Eşleşme tiplerinin bir arada bulunması patojenin eşeyli olarak üremesine ve sonuç olarak toprakta uzun süre hayatta kalabilen oosporlar oluşturmaya izin verebilmektedir (Drenth vd., 1995). Seksüel rekombinasyon, patojene, genetik



çeşitliliğin artmasıyla evrimsel bir avantaj sağlar. Oosporlar toprakta birincil inokulum kaynağını oluşturabilir ve patojenin olumsuz koşullara daha dayanıklı olmasını sağlarlar. Ayrıca, eşeyli üreme hastalık yönetimine yaklaşma şeklini de değiştirir, bununla birlikte, *P. infestans* hayatta kalmasını sağlamak için farklı iklim koşullarına iyi uyum sağlar (Yuen ve Andersson, 2013). Etmen 150 yıl önce neden olduğu kıtlıktan sonra dünya genelinde son yıllarda tekrar epidemik boyutta sıklıkla görülmeye başlamış ve yapılan çalışmalar bundan etmenin yeni genotiplerinin sorumlu olduğunu ortaya koymuştur. Yeni genotipler eski mevcut A1 klonal popülasyonlarının yerini çevreye uyum yeteneklerinin yüksek olması (Chmielarz vd., 2014; Day vd., 2002), geniş ölçüde phenylamide grubu fungusitlere dayanıklı olmalarının bir sonucu olarak hızlı bir şekilde almıştır (Drenth vd., 1994). Bu girişin belkide en önemli sonucu enfekteli bitkilerde oospor oluşumu ve etmenin eşeyli üreme potansiyeline kavuşmasıdır. Evrim teorisinde belirtildiği gibi (Barton ve Charlesworth, 1998) mayoz döngüsünde iki eşeyden gelen allellerin yeniden şekillenmesi ve yoğunlaşması sonrasında çevreye adaptasyon yeteneği daha yüksek olan bireyler ortaya çıkabilmektedir. Bu tür genetik sonuçlara ek olarak, bitki dokularında yüksek oranda oospor üretiminin epidemiyolojik etkileri de bulunmaktadır (Hanson ve Shattock, 1998). Bu nedenle bir üretim bölgesindeki etmen popülasyonlarının içerisindeki eşleşme tiplerinin varlığı ve bu eşleşme tiplerinin oospor üretme kabiliyetlerinin izlenmesi hastalığa karşı mücadele stratejisini belirlemek adına kilit öneme sahiptir.

Yürütülen bu tez çalışmasında ülkemizin önemli patates üretim alanlarından olan Bolu ilinden elde edilen *P. infestans* izolatlarının eşleşme tipi karakterizasyonu moleküler yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Farklı eşleşme tiplerinin ilaçlı (RIDOMIL GOLD 480) ve ilaçsız ortamda in vitro, yarı in vivo ve tarla koşullarında oospor oluşturma yetenekleri incelendi. Ayrıca elde edilen izolatların fenotipik test kriterlerinden olan metalaxyl etken maddesine karşı dayanıklılık durumları da araştırılmıştır.

## 2. LİTERATÜR BİLDİRİŞLERİ

### 2.1 *P. infestans*'ın Taksonomideki Yeri

Etmeni ilk olarak 1845 yılında Fungi alemi Dikarya alt aleminde olduğu düşünülerek Montagne de Bary tarafından sınıflandırılmış. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarla etmenin gerçek fungusların aksine hücre duvarının kitin içermediği bunun yerine selüloz ve çeşitli glukanlardan oluştuğu tespit edilmiştir. Bunun sonucunda etmenin sınıflandırması 1852 yılında de Bary tarafından Chromista alemi Oomycota şubesi olarak değiştirilmiş ve *Peronospora infestans* olarak isimlendirilmiştir. Etmen 1876 yılında yine de Bary tarafından şube ve sınıfında değişiklik yapılmadan Peronosporales takımı içerisinde cins ismi *Phytophthora* olarak değiştirilmiş, *Phytophthora infestans* olarak isimlendirilmiştir (Çizelge 2.1.1). Günümüze kadar sınıflanmasında ya da isimlendirmesinde bir değişiklik yapılmamıştır (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, Journal of the Royal Agricultural Society of England).

**Çizelge 2.1.1** *P. infestans*'ın geçmişten günümüze sınıflandırması

Alem	Fungi	Protista	Protista
Alt Alem	Dikarya	Chromista	Chromista
Şube	Ascomycota	Oomycota	Oomycota
Alt Şube	Pezizomycotina		
Sınıf	Leotiomycetes	Oomycetes	Oomycetes
Alt Sınıf	Leotiomycetidae		
Takım	Helotiales	Peronosporales	Peronosporales
Familya	Sclerotiniaceae	Peronosporaceae	
Cins	Botrytis	Peronospora	Phytophthora
Tür	<i>Botrytis infestans</i>	<i>Peronospora infestans</i>	<i>Phytophthora infestans</i>

## 2.2 Etmenin Ekolojisi ve Epidemiyolojisi

Fungus, karakteristik limon şeklinde, sapı yaprak stomalarından çıkabilen, hiyalin sporlarıyla tanımlanır. Sporlar doğrudan ya da serin hava koşulları altında zoospor üreterek çimlenir (Şekil 2.3.1). Yeni enfeksiyonları başlatacak her bir zoospor yaprak yüzeyindeki su tabakasında iki kamçısı ile yüzerek ilerleyebilir. Etmenin A1 ve A2 olarak adlandırılan iki eşleşme tipi bulunmaktadır. Eşleşme tiplerinin bir arada olduğu popülasyonlar etmenin eşeyli üremesine olanak sağlar. Uygun şartlarda antheridium ve oogonium birleşerek kalın duvarlı, olumsuz çevre koşullarına daha dayanıklı ve toprakta daha uzun süre hayatta kalabilen oosporları üretir. Patojen patates tarlaları arasında ki geçişini rüzgar, bitkiler arasında ki geçişini rüzgar ya da yağmur damlalarının sporangiumları sıçratması yoluyla yapabilmektedir. Yılda yıla geçişini ise kışın çok sert geçmediği iklimlerde hastalıklı yumru ya da bitki artıklarında misel veya sporangium olarak yaparken, daha sert kışların yaşandığı iklimlerde sadece oospor olarak yılda yıla geçişini sağlayabilmektedir. Serin geceler ve ılık bulutlu günler, geç yanıklık gelişimi için idealdir. Fungus sporları %91-100 oranlı nem ve 10-26 °C sıcaklıkları arasında gelişimlerini rahatlıkla sürdürmektedir. Sporangiumlardan zoospor oluşumu için 15 °C'nin altında ki sıcaklıklar gerekirken, 15 °C'nin üzerinde ki sıcaklıklarda sporangium direkt çimlenerek enfeksiyon oluşturabilmektedir. 30 °C'nin üzerindeki sıcaklıklar geç yanıklık gelişime uygun olmamakta, hava koşulları uygun olduğunda enfeksiyon hızlı bir şekilde yayılarak yakındaki bitkileri etkileyebilmektedir (Schumann vd., 2000; Akhtar vd., 2012).

Etmenin toprak üstü yeşil aksamda neden olduğu şiddetli yanıklık belirtileri, toprak altında ise özellikle yumrulara neden olduğu çürüklükler önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Tarla çürüklükleri depo koşullarında da verim kayıplarına hatta tüm ürünün elden çıkmasını neden olabilmektedir. Ayrıca latent enfeksiyona sahip yumruların üretim materyali olarak kullanılma olasılıkları, etmenin her an yeni bir üretim alanına bulaşma ihtimalini de beraberinde getirebilmektedir. Geç yanıklık hastalığının ilk belirtileri tarlada enfeksiyondan 3-5 gün sonra ortaya çıkan küçük, siyahımsı, dairesel ya da belirli şekli olmayan lezyonlardır. Bunlar genellikle ilk olarak mikro klimanın daha nemli olduğu alt yapraklarda görülür. Ancak bu belirtiler hava koşullarının uygun olması ve patojenin hava akımıyla tarlaya taşınması durumunda üst yapraklarda da görülebilmektedir. Lezyonlar genellikle

bileşik yaprakların petiole bağlanma noktasında ya da nemin daha uzun süre kaldığı yaprak kenarlarından başlama eğilimindedir. Serin ve nemli havalarda çok hızlı bir şekilde genişleyen lezyonlar koyu kahverengi veya siyah olarak tipik yaprak belirtilerini ortaya çıkarmakta ve bunların etrafı genellikle sarıdan açık yeşile değişen bir hale ile kuşatılmıştır. Lezyonlar yaprak damarlarıyla sınırlı olmayıp genç yapraklarda şekil deformasyonlarına neden olabilmektedir. Bitkinin bu yaprakları üzerinde yeni enfeksiyonların oluşması ile birlikte mevcut lezyonların genişleyerek birleşmeleri birkaç gün gibi kısa bir süre içerisinde tüm yaprak alanının elden çıkması ile sonuçlanabilmektedir. Gövde lezyonları genellikle yaprakların gövdeye bağlandığı ya da gövdeye temas ettiği noktalarda ki nemin yoğunlaştığı alanlarda yaprak enfeksiyonlarının hemen ardından ortaya çıkmaktadır. Bu lezyonlar tüm gövde boyunca gelişmesini sürdürmekte ve sıcak ve kuru havalarda bile aktif kalabilmektedir (Li vd., 2013; Stevenson vd., 2001).

Hastalıkla mücadelede özellikle nemli bölgelerde fungusit uygulamaları oldukça önemlidir. Kontakt etkili fungusitlerin kullanımı koruyucu özelliği ile birlikte etmen girişini takiben hastalığı kontrolde etkisiz kalmaktadır. Bununla birlikte bu güne kadar yaygın olarak koruyucu fungusitlere karşı etmenin dayanıklılık kazandığına dair herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Sistemik fungusitlerin kullanımı hem koruyucu özelliği hem de hastalık oluşumundan sonra da hastalığı kontrolde etkinliğinden dolayı son zamanlarda oldukça artış göstermektedir. Bununla birlikte etmenin sistemik etkili fungusitlere karşı dayanıklı popülasyonlarının oluşumu oldukça yaygın bir şekilde rapor edilmekte ve yeni mücadele stratejilerinin ortaya konmasını gerekli kılmaktadır. Bu nedenle bir bölgede yaygın olarak kullanılan preparatların bölgedeki etmen popülasyonlarına karşı dayanıklılık durumlarının izlenmesi önem arz etmektedir (Aav vd., 2015)

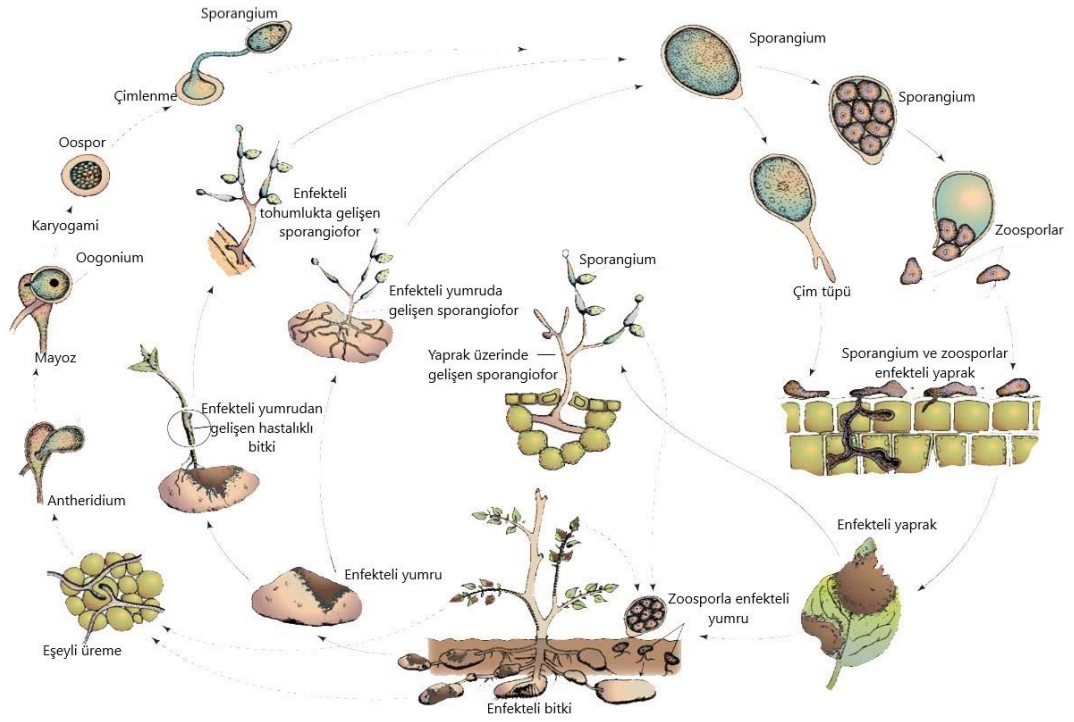
Enfekte olmuş yapraklardan yağmur veya şiddetli çiy ile yıkanan sporlar toprak altında yumrulara da enfeksiyona neden olabilmektedirler. Patojen çok hızlı şekilde üreyebildiğinden ve genetik esnekliği yüksek olduğundan, patates üretiminde ciddi hasara neden olabilmektedir. Patojenin epidemi potansiyeli hızlı üreme yeteneğinden kaynaklanır ve hava koşulları uygunsa inkübasyon periyodu 4 güne iner, aynı zamanda sporangiumlar rüzgârın etkisiyle patates tarlaları arasında kilometrelerce uzaklara yayılabilir ve bu tüm alanların birkaç gün içinde elden çıkmasını mümkün kılar. Geç yanıklık Dünya genelinde patatesin en yıkıcı hastalıklarından biridir. Çiftçilerin

fungisitleri rahatlıkla satın alamayacakları gelişmekte olan ülkelerde, hastalık bitkileri tamamen tahrip edebilmektedir. Etmenin dünya genelinde her yıl neden olduğu %10-15'lik ürün kaybının parasal karşılığı 5 milyar dolar seviyelerindedir (Fry, 2008).

*P. infestans*'ın epidemileri daha çok vejetasyon dönemi boyunca hava hareketleriyle yayılan sporangiumlar yardımıyla gerçekleşmektedir. Bu eşeysiz sporlar doğrudan çimlenip enfeksiyon hiflerini meydana getirebileceği gibi, zoospor da verebilir. Etmenin yaşam çemberinde eşeysiz döngünün dünya genelinde hala daha hakim olduğu söylenebilir. Bu bağlamda etmen hastalıklı kalıntılarda ve yumrulara misel ya da sporangium şeklinde kışlamaktadır. Bu durumun 1990 yılına kadar Amerika'da, 1980 yılına kadar da Avrupada hakim olduğu bilinmektedir. Ancak bu yıllardan sonra etmenin birçok ülke sınırları içerisinde eşeyli olarak da üreyebildiği, diğer bir deyişle Meksika dışında da oospor oluşturduğu tespit edilmiştir (Ristaino, 2002).

Birçok çalışma geç yanıklık etmeni *P. infestans*'ın domates ve patatesi hastalandıran popülasyonlarının ayrıldığını, etmende konukçuya özelleşme olduğunu bildirmektedir. Yapılan incelemelerde domates ve patates koleksiyonlarında mevcut genotiplerin frekansı belirgin bir şekilde farklı bulunmuştur. Patates izolatları son derece kompleks virulens spektrumlu ırklarla temsil edilirken, domatesten elde edilen izolatların virulensliği dar bir aralıkta değişmiştir. İzolatların patojenik yeteneklerinin izole edildikleri konukçada daha yüksek olduğu ve özellikle patatesten elde edilen izolatların domateste virulensliklerinin önemli ölçüde düştüğü saptanmıştır (Gisi vd., 2011). Chen vd. (2009)'in yürüttüğü diğer bir çalışmada 1997 öncesinde domatesten elde edilen izolatlar domateste agresif, patateste agresif bulunmamış, 1998 sonrası elde edilen izolatların büyük bölümü ise her iki konukçada agresif bulunmuştur. Bu veriler sınırlı bir gen akışı gözlenmesine rağmen, patates ve domateste *P. infestans* popülasyonlarının geniş ölçüde ayrıldığını kanıtlamaktadır.

## 2.3 Etmenin Yaşam Çemberi



Şekil 2.3.1 *P. infestans*'ın yaşam çemberi

### 2.3.1 Eşeysiz Çoğalma

Etmenin epidemilerinden sorumlu olan sporangiumlar çim tütü oluşturarak doğrudan çimlenebildiği gibi hava sıcaklığı ve orantılı neme bağlı olarak zoospor oluşturarak da çimlenebilmektedir. Hastalığın ana dağılımından sorumlu olan rüzgar sporangiumları kilometrelerce uzaklara taşıyabilmektedir. Hava koşulları ve patates yetiştirme dönemi hastalığın yayılmasında büyük öneme sahiptir. Özellikle yaprak yüzeyindeki serbest nem patojen için çok önemlidir, çünkü zoosporlar bitki dokusunu istila etmeden önce yaprak yüzeyindeki suda hareket ederek daha çok alanda enfeksiyon oluşturabilmektedirler. (Fry, 2007).

### 2.3.2 Eşeyli Üreme

Etmenin yeni genotiplerinin oluşmasından sorumlu olan eşeyli üreme için, patojenin A1 ve A2 eşleşme tiplerine ihtiyacı vardır, bundan sonra antheridium ve oogonium birleşerek kalın duvarlı, olumsuz çevre koşullarına daha dayanıklı ve toprakta daha uzun süre hayatta kalabilen oosporları üretir. Uygun koşullarda ilk enfeksiyon oosporların çimlenip gelişmesiyle oluşabilmektedir (Turkensteen vd., 2000).

Hastalığın yavaş ilerlemesi ve uzun epidemik süreç bitki dokusunu tamamen yok edilmediği için oospor oluşumu için iyi koşullar yaratırken, hızlı gelişen epidemik süreçte bitki dokularının tahribatı yüksek olduğundan etmenin ihtiyacı olan canlı dokular azaldığı için çok az veya hiç oospor üretilmemesi ile sonuçlanabilmektedir. Bu nedenle üretim arazisinde bulunan patojenin virulensliği büyük önem taşımaktadır (Romero Montes, 2008). Montarry ve arkadaşları, (2007), orta derecede virulent izolatların hayatta kalma ihtimalinin daha yüksek olduğunu, çünkü agresif izolatların yaptığı gibi filizlenmeden önce tüm enfekte yumru ve kökleri öldürmediklerini belirtir.

Eşeyli üreme, Avrupa popülasyonlarında, 1970'lerden önce yalnızca bir eşleşme tipi (A1) bulunduğundan oluşmamıştır (Spielman vd., 1991). Ancak günümüzde, kuzey Avrupa'da eşeyli üremenin gerçekleştiğine (Yuen ve Andersson, 2013) ve kuzeydoğu Avrupa popülasyonlarındaki bireylerin eşeyli üremenin sonucunda oluştuğuna dair kanıtlar bulunmuştur (Lehtinen vd., 2007, 2008; Runno-Paurson vd., 2009).

