

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**VERTICILLIUM VE FUSARIUM FUNGAL PATOJENLERİNİN DOMATES
ÇEŞİTLERİ ÜZERİNDE PATOJENİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Müveddet ARCAGÖK

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA

2008

Yrd. Doç. Dr. Murat Dikilitaş danışmanlığında, Müveddet ARCAGÖK'ün hazırladığı “*Verticillium* ve *Fusarium* fungal patojenlerinin domates çeşitleri üzerinde patojenik etkilerinin incelenmesi” konulu bu çalışma 01/12/2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ

Üye: Prof. Dr. M.Ertuğrul GÜLDÜR

Üye: Yrd. Doç. Dr. Nuray ÇÖMLEKÇİOĞLU

Bu Tezin Bitki Koruma Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Prof. Dr. İbrahim BOLAT
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: **772**

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

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER.....	iv
ÇİZELGELER.....	v
SİMGELER.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Fungusların Sınıflandırılması ve Mikroskopik Özellikleri.....	3
1.2. <i>Verticillium spp.</i> 'nin Taksonomik Sınıflandırılması.....	4
1.3. <i>Verticillium spp.</i> 'nin tanımı ve mikroskopik özellikleri.....	4
1.4. <i>Fusarium Spp.</i> 'nin Taksonomik Sınıflandırılması.....	5
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	8
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	10
3.1 Materyal.....	10
3.2. Yöntem.....	10
3.2.1. Fungusların Yetiştirilmesi.....	10
3.3. Eğik Agar.....	11
3.4. Spor Solüsyonunun Hazırlanması.....	11
3.5. Bitkilerin İnokulasyonu.....	12
3.6. Hastalık Belirtilerinin Değerlendirilmesi (Sİ).....	12
3.7. Bitkilerin Hasadı.....	13
3.8. Klorofil Tayini.....	14
3.9. Proline Analizi.....	14
3.10. Protein Belirlenmesi.....	15
3.11. Polifenol Oksidaz Analizi (PPO).....	15
3.12. Peroksidaz Analizi (POD).....	15
3.13. Veri Analizi.....	16
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	17
4.1. Bitki Boyu Ve Hastalık Belirtileri Değerleri.....	17
4.2. OBO Değerleri.....	19
4.3. Biyokimyasal aktivitelerinin belirlenmesi.....	19
4.3.1. Klorofil içeriğinin belirlenmesi.....	19
4.3.2. Proline aktivitesinin belirlenmesi.....	22
4.3.3. Enzim aktivitelerinin (POD ve PPO) belirlenmesi.....	22
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	24
5.1. Sonuçlar.....	24
KAYNAKLAR.....	27
ÖZGEÇMİŞ.....	30
ÖZET.....	31
SUMMARY.....	32

ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

VERTICILLIUM VE FUSARIUM FUNGAL PATOJENLERİNİN DOMATES ÇEŞİTLERİ ÜZERİNDE PATOJENİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Müveddet ARCAGÖK

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Murat DİKİLİTAŞ
Yıl: 2008, Sayfa: 39

Bu araştırmada, domates bitkisi çeşitlerinde (SC 2121, H 2274, Ancor ve Falcon) *V. dahliae* ve *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum*'un patojenik etkileri araştırılmıştır. Domates çeşitleri oda sıcaklığında çimlendirilmiş ve PDA kültür ortamında geliştirilen funguslar ile inokule edilmiştir. Hastalık etmenlerinin bitkiler üzerindeki patojenik etkileri bakımından birbirlerinden farklı etki yapmadıkları ancak çeşitlerin reaksiyonları açısından farklılıklar olduğu görülmüştür. Bitkiler boy ve ağırlık ve klorofil bakımından negatif yönde etkilenmiş, kısmen dayanıklı olarak görülen SC 2121 ve H 2274 çeşitleri diğer çeşitlere ve kontrol grubuna göre daha yüksek proline sentezi ve POD ve PPO enzim aktiviteleri ile diğer çeşitlerden ve kendi kontrol gruplarından istatistik olarak farklı bulunmuştur. Çalışmada kullanılan çeşitler, hastalık etmenlerinin virulent ırklarına karşı hassasiyet göstermiş, kısmen dayanıklı çeşitler ise yüksek metabolitler sentezlemişlerdir.

Sürekli olarak yenilenen fungusların etkinliği ve bitkide yol açtığı değişiklikler biyokimyasal olarak takip edilmiş, bitkilerin biyokimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Böylece bitkilerin dayanıklılık durumları hakkında daha kısa sürede sonuç alınabileceği görülmüştür.

ANAHTAR KELİMELER: *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum*, Domates, Çeşit reaksiyonu.

ABSTRACT

MSc Thesis

PATHOGENIC EFFECTS OF VERTICILLIUM AND FUSARIUM FUNGAL PATHOGENS ON VARIOUS TOMATO CULTIVARS

Müveddet ARCAGÖK

Harran University

**Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection**

**Supervisor: Assist. Prof. Dr. Murat DİKİLİTAŞ
Year: 2008, Page: 39**

In this study, pathogenic effects of *V. dahliae* and *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum* were evaluated on various tomato cultivars (SC 2121, H 2274, Ancor ve Falcon). Tomato seedlings were germinated at room temperature and inoculated with fungi grown on PDA. The pathogenic agents did not differ from each other regarding with the pathogenic effects on cultivars, however, the response of cultivars to the pathogens changed. The cultivars were affected negatively in height, relative growth rate and chlorophyll contents. Moderately resistant cultivars such as SC 2121 and H 2274 exhibited statistically higher proline contents as well as higher POD and PPO activities when compared to the other cultivars and their own control groups. The cultivars used in the study showed susceptibility to the virulent races of the pathogens, however, relatively more resistant cultivars exhibited higher metabolites.

Continuously renewed fungal agents in nature are able to break down the resistance barrier of plants. With this study, the biochemical changes in plants were also determined and characterized by biochemical assays. By this way, the degree of resistance of plants would be determined in a short period.

KEY WORDS: *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum*, Tomato, Cultivar reactions.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konumun seçimi, yürütülmesi ve sonuçlandırılmasında katkılarıyla beni yönlendiren danışmanım Murat DİKİLİTAŞ'a teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışması süresince bana iklim odasını kullanmama izin veren ve yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Halil BOLU hoca'ma ve tezimin her aşamasında bana maddi ve manevi destekte bulunan aileme özellikle babam Mustafa ARCAGÖK' e teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa No
Şekil 1. 1.	SC 2121 Domates çeşidi	3
Şekil 2.1.	<i>Verticillium dahliae</i>	4
Şekil 2.2.	<i>Fusarium sp.</i> ; koloni görünümü (A); mikroskopta koloni görünümü (B)	6
Şekil 4.1.1.	SC 2121 Domates çeşidinin inokulasyon öncesi görüntüsü	12
Şekil 4.1.2.	Ancor domates çeşidinin inokulasyon öncesi görüntüsü	12
Şekil 4.1.	Farklı funguslar ile inokule edilen domates çeşitlerinin klorofil değerleri	21

ÇİZELGELER DİZİNİ

		Sayfa No
Çizelge 3.1.	Patates dekstroz agar (PDA)	10
Çizelge 3.2.	Czepek dox ortamı	11
Çizelge 4.1a.	SC 2121 çeşidinin inokulasyon sonrası elde edilen bitki boy değerleri	18
Çizelge 4.1b.	H 2274 çeşidinin inokulasyon sonrası elde edilen bitki boy değerleri	18
Çizelge 4.1c.	Ancor çeşidinin inokulasyon sonrası elde edilen bitki boy değerleri	18
Çizelge 4.1d.	Falcon çeşidinin inokulasyon sonrası elde edilen bitki boy değerleri	18
Çizelge 4.2.	Funguslar ile inokule edilen domates çeşitlerinin OBO değerleri	19
Çizelge 4.3.	Farklı funguslar ile inokule edilen domates çeşitlerinin proline değerleri	22
Çizelge 4.4.	Farklı funguslar ile inokule edilen domates çeşitlerinin POD ve PPO değerleri	24