Patojenin eşeysiz popülasyonu, enfekteli yumru ve bitki artıklarında misel olarak kışı geçirirken; konukçuları patates bitkilerinin yanı sıra diğer yumrulu *Solanum* türleri olabilir. Ayrıca kışın, hasat sırasında toprakta kalan yumrulara ya da depolamada, bulaşık toprak veya yumruların depoya alınmasıyla hayatta kalabilirler. Tarlada toprak altında kalan yumrular, gelecek sezon kendiliğinden çimlenip büyüyerek hastalıklı bitkiler olarak çıkış yapabilir (Fry vd., 1993). Patojen toprakta kalan bulaşık yumruları içeren toprak tabakasının donmadan kaldığı ülkelerde yumrulara kış boyunca canlı kalır. Sıcaklık toprağı dondurmak için yeterince düşükse, *P. infestans*'in eşeysiz sporlarının hayatta kalması sınırlandırılmış olur (Lehtinen ve Hannukkala, 2004). Örneğin, Fransa'da bulunan popülasyonlarda *P.*

*infestans*'ın, topraktaki patates yumrularında veya patates tarlalarının yakınındaki bitki artıklarında misel olarak kışı geçirdiği düşünülmektedir (Montarry vd., 2007).

Enfekteli yumru ya da bitki dokularında oluşan oosporlar bir süre konukçu bitkiye ihtiyaç duymazlar. Yaklaşık 3-4 yıllı sınırlı olan bu dönem sonrasında yeni ekilen patateslerde ilk enfeksiyonları gerçekleştirebilir ve bu da hastalığın erken epidemilerine neden olabilir (Lehtinen ve Hannukkala, 2004; Bødker vd., 2006; Brylińska vd., 2016).

Oosporlar, özellikle kış mevsimindeki sıcaklıkların 0 °C'nin altına düştüğü ve toprağın donduğu İskandinav ikliminde patojenin hayatta kalmasında önemli bir role sahiptir, çünkü aseksüel patojen popülasyonu donmuş ortamlarda ve yumrularında bu şekilde hayatta kalmaz. Oosporlar, İskandavya ve Hollanda çevre koşullarındaki çalışmalara göre 3-4 yıl boyunca hayatta kalabilmektedir (Drenth vd., 1995; Turkensteen vd., 2000; Cooke vd., 2011).

#### 2.4 Ülkemizde *P. infestans* Çalışmaları

Ülkemizde yapılan çalışmaların diğer ülkelere kıyasla daha az olduğu, büyük çoğunluğunun domates bitkisinde yapıldığı görülmektedir ve yapılan araştırmaların biri hariç diğerleri sadece etmenin saptanmasına yöneliktir. Taşkın ve Yıkılmazsoy'un (2014) yaptığı çalışmada Ege Bölgesinin Muğla, Balıkesir, Denizli, Manisa ve İzmir illerinin sebze ekiliş alanlarından hastalık belirtileri görülen bitkilerin yaprak, gövde ve köklerinden örnekler toplanmış ve domates üretim alanlarında geç yanıklık etmeni *P. infestans* saptanmıştır. Basım ve Basım'ın (2014) Antalya ili sera domatesi üretim alanlarında yapmış olduğu çalışmada Korkuteli ve Elmalı ilçelerinden topladıkları 160 hastalıklı örnekte yapmış oldukları analizler sonucunda Korkuteli ilçesinde patojen varlığına rastlanamamıştır. Ancak Elmalı ilçesinden elde ettikleri örneklerde patojen büyük oranda tespit edilmiştir. Etmen Van patates ekiliş alanlarında yaygın olarak saptanmış, ancak Erzurum patates ekiliş alanlarında fungal etmenlerin belirlenmesine dönük yürütülen çalışmalarda tespit edilememiştir (Demir vd., 2001; Demirci ve Döken, 1989).

Etmen üzerinde yürütülen çalışmaların bir bölümü ise alternatif savaşım yöntemleri üzerine odaklıdır. Bunlardan Soylu vd.'in (2006) yaptığı çalışmada



domateste geç yanıklık etmeni *P. infestans*'a karşı içlerinde kekik, lavanta, biberiye, rezene ve defnenin yer aldığı bitkilerin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin test edildiği görülmektedir. Çalışmada uçucu yağların gaz formlarının, temas etmeye oranla daha etkili olduğu saptanmış ve en etkili uçucu yağların kekiğe ait olduğu bulunmuştur. Yanar vd. (2011) 'nin in vitro koşullarda etmene karşı 26 bitki ekstraktının antifungal aktivitelerini test ettiği araştırmada; *Xanthium strumarium*, *Lauris nobilis*, *Salvia officinalis* ve *Styrax officinalis* patojeni kontrol yetenekleri açısından umut var bulunmuştur. Bir başka çalışmada ise *Xanthium strumarium*'dan elde edilen bitki ekstraktının düşük dozlarda dahi patojene karşı etkili olduğu bildirilmektedir. Patojenin entegre mücadelesini konu alan bir başka çalışmada biyolojik savaş ajanıyla bazı kimyasal ve pestisit karışımları ikili kombinasyonlar halinde etmene karşı testlenmiş, en iyi sonuç *Bacillus subtilis*+Mancozeb+Metalaxyl kombinasyonundan elde edilmiştir (Yiğit ve Baysal, 2011).

Etmenin saptanmasının yanı sıra eşleşme tiplerinin, metalaxyl dayanıklılıklarının belirlenmesinin konu alındığı ilk çalışmaya 2002 yılında rastlanmaktadır (Tosun vd., 2002). Marmara Bölgesi sanayi domatesi yetiştiriciliği ekiliş alanlarında yürütülen bu çalışmada 160 izolattan %63,1'nin A2, %36,9'unun A1 eşleşme tipi olduğu ve izolatların %13,8'sinin metalaxyl'e dayanıklı, %65'inin orta dayanıklı ve %21,2'sinin ise duyarlı olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma *P. infestans*'ın A2 eşleşme tipinin ülkemizde bulunduğu dair ilk kayıt olması açısından önemlidir.

## 2.5 Yurt Dışında *P. infestans* Çalışmaları

1840'lardan beri etmenin varlığına dair raporların Amerika'da olduğu bilinmektedir. 1840 yılından sonra ise Amerika'dan Avrupa'ya yapılan patates tohumu sevkiyatlarıyla etmenin taşındığı düşünülmektedir. 1845'te yaşanan İrlanda patates kıtlığı ise etmenin önemini ortaya koymuştur. Etmenin bu önemli epidemileri sonrasında Amerika ve Avrupa'da etmen hakkında yapılan araştırmalar hız kazanmıştır. Konumuzla ilgili olan eşleşme tipi, metalaxyl duyarlılığı, konukçu dokuda oospor oluşumu ve ilaç uygulamalarının oospor oluşumuna etkileri hakkında yapılan başlıca çalışmalar alt başlıklarda incelenmiştir.

### 2.5.1 Eşleşme tipi

Etmenin popülasyon yapısını incelemek için yapılması gereken ilk çalışma eşleşme tipinin belirlenmesidir. Eşleşme tipinin belirlenmesi hastalıkla mücadelede büyük öneme sahiptir. Danies vd. (2014) Kuzey Amerika'da 19. Yüzyılın ortalarından bu yana varlığı bilinen *P. infestans*'ın New York eyaletindeki popülasyonunu incelemiş, eşeyli üreme için uygun şartların olduğunu ve bu bölgenin geniş bir klonal popülasyona ev sahipliği yaptığını tespit etmişlerdir. 2010 ve 2011 yıllarında izole edilmiş olan *P. infestans* izolatları incelendiğinde 20 farklı genotip tespit edilmiş ve elde edilen izolatların eşleşme tipleri oranının birbirine yakın olduğu bulunmuştur. Popülasyon dengesinden ve çevre koşullarının oospor oluşumuna elverişli olmasından yola çıkarak farklı genotiplerin fazlalığının eşeyli üremenin bir sonucu olduğu kanısına varmışlardır.

İsrail'de yapılan diğer bir çalışmada Grinberger vd. (1989) 1983-1988 yılları arasında patates tarlalarından örnekler almışlar ve 38 *P. infestans* izolatu elde etmişlerdir. İzolatların eşleşme tipleri belirlendiğinde bir izolat dışında hepsinin A2 eşleşme tipine ait olduğu saptanmıştır. Bu izolatların metalaxyl duyarlılığı incelendiğinde ise 17 izolat duyarlı bulunurken 21 izolatu dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. A1 ve A2 eşleşme tipindeki izolatların sporangiumlarının karışımları patates bitkilerine inoküle edilmiş ve enfekte olan bitkiler incelendiğinde yapraklar üzerinde oospor oluşumu gözlenmiştir. A2 eşleşme tipinin yoğun olarak tespit edilmesi ve A1 eşleşme tipinin nadiren bulunması patojenin ülkede eşeyli üremesinin sınırlı olabileceğini düşündürmüştür.

2007-2008 yıllarında Çek Cumhuriyeti'nin çeşitli bölgelerinden toplanan izolatların eşleşme tipi tayininde klasik yöntemle birlikte moleküler yöntemlerde kullanılmıştır. CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) primeri W16-1 (5'-AAC ACGC ACA AGG CAT ATA AAT GTA-3') ve W16-2 (5'-GCG TAA TGT AGC GTA ACA GCT CTC-3') ve SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) primeri S1-a (5'-AGG ATT TCA ACA A-3') ve S1-b (5'-TGC TTC CTA AGG-3') kullanılmıştır. W-16 primeri PCR reaksiyonundan sonra enzim kesimi işlemine alınmaktadır. Enzim kesiminden sonra W16 primeri jelde görüntülendiğinde A1 eşleşme tipinde karakteristik üç bant (557bp, 457bp ve 100bp) vermektedir. A2 eşleşme tipinde ise karakteristik iki bant (457bp ve 100bp) vermektedir. S1 primeri ise

A1 eşleşme tipinde 1250 bp uzunluğunda tek bant vermektedir, A2 eşleşme tipinde ise bant vermemektedir. 195 izolatta yapılan analizler sonucunda 54 izolat A1, 141 izolat ise A2 eşleşme tipinde bulunmuştur. Moleküler yöntemle eşleşme tipi tayini besi yerine inokulasyon ve bekleme sürecini kısaltması daha hızlı sonuç alınmasını sağladığı için avantajlıdır. Üstelik yöntemin güvenilirliği yüksek ve uygulama kolaylığı da bulunmaktadır (Mazáková vd., 2009). Benzer bir moleküler çalışma 2018 yılında Polonya’da 146 *P. infestans* izolatı üzerinde yapılmış ve eşleşme tipi belirleme çalışmalarında klasik yöntemle ek olarak CAPS primeri W16 ve SCAR primeri S1 kullanılmıştır. 94 izolatın A1 ve 52 izolatın A2 eşleşme tipinde olduğu saptanmıştır. Seçilen CAPS ve SCAR primerlerinin birbirini doğrulaması hata payını da azaltmaktadır. Ayrıca klasik yöntemde kullanılan besi yeri içeriğindeki substratların ve kültürdeki izolatların yaşlılığının sonuçları etkilemesi de moleküler yöntemi daha güçlü kılmaktadır (Brylińska vd., 2018).

### 2.5.2 Oospor Oluşumu

Hastalıkla mücadele stratejileri geliştirmede etmen popülasyonunun eşeyli üreme potansiyeli büyük öneme sahiptir. Bu sebeple yapılan birçok araştırmada etmenin oospor oluşturma yeteneği ve bölgenin oospor oluşumuna elverişlilik durumu incelenmiştir. Patates üretiminde önemli bir yere sahip olan Hollanda’da 2000 yılında Turkensteen vd. (2000) *P. infestans*’ın oospor oluşumunu; tarla koşullarında domates ve patates bitkilerinde, laboratuvar test bitkilerinde ve patojene karşı farklı direnç seviyelerindeki patates çeşitlerinin yaprak disklerinde incelenmiştir. Tarla ve laboratuvar test edilen tüm bitkilerde oospor oluşumunun olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek oospor sayısı duyarlı Bintje ve Pimpernel çeşidinde gözlemlenirken en düşük oospor sayısı orta dirençli Nicola çeşidinde bulunmuştur. Oosporlar, kil kaplar içerisinde kumlu ve hafif killi topraklar kullanılarak canlı kalma süreleri araştırıldığında ise kumlu toprakta 48 ay hayatta kalabilen oosporlar hafif killi toprakta 34 ay boyunca hayatta kalabilmiştir. Bu süreler sonunda oosporların enfeksiyon yeteneklerini yitirdikleri gözlemlenmiştir.

Avrupa’da yürütülen diğer bir çalışmada 1998 ve 2000 yıllarında Viyana’da *P. infestans*’ın patates yumru dokusunda oospor üretme kabiliyeti Levin vd. (2001) tarafından, tarlada ve laboratuvar koşullarında farklı kimyasallara maruz bırakılarak

incelenmiştir. Tarla denemelerinde Alfa ve Mondial patates çeşitlerinin tohumluk yumrularına patojenin A1 ve A2 eşleşme tipinin sporangiumları inokule edilmiş ve enfekteli yumrular oospor varlığı açısından incelenmiştir. 1998 yılında enfekte olmuş 90 yumrunun sadece 2'sinde oospor tespit edilmiş ve 2000 yılında incelenen 90 yumrunun hiçbirinde oospor bulunamamıştır. Laboratuvar testlerinde ise hasat edilen yumrular A1 ve A2 sporangiumlarıyla inokule edildikten sonra 12 hafta depoda tutulmuş ve sonrasında incelendiğinde yumrulara oospor varlığına rastlanamamıştır. Yumru diskleri inokulasyondan önce casein hydrolysate,  $\beta$ -sitosterol veya chloroethylphosphonic asit gibi kimyasalların biri ya da bir kaçıyla muamele edildiğinde oospor oluşumu olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, disklerin inkübe edildiği petri kabında ki hava akımının azlığı oospor konsantrasyonunu azaltmıştır. Yumru dokusunda üretilen oospor sayısı, yaprak dokusunda üretilen oospor sayılarıyla karşılaştırıldığında yumru dokusundaki sayının daha az olduğu görülmüştür. Bu veriler göz önüne alındığında oospor üretme kabiliyetinin yumru dokusunda sınırlı olduğu ve yumru yaşlanması ile oospor üretme kabiliyetinin daha da azaldığı sonucuna varılmıştır.

2003 yılında Hindistan'da *P. infestans*'ın oospor oluşturabilme olanaklarının araştırıldığı bir çalışmada konukçu dokunun yüksek nem içeriği ve %50 orantılı nem koşullarında patojenin oospor oluşturabildiği gözlemlenmiştir. Oosporların oluşumu 14-16 gün sürmüş ve konukçu dokunun nem miktarı düşmeye başlayana kadar artış göstermiştir. %80'den fazla ortam neminin olduğu kontrollü şartlarda ise oospor oluşumu gözlemlenememiştir. Oospor oluşumu tarlada farklı patates çeşitlerinde denenmiş oospor oluşumu çeşitlere bağlı olarak 8-13 gün arasında değişkenlik göstermiştir ve çeşitlere bağlı olarak oospor sayılarında da farklılıklar olduğu saptanmıştır. Oosporların kışı geçirme yetenekleri ılıman bölgelerde test edilmiş ve oosporların bir sonraki sezonda yetiştirme alanında ki bitkilerde enfeksiyon oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca kışı geçiren oosporların çimlenme yüzdeleri ortalama %47 seviyelerinde bulunmuştur. Çalışma sonuçlarına göre eşeyli üremenin tarla koşullarında olması durumunda bir sonraki üretim sezonunda ilk enfeksiyon kaynağının oosporlar olabileceği Singh vd. (2003) tarafından saptanmıştır.

Flier vd'lerinin (2001) Orta Meksika'nın dağlık bölgelerinden elde ettikleri *P. infestans* izolatlarının oospor üretimi ve ekolojisi incelenmiştir. Elde edilen izolatlar A1 ve A2 eşleşme tipleri karşılıklı olacak şekilde rastgele eşleştirilmiş, eşleşmeler

sonucunda oospor oluştuğu ancak oospor oluşturma kapasitelerinin farklılık gösterdiği bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre oospor oluşturma yeteneğinin seçilen izolatlara ve bu izolatların soylarına bağlı olduğu tespit edilmiştir. Üretilen oosporların plazmoliz yöntemiyle canlılıkları tespit edildiğinde ortalama canlılığın %14 olduğu bulunmuştur. Aynı eşleşmelerle izolatların *Solanum demissium* yapraklarına inokulasyonunda ise yaprakların çoğunda oospor oluştuğu gözlenmiştir.

Hammi vd. (2001) 1997-2000 yılları arasında Fas'ın orta ve kuzeyindeki patates ve domates yetiştiriciliği alanlarından 108 elde edilen *P. infestans* izolatlarının eşleşme tipleri belirlemiş ve oospor oluşturma yetenekleri incelemiştir. İzolatların eşleşme türleri belirlendiğinde %60'ının A2, %40'ının A1 olduğu saptanmıştır. 10 gün, 20 C'de, 16 saatlik fotoperiyotta gerçekleştirilen inkübasyon sonrası; invitro ortamda patates toprağı ekstraktı içerisinde üretilen oosporların %25'inde, patates kökü ekstraktı içerisinde üretilen oosporların %18'inde çimlenme olduğu saptanmıştır. Duyarlı patates çeşitlerinin yapraklarında oospor üretiminin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, Fas iklim koşullarında oospor üretebilen uyumlu eşleşme türlerinin varlığını ortaya koymaktadır. Toprakta konukçu bitki yokluğunda da uzun süre hayatta kalabilen oosporların üretilmesinin, kontrol edilmesi zor olan yeni virulens izolatların oluşmasına katkı sağlamasından dolayı üretim arazilerinde tehdit olduğu düşünülmektedir.

### 2.5.3 Oospor Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Eşleşme tipi kombinasyonunun, evre koşullarının ve konukçu dokunun oospor oluşumunu nasıl etkilediğini araştıran Cohen vd. (1997) patates bitkisi yaprakları zerine A1 ve A2 eşleşme tipindeki izolatları farklı kombinasyonlar olacak şekilde inkübe etmişlerdir. İzolatların birleşme noktalarında oospor oluştuğu görülmüş ve yapraklar şeffaflaşması için alkolde kaynatılmıştır. şeffaflaşan yapraklar mikroskop altında incelenerek oospor sayıları lmlmştr. lmler sonucunda bazı kombinasyonların çok sayıda oospor ürettiği gözlemlenirken bazı kombinasyonlarda oospor sayılarının az sayıda olduğu tespit edilmiştir. Sporangium süspansiyonu karışım oranlarının oospor oluşumunu etkilemediği bulunmuştur. Eşeyli üremenin sıcaklıkla ilişkisine bakıldığında en verimli sıcaklığın testlenen izolatlar için 23 C olduğu gözlenmiştir. İlk enfeksiyonlar oluştuğuunda ışığın etkisine bakıldığında ışığın

oospor oluşumu için etkililiğinin olmadığı ancak nemin oospor oluşumu için önemli olduğu tespit edilmiştir. En yüksek oospor oluşumunun su üzerinde testlenen koparılmış yapraklarda olduğu ve optimum koşullarda milimetrekarede 100 oospor olduğu gözlemlenmiştir.

Oospor üretimine çok yüksek ve çok düşük sıcaklıkların etkisi araştıran Fay ve Fry (1997) ABD *P. infestans* izolatlarını kullanarak yaptıkları çalışmada test sıcaklıklarına maruz bırakılan oosporların in vitro ortamda çimlenme yüzdeleri ve canlılıklarını değerlendirmişlerdir. 35 eşleştirme yapılmış ve bunlardan sadece 5'i testlerde kullanılacak sayıda oospor üretebilmiştir. 46 °C'de 2 saat ve 40 °C'de 12 saat bekletilen oosporlarda bu süreler sonunda çimlenme gözlenmemiş ayrıca -80 °C'ye maruz bırakılan oosporlarda da çimlenme gerçekleşmemiştir. Çalışma sonucunda çok yüksek ve çok düşük sıcaklık değerlerinin oosporlarda benzer etkisinin olduğu gözlemlenmiştir.

Oospor oluşumuna ve çimlenmesine metalaxylin etkisinin araştırıldığı çalışmada; iki duyarlı iki dayanıklı A1 ve A2 eşleşme tipinden oluşan izolatlar, tüm kombinasyonlar denenecek şekilde eşleştirilmiştir (Hanson ve Shattock, 1998). Eşleşmeler patates yaprak disklerine inoküle edilmişler ve sonrasında metalaxyl çözeltisi üzerine alınmışlardır. Yaprak diskleri fungusit bulunmayan çözeltiden 0-7-14 ve 21. günde fungusit bulunan çözeltiye alınmıştır. Aşılardan hemen sonra (0. gün) metalaxyl bulunan çözeltiye alınan eşleşmelerde oospor üretimi gözlenmemiştir ancak 7-14 ve 21. günde metalaxyl bulunan çözeltiye alınan disklerde oospor oluşumu gözlenmiştir. Elde edilen oosporlar 21 gün sonra su agar bulunan besi yerine alınarak çimlenmeleri değerlendirilmiş ve çimlenme oranları eşleşmelere bağlı olarak %6-30 arasında bulunmuştur. Metalaxyl çözeltisine alınma sırasına göre çimlenmede artış olduğu görülmüştür. İzolatların eşleşmelerinden elde edilen oosporların çimlenme oranlarının genel olarak düşük olduğu, ortalama çimlenmenin %8,5 oranını geçemediği bildirilmiştir.

Groves ve Ristaino (2000) ise ticari fungusit formülasyonlarını *P. infestans*' in spesifik izolatlarının eşeyli üremesi üzerine etkilerini in vitro şartlarda incelemişlerdir. Çalışmada US-1, US-6, US-7 ve US-8 klonal soyları kullanılmıştır. İzolatların 2 ila 4 hafta sonunda 11 ticari fungusit formülasyonunun 9'unda oospor oluşturabildiği gözlenmiştir. Petri kabında ortalama 450 oosporla en yüksek sayıda oospor Ridomil

2E (metalaxyl) ve Ridomil Gold EC (mefenoxam) formülasyonlarında görülürken, maneb, manzate (mancozeb), Curzate (cymoxanil + mancozeb), ve Acrobat MZ (dimethomorph + mancozeb) içeren formülasyonlarda oospor sayısı ortalama 200 kadar bulunmuştur. Bravo (chlorothalonil) ve Tattoo C (chlorothalonil + propamocarb HCl) formülasyonlarında oospor oluşumu gözlemlenmezken aynı zamanda petri kabında patojen gelişimini de sınırlandırdığı tespit edilmiştir.

Yağmurlama sulamanın *P. infestans*'ın oospor oluşumu üzerindeki etkisini araştıran Cohen vd. (2000) bununla ilgili bir deneme yapmışlardır. İzolatlar 8 çift (A1-A2) olacak şekilde eşleştirilmiş, tarlada 4x2 metre alanda yetişen patates bitkileri üzerine püskürtülmüştür. Deney sonucunda alınan örneklerde yaprakların yaklaşık %8'inde, gövde dokusunun %10'unda oospor oluşumu gözlemlenmiş ancak yumrulara oospor oluşumuna rastlanmamıştır. Hem oospor içeren yaprakların oranı hem de yaprak başına oospor sayısı inokulasyondan sonra zamanla artmıştır. Ancak oospor sayısı yağış rejimine, yaprakların bitki üzerindeki pozisyonuna ve izolat çifti kombinasyonuna bağlı olarak değişkenlik göstermiştir. Yağış miktarının artmasının yapraklarda oospor üretimini önemli ölçüde artırdığı gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda yağmurlama sulamanın yaprak yüzeyindeki nemliliği artırması açısından oospor üretimini ve hastalık gelişimini artıracığı tespit edilmiştir.

#### **2.5.4 Oosporların Kışı Geçirmesi, Çimlenme ve Enfeksiyon Yeteneği**

Meksika'da *P. infestans*'la bulaşık topraklarda oosporların canlılık süresinin ve enfeksiyon yeteneğinin araştırıldığı bir çalışmada topraklar yıkanıp kurutulmuş sporangiumlardan arındırılmıştır. Oospor konsantrasyonu, canlılığı ve enfektivitesi, farklı bölgelerden toplanan örnekler arasında farklılıklar göstermiştir. Nadasa bırakılmış topraklarda etmenin 2 yıl konukçu bitki yokluğunda oospor formunda canlılığını koruduğu ve enfeksiyon yeteneğinde küçük bir düşüş olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda oosporların özellikle zorlu kış koşullarında hayatta kalabildiği ve primer inokulum kaynağı olarak rol üstlendikleri gözlemlenmiştir (Fernandez-Pavia vd., 2014).

Medina ve Platt (1999), Prens Edward Adası ve New Brunswick'te bulunan patates tarlalarında *P. infestans*'ın oosporlarının kışı geçirebilme yeteneklerini,

yaşayabilirliğini, çimlenmesini ve enfeksiyon yeteneklerini araştırmışlardır. Oospor canlılığını belirlemek için plazmoliz ve tetrazolium bromide testlerini kullanmışlardır. Tarlalarda gömülü olan oosporlar kış koşullarına maruz kaldıktan 7 ay sonra çıkarılmış ve canlılıkları test edildiğinde canlılıklarının %13 ile %44 arasında değişen yüzdelerde olduğu saptanmıştır. Ayrıca oosporlar gömüldükten 12 ay sonra canlılıklarına bakıldığında %5 ile %15 arasında olduğu saptanmıştır. Laboratuvar çalışmalarında ise 90 güne kadar -20 ve -50 °C sıcaklıklara maruz kalan oosporlar %50'den daha fazla canlılığa sahipken, 0-4 ve 15 °C sıcaklıklara maruz kalanların %23 ile %36 arasında canlılığa sahip olduğu bulunmuştur. En düşük canlılığın ise %22'yle 36 °C'de olduğu saptanmıştır. Oosporların çimlenme yüzdelерinin ise %6 ile %19 arasında değiştiği gözlenmiştir. Bununla birlikte bu yüzdelere sahip oosporların önemli bir inokulum kaynağı olarak rol üstlenebilecekleri düşünülmektedir. Özellikle kış sonrasında primer inokulum kaynağı olarak rollerinin önemli olduğu görülmektedir.

Birleşik Krallık 'ta ki arazilerden elde edilen A1 ve A2 *P. infestans* izolatlarının oospor canlılığı, çimlenmesi, enfeksiyon potansiyelleri araştırılmıştır. Eşleşmelerin çoğundan oospor elde edilmiş, oluşan oosporların çimlenme oranları ortalama %13 bulunmuştur. Uygulanan canlılık testinde steril su da inokule edilen oosporlar 5-7 ay canlı kalırken tarla toprağında gömülü olan oosporlar 8 aya kadar canlı kalabilmiştir. Oosporların yaprak ve gövde dokusunda üretildiği ancak yumru dokusunda oluşmadığı gözlenmiştir (Pittis ve Shattock, 1994).

2010-2011 yıllarında Çin'de yürütölen bir çalışmada *P. infestans*'ın oosporlarının hayatta kalma ve çimlenme durumları araştırılmıştır. *P. infestans*'ın A1 - A2 eşleşme tipindeki izolatları Rye-A agar besiyerinde eşleştirilmiş ve eşleşmeler sonucunda kültürlerde bolca oospor ürettiği tespit edilmiştir. Tarla şartlarında oosporların kışı geçirebilirliğine bakıldığında hayatta kalma oranlarının %19 ile %24 arasında değiştiği, çimlenme oranlarının ise %4 ile %8 arasında olduğu bulunmuştur. Çalışmada kullanılan toprak ekstraktı suyunun saf suya oranla oospor çimlenmesi testinde daha başarılı olduğu bulunmuştur (Jiping vd., 2011).

Patateste geç yanıklık hastalığında 1990'lardan itibaren, oospor kaynaklı ilk enfeksiyonların olduğuna dair birçok çalışma bulunmaktadır. Buna dayanarak Lehtinen ve Hannukkala (2004) Finlandiya'da oospor kaynaklı ilk enfeksiyonların olup olmadığını araştırmışlardır. İlk enfeksiyonların oospor kaynaklı olduğunu



düşündükleri 20 nokta belirlemişler. Önceki 4 yılın en az birinde geç yanıklık hastalığının görüldüğü alanlar seçilmiştir. Bu odak noktalarındaki ilk belirtilerin, her zaman yere yakın veya temas eden yapraklarda meydana geldiği gözlenmiştir. Son 10 yılda çoğu zaman ciddi salgınların olduğu iki deney alanı işaretlenmiş ve alınan toprak örnekleri laboratuvarında test edildiğinde enfeksiyonların toprak kaynaklı olduğu saptanmıştır. Yine yapılan testlerle deney alanına A1 ve A2 eşleşme tipindeki izolatların her ikisine de rastlanmış ve ilkbaharda alınan örneklerinde enfeksiyon oluşturabildiği gözlemlenmiştir. Bulunan sonuçlara göre oospor kaynaklı ilk enfeksiyonların Finlandiya’da gerçekleştiği sonucuna ulaşılmıştır.

## 2.6 Fungisitlere Dayanıklılık

Meksika’dan 1970’li yıllarda etmenin A2 eşleşme tipi ve yeni allozim tiplerinin göçü yaklaşık aynı yılların sonunda Avrupa’da ve bundan birkaç yıl sonra da Kuzey Amerika’yı etkilemiş ve bunun sonucunda da patojen popülasyonlarında phenylamides fungusitlere dayanıklılıklar saptanmıştır. Ancak Avrupa’da göç sonrasında yerleşik etmen popülasyonlarındaki değişimin farkına yaklaşık 10 yıl sonra varılabilmektedir. 1984 yılına gelindiğinde etmenin A2 eşleşme tipi ilk kez Avrupa’da saptanmıştır. Etmenin bu yeni genotiplerinin 1976 ve 1977 yıllarında Meksika’dan Avrupa’ya 25.000 ton patates ihraç edilmesi sırasında taşındığı düşünülmektedir. Etmenin A2 eşleşme tipi ve yeni allozimleri 1980’li yılların başında Hollanda, Almanya, Polonya ve İsviçre’de saptanmış, 1990’lı yılların başına kadar da tüm Avrupa, Ortadoğu ve Güney Amerika’ya yayıldığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu yıllarda etmenin Polonya ve Hollanda’da tarla koşullarında eşeyli olarak ürediği de belirlenmiştir (Chmielarz vd., 2014; Goodwin, 1997).

Etmenin popülasyon yapısındaki bu değişiklik, daha önce etmene karşı dayanıklı olan patates çeşitlerinde, şiddetli enfeksiyonların sıklıkla yaşanmasını beraberinde getirmiştir. Bu durum hastalığın bitkisel üretim alanındaki kontrolünü zorlaştırmakta ve oldukça sık bir şekilde fungusit uygulamalarını ve tarlada hastalığın yakından takibini gerektirmektedir (Shattock, 2002).

Phenylamide fungusitlere dayanıklılıkla ilgili yürütülen çalışmalarda sıklıkla gözlenen, çalışılan popülasyonun her geçen gün daha dayanıklı bireylerden oluştuğu bulgusudur (Deahl vd., 2002; Garry vd., 2005; Gisi vd., 2011; Hu vd., 2012 ). Ancak

bazı çalışmalarda ilginç sonuçlar da alınmıştır. Bunlardan İngiltere’de yürütülen bir çalışmada 1993 ve 1995 yılları arasında toplanan duyarlı, orta duyarlı ve dayanıklı izolatların saldırganlıkları karşılaştırıldığında en dayanıklı izolatların virulensliklerinin duyarlı ve orta düzeyde duyarlı olanlara göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu phenylamide fungusitlerin ilaçlama programlarından çıkarılması sonrasında dayanıklı izolatların popülasyonunun toplam popülasyon içerisinde azalması gözlemini desteklemektedir (Shattock, 2002). Nitekim 1993-1998 yılları arasında İngiliz izolatlarının 2/3’ü yüksek ya da orta düzeyde phenylamide fungusitlere dayanıklı iken 1997-1998 de orta düzeyde dayanıklı olanlar artmış dayanıklı olanların oranı düşmüştür. Bir grup diğer çalışmada 19 ülkede ve 4 kıtada yayılışı bulunan US-1 (mtDNA haplotip Ib) klonal soyunda phenylamides fungusitlere karşı dayanıklılık Avrupa’da yaygın olarak saptanırken, ilginç olarak Kuzey Amerika’da izolatların hepsi duyarlı bulunmuştur (Shattock, 2002). Bu durum son çalışmalarda da değişmemiş Kuzey Amerikada en yaygın genotip olan US-23 ve diğer önemli genotipler US-22 ve US-24 metalaxyl’e duyarlı bulunmuştur (Danies vd., 2014; Hu vd., 2012; Seidl ve Gevens, 2013). Phenylamideler tek yer engelleyici fungusitlerdir. Ökaryotlarda 3 farklı RNA polimeraz bulunmaktadır. Bunlardan ribozomal RNA sentezini gerçekleştiren RNA polimeraz I’i etkilemektedirler. RNA polimeraz II ve III üzerine phenylamidelerin bir etkisi bulunmamaktadır. Etmene karşı kullanılan diğer fungusitler: dimethomorph, fluazinam ve propamocarb hydrochloride olarak sayılabilir. Bu etken maddelerin etki mekanizmaları farklı farklıdır. Mefenoxam metalaxyl’e göre daha etkili ve çevre dostu bir fungusittir. Bunda etkili madde oranının preparatta düşük olması ve topraktaki parçalanma yeteneğinin daha hızlı olması rol oynamaktadır. Diğer phenylamide fungusitler benalaxyl + mancozeb, oxadixyl + cymoxanil ve oxadixyl + mancozeb yaygın olarak kullanılmaktadır (Shattock, 2002).

Eşleşme tiplerinin yanı sıra metalaxyl’e dayanıklılığında bir çok ülkede araştırıldığı görülmektedir (Tooley vd., 1993; Bradshaw ve Vaughan, 1996; Gisi ve Cohen, 1996). Bu tür çalışmalar etkili fungusit kullanımına yardımcı olması açısından büyük öneme sahiptirler.

Son yıllarda yürütülen çalışmalar etmenin eşeyli üreme potansiyelini daha net bir şekilde ortaya koymakta ve bunun düşük olasılıkta gerçekleşebileceğini bildirmektedir. Bu çalışmalarda ulaşılan ortak kanı, A1 (US-11, US-23, US-24) ve A2 (US-8, US-22) eşleşme tiplerine ait genotiplerin birbirinden farklı coğrafik alanlarda yayılış göstermeleri ve metalaxyl’e duyarlı olmaları (US-22, US-23, US-24) nedeniyle

tarla koşullarındaki fungusit uygulamalarından yüksek oranda etkilenme potansiyellerinin bulunmasıdır (Hu vd., 2012; Kalischuk vd., 2012).



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Test Patojeni

Araştırmamızın konukçu dokuda, ilaçlı ortamda, tarla koşullarında toprakta ve yumruda oospor oluşumu denemeleri kapsamında test patojeni olarak ilimizde yürüttüğümüz arazi çıkışlarıyla elde edilen A2 eşleşme tipine ait *P. infestans* izolatları ve önceki çalışmalarımızda Türkiye'nin farklı illerinden elde edilmiş A1 eşleşme tipine ait izolatlar kullanılmıştır (Çizelge 3.1.1.1). Klonal soyları bilinen US-6 (A1), US-7(A2), US-8(A2) ve US-11(A1) referans izolatları ise moleküler yöntemlerle eşleşme tiplerinin belirlenmesi işleminde referans olarak kullanılmıştır.

**Çizelge 3.1.1.1** Test patojenlerine ait izolat numarası, lokasyon ve eşleşme tipi bilgileri

İzolat Numarası	Lokasyon	Eşleşme Tipi	İzolat Numarası	Lokasyon	Eşleşme Tipi
1	Bolu	A2	B-66	Bursa	A1
7	Bolu	A2	B-67	Bursa	A1
16	Bolu	A2	A-87	Afyonkarahisar	A1
21	Bolu	A2	A-94	Afyonkarahisar	A1
28	Bolu	A2	Trb-118	Trabzon	A1
32	Bolu	A2	T-189	Tokat	A1
35	Bolu	A2	Nev-263	Nevşehir	A1
39	Bolu	A2	Nev-265	Nevşehir	A1
44	Bolu	A2	Nev-304	Nevşehir	A1
46	Bolu	A2	N-340	Niğde	A1
US-7		A2	US-6		A1
US-8		A2	US-11		A1

### 3.1.2 Test bitkileri

Araştırmamızın izolasyon ve saflaştırma aşamalarında patojen sporulasyonu için Bintje patates çeşidi kullanılmıştır. Konukçu dokuda ve tarla koşullarında oospor oluşum testlerinde ise Bolu patates ekiliş alanlarında yaygın olarak yetiştirilen ve hastalığa duyarlı olduğu bilinen Agria çeşidi yer almıştır.

### 3.1.3 Kullanılan Besiyerleri

Arazi çıkışlarıyla elde edilen hastalıklı bitki dokularının laboratuvarında sporulasyonu için %2'lik su agar kullanılmıştır. Patojenin izolasyonunda ve inokulumunun artırılmasında Rye A Agar ortamı, bol spor vermesi gereken durumlarda Rye B Agar ortamından yararlanılmıştır. Metalaxyl duyarlılığı testlerinde ise Pea Agar ortamı kullanılmıştır (Çizelge 3.1.3.1).

**Çizelge 3.1.3.1** Kullanılan besi yerlerinin içerikleri

Rye A Agar	Rye B Agar	Pea Agar	%2'lik Su Agar
200 ml kaynatılmış Rye suyu 20 g sakaroz 15 g Bacto- agar 100 µg/L nystatin 50 µg/L rifampisin Saf su ile 1 lt'ye tamamlanır.	200 ml kaynatılmış Rye suyu 20 g sakaroz 15 g Bacto- agar 0.050 g/L β-sitosterol çözeltisi 100 µg/L nystatin 50 µg/L rifampisin Saf su ile 1 lt'ye tamamlanır.	Otoklavlanmış Peasuyu 2 g CaCO <sub>3</sub> 15 g Bacto-agar Saf su ile 1 lt'ye tamamlanır.	20 gr Agar 1 lt saf su

### 3.1.4 Metalaxyl Duyarlılık Testleri

Patojenle mücadelede kullanılan metalaxyl etken maddeli fungusitlerin patojenin gelişimi ve oospor oluşturmaya etkileri aşağıdaki çizelgede verilen fungusitle test edilmiştir.

**Çizelge 3.1.4.1** Patojene etkisi araştırılan fungusitler

Preparat Adı	Etkili Madde	Aktif Madde Oranı (%)	Formülasyon	Firma
Rıdomıl Gold 480	Metalaxyl	48	EC	Syngenta

### 3.1.5 DNA İzolasyonu

**Çizelge 3.1.5.1** DaRT protokolüne göre Fresh Buffer hazırlanışı

Kimyasallar	50 ml için
Tris HCl pH 8.0	6,25 ml
EDTA pH 8.0	2,29 ml
5M NaCl	8,33 ml
Sorbitol	1,33 g
CTAB (en son)*	0,42 g
Sarcosyl (en sondan önce)*	0,42 g
PVP-40	1,00 g
Sodiumdisulfite	0,25 g

Su ile 50 ml'ye tamamlanır.