SİMGELER DİZİNİ

Ca	: Kalsiyum
cm	: Santimetre
EC	: Elektriksel İletkenlik
FeSO ₄	: Demir sülfat
g	: Gram
H ₂ O	: Su
ha	: Hektar
K ₂ O ₅	: Potasyum penta oksit
K ₂ SO ₄	: Potasyum sülfat
KCl	: Potasyum klorür
kg	: Kilogram
l	: Litre
mm	: Milimetre
N	: Azot
n	: Bitki Sayısı
NaNO ₃	: Sodyum nitrat
nm	: Nanometre
OBO	: Orantılı büyüme oranı
P	: Fosfor
P ₂ O	: Potasyum oksit
PDA	: Patates Dekstroz Agar
pH	: Toprak Reaksiyonunun İfadesi
SI	: Simptom İndeks

1. GİRİŞ

Dünya nüfusu her geçen gün artmakta olup, artan nüfusun besin ihtiyacını karşılamaında; besin maddelerinin üretiminin artırılması ve birim alanda yetiştirilen ürün miktarlarının da fazla olması gerekmektedir. Birim alandan daha fazla ürün elde etmek için bitkilerin sağlıklı yetiştirilmesi ve hastalıklardan da korunması gerekmektedir. Bunun için yapılacak ilk işlem hastalık meydana getiren etmenlerin belirlenmesidir. Patojene maruz kalmış bitkilerde ciddi verim düşüklüğü yaşanmakta dolayısı ile patojenin yapmış olduğu kayıplar incelenerek patojenin seyri ve mücadelesi hakkında daha fazla bilgi sahibi olmak zorunluluğu doğmuştur.

Ülkemizde farklı iklim bölgeleri bulunmaktadır. Bu nedenle çeşitli tarım ürünleri yetiştirilebilmektedir. Bu ürünlerin içerisinde sebze üretimi önemli yer tutmaktadır. Domates bitkisi, 1893 yılında sebzelerle birlikte saklanıp yenildiğinden sebze grubuna dahil edilmiştir. Domatesin anavatanı Güney Amerika'nın Peru kıyıları ve çevresidir. Dünyaya Meksika'dan yayılmıştır. Kültürü yapılan domates bitkisinin anavatanı Orta - Güney Amerika'nın dar batı şerididir (Rick ve ark., 1990). Cristof Kolomb'un Amerika'yı keşfinden sonra Bolivya, Peru ve Meksika' dan Avrupaya gemilerle getirilmiştir. Amerika da ilk defa Thomas Jefferson tarafından yetiştirildi. Ama pek çok insan tarafından zehirli olduğuna inanarak yemeği ret ettiler, taki 1900' e kadar. Ülkemizde 1900 yıllarında Adana' da ilk defa yetiştirilmiştir.

Domates Meksika dilinde Tomana olarak adlandırılmıştır. Bunun dışında cennet elması, aşk elması, Peru elması gibi isimlerde anılmaktadır (Anonymous, 1998). Domatesin bilimsel adı; *Lycopersicum esculentum* Mill. ; Sinonimi, *Solanum lycopersicum* ve *Lycopersicum lycopersicum*' dur.

Tropik iklimlerde çok yıllık, subtropik iklimlerde tek yıllık kültür bitkisi

olarak yetiştirilir. Tropik iklim bölgelerinde çok yıllık olan domates bitkisi; 1 -3 m. boya sahip, yaprakları tüylüdür. Çiçekleri, 1-2 cm. uzunluğunda ve genellikle sarı renklidir, bir sap üzerinde yaklaşık 3 – 12 adet domates bulunur. Subtropical iklim bölgelerinde tek yıllık yetiştirilen domates bitkisi oldukça derin köke sahiptir. Başlangıçta gövde yapısı yuvarlak, yumuşak ve tüylü iken daha sonra ki dönemde köşeli ve sert bir yapıya dönüşür. Gövde otsu yapıya sahip olduğundan dik büyüyemez ve fazla dallanma görülür. Gövde belirgin olmayan boğum ve boğum aralarından oluşur.

Ülkemizde ortalama olarak yılda 6-8 milyon ton arasında domates üretimi yapılmaktadır. Domates bitkisi, boy, yetiştirme ve değerlendirme koşullarına göre üç gruba ayrılır.

Boy yapısına göre;

- Bodur (Yer) Domates Çeşitleri : H 2274, Roma, SC 2121, vb.
- Orta Boylu Domates Çeşitleri : Montfavet 63 / 4, Fusca, vb.
- Uzun Boylu Domates Çeşitleri : Marglobe, S. Marmande, Lucy, vb.

Yetiştirme Şartlarına Göre;

- Yerli Çeşitler
- Yabancı Çeşitler

Değerlendirme Şartlarına Göre;

- Sofralık Çeşitler
- Sanayi Çeşitler (Salça ve Domates Suyu) .

Ucuz ve bol vitamin kaynağı olan besleyici, lezzetli özelliğinden dolayı dünyanın birçok ülkesinde en çok üretilen sebzelerdendir. 1987–1992 yılları arasında Şanlıurfa-Koruklu Tarımsal Araştırma İstasyonunda yapılan denemeler sonunda Güney Doğu Anadolu Bölgesi için en uygun çeşitlerin Pearson, SC 2121, Sofralık - Start F1, Epona F1, açık döllenmiş Red- Top, Kiraz domatesi denemelerinde de S. Million ve S. Gold gibi çeşitlerin olduğu görülmüştür.



Şekil 1.1. SC 2121 Domates Çeşidi

Domates tohumları uygun saklama koşullarında çimlenme güçlerini beş yıl sureyle koruyabilirler. Domates tohumlarının bin tane ağırlığı 2.7–3.1 gram arasında olup bin tanede yaklaşık, 250–450 adet tohum bulunmaktadır. Domates, ılık ve sıcak iklim bitkisidir, soğuklardan çok zarar görür, normal gelişimi için 16–19 °C sıcaklığa ihtiyaç duyar. Kumludan killiye kadar her türlü toprakta yetişebilir. Toprak pH' sı 6–6.5 olup pH' sı beş ile beşin altına düşmedikçe kireç takviyesi yapılmaz (Şekil 1.1).

Bu derece önemli olan domates bitkisi hem fizyolojik hem de biyolojik etmenlerin etkisi altında verim ve kalite kaybına maruz kalabilmektedir. Özellikle iletim demetlerinde etkili olan funguslar *Fusarium spp.* ve *Verticillium spp.* gibi hastalık etmenleri önemli kayıplara neden olmaktadır. Diyarbakır ilinde de çeşitli hastalık etmenleri ürün üzerinde önemli derecelerde kayıplara neden olmaktadır. Sorunların çözümüne kısmen de olsa yardımcı olması açısından bu çalışmada ilimizde bazı sebze çürüklüğüne sebep olan fungal etmenlerinin etkileri araştırılmıştır.

1. 1. Fungusların Sınıflandırılması ve Mikroskopik Özellikleri

Sınıflandırmada konidial safhaların özellikleri esas alınarak yapılan sınıflandırmada, herbir katagorideki mantarların konidial morfolojileri birbirine benzerdir.

1.2. *Verticillium spp.*'nin Taksonomik Sınıflandırılması

Verticillium cinsi 1816 yılında Nes Van Esen Beck tarafından Verticillitate konidiforları esas alınarak yapılmıştır. 1910 yılına kadar bu cinsin en az 40 türü tanımlanmıştır (Şekil 2.1).

Alem: Fungi

Bölüm: Eumycota

Alt Bölüm: Ascomycota Pezizomycotina

Sınıf: Sordariomycetes

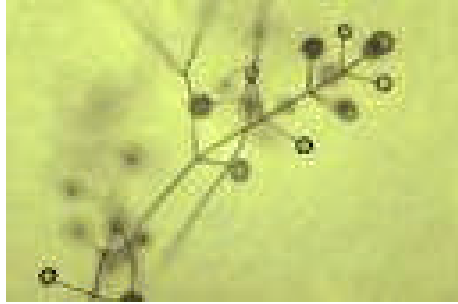
Takım: Hypocreales

Familya: Hypocreaceae

Cins: *Verticillium*

1.3. *Verticillium spp.*'nin Tanımı ve Mikroskopik Özellikleri

Kışı toprakta ve çürümekte olan bitkiler üzerinde yaşayan geniş alanlara dağılan genel olarak bulaşıcı bir fungustur. *Verticillium spp.* konidiforları versilat olarak dallanan, yan dalların uçlarında eliptik şekilde, tek hücreli, renksiz veya hafif renkli konidileri olan funguslardır (Isaac, 1967).