\*Kullanılan kimyasalların deterjan içeriklerinden dolayı köpürme özelliği olduğundan karışıma en son eklenirler.

Kullanılan diğer kimyasallar chloroform: isoamyl alkol (24: 1), isopropanol ve %70 etil alkol izolasyon aşamasında kullanılmaktadır.

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 İzolasyon ve koleksiyon oluşturma

*P. infestans* izolat koleksiyonu 2017, 2018 üretim sezonunda Bolu ilinde hastalığın sıklıkla görüldüğü ilçelerin patates üretim alanlarını temsil edecek şekilde oluşturulmuştur. Örnek sayılarının ilçelere dağılımında seçilen ilçelerin toplam sörvey alanına katılım payları dikkate alınmıştır. İlçelerdeki köylerin seçiminde ise köy ekiliş alanının büyüklüğü, köylerin ilçeye göre farklı yönlerde olması göz önünde bulundurulmuştur. Etmenin farklı ırklarını yakalayabilmek için, örnekler belirti görünümünde farklılık gösteren bitkilerin gövde ve yapraklarından alınmıştır. Patojenin karışık enfeksiyonlarını, yani enfekteli dokuda birden fazla genotipinin bulunma olasılığını en düşük seviyeye indirmek amacıyla, enfekteli dokunun tek bir lezyondan oluşması ve bu lezyonun mümkün olduğunca genç olmasına özen gösterilmiştir. Bu tipte belirti sergileyen yaprak ve gövde örnekleri kese kağıdına ve sonrasında küçük plastik torbalara etiketlenerek yerleştirilmiş ve buz kutularında laboratuvara getirilmiştir.

Bu örnekler laboratuvarında içerisinde 10 ml, %2'lik su agar bulunan petrilerin ters çevrilmesi sonrasında kapak kısmına yerleştirilmiş (su agar kısmı petrinin üstünde) ve 3 kat parafilmle edilerek 24-48 saat süreyle sporlanmaya bırakılmıştır, sonrasında sporlanan yaprak yada gövde dokularına sera yada kontrollü koşullarda yetiştirilen Bitnje patates çeşidinin steril suyla ıslatılmış yaprakları temas ettirilerek aynı koşullarda su agar petrilerinde sporlanmaya (su agar üstte, yaprak petrinin kapak kısmında ve 3 kat parafilmle edilmiş) bırakılmıştır.

Daha sonra 3 mm<sup>2</sup> boyutlarındaki agar diskleriyle sporlanan yaprak kısımlarından sporangiumlar stereo mikroskop altında alınarak içerisinde 100 µg/L ampicillin, 100 µg/L nystatin ve 50 µg/L rifampisin bulunan Rye A Agar besiyerine transfer edilmiştir. Petriler 20 °C'de 5-7 gün gelişmeye bırakılmış ardından gelişen patojen kültürlerinden 5 mm çapındaki mantar diskleri koloninin en uç noktasından alınarak antibiyotiksiz Rye A Agar ortamına aktarılmış ve burada etmenin gelişimi ve sporulasyonu izlenmiştir. Daha sonra elde edilen her izolatın saf kültürü içerisinde Rye A Agar bulunan şişelere aktarılmış ve etmenin gelişmesi sonrasında kültürler

mineral yağ içerisinde (Sigma Diagnostic Inc, St Louis, MO, USA) 15 °C'de 6 ay süreyle saklamaya alınmıştır (Danies vd., 2014; Deahl vd., 2002).

### **3.2.2 Kullanılan Besiyerleri**

#### **3.2.2.1 Rye A Agar**

120 gr Rye tartılarak bir kaba alınıp, üzerine 150 ml saf su eklenir ve ağzı kapatılmıştır. 24 saat boyunca karanlıkta bekletilmiştir. 24 saat sonunda kapta çimlenmiş olan çavdarlar erlenmayere alınıp ve üzerine çavdarları 1-2 cm geçecek kadar saf su eklenmiştir. Yaklaşık 1 saat elektrikli ocakta kaynatılmıştır. Kaynatılmış çavdar suyu tülbent yardımıyla süzülüp ve otoklav şişesi içerisine eklenmiştir (yaklaşık 200 ml). Şişeye 20 g sakkaroz, 15 g Bacto- agar eklenmiş ve saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır. 121 °C'de 20 dk otoklavlanmış ve 45-50 °C'ye soğutulup istenilen kalınlıkta petrilere dökülmüştür.

#### **3.2.2.2 Rye B Agar**

Rye A Agar besi yeri hazırlanması için geçerli olan protokoller bu besi yerinde de uygulanmıştır. Bu ortamı farklı kılan tek nokta otoklav öncesinde 0.050 g/L  $\beta$ -sitosterol eklenmesidir.  $\beta$ -sitosterol patojenin sporlanmasını artırdığı için bol spor eldesi gereken durumlarda bu besi yeri kullanılır.

#### **3.2.2.3 Pea Agar**

120 gr dondurulmuş bezelye tartılıp bir şişeye alınmıştır. Saf su ile 1 litreye tamamlanıp 121 °C'de 20 dk otoklavlanmıştır. Otoklavdan çıkarılıp tülbent yardımıyla süzülerek suyu başka bir şişeye aktarılmıştır. Şişeye 2 g CaCO<sub>3</sub> ve 15 g Bacto-agar eklenir saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır. 121 °C'de 20 dk otoklavlanıp 45-50 °C'ye soğutulup ve istenilen kalınlıkta petrilere dökülmüştür.



### 3.2.3 DNA izolasyonu:

DArT DNA izolasyon protokolü 2 ml'lik ependorf tüp için;

1 ml fresh buffer kuru blok ısıtıcıda 65 °C'ye ısıtılmıştır. Petri kabında gelişmiş olan etmenin miselleri bistüri ile kazınıp alınarak 65 °C'ye ısıtılmış fresh buffer içerisine aktarılmıştır. Ependorf tüp vorteksle iyice karıştırılıp daha sonra kuru blok ısıtıcıda 30-60 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda misel yığınının çözeltide daha iyi karışması için homojenizatör yardımıyla parçalanmıştır. Tüp oda sıcaklığına soğutulup 1 ml chloroform: isoamyl alkol (24: 1) karışımı ilave edilmiştir. Ependorf tüp 30 dk homojen bir görüntü elde edene kadar karıştırılmıştır. 20 dk 10.000 g' de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonrası üstte oluşan berrak sıvı başka bir ependorf tüpe aktarılmıştır. Aktarılan sıvı kadar üzerine soğuk isopropanol eklenip ve 10 dk kadar ters düz edilerek karıştırılmıştır. Karıştırma sonrasında 30 dk 10.000 g' de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonunda DNA'yı içeren pellet ependorf tüpün alt kısmında toplanmıştır. Üst sıvı dökülüp pellet ve ependorf tüpün iç yüzü %70 etil alkol ile yıkanmıştır. Kurutulduktan sonra pellet üzerine eklenen 250 µl su içerisinde çözüldürülmüştür. Elde edilen DNA miktarı ve kalitesi spektrofotometre kullanılarak tespit edilmiştir (Şekil 3.2.3.1).



Şekil 3.2.3.1 DNA izolasyonu işlemlerinde kullanılan bazı cihazlar (a. Kuru blok ısıtıcı b. Spektrofotometre c. Vortex d. Santrifüj)

### 3.2.4 PCR koşulları ve Eşleşme Tipi (Mating Type) Belirleme

PCR reaksiyonları 15 µl final reaksiyon hacminde BIO-RAD T-100 model thermal cycler ile gerçekleştirilmiştir. Her bir reaksiyon 2 µl (55 ng) şablon DNA, 2 µl 10xPCR buffer (20mM MgCl<sub>2</sub> içeren Thermo Scientific 10x Dream *Taq* buffer), 2 µl dNTP'ler (herbiri 2 mM), her bir oligonükleotid primerden 0.8 µl, 0.2 µl *Taq* DNA Polimeraz (Thermo Scientific dream *Taq* Polimeraz; 5 U/µl) ve 7,2 µl steril sudan oluşmuştur. DNA amplifikasyonu aşağıda belirtilen PCR koşullarında yürütülmüştür. 94°C'de 90 s ön denatürasyondan sonra 35 döngü 94°C'de 40 s, 35°C (primer S1a ve S1b) ya da 53°C'de (primer W16-1 ve W16-2) 60 s, 72°C'de 90 s ve son uzatma 72°C'de 10 dk S1 primeri PCR işleminden sonra jelde yürütülürken W16 primeri için amplifikasyonu yapılan her bir DNA'nın 10 µl kısmı içerisinde 1 µl (50 U µl<sup>-1</sup>) restriksiyon enzimi HaeIII, 3 µl 10x restriksiyon buffer ve 16 µl steril su bulunan ana karışımla karıştırılmış ve sonrasında restriksiyon enzimlerinin aktivite göstermesi için 37°C'de bir gece inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda jel elektroforezi işlemine geçilmiştir.

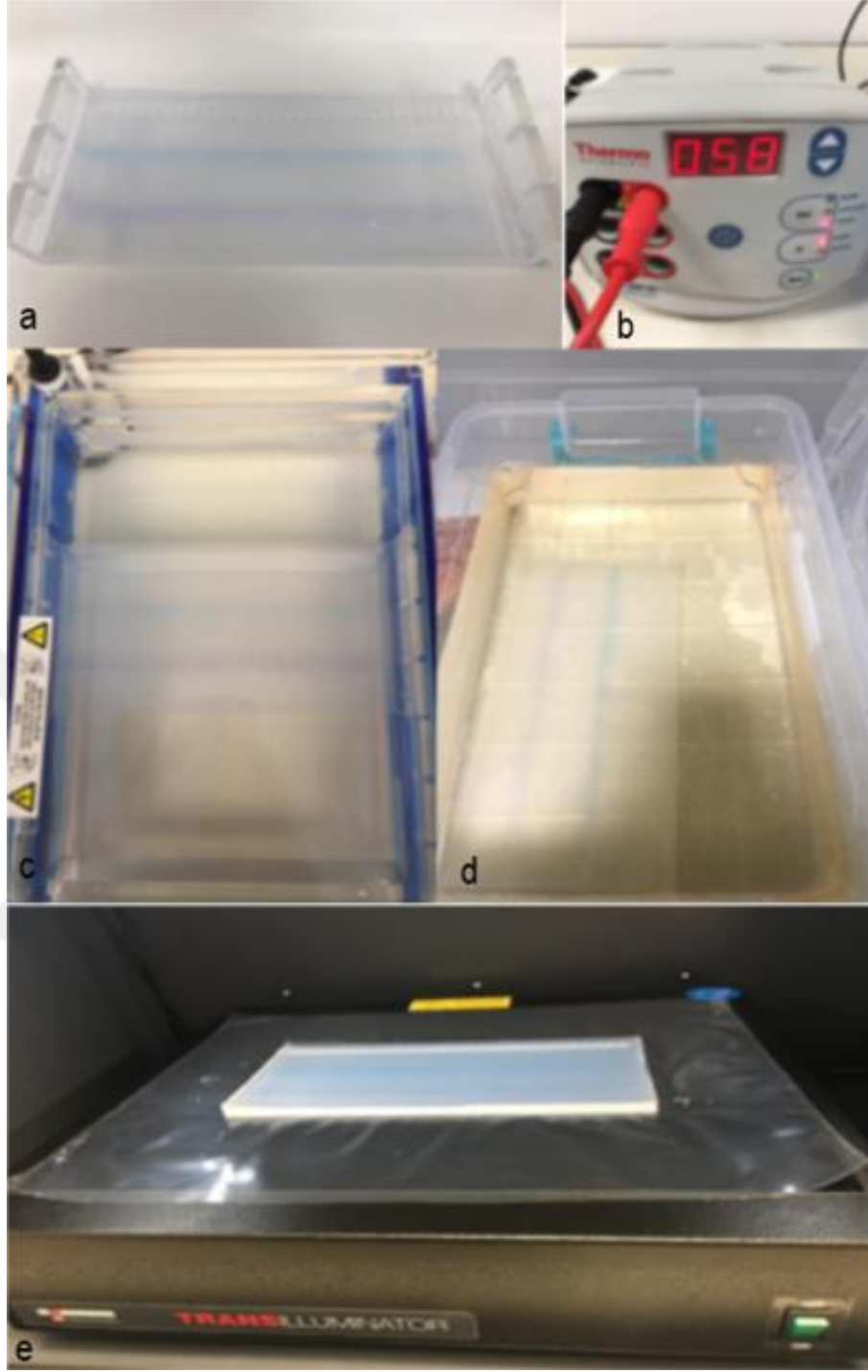
### 3.2.5 Agaroz Jelin Hazırlanması

%1'lik agaroz jel hazırlamak için jel kaseti yerine yerleştirilmiştir. Erlenmayere 0,5 gr agaroz tartılarak eklenmiştir. Üzerine 50 ml TBE tampon eklenmiştir. Mikrodalga fırında (yaklaşık 160 °C' ta) agaroz homojen bir şekilde eriyene kadar ısıtılmıştır. Homojen bir görünüm elde edildiğinde mikrodalga fırından alınarak 45-50°C' ta kadar soğutulup ve jel kasetine dökülmüştür. Uygun taraklar takılıp ve jelin donması beklenmiştir. Jel donduktan sonra taraklar çıkarılıp, jel elektroforez tankına yerleştirilip ve örnekler yüklenmiştir.

TBE tamponu (5x)(500ml) için 1,21 gr Trizma base, 28,6 gr Borik Asit, 50 gr EDTA (0,5 M)

### 3.2.6 Jel Elektroforezi

DNA örneklerine 1 µl 6x yükleme boyası eklenip, boyanın örneklerle karışması sağlanıp ve birkaç saniye santrifüj yapılarak karışımın tüpün alt kısmına toplanması sağlanmıştır. Boya sukroz içerdiği için DNA örneklerinin TBE tamponundan ağır olmasını sağlar ve bu sayede örnekler açılan kuyucuklarda kalmıştır. Ayrıca boyanın Bromfenol mavisi içermesi elektroforez işlemi süresince örneklerin jel üzerindeki hareketinin görülmesinde sağlamaktadır. DNA örnekleri kuyucuklara yüklenirken bant uzunluklarını ölçmek için ilk sıraya bir DNA ladder yüklenmiştir. DNA ladder yüklendikten sonra sırasıyla örnekler birbirine karışmamasına özen gösterilerek dikkatli bir şekilde mikro pipetle kuyucuklara 15 µl yüklenmiştir. Jel tankı kapatılıp ve elektrotlar güç kaynağına bağlanmıştır. Güç kaynağı yaklaşık olarak 100 voltta 1 saat kadar çalıştırılıp bu durum jele ve görüntülenmek istenen ürüne göre değişiklik göstermektedir. Jel üzerindeki boya istenilen noktaya geldiğinde güç kaynağı kapatılmıştır. Jel dikkatlice çıkarılıp ve içerisinde 50 µl/L %1 BioChemica Ethidium Bromide (AppliChem, Darmstadt, Germany) bulunan bir kaba alınarak 30 dk boyunca boyamaya bırakılmıştır. Jel çok dikkatli bir şekilde Ethidium Bromide 'den alınıp ve UV transilluminatörde fotoğrafı çekilmiştir (Şekil 3.2.6.1).



**Şekil 3.2.6.1** Jel Elektroforezi aşamaları (a. Elektroforez işlemi bitmiş olan jelde örneklerin görünümü b. Güç kaynağı c. Elektroforez tankı d. Ethidium Bromide ile boyama e. UV Transilluminatör'e yerleştirilmesi)

### 3.2.7 Metalaxyl Duyarlılığı:

İzolatların reaksiyonları PeaAgar besiyerine 0, 5, 100 mg L<sup>-1</sup> konsantrasyonda metalaxyl (Ridomil Gold EC %48, Syngenta) eklenmesiyle ölçülmüştür (Peters vd., 2014; Therrien vd., 1993). Bu amaçla patojen izolatların iki haftalık kültürlerinden alınan 8 mm çapındaki diskler içerisinde 0, 5, 100 mg L<sup>-1</sup> metalaxyl bulunan PeaAgar petrilere 5 tekerrürlü olarak ekilmiş ve iki hafta süreyle karanlıkta, 16 °C'de inkübe edilmişlerdir. Denemede izolatın 5 ve 100 mg L<sup>-1</sup>'de ölçülen gelişimi (mm) negatif kontrolde ölçülen değerin %40'ından küçük, Duyarlı; izolatın 5 mg L<sup>-1</sup>'de ölçülen gelişimi negatif kontrolde ölçülen gelişimin %40'ından büyük, ancak 100 mg L<sup>-1</sup>'de ölçülen gelişimi ise %40'dan küçük, Orta Derecede Duyarlı; izolatın 5 ve 100 mg L<sup>-1</sup>'de ölçülen gelişimleri negatif kontrolde ölçülen değerin %40'ından büyük, Dayanıklı olarak değerlendirilmiştir (Bakonyi vd., 2002; Garry vd., 2005).

### 3.2.8 Konukçu Dokuda Oospor Oluşumu:

Saptanan A1 ya da A2 eşleşme tipleri kendi aralarında oospor oluşturma yetenekleri bakımından testlenmiştir. Testlerde iklim odasında yetiştirilen 6 haftalık bitkilerin (Agria çeşidi) yapraklarından alınan 10 mm çapındaki diskler kullanılmıştır. Bunlar içerisinde su agar bulunan 9 cm çapındaki petri kaplarına 9 disk gelecek şekilde yerleştirilmiş ve her bir disk 20 µl A1:A2 (1:1 oranında) sporangium karışımıyla inoküle edilmiştir. Petri kapları 15 °C'de 10 gün süreyle 12 saat aydınlık/karanlık periyotta inkübe edilmiştir ve daha sonra oospor oluşumunun değerlendirilmesi için diskler etanolde kaynatılarak sayımlar gerçekleştirilmiştir (Cohen vd., 1997).

### 3.2.9 Metalaxyl'in Oospor Oluşumuna Etkisi

İçerisinde 100 ppm konsantrasyonda metalaxyl bulunan Rye A Agar besiyerine izolatlar 8 mm çapındaki diskler aralarında 2 cm bulunacak şekilde 5 tekerrürlü olarak ekilmiştir. Karanlıkta 2 hafta süresince inkübasyona bırakılan petrilere gelişen izolatların birleşme noktaları mikroskop altında incelenmiş ve petrilere 5 farklı noktadan 10 x objektifin görüş alanında bulunan oosporlar sayılmıştır.

### **3.2.10 Tarla Koşullarında Oospor Oluşumu**

#### **3.2.10.1 Oosporlu yaprak-toprak karışımı**

A1 ve A2 eşleşme tipinin verildiği  $\text{cm}^2$ 'sinde ortalama 100 oospor bulunan 30 patates yaprağı  $500 \text{ cm}^3$  kum ve toprak (1:2 w/w) karışımıyla bir küvette karıştırılıp saksıya yerleştirilmiştir. Denemeler üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Saksılar Kasım ayında toprağın 20 cm derinliğine gömülmüş ve Nisan ayına kadar bu derinlikte doğal tarla koşullarında bekletilmiştir. 11 Nisan 2018'de çıkarılan topraktaki sporangium ve miselleri elimine etmek için 24 saat boyunca derin dondurucuda ( $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ ) bekletilmiştir. Dondurucudan çıkarılan toprak çözüldükten sonra şeffaf plastik bir kaba alınmış ve toprak seviyesini 1 cm geçecek kadar musluk suyu eklenmiş ve  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de iki gün inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra 16 saatlik fotoperiyotta yetiştirilmiş Bintje çeşidinin yaprakları su üzerine alt kısımlar yukarıya bakacak şekilde yerleştirilmiştir ve iki hafta süreyle inkübe edilmiştir. Yapraklar iki hafta boyunca enfeksiyon oluşumu için kontrol edilmiş enfeksiyon oluşumu durumunda yaprakların üzerine patates yumru dilimleri konulması planlanmıştır.

#### **3.2.10.2 Yumruda oospor oluşumu**

A1 ve A2 eşleşme tiplerinin sporangiumları bir ependorf tüp içerisinde karıştırılmış ve 20-50-100  $\mu\text{l}$ 'lik miktarlarda yumrulara inoküle edilmiştir. Bu işlem için Agria çeşidinin yumruları kullanılmıştır. Yumruların 2 cm derinliğine enjekte edilen spor süspansiyonu enjeksiyon işleminden sonra kapatılmış ve üç kat parafilmle kaplanmıştır. Plastik kaplara konularak Kasım ayında toprağa gömülmüş ve yine 11 Nisan 2018'de topraktan çıkarılmıştır. Bu işlem üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Spor süspansiyonunun verildiği etmenin gelişim gösterdiği kısımlardan 1-2 mm'lik ince kesitler alınarak mikroskop altında incelenmiş oospor oluşumu değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 Bulgular

#### 4.1.1 İzolat Koleksiyonu

Hastalık gelişimi için uygun hava şartlarının olduğu dönemlerde patates tarlalarına yapılan arazi çıkışlarında 46 *P. infestans* izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlarla ilgili bilgiler Çizelge 4.1.1.1’da verilmiştir.

**Çizelge 4.1.1.1** Elde edilen izolatların lokasyon, koordinat, eşleşme tipi ve metalaxyl dayanıklılığı bilgileri

İzolat Numarası	Lokasyon	Koordinat	Eşleşme Tipi	Metalaxyl Duyarlılığı
1	Bolu-Merkez-Karaköy	40 42 31 / 31 32 27	A2	Orta Dayanıklı
2	Bolu-Merkez-Karaköy	40 42 35 / 31 32 31	A2	Orta Dayanıklı
3	Bolu-Merkez-Karaköy	40 42 36 / 31 32 35	A2	Orta Dayanıklı
4	Bolu-Merkez-Karaköy	40 42 18 / 31 32 21	A2	Orta Dayanıklı
5	Bolu-Merkez-Karaköy	40 42 17 / 31 32 30	A2	Orta Dayanıklı
6	Bolu-Merkez-Karaköy	40 42 23 / 31 32 32	A2	Orta Dayanıklı
7	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 36 / 31 32 34	A2	Dayanıklı
8	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 33 / 31 32 24	A2	Dayanıklı
9	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 19 / 31 32 23	A2	Dayanıklı
10	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 43 / 31 32 38	A2	Orta Dayanıklı
11	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 39 / 31 32 54	A2	Orta Dayanıklı
12	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 37 / 31 32 46	A2	Dayanıklı
13	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 40 / 31 32 40	A2	Dayanıklı
14	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 50 / 31 34 09	A2	Dayanıklı
15	Bolu-Merkez-Sultanbey	40 41 49 / 31 34 16	A2	Dayanıklı
16	Bolu-Merkez-Sultanbey	40 41 38 / 31 34 37	A2	Dayanıklı
17	Bolu-Merkez-Sultanbey	40 41 41 / 31 34 13	A2	Orta Dayanıklı
18	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 55 / 31 33 41	A2	Dayanıklı
19	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 51 / 31 33 38	A2	Dayanıklı
20	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 49 / 31 33 27	A2	Orta Dayanıklı
21	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 53 / 31 34 02	A2	Dayanıklı
22	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 54 / 31 34 19	A2	Dayanıklı
23	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 41 52 / 31 34 25	A2	Dayanıklı
24	Bolu-Merkez-Doğanc1	40 42 07 / 31 34 24	A2	Dayanıklı
25	Bolu-Merkez-Sultanbey	40 41 43 / 31 34 20	A2	Orta Dayanıklı
26	Bolu-Merkez-Sultanbey	40 41 20 / 31 34 42	A2	Dayanıklı



Çizelge 4.1.1.1'in devamı

27	Bolu-Merkez-Sultanbey	40 41 14 / 31 34 36	A2	Dayanıklı
28	Bolu-Merkez-Köprücüler	40 41 38 / 31 35 16	A2	Orta Dayanıklı
29	Bolu-Merkez-Berk	40 42 15 / 31 36 03	A2	Dayanıklı
30	Bolu-Merkez-Berk	40 42 22 / 31 35 56	A2	Dayanıklı
31	Bolu-Merkez-Berk	40 42 29 / 31 36 10	A2	Dayanıklı
32	Bolu-Merkez-Berk	40 42 34 / 31 36 36	A2	Dayanıklı
33	Bolu-Merkez-Berk	40 42 27 / 31 36 24	A2	Dayanıklı
34	Bolu-Merkez-Berk	40 42 16 / 31 36 29	A2	Orta Dayanıklı
35	Bolu-Dörtdivan-Merkez	40 43 46 / 32 04 08	A2	Orta Dayanıklı
36	Bolu-Dörtdivan-Merkez	40 43 38 / 32 04 04	A2	Orta Dayanıklı
37	Bolu-Dörtdivan-Deveciler	40 43 10 / 32 05 05	A2	Orta Dayanıklı
38	Bolu-Dörtdivan-Deveciler	40 43 04 / 32 05 08	A2	Orta Dayanıklı
39	Bolu-Dörtdivan-Adakınık	40 42 42 / 32 04 10	A2	Orta Dayanıklı
40	Bolu-Dörtdivan-Adakınık	40 42 46 / 32 04 23	A2	Orta Dayanıklı
41	Bolu-Dörtdivan-Aşağısayık	40 42 09 / 32 02 57	A2	Dayanıklı
42	Bolu-Dörtdivan-Aşağısayık	40 42 10 / 32 03 07	A2	Dayanıklı
43	Bolu-Dörtdivan-Aşağısayık	40 41 59 / 32 03 32	A2	Dayanıklı
44	Bolu-Dörtdivan-Aşağısayık	40 41 55 / 32 03 29	A2	Dayanıklı
45	Bolu-Merkez-Okçular	40 42 47 / 31 37 56	A2	Dayanıklı
46	Bolu-Merkez-Okçular	40 42 31 / 31 37 52	A2	Dayanıklı



Şekil 4.1.1.1 Yaprakta ilk enfeksiyonun görünümü



**Şekil 4.1.1.2** Laboratuvara getirilen örneklerden etmenin izolasyonuna dönük çalışmalar



**Şekil 4.1.1.3** Enfekteli yaprakların su-agar'da 24-48 saat sonraki sporulasyonu



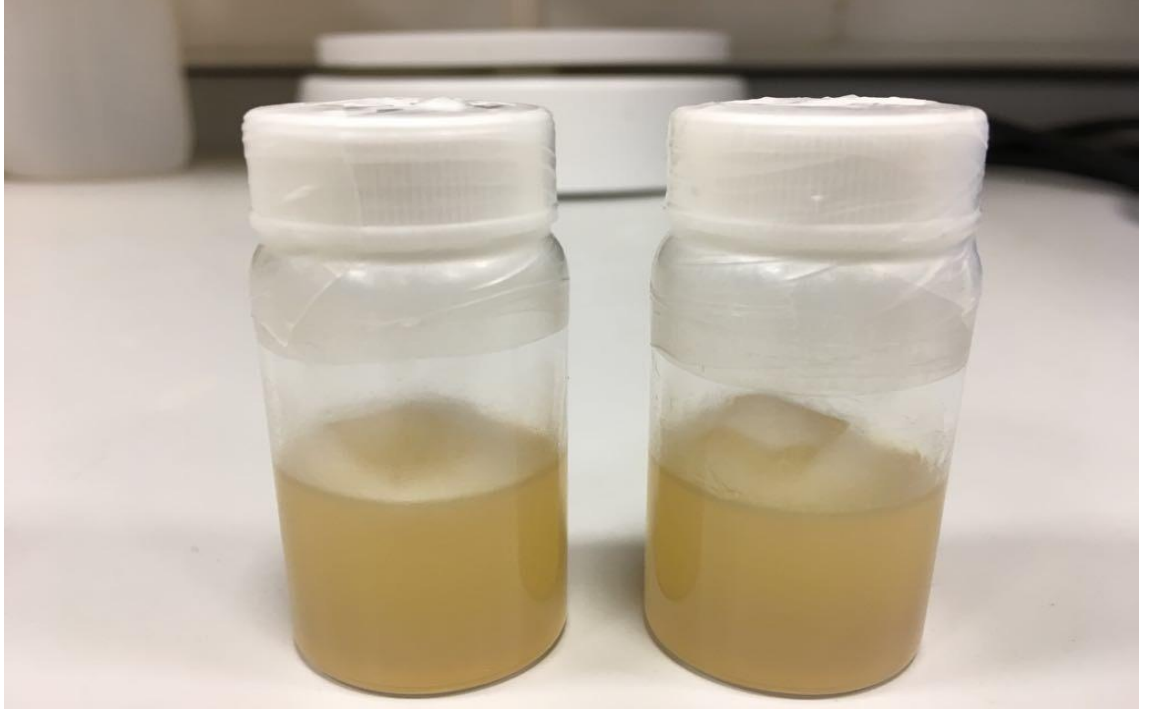
**Şekil 4.1.1.4** Sporulasyonlu yapraklara ıslatılarak temas ettirilen Bintje patates çeşidine ait yapraklarda 5-7 gün sonra oluşan yeni sporulasyonlar



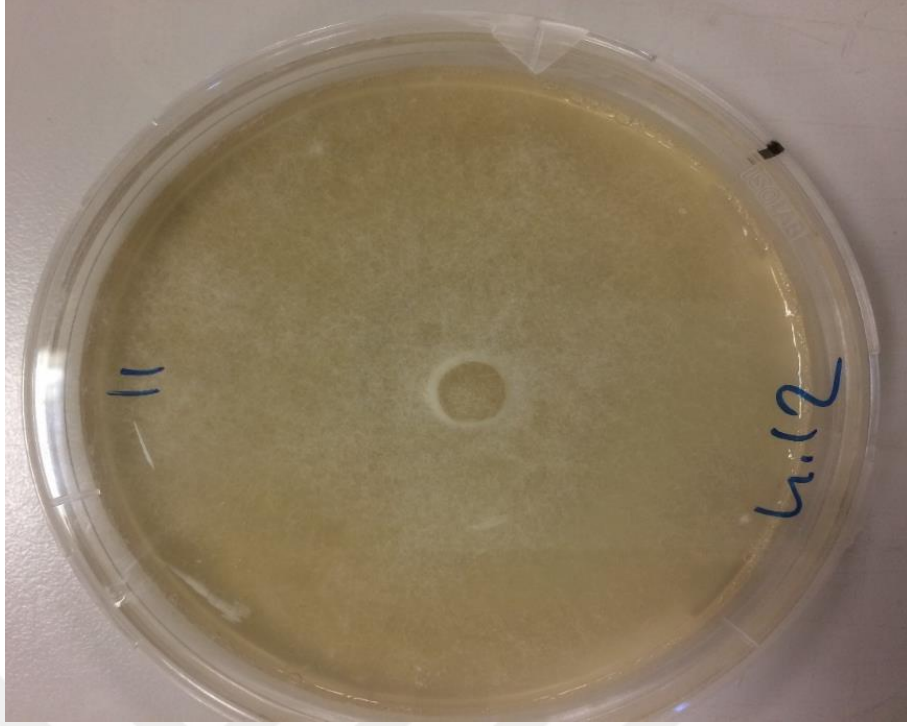
**Şekil 4.1.1.5** Bintje patates çeşidine ait yapraklarda sporangium demetlerinin mikroskop altındaki görüntüsü



Şekil 4.1.1.6 -135 °C’de saklanmak üzere stok kültüre eklenen *P. infestans* izolatları



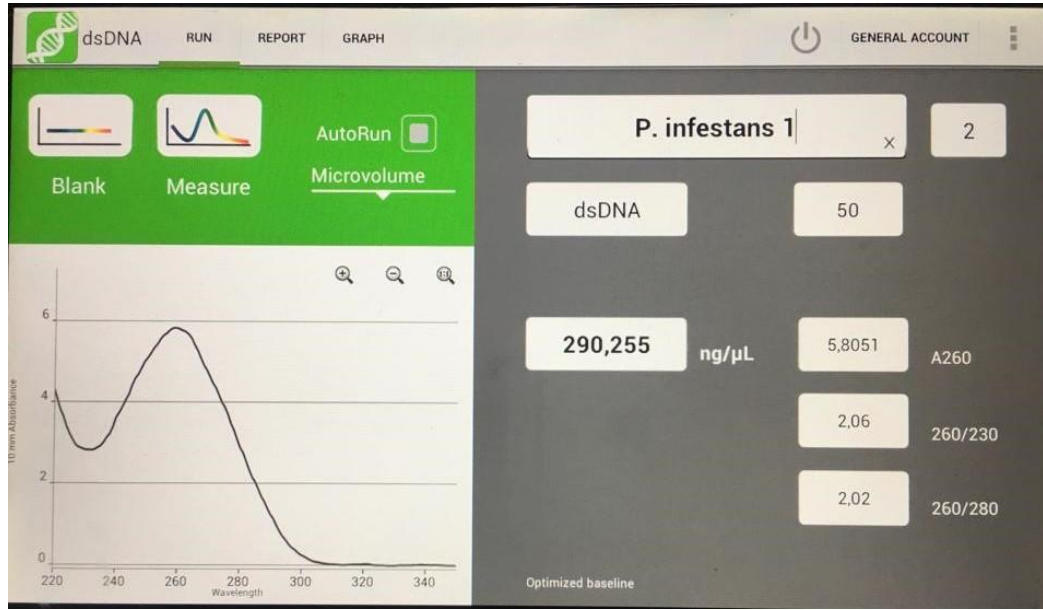
Şekil 4.1.1.7 15°C’de saklanmak üzere stok kültüre eklenen *P. infestans* izolatı



**Şekil 4.1.1.8** Etmenin Rye A agar ortamında gelişimi

#### **4.1.2 DNA İzolasyonu**

İzolatların DArT DNA izolasyon protokolü uygulanarak elde edilen DNA miktarları ve bunlara ait ölçüm grafikleri temiz bir DNA elde edildiğini göstermektedir (Şekil 4.1.2.1; Çizelge 4.1.2.1).



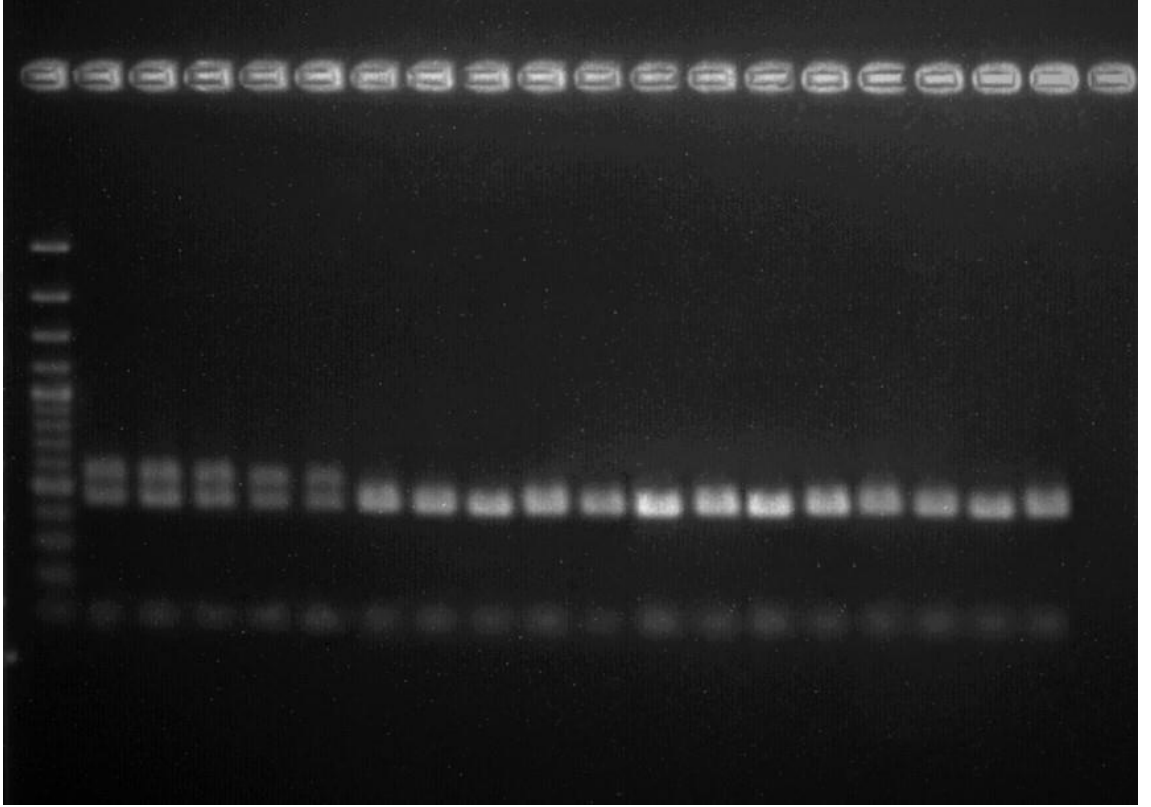
**Şekil 4.1.2.1** Spektrofotometre ile DNA miktarı ölçülen izolat örneği

**Çizelge 4.1.2.1** Elde edilen tüm DNA'ların ölçüm değerleri

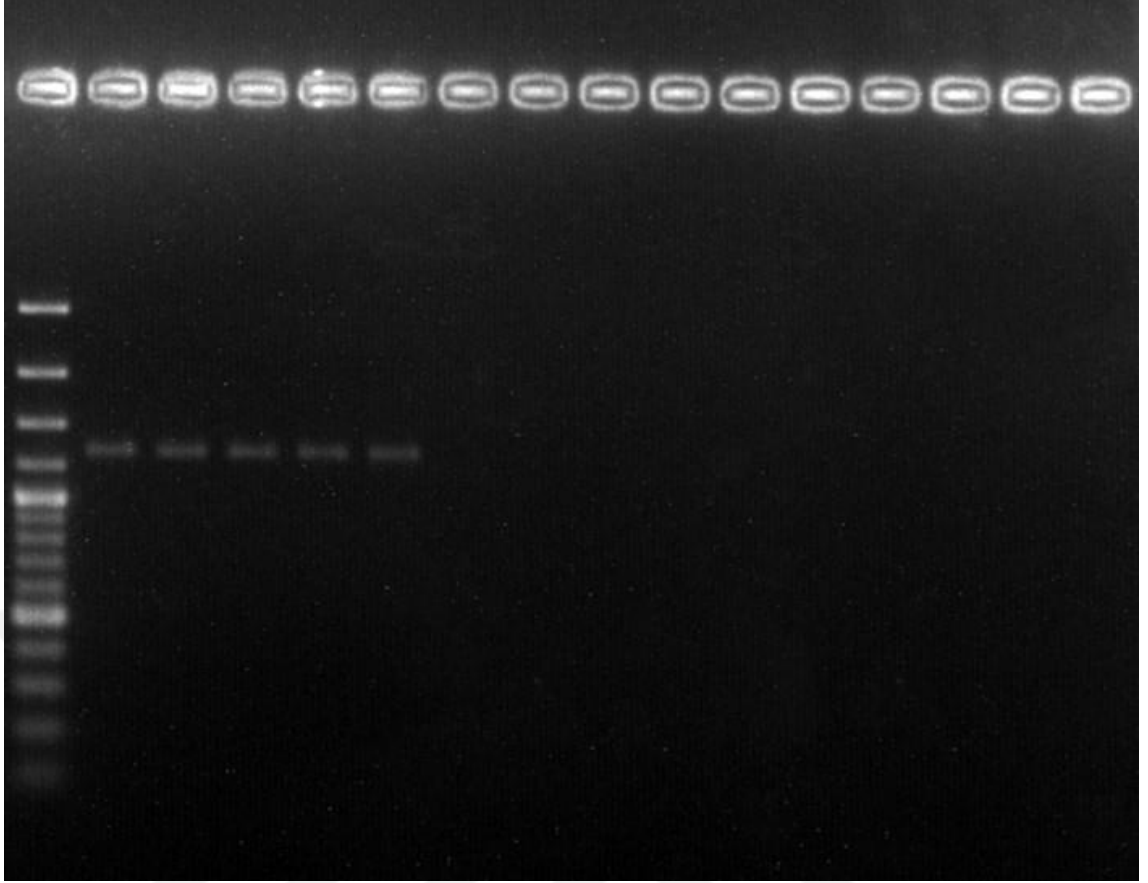
İzolat No	DNA miktarı (ng/μl)	İzolat No	DNA miktarı (ng/μl)	İzolat No	DNA miktarı (ng/μl)
1	290,25	21	251,3	41	361
2	321,47	22	147,8	42	293,68
3	157	23	135,5	43	145,99
4	225,63	24	157	44	120
5	322,12	25	220	45	98,69
6	458	26	256	46	173,24
7	85,64	27	193		
8	200	28	176,23		
9	137,67	29	192		
10	332,85	30	360		
11	295,55	31	205,2		
12	225	32	149,39		
13	239	33	173,26		
14	139,1	34	195,41		
15	419,6	35	168,45		
16	169	36	285,71		
17	246	37	163,01		
18	109,61	38	429		
19	275	39	537,12		
20	359	40	264,61		

### 4.1.3 PCR Reaksiyonu ve Jel Elektroforezi ile Eşleşme Tiplerinin Belirlenmesi

Sörvey alanından elde edilen izolatların tümü A2 eşleşme tipinde bulunmuştur (Şekil 4.1.3.1, Şekil 4.1.3.2). İzolatların eşleşme tipi moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilmiştir.