Şekil 2.1. *Verticillium dahliae*

Verticillium fungusunun bilinen önemli türleri arasında;

V. albo-atrum

V. dahliae

V. nubilum

V. tricorpus sayılabilir.

V. dahliae ve *V. albo-atrum* en yaygın türlerdir. *V. albo-atrum* 22-26 °C'de, *V. dahliae* ise 25-28 °C gibi kısmen yüksek sıcaklıklarda iyi gelişme göstermektedir. Bitkiye genellikle kök ucundan giriş yapar, kök meristemine giren fungus, ksilem borularına ulaşır. Buradan sonra, üretilen konidiler iletim demetinde bitkinin diğer kısımlarına taşınır (Esyanti, 1993). *V. dahliae* ile infekteli bitki organları ölmeye başladıklarında, bu organlarda fungusun dinlenme yapıları oluşmaya başlar. Bir sonraki enfeksiyon burada üretilen sporlar vasıtası ile yeniden başlar (Dikilitaş, 2003). *V. dahliae* fungusun solgunluk oluşturmasının nedenlerinden biri, patojenin ksilem dokusunda yoğun olarak kolonize olması ve bitkinin, patojenin ilerlemesini engellemek için tylossis oluşturması, dolayısı ile su ve mineral madde iletiminin yavaşlaması şeklinde açıklanabilir (Isaac, 1967; Milton ve ark., 1971).

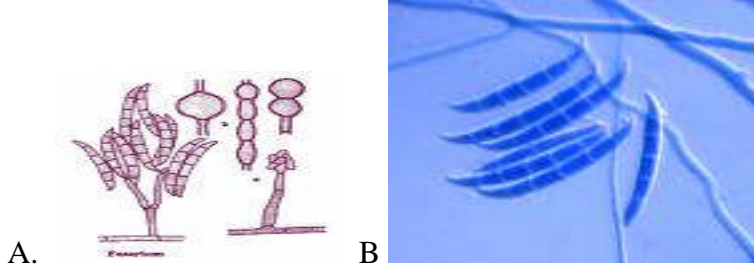
Fungusun bitkide belirtileri, kök, gövde veya bulaşık dal içinde iletim demetlerinde renk değişimleri ile kendini gösterir (Miller ve Christie, 1991). Bitkide ani solgunluk ve ölümlere sebep olur. Uygun koşullarda birkaç dalda görülebileceği gibi bütün bitkide de belirtileri görülebilir.

V. dahliae; kışı toprakta bitki artıklarında microsklerotlar olarak geçirir. Her iki *Verticillium* türü de pamuk, yonca, domates, çilek, şerbetçi otu ve çeşitli süs bitkilerinde solgunluğa ve ürün kaybına neden olurlar. *V. dahliae*'nin odunsu bitkilerde daha çok hastalığa neden olduğu görülmüştür (Karaca ve ark., 1971; Esentepe ve ark., 1972).

1.4. *Fusarium spp*'nin Taxonomik Sınıflandırılması

Fusarium, bitkide toprakta ve mikroflorada bulunur. *Fusarium* türleri daha çok tropical ve subtropical alanlarda yaygındır. *Fusarium spp.*'nin 20 türü yaygındır (Hoog ve ark., 2000).

Alem : Fungi
 Bölüm: Eumycota
 Alt Bölüm: Ascomycota Pezizomycotina
 Sınıf: Sordariomycetes
 Takım: Hypocreales
 Familya: Hypocreaceae
 Cins: *Fusarium*



Şekil 2.2. *Fusarium spp.*; koloni görünümü (A); mikroskopta koloni görünümü (B)

Fusarium spp. bölmeli, tek hücreli mikrokonidi ve çok hücreli (bölmeli) makrokonidileri olan dayanıklı klamidosporlara sahip toprak kökenli funguslardır (Şekil 2.3). Bulaşmış oldukları toprakta saprofit olarak yaşarlar. Ençok görülen *Fusarium* türleri;

Fusarium equiseti sacc. : Havai misel, bütün besi ortamında beyaz renklidir. Stroması sarı renktedir. Makrokonidileri genellikle 5 (beş) bölmeli olup, bütün besi ortamlarında mikrokonidi, sporodokyum, klamidospor ve koku oluşturur.

Fusarium solani: Havai misel bütün besi ortamlarında ortam renginde kabarık pamuk yığını görünümündedir. *F. solani* genelde portakal renginde olup arada mavi ve yeşil renklerine de rastlanılmıştır. Değişik araştırmacılar bu *Fusarium* etmeninin daha ziyade kök boğazı ve gövde çürüklüğüne neden olduğuna ve bu kısımlarda patojen olduğunu bildirmektedirler (Kutuva ve Petkova, 1975; Sezgin ve ark. , 1984). Çok sayıda formları vardır. Bezelye, fasulye, domates ve diğer kültür bitkilerinde

kök çürüklüğüne neden olur.

Fusarium oxysporum: Çeşitli bitkilerde tracheomycosis ve solgunluklara neden olur. Çeşitli form türleri konukçu bitkilerle sınırlanmıştır. Bunlara rastlananları şunlardır;

Fusarium oxysporum f.sp. callistephi = Yıldızlarda

Fusarium oxysporum f.sp. conglutinans = Lahanalarda

Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum = Hıyarlarda

Fusarium oxysporum f.sp. cubense = Muzda

Fusarium oxysporum f.sp. lycopersii = Domateste

Fusarium oxysporum f.sp. tracheiphilum = Soyada

Fusarium oxysporum f.sp. vasinfectum = Pamukta

Bitkileri enfekte etmeleri toprak içerisinde köklerden, emici tüylerden, kök boğazından olmaktadır (Kutuva ve Petkova, 1975; Sezgin ve ark. , 1984).

Fusarium daha çok kumsal ve asitli topraklarda şiddetli seyrederek (Hoog ve ark. , 2000). Hastalık belirtileri önce alt yapraklardan başlar ve yukarı doğru yayılır. Yapraklar sararır, sonra kuruyup dökülür. Ekimin geç yapıldığı veya hastalığın erken görüldüğü durumlarda bitki boyu kısalmıştır. Hastalık insan eli, rüzgâr gibi doğal etkenlerle, toprak, tohum (havlı çığit) veya ürün artıklarıyla taşınır. *Fusarium* bitkide kanserlere sebep olur.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Güneydoğu Anadolu Bölgesinde fungal hastalıklar ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış olup, özellikle sebzelerde çökerten hastalığının domateslerde % 32, patlıcanlarda % 46, biberde % 21 oranında kayba neden olduğu rapor edilmiştir (Akyalçın, 1971). Akdeniz bölgesinde yapılan bir çalışma da örtü altı sebze alanlarında enfekteli domateslerde *S. sclerotium*, *F. oxysporum*, *A. solani*, *Fusarium sp.*, *Verticillium spp.*, izole edilmiştir (Yücel, 1994). Görüldüğü üzere solgunluk hastalıkları hemen hemen her sebze ekilen alanlarda mevcut olup, bitkilerde önemli derecede ürün kaybına neden olmaktadır.

Bu hastalıklar ile ilgili bazı çalışmalar, hastalığın mekanizmasını belirlemek ve kontrol etmek için yapılmış olup, aşağıda sunulmuştur. Örneğin, Yıldırım ve Sağır (1999), azotlu gübrelerin farklı form ve dozlarının pamuk solgunluk hastalığı (*V. dahliae*) üzerine etkisini belirlemek amacıyla, hastalığın yoğun görüldüğü bir üretici tarlasında çalışmalar yapmışlardır. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre; iki farklı azot formu (Üre ve diamonyumfosfat + amonyumnitrat) ve altı azot dozu (0, 4, 8, 12, 16, 20 kg/da) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, pamuk verimi 161.54 – 229.50 kg/da, hastalık indeksi 2.59 – 2.98, hastalık oranı ise % 96.1–100 arasında değişim göstermiştir. Azot dozunun artışına bağlı olarak pamuk verimi artmıştır. En yüksek verim diamonyumfosfat + amonyumnitrat uygulamasında elde edilmiştir. Hastalık indeksi üre formundaki azot uygulamalarında daha düşük bulunmuştur.

Yine, Güney Doğu Anadolu Bölgesinde kavun - karpuzda kök çürüklüğüne sebep olan fungal etmenleri ve yaygınlık oranlarını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, kavunda yapılan izolasyonlardan % 32.82 *Macrophomina phaseoli*, %15.06 *Fusarium solani*, %2.73 *F. oxysporium* f.sp. *melonis* olmak üzere *Rhizoctonia solani*, *Alternaria spp.*, *Phytium sp.*, *Aspergillus sp.* ve *Rhizopus spp.*

funguslarına rastlanılmıştır. *F. oxysporium* f.sp. *melonis*, bölgede yöresel olarak yetiştirilen 10 kavun çeşidinin tümünü, diğer patojen funguslar ise değişik oranlarda bitkileri hastalandırdığı tespit edilmiştir (Sağır, 1998).

İtalya'da patlıcan solgunluğu üzerine yapılan çalışmada hastalıklı bitkilerden çoğunlukla *Fusarium oxysporium* f. sp. *Melongenae* izole edilmiştir. Sera koşullarında, 28 farklı patlıcan çeşidi ve bazı sebze türlerinden yapılan patojenite denemelerinde bütün patlıcan çeşitleri duyarlı bulunurken; diğer sebze türlerinin tümü dayanıklı bulunmuştur (Capelli ve ark., 1993).

Yine, Esyanti (1993) domateste farklı *V. albo-atrum* isolatlarını kullanarak, patojenisite üzerinde çalışmalar yapmış, yoncadan izole edilen V1 isolatın daha virulens olduğunu saptamıştır.

Domates çeşitleri üzerine *V. dahliae* ve *F. oxysporium*'un patojenik etkisini araştırmak için bölgede herhangi bir çalışma yapılmamış olup, farklı çeşitlerin reaksiyonları fizyolojik ve biyokimyasal açıdan test edilmiştir. Böylece farklı çeşitler arasında değerlendirme yapılarak, biyolojik mücadele açısından zıt korunma tabir edilen patojenlerin zayıf ırklarının etkinliğinin araştırılması mümkün olacaktır. Ayrıca, bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile, yeni laboratuvar tekniklerinin kullanılmasının yanı sıra, patojenlerin bitkiler üzerinde yol açtığı hasarların, bitki dayanıklılığı için kriter olarak kullanım olanakları da belirlenmiş olacaktır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu araştırma 2006–2007 yıllarında Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesinde ve Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada, bitki materyali olarak H 2274, SC 2121, Falcon, Ancor domates çeşitleri olmak üzere 4 çeşit domates çeşidi kullanılmıştır. Domates tohumları Dicle Üniversitesi ve Diyarbakır Tarımsal Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* ve *V. dahliae* Diyarbakır Zirai Mücadele ve Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir.

Çalışma, saksılarda 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Her saksıda (tekerrürde) 4 kontrol ve 4 inokule bitki bulundurulmuştur. Bitkiler viollerde yetiştirilmiş ve inokule edilinceye kadar iklim odasında tutulmuştur. Beş haftalık bitkiler kök daldırma yöntemi kullanılarak, yukarıda adı geçen funguslar ile inokule edilmiştir. İnokule edilen fideler 15 cm eninde ve 14 cm boyunda saksılara dikilmiştir. Saksılar, inokulasyondan önce tavsiye edilen gübre oranları ile desteklenmiştir (220 N: 60 P₂O: 300 K₂O₅ kg ha⁻¹). Bütün tavsiye edilen fosfor ve % 33 gerekli olan potasyum ve azot saksı toprağına uygulanmıştır. Bitkiler 3-5 gün arayla sulanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Fungusların yetiştirilmesi

Çizelge 3.1. Patates dekstroz agar (PDA)

İçerik	Konsantrasyon (g/l)
Kabuğu soyulmuş, doğranmış patates	200
Glukoz	20
Oxoid Agar No:3	20

200 g soyulmuş patatesler parçalara ayrılarak 1000 ml'lik saf su ile 30 dakika kaynatılmıştır. Elde edilen püre steril tülbentten süzölmüş ve 20 g glukoz süzüğe ilave edilmiştir (Çizelge 3.1). Bu ortam 250 ml hacime 6.25 g agar (Difco) içeren (%2.5 w/v) 4 adet 500 ml'lik konik beherlerin her birine aktarılmıştır. Bu ortam 121 °C'de 20 dakika (2.68 kg/cm² basınçta) otoklavlanarak 12 Petri kabına dökölmüştür.

Çizelge 3.2. Czapek dox ortamı (Değiştirilmiş)

İçerik	Konsantrasyon (g/l)
Sukroz	30
NaNO ₃	2
KCl	0.5
Magnezyum gliserofosfat	0.5
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0.01
K ₂ SO ₄	0.35
Difco Agar	25

Czapek Dox ortamınının içeriğinde bulunan yukarıdaki elementler saf suda çözdürölmüş ve bu hacim 1 litreye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu ortam 250 ml'lik 6.25 g Difco agar içeren 4 adet 500 ml'lik konik beherlerin her birine aktarılmıştır. Bu ortam 121°C'de 20 dakika (2.68 kg/cm² basınçta) otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Her bir beherden elde edilen bu ortam 12 Petri kabına dökölmüştür.

3.3. Eğik Agar

Stok kültürü olarak fungusları korumak için funguslar cam bir tüp içindeki eğimli agar üzerine yerleştirilerek, bu amaçla, 15 ml'lik eğimli Czapek Dox veya PDA steril ortamları 4°C ± 1°C'de muhafaza edilmiştir. Petri kapları 23 °C ±1'de ve karanlıkta muhafaza edilerek stok fungus olarak saklanmıştır.

3.4. Spor solüsyonunun hazırlanması

Domates bitkileri Czapek Dox veya PDA ortamında tutulan ve her 3 haftada bir alt kültüre alınan *V. dahliae* ve *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* sporları inokule edilmiştir. Sporlar, Petri kabında büyüyen ortama 10 ml steril su ilave edilerek ve steril bir cam çubuk yardımı ile hafifçe serbest bırakılarak hazırlanmıştır. Elde edilen süspansiyon bir behere aktarılmış ve spor konsantrasyonu mikroskop altında

belirlenmiştir. Süspansiyondaki spor konsantrasyonu, saf su ilave edilerek, yaklaşık olarak 10^7 konidi/ml olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.5. Bitkilerin İnokulasyonu

Fideler, kök daldırma metodu ile inokule edilmiştir. Bitkiler saksılardan çıkartılıp ve hafifçe sallanarak kökleri üzerinde bulunan toprak parçaları, musluk suyu altında temizlendikten sonra 10 dakika süreyle spor solüsyonu içinde (10^7 konidi/ml) bekletilmiştir. İnokule edilmiş bitkiler aynı toprak kullanılarak tekrar şaşırtılmıştır. Kontrol bitkilerinin kökleri aynı süre göz önüne alınarak saf su ile muamele edilmiştir. İnokulasyonun ardından, boy ve simptom index değerleri kaydedilmiştir (Şekil 4.1. ve 4.2.).



Şekil 4.1. SC 2121 Domates çeşidinin İnokulasyon öncesi görüntüsü



Şekil 4.2. Ancor Domates çeşidinin inokulasyon öncesi görüntüsü

3.6. Hastalık Belirtilerinin Değerlendirilmesi (SI)

Bitkiler hastalık belirtilerine göre Moller–Neilson ve Andreasen, (1971)'den uyarlanan bir sistem kullanılarak aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır.

0 – Solgunluk belirtisi yok

1 – Az miktarda enfeksiyon: Kotiledonlar üzerinde gözle görülen klorotik sararmalardır.