**Şekil 4.1.3.1** W16 primeriyle elde edilen örnek jel görüntüsü(İlk sırada DNA ladder ve baz uzunlukları, 1-5 örnekler A1 eşleşme tipindeki izolatlar ve karakteristik 557bp, 457bp ve 100bp uzunluğunda ki bantları, 6-18 örnekler A2 eşleşme tipindeki izolatlar ve karakteristik 457bp ve 100bp uzunluğunda ki bantları)

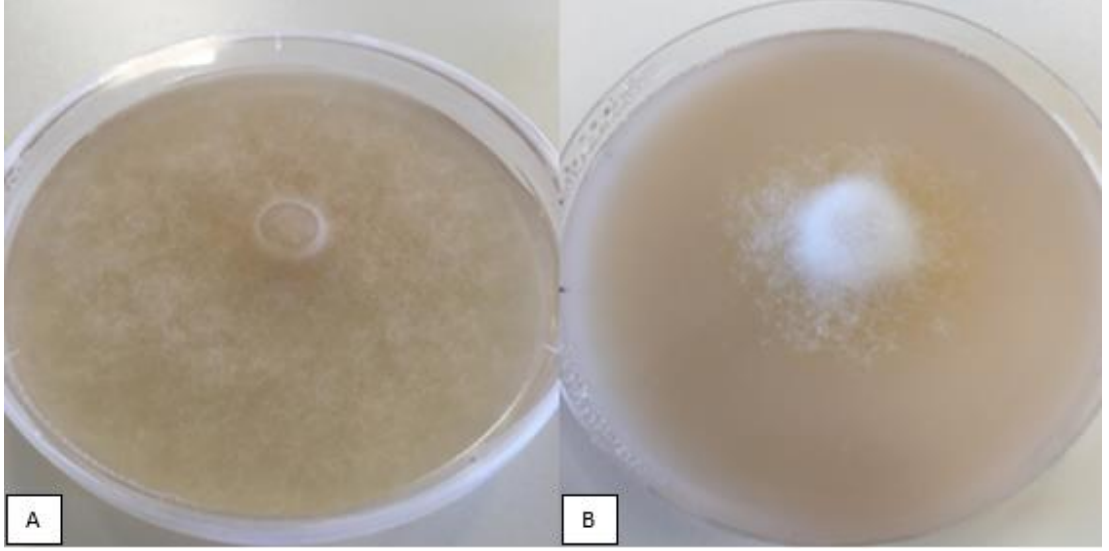


**Şekil 4.1.3.2** S1 primeriyle elde edilen örnek jel görüntüsü (İlk sırada DNA ladder ve baz uzunlukları, 1-5 örnekler A1 eşleşme tipindeki izolatlar ve S1 primerinin 1250 bp. uzunluğunda ki karakteristik bandı, 1-15 örnekler A2 eşleşme tipindeki izolatlar)

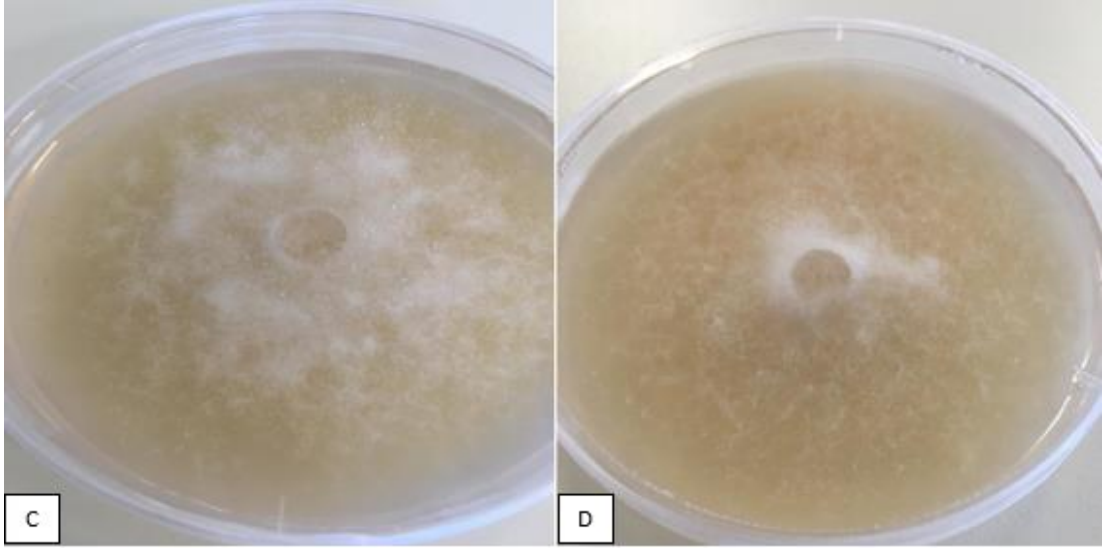
#### **4.1.4 Metalaxyl Duyarlılığı**

Çalışmamızda izolatların tümü bu teste tabi tutulmuş ve yapılan ölçümler sonrasında 19 izolat orta dayanıklı bulunurken 27 izolat ise dayanıklı bulunmuştur (Çizelge 4.1.1.1).





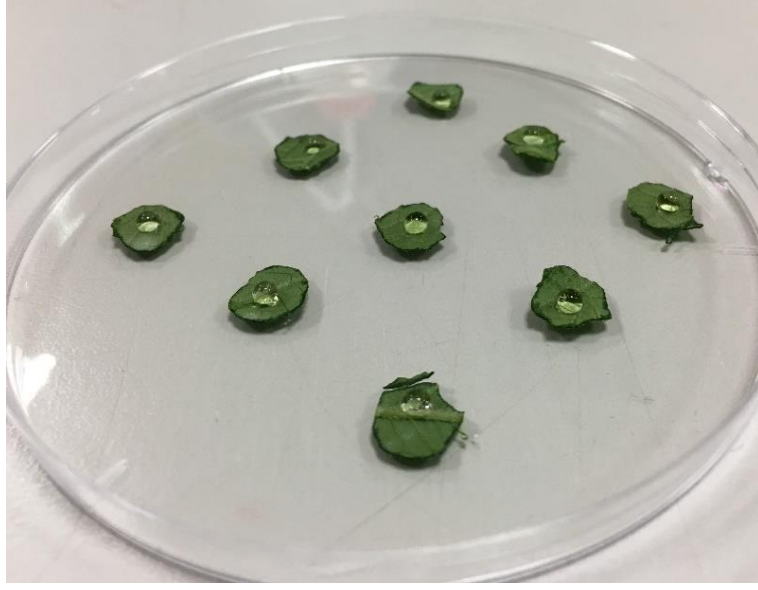
**Şekil 4.1.4.1** Metalaxyl'e orta dayanıklı bulunan 1 numaralı izolatın kontrol (A) ve 100 ppm ilaçlı ortamda gelişimi (B)



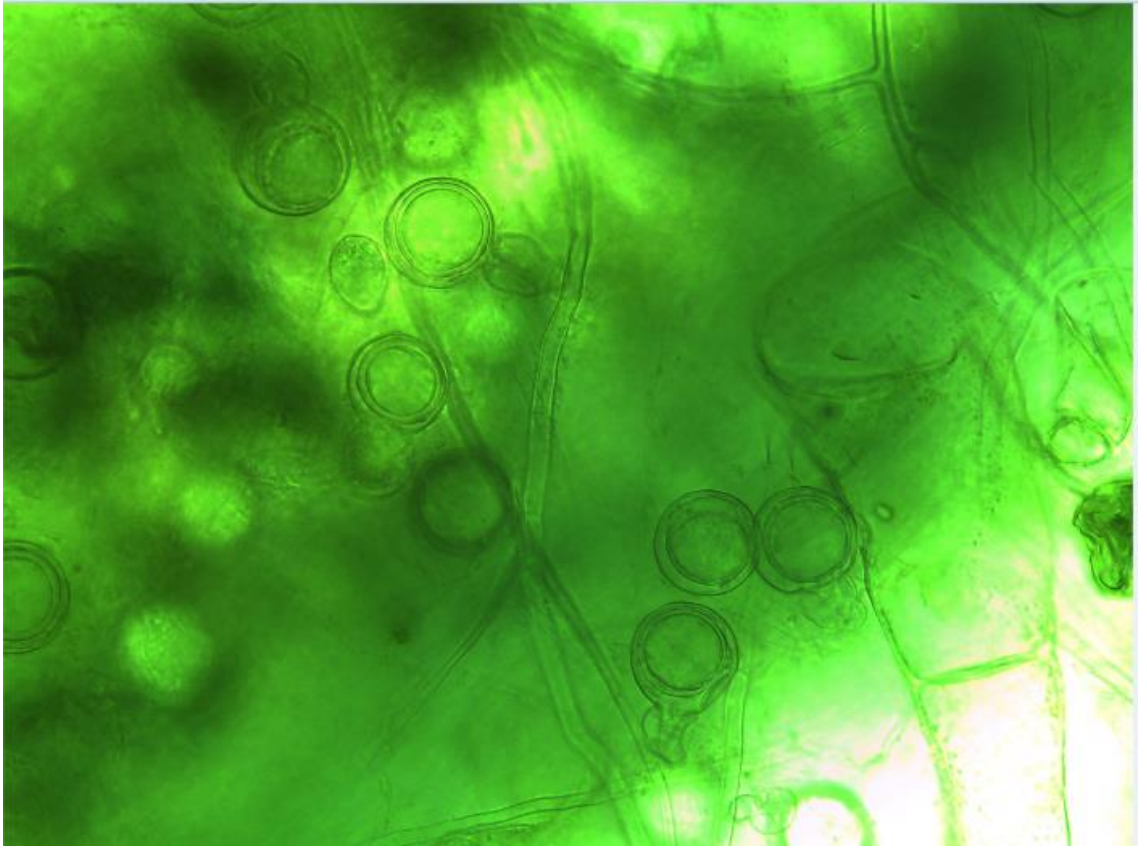
**Şekil 4.1.4.2** Metalaxyl'e dayanıklı bulunan 21 numaralı izolatın kontrol (C) ve 100 ppm ilaçlı ortamda gelişimi (D)

#### **4.1.5 Konukçu Dokuda Oospor Oluşumu**

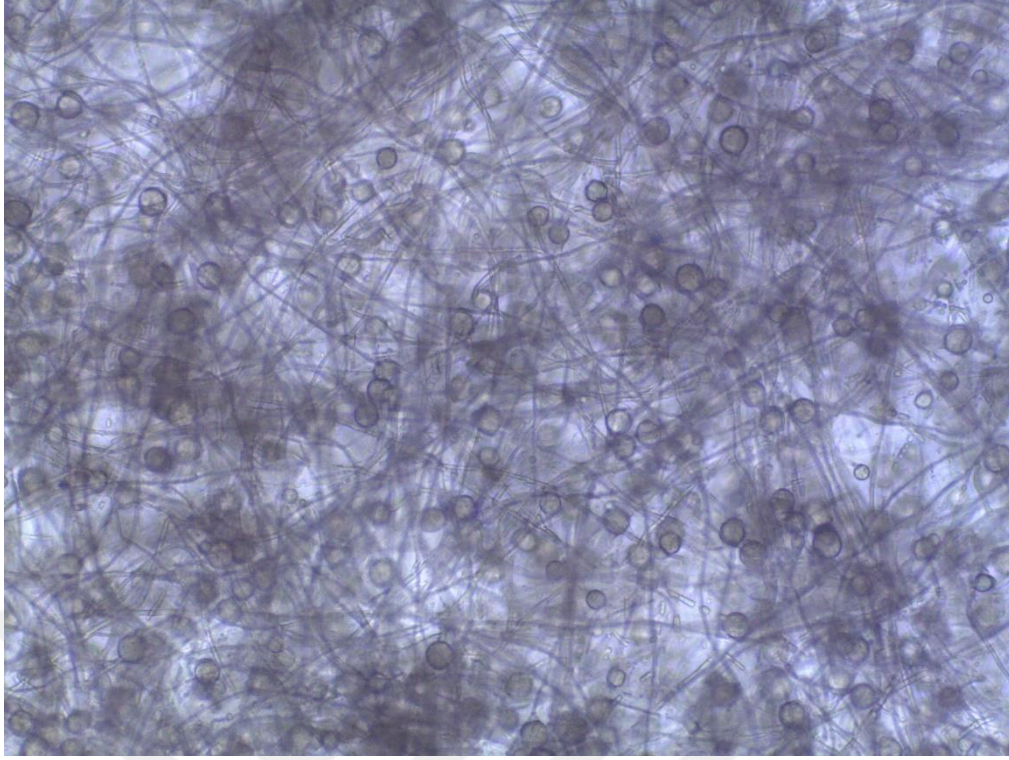
Sörvey alanını temsil eden 10 izolat laboratuvar kültür stoklarımızda bulunan Türkiye'nin farklı illerinden daha önce elde edilmiş A1 eşleşme tipindeki izolatlarla rastgele olarak eşleştirilmiştir. Sporangium karışımının verildiği nokta ve çevresinde oospor oluşumu gözlenmiştir. 10x objektifin görüş alanında bulunan tüm oosporlar mikroskop altında sayılmıştır (Çizelge 4.1.5.1).



Şekil 4.1.5.1 Yaprak disklerine eşleşme tiplerinin inokulasyonu



Şekil 4.1.5.2 40x objektifle görüntülenmiş oospor



**Şekil 4.1.5.3** 10x objektifle görüntülenmiş oosporlar

**Çizelge 4.1.5.1** Farklı eşleşme tipi kombinasyonlarının verdikleri oospor sayıları, oospor saptanan disk sayısı ve yaygınlık oranı

Eşleşme Tipi A1 x A2	Ortalama oospor sayısı	Toplam yaprak diski sayısı	Oospor saptanan disk sayısı	Yaprak disklerinde yaygınlık oranı (%)
1/B-66	179 ,2	24	24	100
7/B-67	172 ,2	24	21	87 ,5
16/A-87	159 ,6	23	19	82 ,6
21/A-94	166 ,8	22	14	63 ,63
28/Trb-118	154 ,8	24	5	20 ,83
32/T-189	187 ,4	20	17	85
35/Nev-263	177 ,8	21	16	76 ,19
39/Nev-265	187 ,2	24	22	91 ,66
44/Nev-304	167 ,2	24	20	83 ,33
46/N-340	165 ,6	22	15	68 ,18

#### 4.1.6 Ticari Fungisit Formülasyonlarının oospor Oluşumuna Etkileri

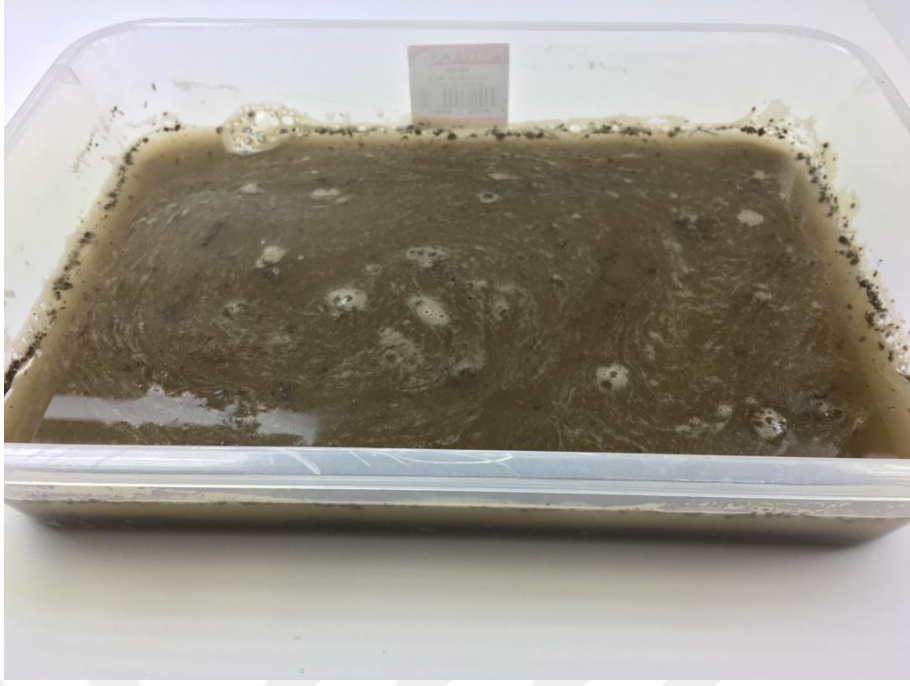
Ridomil Gold 48 EC kullanılarak gerçekleştirilen testlerde ortamda fungusit bulunması oospor oluşumunu %75-90 oranında azaltmıştır. Elde edilen veriler Çizelge 4.1.6.1'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.6.1** Fungisit bulunan-bulunmayan ortamda oospor sayıları ve etkililik oranı (%)

Eşleşme tipi A1 x A2	Ortalama oospor sayısı		% Etkililik
	Kontrol (-)	100 ppm Fungisit	
1/B-66	7,6	0,6	92,11
7/B-67	8	1,4	82,50
16/A-87	7,8	1,6	79,49
21/A-94	8,2	2	75,61
28/Trb-118	8	1,2	85,00
32/T-189	9,2	1,4	84,78
35/Nev-263	6,8	1,6	76,47
39/Nev-265	8,2	1	87,80
44/Nev-304	7,4	1,2	83,78
46/N-340	5,8	1,4	75,86

#### 4.1.7 Tarla Koşullarında Oospor Oluşumu

Tarla koşullarında sporangiumlu yaprakların karıştırıldığı toprakta oospor kaynaklı bir enfeksiyon küvetlere yerleştirilmiş yapraklarda gerçekleşmemiştir (Şekil 4.1.7.1, Şekil 4.1.7.2).