2 – Hafif miktarda enfeksiyon: Kloroz ve yaprakların % 50'sinden daha azını etkileyen epinastidir.

3 – Orta derecede enfeksiyon: Kloroz, nekroz ve epinasti dahil olmak üzere her yerde görülen belirtilerdir.

4 – Şiddetli derecede enfeksiyon: Bitkiler zayıf ve gelişmeleri durmuş; hem gövdeleri hem de dalları ileri derecede semptom göstermektedir.

5 – Aşırı derecede şiddetli enfeksiyon: Dallar ve gövde nekrozlu fakat sürgün ucunda hala biraz canlılık görülmektedir.

6 – Bitki tamamen ölür.

Sınıflandırmada 0 ve 2 arasında yer alan bitkiler dayanıklı olarak kategorize edilmektedir. 2.5–3.5 arasında olanlar ise orta derecede hassas ve 4–6 arasında olanlar ise hassas olarak kategorize edilmiştir (Latunde–Dada ve Lucas, 1982). Bu sınıflandırmadan, bitkilerdeki hastalık ilerleyişinin oranını ve semptomların başlangıç zamanını gösteren bir semptom indeksi, tek bir muameledeki her bir bitki grubu için yüzde olarak hesaplanmıştır.

3.7. Bitkilerin Hasadı

Deney başlangıcında bitkilerin taze ağırlıkları belirlenmiş ve fırında 60 °C'de üç gün boyunca kurutulduktan sonra, bitkilerin ortalama ilk taze ve kuru ağırlıkları hesaplanmıştır.

(i) Orantılı Büyüme Oranı OBO (hafta⁻¹)

$$OBO \text{ (hafta}^{-1}\text{)} = \frac{[\ln(FKT_{hasat}) - \ln(ORT_{ilk})]}{\text{Hafta}}$$

OBO = Orantılı Büyüme Oranı

FKT = Domates çeşidinin son hafta ortalama taze ve kuru ağırlığı

ORT = Domates çeşidinin ilk hafta ortalama taze veya kuru ağırlığı

3.8. Klorofil Tayini

Yaprak klorofilleri (Klorofil *a* ve Klorofil *b*) Arnon (1949), metoduna göre belirlenmiştir. 1 gram yaprak alınarak porselen havan içerisinde 5 veya 6 ml % 80' lik aseton içinde homogenize edilmiştir. Hazırlanan örnekler kaba filtre kâğıdından 10 ml'lik cam tüplere süzölmüştür. Elde edilen süzüğün hacmi 10 ml oluncaya kadar % 80' lik asetonla tamamlanmış, spektrofotometrede (UV Visible Shimadzu 1601) 645 nm. ve 663,5 nm dalga boylarında ölçölmüştür. Klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil içeriğı aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam klorofil (mg/l)} = 20.2A_{645} + 8.02A_{663,5}$$

$$\text{Klorofil } a \text{ (mg/l)} = 12.7A_{663,5} - 2.69A_{645}$$

$$\text{Klorofil } b \text{ (mg/l)} = 22.9A_{645} - 4.68A_{663,5}$$

3.9. Proline analizi

Proline ekstraksiyonun belirlenmesi Bates ve ark. (1973)'e göre yapılmıştır. Acid-ninhyrin karışımı renk maddesi olarak kullanılmıştır. 1,25 g ninhydrin 30 ml glacial asetik asit ve 20 ml 6 M fosforik asit içerisinde çözülmüştür. 1 g ağırlığındaki yapraklar 10 ml % 3'lük sulphosalicylic asit içinde homojenize edilmiş,, homojenizasyon Whatman no:2 filtre kağıdından geçirildikten sonra 2 ml' lik karışım 100 °C de 1 saat kaynatılarak reaksiyon buz içerisinde sonlandırılmıştır. Abrobans 515 nm toluen kontrolüne karşı okutulmuştur. Standart olarak önceden hazırlanmış olan L-prolin solüsyonu kullanılmıştır.

3.10. Protein Belirlenmesi

Protein belirlenmesi Bradford (1976)'ya göre yapılmıştır. Buna göre; 100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 (Sigma) 50 ml % 95'lik ethanol içinde çözülmüş ve solusyon 100 ml % 85'lik (w/v) phosphoric asit (H₃PO₄) karıştırılmış filtre edilerek 1 litre saf suya tamamlanmıştır. Hazırlanan solusyon oda sıcaklığında 2 hafta kadar kalabilmektedir.

100 µl içinde 10-100 µg protein içeren örnekler 5 ml Coomassie blue reagent içinde çözülmüşler, ve absorbans değerleri solusyon hazırlanmasından 10 dakika sonra ilk 1 saat içinde 3 ml lik küvetler içinde bakground okumasına karşı 595 nm dalga boyunda UV-1601 Shimadzu spektrofotometrede belirlenmiştir.

Örneklerin protein değerlerini hesaplamak için Bovine Serum Albumin fraction V (Sigma) kullanılmış, 10 ila 100 µg protein arasında linear olarak değişen protein miktarları 595 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Elde edilen değerler linear olarak bulunmuş, deneyde kullanılan örneklerin protein değerleri bu grafik yardımı ile hesaplanmıştır.

3.11. Polifenol oksidaz analizi (PPO)

PPO analizi için 50 mM sodyum fosfat buffer, 5 mM 4- methylcatechol hazırlanmıştır. Daha önce alınmış ve ependorf tüplere konulmuş örnekler kullanılarak analiz yapılmıştır. Absorbans değerleri Zauberman ve ark. , (1991)'nin önerilerine göre 410 nm dalga boyunda UV Shimadzu 1601 Spectrophotometer ile ölçülmüştür.

3.12. Peroksidaz analizi (POD)

Analizin yapılabilmesi için 50 mM'lık sodyum fosfat buffer, 13 mM quaiacol ve 5 mM hidrojen peroksida hazırlanmıştır. Elde edilen bitkilerden 0,5 g. örnek tartılmıştır. Tartılan örneklerden her biri porselen havanlar içerisine konulmuş ve üzerine 50 mM'lık 10 ml sodyum fosfat buffer'ı eklenmiştir. Porselen havanlarda

ezilen örnekler daha sonra süzölmüştür. Elde edilen süzöklörler ependorf tüplere konulmuş ve 5000 d/dak.'da 5 dakika santrifüjlenmiştir. Absorbans değörleri Cvikorová ve ark., (1994' nin önerilerine göre 470 nm dalga boyunda UV Shimadzu 1601 Spectrophotometer ile ölçölmüştür. Örnek hazırlık aşaması 4 °C'de gerçekleştirilmiştir.

3.13. Veri Analizi

Veriler varyans analiz yöntemi (ANOVA) kullanarak Duncan Çoklu Test Yöntemi ile analiz edilmiştir. Gruplar arasındaki farklar $P < 0.05$ den düşük olduğu zaman önemli bulunmuştur. İstatistik analizleri SPSS veri analiz paket programı yardımı ile yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Bitki Boyu ve Hastalık Belirtileri Değerleri

V. dahliae ve *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* ile inokule edilen bitkilerin haftalık olarak beş hafta boyunca boy ölçümleri alınmıştır. Boy ölçüm değerleri aşağıdaki çizelge 4.1 (a-d) de verilmiştir. Bu sonuçlara göre kullanılan domates çeşitlerinin hepsi hastalık etmenlerinden önemli derecede etkilenmiş, SC 2121 ve H 2274 kısmen dayanıklı bulunmuş, boy ve hastalık belirtileri kontrol grubundan istatistik olarak farklı bulunmasına rağmen ümit verici çeşitler olarak göze çarpmıştır. Hastalık etmenlerinin bitkide yol açtığı solgunluk ve sararma gibi belirtiler bitkinin fotosentez potansiyelini kısıtlamış, sonuç olarak dayanıklı olarak kabul edilen bitkiler de bu durumdan etkilenmiştir. Bitkilerin genel olarak hastalık belirtileri göstermesinde hiç kuşkusuz virulent fungal etmenlerin de rolü büyüktür, özellikle konukçuya özelleşmiş fungal isolatlar, konukçu ne kadar dayanıklı olursa olsun, zaman içinde konukçunun dayanıklılık bariyerini aşabilecek duruma gelmektedirler. Benzer sonuçlar, Esyanti, (1993) tarafından da elde edilmiş olup özellikle domatesten elde edilen *V. albo-atrum* isolatının yonca üzerinde patojenik olmadığını rapor etmiştir. Yine, konukçuda görülen hastalık belirtileri diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiş, hatta bazı durumlarda hastalık etmeni görülmemesine rağmen inokle edilmiş bitkilerde boy kısılmasını rapor etmişlerdir (Pennypacker ve ark. 1988; Pennypacker ve ark., 1990). Hastalığın ilerlemesinin ilk zamanlarda hızlı olduğu ancak bitki gelişimi ile yavaşladığı da göze çarpan belirtiler arasındadır. Pennypacker ve Leath, (1986) 'de *F. oxysporum* ve *V. dahliae*'nın bitki gelişimi üzerinde benzer etkilerde bulduklarını belirtmişlerdir.

Çizelge 4.1a. SC 2121 çeşidinin inokulasyon sonrası elde edilen bitki boy değerleri (cm)

Haftalar	Kontrol	<i>V. dahliae</i>	<i>F. oxysporum</i> f. <i>sp. cucumerinum</i>
0	7 (0)	6 (1)	7 (1)
1	8 (0)	9 (2)	9 (1)
2	9 (0)	10 (2)	10 (1)
3	13 (0)	17 (2.5)	15 (1)
4	18 (0)	19 (2)	19 (2)
5	24 (0)	19 (2)	19 (2)

Çizelge 4.1b. H 2274 çeşidinin inokulasyon sonrası elde edilen bitki boy değerleri (cm)

Haftalar	Kontrol	<i>V. dahliae</i>	<i>F. oxysporum</i> f. <i>sp. cucumerinum</i>
0	7 (0)	8 (1)	6 (1)
1	8 (0)	9 (1)	9 (1)
2	9 (0)	11 (1)	13 (1)
3	14 (0)	14 (1)	15 (1)
4	18 (0)	17 (1)	18 (1)
5	24 (0)	21 (2)	20 (1)

Çizelge 4.1c. Ancor çeşidinin inokulasyon sonrası elde edilen bitki boy değerleri (cm)

Haftalar	Kontrol	<i>V. dahliae</i>	<i>F. oxysporum</i> f. <i>sp. cucumerinum</i>
0	7 (0)	7 (1)	7 (1)
1	8 (0)	9 (1)	9 (1)
2	9 (0)	11 (1)	13 (1)
3	14 (0)	13 (2)	14 (2)
4	19 (0)	15 (2)	16 (2)
5	23 (0)	16 (2)	17 (2.5)

Çizelge 4.1d. Falcon çeşidinin inokulasyon sonrası elde edilen bitki boy değerleri (cm)

Haftalar	Kontrol	<i>V. dahliae</i>	<i>F. oxysporum</i> f. <i>sp. cucumerinum</i>
0	8 (0)	8 (1)	7 (1)
1	9 (0)	9 (1)	10 (1)
2	14 (0)	10 (1)	11 (1)
3	18 (0)	13 (1)	13 (2)
4	22 (0)	15 (2)	16 (2)
5	27(0)	18 (3)	19 (3)

4.2. OBO değerleri

Çizelge 4.2. Funguslar ile inokule edilen domates çeşitlerinin OBO değerleri

Haftalar	Kontrol OBO (hafta ⁻¹)	<i>V. dahliae</i> OBO (hafta ⁻¹)	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i> OBO (hafta ⁻¹)
SC 2121	0.35 ^a	0.25 ^b	0.24 ^b
H 2274	0.31 ^a	0.17 ^b	0.23 ^b
Ancor	0.32 ^a	0.26 ^b	0.23 ^b
Falcon	0.31 ^a	0.23 ^b	0.24 ^b

Sıralarda ayrı harflerle karakterize edilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur (n= 7, P≤0.05)

Bitkilerin gelişme durumları gelişme gösterdikleri dönem boyunca ölçülmüş, denemede kullanılan tüm çeşitlerin hastalık etmenlerinden ciddi oranda etkilendiği görülmüştür (Çizelge 4.2). Hastalık etmeni yukarıda belirtildiği gibi bitkide kolonize olmuş ve bitkilerin yaş ve dolayısı ile kuru ağırlık miktarlarını düşürmüştür. Benzer sonuçlar Eşyanti (1993) tarafından da elde edilmiş olup, bitkilerin virulent funguslara maruz kaldıklarında düşük fotosentez yaptıkları dolayısı ile daha az karbohidrat sentezledikleri ve bu durumun bitkinin kuru ağırlığına yansıdığını belirtmişlerdir.

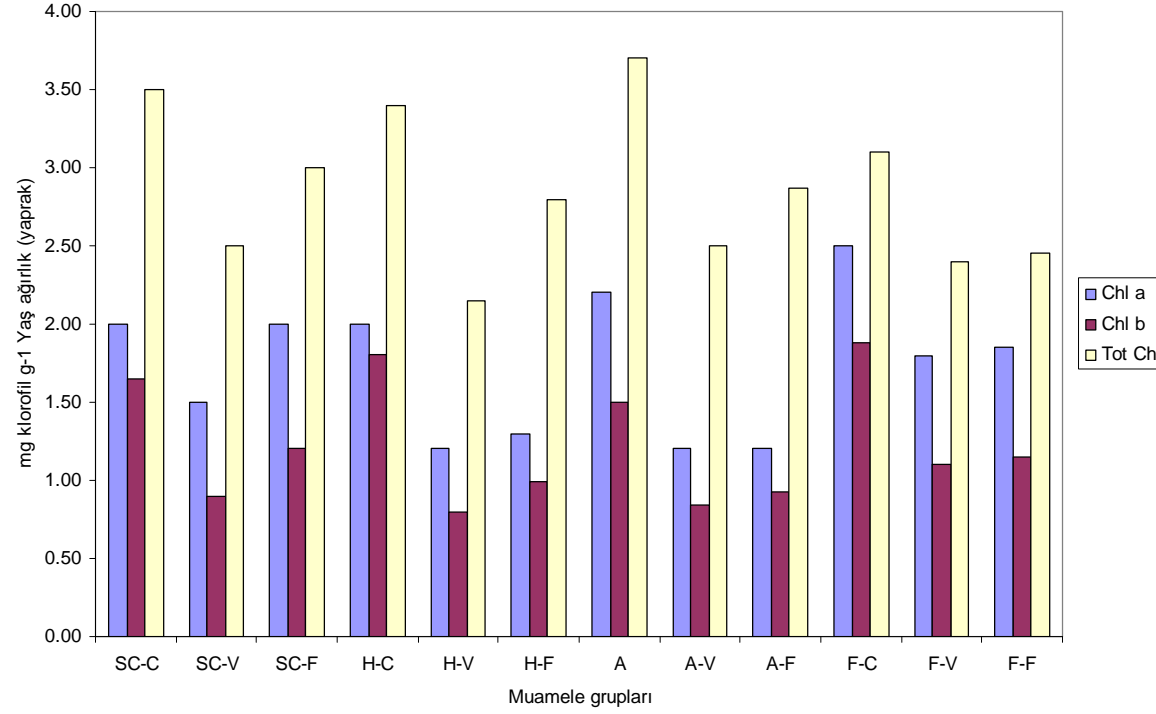
4.3. Biyokimyasal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Enzim, protein yapısında olan, doğal olarak yalnız canlılar tarafından sentezlenebilen biyolojik katalizörlerdir. Hücre içerisinde meydana gelen tepkimelerin hızını ve özgülüğünü düzenler. Enzimler bitkilerin gelişim ve savunma mekanizmasında önemli rol oynarlar. Bu bakımdan normal değerlerinin altında ya da üstünde çıkan sonuçlar, o canlının savunma mekanizması hakkında bilgi vermektedir.