**Şekil 4.1.7.1** Oospor enfeksiyonu için hazırlanan küvet



**Şekil 4.1.7.2** Oospor enjeksiyonu için inkübasyona bırakılmış Agria çeşidine ait yapraklar

Tarla koşullarında hastalıklı yumruda oospor oluşumu testinde yumrulara spor süspansiyonunun verildiği bölgeler ve çevrelerinden kesitler alınmıştır. Kesitler mikroskop altında incelendiğinde oospor oluşumuna rastlanamamıştır. Ancak yumrulardan alınan kesitlerde bol miktarda sporangium ve misel oluşumuna rastlanmıştır. Birkaç gün inkübasyondan sonra kesitlerde belirgin olarak sporangial

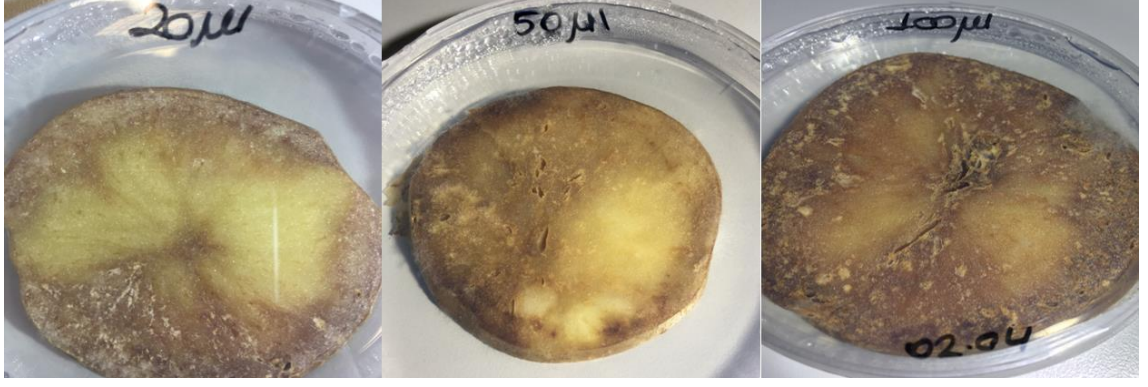
kitle artışı olmuştur. Kesitler içerisinde su agar bulunan petrilerin kapak kısmına yerleştirilmiştir.



Şekil 4.1.7.3 Hastalıklı yumrular (inokülasyondan 6 ay sonra)



Şekil 4.1.7.4 Hastalıklı yumruda enine kesit (inokülasyondan 6 ay sonra)



**Şekil 4.1.7.5** Farklı dozlarda spor süspansiyonu verilen 5-7 mm kalınlığındaki kesitlerde oluşan sporangial kitle

## 4.2 Tartışma

Ülkemizde patates yetiştirilen alanlarda bitkinin gelişim dönemlerinde yağış olması ve ılıman bir bölgede olmamız sebebiyle hava şartlarının patojenin gelişimine uygun olması patojeni sıklıkla üretim alanında bir sorun olarak karşımıza çıkarmaktadır. Yağışların yoğun olduğu dönemlerde ilaçlama faaliyetlerinin gerçekleştirilememesi üretim alanlarının büyük ürün eksilişlerini beraberinde getirmektedir (Stevenson vd., 2001). Etmenin epidemik karakteri ve bölgenin iklim koşulları düşünüldüğünde üretim alanlarında geç yanıklık hastalığı büyük bir tehdit olarak karşımıza çıkmaktadır. Turkensteen vd'leri (2005) etmenin epidemik karakterinden eşeysiz sporların sorumlu olduğunu belirtmişlerdir. Sörvey alanında bitki yetiştirme dönemlerinde yağışların olması ve sıklıkla rüzgârların görülmesi etmenin eşeysiz sporlarının yayılmasını kolaylaştırmaktadır. Bölgede Karadeniz ikliminin hakim olması, gece gündüz sıcaklık farklarının yüksek olmasını ve çığ oluşumunu da beraberinde getirmektedir. Yaprak yüzeyinin bu ıslaklığı etmeni hareketinin kolaylaştırmakta ve sporulasyon yeteneğini artırmaktadır (Cohen vd., 2000).

Etmenin izolasyonunun, laboratuvar şartlarında canlılığını korumanın, patojeni geliştirmek için gereken besiyerlerinin hazırlanmasının zor olması ve besiyerlerinin yapılan işlemlerden kolay etkilenecek etmenin gelişimini sınırlandırması etmenle çalışmayı zorlaştırmaktadır. Besiyeri hazırlanmasında izlenen tüm süreçlerde işlemlerin uygulama sürelerine ve kaynatma işleminde uygulanan sıcaklıklara dikkat etmek gerekmektedir. Tüm bu işlemlerin yapılması besiyeri hazırlanması ve

izolasyon işlemleri uzmanlık gerektirdiğinden sıklıkla çalışmalara konu olamamaktadır (D. Andrivon, 1995; Deahl vd., 2002).

Brylińska vd.'leri (2016) etmenin DNA izolasyonunu gerçekleştirmek için GenElute™ (Bitki Genomik DNA Miniprep Kiti, Sigma-Aldrich) kiti kullanmışlardır. Bitki DNA ekstraksiyonu için geliştirilmiş olan kit etmenin izolasyonunda başarılı bulunmuştur. Tez çalışmamızda kullanılan DArT DNA izolasyon protokolü bitki DNA'sı izolasyonu için geliştirilmiş bir metoddur. Alınan sonuçlara bakıldığında yöntemin etmenin DNA'sının izolasyonunda başarılı ve uygulanabilir olduğu görülmektedir.

Eşleşme tipinin belirlenmesinde klasik yöntemin yerine moleküler yöntemlerin tercih edilmiştir. Klasik yöntemin tercih edilmemesinin nedeni bu yöntemde besiyerine karşılıklı olarak inoküle edilen patojenlerin birleşme noktalarında oluşturdukları oosporların baz alınmasıdır. Besiyerlerinde etmenin hifsel gelişiminin devam etmesi ve besi yerinin kalınlığı oosporların görülmesini güçleştirmektedir. Bunun yanında eşleşmelerde kullanılan besi yeri içeriğinde ki substratın, kültürün yaşının, besiyerleri hazırlama işlemlerinin ve eşleşmelerde kullanılan izolatların oospor oluşturma potansiyellerinin farklılık göstermesi bu yöntemle eşleşme tiplerinin belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Diğer taraftan moleküler yöntemlerle eşleşme tipinin belirlenmesi yüksek doğruluk oranı, farklı primerlerle sonuç confirmasyonu sağlaması, hızlı ve kesin sonuçlar elde edilmesi bakımından tercih edilmektedir (Mazáková vd., 2009; Brylińska vd., 2018).

Patojenin fungusitlere karşı duyarlılığı mücadele stratejilerinin geliştirilmesinde büyük bir öneme sahiptir. Metalaxyl hala etmene karşı ruhsatlı bir fungusit olmakla birlikte fenotipik karakterlerin belirlenmesinde bir kriter olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle etmene ait izolatların metalaxyl duyarlılığı tüm izolatlar için araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında bölgedeki etmen popülasyonunun orta dayanıklı ve dayanıklı olduğu görüldü. Yapılan çalışmalarda dayanıklı ve orta dayanıklı izolatlar sıklıkla tespit edilmiş duyarlı izolatlara ise rastlanamamıştır (Chmielarz vd., 2014; Goodwin, 1997; Grinberger vd., 1989). İzolatların çoğunlukla dayanıklı ya da orta dayanıklı bulunması metalaxyl etkili maddeli fungusitlerin yaygın kullanımının bir sonucu olabilir. Bu durum etkili



maddeye hastalıkla mücadelede farklı etkili maddeye sahip fungusitlerin kullanımını zorunlu kılmaktadır.

İzolatların oospor oluşumu testlerinde A1 eşleşme tipinde olduğu bilinen ve Türkiye'nin farklı illerinden elde edilen izolatlar kullanılmıştır. Eşleşmeler sonucunda laboratuvar koşullarında konukçu dokuda ve besi yerlerinde oospor oluşumu olduğu gözlenmiştir. Türkiye'den elde edilen izolatlar kullanılmasının nedeni bölgeler arasında gerçekleştirilen tohumluk materyal alışverişlerinde etmenin bölgeler arasında taşınabilmesi ve bu bölgelerde oospor oluşturabilme potansiyeli nedeniyledir. Tarla şartlarında toprakta uzun süre hayatta kalabilen oosporların oluşması ve oospor kaynaklı enfeksiyonların gerçekleşmesi bu yolla mümkün olabilmektedir. Ayrıca fungusitlere ve çevre koşullarına daha dayanıklı yeni klonal soyların ortaya çıkması da bu yolla gerçekleşebileceğinden oospor oluşumu büyük öneme sahiptir (Turkensteen vd., 2000).

Elde edilen oospor sayılarına bakıldığında eşleşmeler arasında farklılıklar olduğu görülmektedir. Bu farklılıklar incelendiğinde oranların birbirine yakın olduğu görülmüştür. Eşleşmelerde oluşan oospor sayıları eşleştirilen izolatlar ve besi yeri substratları gibi etkenlere bağlı olarak değişkenlik göstermiştir (Flier vd., 2000)

Denemelerde dayanıklı izolatların yanı sıra bölgesel lokasyonların tamamını araştırmamızda kullanmak amacıyla orta dayanıklı izolatlarda kullanılmıştır. Ticari fungusit formülasyonlarının Rye A Agar ortamında oospor oluşumuna etkileri incelendiğinde oospor oluşumunda kontrole oranla ilaçlı ortamda azalma olduğu görülmüştür. Ancak bu etki sadece oospor oluşturma yetenekleri üzerinedir. Dayanıklı izolatların miseliyal gelişiminde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Orta dayanıklı izolatların fungusitten etkilenmesi dayanıklı izolatlara göre daha yüksek olmuştur. Bu da orta dayanıklı izolatlarda oluşan oospor sayısının daha düşük gerçekleşmesine neden olmuştur. Aynı zamanda miseliyal gelişme orta dayanıklı izolatlarda daha zayıf gerçekleşmiştir. Eşleşmelerin besiyerinde oluşturduğu oospor sayıları yaprak disklerinde elde edilen oospor sayılarından çok düşük olarak gerçekleşmiştir. Bu durum patojenin bitki dokularında doğal karakteristiğini daha iyi sergilemesiyle ilişkilidir (Shattock, 2002; Groves ve Ristaino, 2000)

Bolu ilinde tarla koşullarında toprakta oospor oluşumu için kurulan denemelerde oospor kaynaklı bir enfeksiyon saptanamamıştır. Benzer durum tarla

koşullarında yumruda oospor oluşumu testlerinde de gözlenmiştir. Oospor oluşturmamasına rağmen yumrulara sporangium ve misel olarak etmenin kışı geçirebildiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar göstermektedir ki oospor kaynaklı ilk enfeksiyonların Bolu koşullarında gerçekleşme olasılığı çok düşüktür. Etmen hastalıklı yumru ve bitki artıklarında misel ya da sporangium şeklinde kışı geçirerek kolaylıkla hayatta kalabilmektedir. Kış aylarının soğuk geçtiği bölgelerde sporangium ve misellerle etmenin hayatta kalması zor olmaktadır. Ancak toprak altında ve yumrunun iç kısımlarında soğuğa daha az maruz kalarak canlılıklarını koruyabildikleri birçok çalışmadan elde edilen genel bir kanıdır (Fernandez-Pavia vd., 2002 ;Turkensteen vd., 2000; Fry vd., 1993; Lehtinen ve Hannukkala, 2004; Gisi vd., 2001).



## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bolu ülkemizin önemli patates üretim alanlarından biridir. Son yıllarda üretim bir ölçüde azalmış olmasına rağmen patates üreticileri için önemli gelir kapısıdır. Bolu ili patates ekiliş alanlarından 46 *P. infestans* izolatu elde edilmiş ve izolasyonu gerçekleştirilen örneklerin tümünün A2 eşleşme tipinde olduğu, bunların 19'unun Metalaxyl'e orta dayanıklı, 27 izolatu ise dayanıklı olduğu saptanmıştır. İzolatların eşleşme tiplerinin tamamının A2 olması mevcut şartlarda etmenin bölgede eşeyli üremesinin olmayacağını göstermektedir. Sörvey alanında A1 eşleşme tipine ait izolatlar elde edilememiştir. Ancak Türkiye'nin farklı illerinden elde edilen A1 eşleşme tipi denemelerimizde kullanılmıştır. Petri koşullarında Rye A agar ortamında gerçekleştirilen oospor oluşum testlerinin tüm eşleşmelerinde oospor oluşumu düşük sayılarda da olsa gerçekleşmiştir. Laboratuvar koşullarında yaprak disklerinde eşleştirilen izolatların oospor oluşturma potansiyelleri ise yüksek bulunmuştur. Tarla koşullarında etmenin oospor oluşturmadağı bu çalışmanın diğeri bir sonucudur ve etmen kışı hastalıklı kalıntılarda sporangium ya da misel olarak geçirmektedir.

Etmen popülasyonunun büyük bölümünün metalaxyle dayanıklı bulunması metalaxyl etken maddeli fungusitlerin tek başlarına tavsiye edilmemesini gerektirmektedir. Etmenin epidemik karakteri ilaçlama faaliyetlerinin zamanında yapılmasını gerektirmektedir. Araştırmada etmenin misel ve sporangiumlarıyla kışı geçirdiğı ve enfeksiyon yeteneğini devam ettirdiğı saptanmıştır. Buna dayanarak tarımsal üretim açısından oldukça önemli olan patatesin yetiştirme alanlarında hastalıklı yumru ya da bitki artıklarının tarladan uzaklaştırılması büyük önem taşımaktadır. Ekim nöbetlerine uyulması ve hastalıktan ari tohumluk materyal kullanım alışkanlığı üreticilere kazandırılmalıdır.

## 6. KAYNAKLAR

- Akhtar KP, Saleem MY, Asghar M, Ali S, Sarwar N and Elahi MT (2012) “Resistance of solanum species to *Phytophthora infestans* evaluated in the detached-leaf and whole-plant assays”, Pak. J. Bot., 44(3): 1141-1146.
- Aav A, Skrabule I, Bimšteine G, Kaart T, Williams IH and Runno-Paurson E (2015) “The structure of mating type, metalaxyl resistance and virulence of *Phytophthora infestans* isolates collected from Latvia”, Zemdirbyste-Agriculture, vol. 102, No. 3
- Arıcı SE and Dehne HW (2007) “Induced resistance against *Phytophthora infestans* by chemical inducers BION and BABA in tomato plants”, ACTA Horticulturae, 729: 503-507.
- Bakonyi J, Ládai M, Dula T and Érsek T (2002) “Characterisation of isolates of *Phytophthora infestans* from Hungary”, European Journal Plant Pathology, 108: 139-146.
- Basım E and Basım H (2014) “Antalya İli Korkuteli ve Elmalı İlçelerinde Yazlık Sera Domates Üretiminde Ortaya Çıkan Hastalık Etmenlerinin Belirlenmesi”, Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, 3-5 Şubat 2014, sayfa 258. , Antalya.
- Black W, Mastenbroek C, Mills WR and Peterson LC (1953) “A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and of genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives”, Euphytica, 2: 173-178.
- Bora T and Karaca İ (1970) “Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi”, Ege Ü.Z.F. Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No: 167, Bornova, 43 sayfa.
- Bradshaw NJ and Vaughan TB (1996) “The effect of phenylamide fungicides on the control of potato late blight (*Phytophthora infestans*) in England and Wales from 1978 to 1992”, Plant Pathology, 45: 249-69.
- Brylińska M, Sobkowiak S, Stefańczyk E and Śliwka (2016) “Potato cultivation system affects population structure of *Phytophthora infestans*”, Fungal Ecology, Vol.20 132-143
- Brylińska M, Sobkowiak S, Stefańczyk E and Śliwka J (2018) “Evaluation of PCR markers for *Phytophthora infestans* mating type determination”, European Journal of Plant Pathology, 152:33-44
- Carter DA, Archer SA, Buck KW, Shaw DS and Shattock, RC (1990) “Restriction fragment polymorphisms of mitochondrial DNA of *Phytophthora infestans*”, Mycological Research, 9: 1123-1128.

- Chen CH, Wang TC, Black L, Sheu ZM, Perez F and Deahl K (2009) “Phenotypic and Genotypic Changes in the *Phytophthora infestans* Population in Taiwan 1991 to 2006”, *Journal of Phytopathology*, 157: 248-255.
- Chimote VP, Kumar M, Sharma PK, Singh PH and Singh BP (2010) “Characterization of changes in phenotype and genotype of *Phytophthora infestans* isolates from India”, *Journal of Plant Pathology*, 92: 669-677.
- Cohen Y, Farkash S, Reshit Z and Baider A (1997) “Oospore production of *Phytophthora infestans* in potato and tomato leaves”, *Phytopathology*, 87: 191-196.
- Cohen Y, Farkash S, Baider A and Shaw DS (2000) “Sprinkling Irrigation Enhances Production of Oospores of *Phytophthora infestans* in Field-Grown Crops of Potato”, *The American Phytopathological Society*, Vol. 90, No. 10
- Cooke LR, Carlisle DJ, Donaghy C, Quinn M, Perez FM and Deahl, KL (2006) “The Northern Ireland *Phytophthora infestans* population 1998-2002 characterized by genotypic and phenotypic markers”, *Plant Pathology*, 55: 320-330.
- D. Andrivon (1995) “Biology, Ecology and Epidemiology of the Potato Late Blight Pathogen *Phytophthora infestans* in Soil” *Phytopathology*, 85(10)
- Daayf HWF, Mahuku G and Peters RD (2001) “Relationships between pathotypes and RAPDs, Gpi-allozyme patterns, mating types, and resistance to metalaxyl of *Phytophthora infestans* in Canada in 1997”, *American Journal of Potato Research*, 78: 129-139.
- Danies G, Myers K, Mideros MF, Restrepo S, Martin FN, Cooke DEL, Smart CD, Ristaino JB, Seaman AJ, Gugino BK, Grünwald NJ and Fry WE (2014) “An Ephemeral Sexual Population of *Phytophthora infestans* in the Northeastern United States and Canada”, *PLOS ONE*, 10.1371
- Day JP, Wattier RAM, Shaw DS and Shattock RC (2004) “Phenotypic diversity in *Phytophthora infestans* on potato in Great Britain, 1995-1998”, *Plant Pathology*, 53: 303-315.
- Deahl KL, Cooke LR, Black LL and vd. (2002) “Population changes in *Phytophthora infestans* in Taiwan associated with the appearance of resistance to metalaxyl”, *Pest Management Science*, 58: 951-958.
- DPT (2000) 8. Beş Yıllık Kalkınma Planı, Tarımsal Politikalar ve Yapısal Düzenlemeler Özel İhtisas Komisyonu Raporu, 67 sayfa, Ankara.
- Desjardins AE, McCormick SP and Corsini DL (1995) “Diversity of sesquiterpenes in 46 potato cultivars and breeding selections”, *J. Agric. Food Chem.*, 43: 2267-2272.
- Douches DS, Kirk WW, Jastrzebski K, Long C and Hammerschmidt R (1997) “Susceptibility of Potato Varieties and Advanced Breeding Lines (*Solanum*

*Tuberosum* L. ) to *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary in Greenhouse Screenings”, American Potato Journal, 74: 75-86.