4.3.1. Klorofil içeriğinin belirlenmesi

İnokule edilen bitkilerin klorofil değerleri incelendiğinde (Klorofil a, b ve toplam klorofil), bütün çeşitler hastalık etmenlerinden etkilenmiş ve klorofil değerleri kontrol gruplarından istatistik olarak farklı bulunmuştur. Bu konuda öne sürülen en önemli mekanizmalardan biri, strese ve özellikle biyotik etmenlerin stresine maruz kalan bitkilerin toksinlere ve patojenlerin ürettiği enzimlere maruz

kılarak klorofil için gerekli metabolitleri üretmemesi şeklinde açıklanmıştır (Pennypacker, 1991).



Şekil 4.1. Farklı funguslar ile inokule edilen domates çeşitlerinin klorofil değerleri

SC-C: Kontrol SC 2121; SC-V; *V. dahliae* ile inokule edilen SC 2121; SC-F; *Fusarium* ile inokule edilen SC 2121

HC-C: Kontrol H 2274; HC-V; *V. dahliae* ile inokule edilen H 2274; *Fusarium* ile inokule edilen H 2274

A-C: Kontrol Ancor; A-V; *V. dahliae* ile inokule edilen Ancor; *Fusarium* ile inokule edilen Ancor

F-C: Kontrol Falcon; F-V; ; *V. dahliae* ile inokule edilen Falcon; *Fusarium* ile inokule edilen Falcon

4.3.2. Proline aktivitesinin belirlenmesi

İnokule edilen bitkilerin proline değerleri incelendiğinde SC 2121 ve H 2274 dometes çeşitlerinin inokulasyon sonrası sentezledikleri proline miktarları artmış, diğer çeşitlerde bir artış görülmemiştir.

Çizelge 4.3. Farklı funguslar ile inokule edilen domates çeşitlerinin proline değerleri

Bitkiler	Proline (mg g ⁻¹ yaş ağırlık) ^a		
	Kontrol	<i>V. dahliae</i>	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i>
SC 2121	0.115 ^a	0.276 ^c	0.209 ^b
H 2274	0.117 ^a	0.137 ^b	0.145 ^b
Ancor	0.186 ^a	0.171 ^a	0.187 ^a
Falcon	0.169 ^a	0.158 ^a	0.159 ^a

Sıralarda ayrı harflerle karakterize edilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur (n= 7, P≤0.05)

Benzer sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından da elde edilmiş olup, örneğin, Chaudhary ve ark., (1997) proline değerlerinin stres sonucu arttığını ve bunun dayanıklılık ile ilgili olduğu kanatine varmışlardır. Aslında, bitkilerin proline değerlerindeki artış stres kaynağına göre özellik göstermeyip, bitkilerin stres sonucu oluşturduğu bir durumdur. Stresin türü, abiotik ya da biyotik, proline sentezinin şeklini değiştirmemekle birlikte, bitkilerin stresin şiddetine ve süresine bağlı olarak miktarını etkilemekte olup, bu durum bitkinin türüne göre de değişiklik arz etmektedir. Proline sentezinin meydana geldiği durumlara bakılarak, bitkilerin dayanıklılıkları hakkında karar verilebilmekte ve POD gibi enzimler ile proline sentezi karşılaştırılarak bir biyokimyasal marker olarak kullanılması söz konusu olmaktadır (Reuveni ve ark., 1990).

4.3.3. Enzim aktivitelerinin (POD ve PPO) belirlenmesi

Peroksidaz enzimi birçok hastalıklı bitkide dayanıklılık veya hassasiyet ile ilişkisi açısından çalışılmış bir enzimdir. Örneğin, Mishra ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada *Momordica charantia* L.) fideleri UV ışık altında tutulduklarında POD enziminin sentezi artmış ve bu durumu dayanıklılığa bağlamışlardır. Bu çalışmada da, SC 2121 ve H 2274 çeşitlerinde POD ve PPO enzim seviyeleri artış göstermiş olup, proline sentezindeki artış POD ve PPO ile

uyumlu bulunmuştur (Çizelge 4.4). Örneğin, Anad ve ark., (2007) Azoxystrobin ve *Pseudomonas fluorescens*'in domates bitkileri üzerindeki birlikte etkisini araştırmışlar POD, PPO, phenylalanine ammonia lyase (PAL), β -1, 3 glukanaaz, kitinaz ve katalaz aktivitelerinin arttığını belirtmişlerdir. Bu enzimlerdeki artışın, hem lignin oluşumunu desteklediği hem de bitkide fungal ya da bakteriyel etmenler tarafından oluşturulan sporulasyonu inhibe ettiği yönünde kanıtlar mevcuttur (Velazhahan ve Vidhyasekaran, 1994).

Çizelge 4.4. Farklı funguslar ile inokule edilen domates çeşitlerinin POD ve PPO değerleri

Bitkiler	POD aktivitesi (Δ Absorbans/dak/mg protein)			PPO aktivitesi (Δ Absorbans/dak/mg protein)		
	Kontrol	<i>V. dahliae</i>	<i>F.oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i>	Kontrol	<i>V. dahliae</i>	<i>F.oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i>
SC 2121	2.1	2.01	1.89	1.04	0.95	0.95
H 2274	3.1	5.2	5.88	0.95	1.85	1.80
Ancor	1.02	0.96	0.87	1.21	0.95	1.40
Falcon	0.89	0.92	0.93	1.85	1.92	2.00

^a Aynı harf grubu içinde yer alan bitkiler $P < 0.05$ seviyesinde istatistik olarak birbirlerinden farklı bulunmamıştır

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Domates bitkisi çeşitleri (SC 2121, H 2274, Ancor ve Falcon) fungal etmenlerden *V. dahliae* ve *F.oxysporum* f.sp. *cucumerinum* ile inokule edilmiş, hastalık etmenlerinin çeşitler üzerindeki fizyolojik, patolojik ve biyokimsal etkileri incelenmiştir. Hastalık etmenlerinin bitkiler üzerindeki patojenik etkileri bakımından birbirlerinden farklı etki yapmadıkları ancak çeşitlerin reaksiyonları açısından farklılıklar olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre, bitkiler boy ve ağırlık bakımından negatif yönde etkilenmiş, kısmen dayanıklı olarak görülen SC 2121 ve H 2274 çeşitleri diğer çeşitlere ve kontrol grubuna göre daha yüksek proline sentezi yapmış, ayrıca bu çeşitler POD ve PPO enzimleri açısından da diğer çeşitlerden ve kendi kontrol gruplarından önemli bulunmuştur. Klorofil içerikleri bakımından ise, bütün çeşitler kendi kontrol gruplarından daha düşük düzeyde klorofil sentezlemişlerdir. Ayrıca bitkilerin patojenlerin virulent ırklarına karşı dayanıklı çeşit geliştirilmesi gerektiği bir kez daha ön plana çıkmış, bölgede kullanılan hiçbir domates çeşidinin özellikle toprak kökenli patojen etmenlere karşı çok dayanıklı olmadığı kanaatine varılmıştır.

Bitkilerin verdikleri tepkiler bakımından biyokimyasal testlerin marker olarak kullanılması da hastalık etmenin ve bitki çeşidinin karakteri açısından hızlı ve güvenilir sonuç vermiştir.

5.2. Öneriler

Kullanılan tüm çeşitler fungal etmenlerden etkilenmiş olup SC 2121 ve H 2274 domates çeşitleri kısmen dayanıklılık göstermiştir. Ancak patojenlerin yeni isolatlar dayanıklılık bariyerlerini kırmakta dolayısı ile yeni çeşitlere ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca hastalık etmenin ve bitki çeşidinin daha iyi karakterize

edilmesi için mevcut biyokimyasal deneyler yaygınlaştırılmalı ve yeni marker enzimler ile daha kesin ve hızlı yollar aranmalıdır.