FAO (2019) FAOSTAT Crops Data, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

Fay JC and Fry WE (1997) “Effects of hot and cold temperatures on the survival of oospores produced by United States strains of *Phytophthora infestans*”, American Potato Journal, 74: 315-323.

Fernandez-Pavia SP, Grünwald NJ, Diaz-Valasis M, Cadena-Hinojosa M and Fry WE (2004) “Soilborne Oospores of *Phytophthora infestans* in Central Mexico Survive Winter Fallow and Infect Potato Plants in the Field”, Plant Disease, Vol.88 No.1

Flier WG, Grünwald NJ, Fry WE and Turkensteen LJ (2001) “Formation, production and viability of oospores of *Phytophthora infestans* from potato and *Solanum demissum* in the Toluca Valley, central Mexico”, Mycological Research, Vol.105 Page 998-1006

Fry WE, Goodwin SB, Matuszak JM, Spielman LJ, Milgroom MG and Drenth A (1992) “Population genetics and intercontinental migrations of *Phytophthora infestans*”, Annual Review of Phytopathology, 30: 107-129.

Gabriel J, Coca A, Plata G and Parlevliet, JE (2007) “Characterization of the resistance to *Phytophthora infestans* in local potato cultivars in Bolivia”, Euphytica, 153: 321-328.

Garry G, Forbes GA, Salas A, Santa M and Cruz WG (2005) “Perez Nelson RJ: Genetic diversity and host differentiation among isolates of *Phytophthora infestans* from cultivated potato and wild solanaceous hosts in Peru”, Plant Pathology, 54: 740-748.

Gavino PD and Fry WE (2002) “Diversity in and evidence for selection on the mitochondrial genome of *Phytophthora infestans*”, Mycologia, 94: 781-793.

Ghimire SR, Hyde KD, Hodgkiss IJ and Liew ECY (2001) “Race diversity and virulence complexity of *Phytophthora infestans* in Nepal”, Potato Research, 44: 253-263.

Gisi U and Cohen Y (1996) “Resistance to phenylamide fungicides: a case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure”, Annual Review of Phytopathology, 34: 549-72.

Gisi U, Walder F, Resheat-Eini Z, Edel D and Sierotzki H (2011) “Changes of Genotype, Sensitivity and Aggressiveness in *Phytophthora infestans* Isolates Collected in European Countries in 1997, 2006 and 2007”, Journal of Phytopathology, 159: 223-232.

GKGM (2001) Bitki Koruma Programı ve Uygulama Prensipleri, 179 sayfa, Ankara.

- GKGM (2002) Bitki Koruma Programı ve Uygulama Prensipleri, 199 sayfa, Ankara.
- GKGM (2007) Bitki Koruma Programı ve Uygulama Prensipleri,189 sayfa, Ankara.
- GKGM (2008) Bitki Koruma Programı ve Uygulama Prensipleri,186 sayfa, Ankara.
- GKGM (2012) Bitki Sağlığı ve Karantina Çalışma Programı ve Prensipleri, 320 sayfa, Ankara.
- Goodwin SB (1997) “The population genetics of *Phytophthora*”, *Phytopathology*, 87: 462-473.
- Goodwin SB, Cohen BA and Fry WE (1994) “Panglobal distribution of a single clonal lineage of the Irish potato famine fungus”, *Proceedings of the National Academy of Science, USA* 91, 11: 591-595.
- Goodwin SB, Cohen BA, Deahl KL and Fry WE (1994). “Migration from northern Mexico as the probable cause of recent genetic changes in populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada”. *Phytopathology*, 84: 553-558.
- Goodwin SB, Drenth A and Fry WE (1992) “Cloning and genetic analyses of two highly polymorphic moderately repetitive nuclear DNAs from *Phytophthora infestans*”, *Current Genetics*, 22: 107-115.
- Gökçe A, Whalon ME, Gören N, Yanar Y, Demirtaş İ and Çam H (2006) “Bitki ekstraktlarının patates böceği, erken yanıklık ve geç yanıklık hastalık etmenleri üzerine etkilerinin belirlenmesi”, TÜBİTAK-TOGTAG 2892 Nolu Proje Sonuç Raporu, 36 sayfa.
- Griffith GW and Shaw DS (1998) “Polymorphisms in *Phytophthora infestans*: Four mitochondrial haplotypes are detected after PSR amplification of DNA from pure cultures or from host tissue”, *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 4007-4014.
- Grinberger M, Kadish D and Cohen Y (1989) “Occurrence of The A2 Mating Type and Oospores of *Phytophthora Infestans* in Potato Crops in Israel”, *Phytoparasitica*, 17(3):197-204
- Groves CT and Ristaino JB (2000) “Commercial Fungicide Formulations Induce In Vitro Oospore Formation and Phenotypic Change in Mating Type in *Phytophthora infestans*”, *The American Phytopathological Society*, Vol.90 No.11
- Guo J, van der Lee T, Qu DY, Yao YQ, Gong XF, Liang DL, and vd. (2009) “*Phytophthora infestans* isolates from Northern China show high virulence diversity but low genotypic diversity”, *Plant Biology*, 11: 57-67.
- Hanson K and Shattock RC (1998) “Effect of metalaxyl on formation and germination of oospores of *Phytophthora infestans*”, *Plant Pathology*, 47,116-122

- Hammi A, Bennani A, El Ismaili A, Msatef Y and Serrhini MN (2001) “Production and germination of oospores of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Morocco”, *European Journal of Plant Pathology*, 107: 553–556
- Hermansen A, Hannukkala A, Naerstad RH and Brurberg MB (2000) “Variation in populations of *Phytophthora infestans* in Finland and Norway: mating type, metalaxyl resistance and virulence phenotype”, *Plant Pathology*, 49: 11-22.
- Irzhansky I and Cohen Y (2006) “Inheritance of resistance against *Phytophthora infestans* in *Lycopersicon pimpinellifolium* L3707”, *Euphy.*, 149: 309-316.
- Lamour KH and Hausbeck MK (2001) “Investigating the spatiotemporal genetic structure of *Phytophthora capsici* in Michigan”, *Phytopathology*, 91: 973-980.
- Lebreton L, Laurent C and Andrivon D (1998) “Evolution of *Phytophthora infestans* populations in the two most important potato production areas of France during 1992-96”, *Plant Pathology*, 47: 427-439.
- Lees AK, Wattier R, Shaw DS, Sullivan L, Williams NA and Cooke DEL (2006). “Novel microsatellite markers for the analysis of *Phytophthora infestans* populations”, *Plant Pathology*, 55: 311-319.
- Lehtinen A and Hannukkala A (2004) “Oospores of *Phytophthora infestans* in soil provide an important new source of primary inoculum in Finland”, *Agricultural and Food Science*, Vol.13:399-410
- Levin A, Baider A, Rubin E, Gisi U and Cohen Y (2001) “Oospore Formation by *Phytophthora infestans* in Potato Tubers”, *The American Phytopathological Society*, Vol.91 No.6
- Li B, Chen Q, Lv X, Lan C, Zhao J, Qiu R and Weng Q (2009) “Phenotypic and genotypic characterization of *Phytophthora infestans* isolates from China”, *Journal of Phytopathology*, 157: 558-567.
- Li B, van der Lee TAJ, Evenhuis A, van den Bosch GBM, van Bekkum PJ, Förch MG, van Gent-Pelzer MPE, van Raaij HMG, Jacobsen E, Huang SW, Govers F, Vleeshouwers VGAA and Kessel GJT (2012) “Population Dynamics of *Phytophthora infestans* in the Netherlands Reveals Expansion and Spread of Dominant Clonal Lineages and Virulence in Sexual Offspring”, *G3-Genes Genomes Genetics*, 2 (12): 1529-1540.
- Li Y, Cooke DEL, Jacobsen E and van der Lee T (2013). “Efficient multiplex simple sequence repeat genotyping of the oomycete plant pathogen *Phytophthora infestans*”, *Journal of Microbiological Methods*, 92: 316-322.
- LiY, van der Lee T, Zhu JH, Jin GH, Lan CZ, Zhu SX, Zhang RF, Liu BW, Zhao ZJ, Kessel G, Huang, SW and Jacobsen E (2013). “Population structure of *Phytophthora infestans* in China – geographic clusters and presence of the EU genotype Blue\_13”, *Plant Pathology*, 62: 932-942.



- Lozoya-Saldaña H, Barrios O and Bamberg J (2005) “*Phytophthora infestans*; Races vs genotypes in the Toluca Valley, México”, Potato Association of América 89<sup>th</sup> Annual Meeting, Calgary, Alberta, Canadá. Resúmen G-40.
- May KJ and Ristaino JB (2004) “Identity of the mtDNA haplotype(s) of *Phytophthora infestans* in historical specimens from the Irish potato famine”, Mycological Research, 108: 471-479.
- Medina MV and Platt HW (1999) “Viability of oospores of *Phytophthora infestans* under field conditions in northeastern North America”, Canadian Journal of Plant Pathology, 21:2, 137-143
- Miller JS, Johnson DA and Hamm PB (1998) “Aggressiveness of isolates of *Phytophthora infestans* from the Columbia Basin of Washington and Oregon”, Phytopathology, 88: 190-197.
- Park TH, Vleeshouwers VGAA, Jacobsen E, van der Vossen E and Visser RGF (2009). “Molecular breeding for resistance to *Phytophthora infestans* in potato: a perspective of cisgenesis”, Plant Breeding, 128: 109-117.
- Peakall R and Smouse PE (2006) “GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research”, Molecular Ecology Notes 6: 288-295.
- Perez WG, Gamboa JS, Falcon YV, Coca M, Raymundo RM and Nelson RJ (2001) “Genetic structure of Peruvian populations of *Phytophthora infestans*”, Phytopathology, 91: 956-965.
- Peters RD, Platt HW and Hall R (1998) “Changes in race structure of Canadian populations of *Phytophthora infestans* based on specific virulence to selected potato clones”, Potato Research, 41: 355-79.
- Peters RD, Al-Mughrabi KI, Kalischuk ML, Dobinson KF, Conn KL, Alkher H, Islam MR, Daayf F, Lynn J, Bizimungu B, De Koeber D, Lévesque CA and Kawchuk LM (2014) “Characterization of *Phytophthora infestans* population diversity in Canada reveals increased migration and genotype recombination”, Can. J. Plant Pathology, 36: 73–82.
- Pittis JE and Shattock RC (1994) “Viability, germination and infection potential of oospores of *Phytophthora infestans*”, Plant Pathology, 43 387-396
- Pule BB, Meitz JC, Thompson AH, Linde CC, Fry WE, Langenhoven SD, Meyers KL, Kandolo DS, van Rij NC and McLeod A (2013) “*Phytophthora infestans* populations in central, eastern and southern African countries consist of two major clonal lineages”, Plant Pathology, 62: 154-165.
- Purvis AI, Pipe ND, Day JP, Shattock RC, Shaw DS and Assinder SJ (2001) “AFLP and RFLP (RG57) fingerprints can give conflicting evidence about the

- relatedness of isolates of *Phytophthora infestans*”, Mycological Research, 105: 1321-30.
- Rowe RC (1993) “Potato Health Management: A Holistic Approach. Potato Health Management ( Edit. by Rowe, R.C.)”, The American Phytopathological Society, Minesata-USA.
- Runno-Paurson E, Fry WE, Myers KL, Koppel M and Mänd M (2009) “Characterisation of *Phytophthora infestans* isolates collected from potato in Estonia during 2002–2003”, European Journal of Plant Pathology, 124: 565-575.
- Runno-Paurson E, Fry WE, Rimmel T, Mänd M and Myers KL (2010) “Phenotypic and genotypic characterisation of estonian isolates of *Phytophthora infestans* in 2004-2007”, Journal of Plant Pathology, 92: 381-390.
- Seidl AC and Gevens AJ (2013) “Characterization and Distribution of Three New Clonal Lineages of *Phytophthora infestans* Causing Late Blight in Wisconsin from 2009 to 2012”, Am. J. Potato Res., 90: 551-560.
- Singh BP, Gupta J, Roy S and Rana DK (2003) “Production of *Phytophthora infestans* oospores in planta and inoculum potential of in vitro produced oospores under temperate highlands and subtropical plains of India”, Annals of Applied Biology, Volume 144, Issue 3
- Schumann GL, D’arcy CJ and Ristano J (2000) “Late blight of potato and tomato ”, The Plant Health Instructor, 10.1094
- Shattock RC (2002) “*Phytophthora infestans*: populations, pathogenicity and phenylamides”, Pest Management Science, 58: 944-950.
- Stevenson WR, Loria R, Franc GD and Weingartner DP (2001) “Compendium of Potato Diseases”, American Phytopathological Society; 2 edition, 106 pages.
- Sujkowski LS, Goodwin SB, Dyer AT and Fry WE (1994) “Increased genotypic diversity via migration and possible occurrence of sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Poland”, Phytopathology, 84: 201-207.
- Therrien CD, Tooley PW, Spielman LJ, Fry WE, Ritch DL and Shelly SE (1993) “Nuclear DNA content, allozyme phenotypes and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* from Japan”, Mycological Research, 97: 945-50.
- Tooley PW, Fry WE and Villareal MJ (1985) “Isozyme characterization of sexual and asexual *Phytophthora infestans* populations”, Journal of Heredity, 76: 431-435.
- Tooley PW, Therrien CD, Sim JH, O’Sullivan E and Dowley LJ (1993) “Mating type, nuclear DNA content and isozyme genotypes of Irish isolates of *Phytophthora infestans*”, Mycological Research, 97: 1131-1134.

- TUBİTAK (2003) TÜBİTAK Vizyon-23 Bilim ve Teknoloji Öngörüsü Projesi. Tarım ve Gıda Paneli, Son Rapor, 57 sayfa, Ankara.
- TUIK (2019) Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı, <http://www.tuik.gov.tr>
- Turkensteen LJ, Flier WG, Wanningen R and Mulder A (2000) “Production, survival and infectivity of oospores of *Phytophthora infestans*”, *Plant Pathology*, 49, 688±696
- Van der Lee T, DeWitte I, Drenth A, Alfonso C and Govers F (1997) “AFLP linkage map of the oomycete *Phytophthora infestans*”, *Fungal Genetics and Biology*, 21: 278-291.
- Vleeshouwers VGAA, van Dooijeweert W, Keizer LCP, Sijpkens L, Govers F and Colon LT (1999) “A laboratory assay for *Phytophthora infestans* resistance in various *Solanum* species reflects the field situation”, *European Journal of Plant Pathology*, 105: 241–250.
- Yeh FC and Boyle TJB (1997) “Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits”, *Belgian Journal of Botany* 129, 157.
- Yuen JE and Andersson B (2013) “What is the evidence for sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Europe?”, *Plant Pathology*, 62 485-491
- Zwankhuizen MJ, Govers F and Zadoks JC (2000) “Inoculum sources and genotypic diversity of *Phytophthora infestans* in Southern Flevoland, the Netherlands”, *European Journal of Plant Pathology*, 106: 667-680.

## 7. ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Tolga YAMAN

**Doğum Yeri ve Tarihi** : **BOLU 1993**

**Lisans Üniversitesi** : Ahi Evran Üniversitesi

**Elektronik posta** : ymntolga@gmail.com

**İletişim Adresi** : Çıkmınlar Mah. Yamaklar Sok. No:6 BOLU

**Yayın Listesi** :

Alkan M, Gore M E, Palacıoğlu G, Yaman T, Kabakçı H, Bayraktar H and Ozer G (2018) ‘‘Molecular characterization of Bipolaris species associated with common root rot on wheat and barley using iPBS retrotransposon-based molecular markers’’, INTERNATIONAL AGRICULTURE CONGRESS, 3-6 Mayıs 2018, Komrat/ Gagauzya/ Moldova

Alkan M, Gore M E, Palacıoğlu G, Yaman T, Kabakçı H, Bayraktar H and Ozer G (2018) ‘‘Phylogenetic relationships amongst Bipolaris species based on PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis and PCR-Direct Sequencing of ITS region of rDNA’’, INTERNATIONAL AGRICULTURE CONGRESS, 3-6 Mayıs 2018, Komrat/ Gagauzya/ Moldova

Alkan M, Ozer G, Yaman T, Kabakçı H, Altın N and Gore M E (2018) ‘‘Preparing Compost for Synchytrium endobioticum Pathotypes Identification’’, INTERNATIONAL AGRICULTURE CONGRESS, 3-6 Mayıs 2018, Komrat/ Gagauzya/ Moldova

Gore M E, Altın N, Yaman T, Kabakçı H, Alkan M and Ozer G (2018) ‘‘Incidence of Colletotrichum coccodes in Certified Potato Seed Tubers Planted in Turkey’’, INTERNATIONAL AGRICULTURE CONGRESS, 3-6 Mayıs 2018, Komrat/ Gagauzya/ Moldova

Gore M E, Altın N, Yaman T, Kabakcı H, Alkan M and Ozer G (2018) “Occurrence of Common Scab Disease in Turkish Potato Production”, INTERNATIONAL AGRICULTURE CONGRESS, 3-6 Mayıs 2018, Komrat/ Gagauzya/ Moldova

Gore M E, Altın N, Yaman T, Myers K, Alkan M, Fry W E, Caglı A, Pırlak U and Ozer G (2019) “Phenotypic and genotypic diversity within populations of *Phytophthora infestans* on potato in Turkey, 2015-2017”, EuroBlight Workshop, 12-15 Mayıs 2019, York/ England

Ozer G, Bayraktar H, Tsrör L, Yaman T, Kabakcı H and Gore M E (2018) “Vegetative compatibility groups in *Colletotrichum coccodes* from Turkey and their aggressiveness to potato”, *Plant Pathology*, 67(8)

Ozer G, Gore M E, Alkan M, Yaman T and Dababat A A (2019) “First Report of *Exserohilum pedicellatum* Causing Root Rot of Wheat in Azerbaijan” *Plant Disease*, DOI: 10.1094/PDIS-09-18-1678-PDN

Palacıoğlu G, Gore M E, Yaman T, Kabakcı H, Ozer G, Tsrör L and Bayraktar H (2018) “Determination of Vegetative Compatibility Groups in *Colletotrichum coccodes* Isolated from Potato Fields in Turkey”, INTERNATIONAL AGRICULTURE CONGRESS, 3-6 Mayıs 2018, Komrat/ Gagauzya/ Moldova

Palacıoğlu G, Gore M E, Yaman T, Kabakcı H, Ozer G, Tsrör L and Bayratar H (2018) “Pathogenic Variability of *Colletotrichum coccodes* Isolates Associated with Potato Plant in Turkey”, INTERNATIONAL AGRICULTURE CONGRESS, 3-6 Mayıs 2018, Komrat/ Gagauzya/ Moldova

**Ödüller** :