KAYNAKLAR

- AKYALÇIN, N., 1971. Çukurova Bölgesinde Görülen Çökerten Hastalığı ve Mücadelesi Üzerine Araştırmalar, Bitki Koruma Bülteni 11 (1): 33 – 52.
- ANAND, T., CHANDRASEKARAN, A., KUTTALAM, S., RAGUCHANDER, T., PRAKASAM, V. and SAMIYAPPAN R., 2007. Association of some plant defense enzyme activities with systemic resistance to early leaf blight and leaf spot induced in tomato plants by azoxystrobin and *Pseudomonas fluorescens* Journal of Plant Interactions, 2(4): 233-244.
- ANONYMOUS, 1998. Tarımsal Yapı ve Üretim 1989. DİE Yayın No: 1505 Ankara.
- ARNON, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24 (1): 1-15.
- BATES, L.S., WALDREN, R.P. and TEARE, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- BRADFORD, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- CAPELLI, C. , POLVERARI, A. and STRAVATO, V. M., 1993. *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* on the Eggplant. *Informatore-Fitopatologica*, 43(10): 51- 54.
- CHAUDHARY, M.T., MERRETT, M.J., WAINWRIGHT, S.J., 1997. Growth, ion content and praline accumulation in NaCl-selected and non-selected cell lines of Lucerne cultured on sodium and potassium salts. *Plant Science* 127: 71-79.
- CVĪKOROVÁ, M., HRUBCOVÁ, M., VÁGNER, M., MACHÁCKOVÁ, I. and EDER J., 1994. Phenolic acids and peroxidase activity in alfalfa (*Medicago sativa*) embryogenic cultures after ethephon treatment. *Physiologia Plantarum*, 91:226-233.
- DİKİLİTAS, M., 2003. Effect of salinity ve its interactions with *Verticillium albo-atrum* on the disease development in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and lucerne (*Medicago sativa* & *M. media*) plants. Ph.D. Thesis, University of Wales, Swansea.
- DİXON, R.A., DEY, P.M., LAWTON, M.A. and LAMB, C.J., 1983. Phytoalexin induction in French bean. Intercellular transmission of elicitation in cell suspension cultures and hypocotyl sections of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology* 71: 251–256.
- ESENTEPE, M., KARCİLİOĞLU, A. ve SEZGİN, E., 1972. The first report of *Verticillium* on sesame and okra in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology* 1: 127–129.
- ESYANTI, R., 1993. A study of factors affecting phytoalexin production in tissues of lucerne (*Medicago sativa* L.). Ph.D. Thesis University of Wales.
- HOOG, G. S., GUARRO, J., GENNE and M., FİGUEARAS, J., 2000. Atlas of Clinical Fungi, ve ed., vol. 1. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.

- ISAAC, I. , 1967. Speciation in *Verticillium*. *Annual Review of Phytopathology* 5: 201–222
- KARACA , I., KARCİLIOĞLU, A. and CEYLAN, S., 1971. Wilt disease of cotton in the Ege Region of Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology* 1: 4–11.
- KUTUVA, I. and M., PETKOVA, 1975. Fusarium Of Carnation and Its Control. B /G. Plod, Zelench, Konserv. 11 / 12. 37 – 40 Rew. of Pl. Path. 56. 4555.
- LATUNDE-DADA, A.O. and LUCAS, J.A., 1982. Variation in resistance to *Verticillium* wilt within seedling populations of some varieties of lucerne (*Medicago sativa*). *Plant Pathology* 31: 179–186.
- MILLER, P.R. and CHRISTIE, B.R., 1991. Genetics of resistance to *Verticillium* wilt in Vertus alfalfa. *Crop Science* 31: 1492–1495.
- MILTON, J.M., ROGERS, W.G. and ISAAC, I. , 1971. Application of acrylamide gel electrophoresis of soluble fungal protein to taxonomy of *Verticillium* species. *Transactions of the British Mycological Society* 56(1): 61–63.
- MISHRA, V., SRIVASTAVA, G., PRASAD, S.M. and ABRAHAM, G., 2008. Growth, photosynthetic pigments and photosynthetic activity on seedling stage of *Vigna unguiculata* in response to UV-B and dimethoate. *Pestic. Biochem. Physiol.* 92, 30–37.
- MOLLER-NIELSEON, H. J. and ANDEREASEN, B., 1971. *Verticillium albo-atrum* in lucerne I. The effect of different methods inoculation. *Kongelige Verterinaer-og Landbohoisholes Aarsskrift, Kobenhavn*: P 35–49.
- NEES VON ESENBECK, C.G., 1816. Das systemder pilze und Schwamme. Stahelschen Buch handlung. Wurzburg.
- PENNYPACKER, B.W. and LEATH, K.T., 1986. Anatomical response of a susceptible alfalfa clone infected with *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology*, 76 (5): 522–527.
- PENNYPACKER, B.W., LEATH, K.T. and HILL, R.R., J.R., 1988. Growth and flowering of resistant alfalfa infected by *Verticillium albo-atrum*. *Plant Disease* 72: 397–400.
- PENNYPACKER, B.W., LEATH, K.T. and HILL, R.R., J.R., 1990. Growth and physiological response of resistant alfalfa clones infected with *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology* 80(11): 1247–1253.
- PENNYPACKER, B.W., 1991. *Verticillium* wilt of alfalfa: Water relations, carbon assimilation, and growth resistant alfalfa (*Medicago sativa* L.) infected with *Verticillium albo-atrum* Rke. et Berth., and the influence of drought on the host pathogen interaction Ph.D. Thesis The Pennsylvania State University.
- PENNYPACKER, B. W. , LEATH, K. T., and HILL, J. R., 1991. Impact of Drought Stress on the Expression of Resistance to *Verticillium albo-atrum* in alfalfa. *Phytopathology*, 81: 1014–1024.
- PENNYPACKER, B.W. and LEATH, K.T., 1986. Anatomical response of a susceptible alfalfa clone infected with *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology* 76(5): 522–527.

- REUVENI, R., SHIMONI, M. and KARCHI, Z., 1990. Rapid Assay for Monitoring Peroxidase Activity in Melon as a Marker for Resistance to *Pseudoperonospora cubensis*J. Phytopathology 129: 333—338. 1990.
- SAĞIR, A., 1988. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Kavun ve Karpuzlarda Kök ve Kökboğazı Çürüklüğüne Neden Olan Fungal Etmenler, Bitki Koruma Bülteni, 28, 3-4, 141-149, (1988).
- SEZGİN, E., KARCIOĞLU, A., M.ESENTEPE ve ONAN, E., 1984. Ege Bölgesinde Ticari Amaçlı Yetiştirilen Süs Bitkilerinde Görülen Hastalık, Zararlı, Yabancı Otlar ve Bunlarla Savaşım Olnaklarının Saptanması Üzerinde Araştırmalar. İzmir Bölgesi Zir. Müc. Arş. Enst. Proje A. 105 – 023 / 1. Proje Nihai Raporu (1979 – 1984).
- VELAZHAHAN, R., VIDHYASEKARAN, P., 1994. Role of phenolic compounds, peroxidase and polyphenol oxidase in resistance of groundnut to rust. Acta Phytopathologica Entomologica Hungarica 29: 23-29.
- YILDIRIM, M. ve SAĞIR, A., 1999. Pamuk (*Gossypium hirsutum* L.)' ta Kullanılan Farklı Azot Form ve Dozlarının Solgunluk Hastalığı (*Verticillium dahliae* Kleb.) Üzerine Etkileri (The Effect of Diferent Nitrogen Forms and Doses on Verticillium Wilt of Cotton). Türkiye 3.Tarla bitkileri Kongresi, 15-20 Kasım 1999, Adana.
- YÜCEL, S., 1994. Akdeniz Bölgesi Örtü Altı Sebze Alanlarında Görülen Fungal Hastalıklar, Bitki Koruma Bülteni C 34 N:1-2 S: 23-24.
- ZAUBERMAN, G., RONEN, R., AKERMAN, M., WEKSLER, A., ROTI and FUCHS A., 1991. Postharvest retention of the red color of litchi fruit pericarp. Scientia Horticulturae, 47 (1-2): 89-97.

ÖZGEÇMİŞ

27.09.1974 yılında Diyarbakır' da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Diyarbakır'da tamamladı. 1992 yılında kazandığı Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünden 1996 yılında mezun oldu. 2004 yılında Harran Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

ÖZET

Bu araştırmada, domates bitkisi eşitlerinde (SC 2121, H 2274, Ancor ve Falcon) *V. dahliae* ve *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum*'un patojenik etkileri araştırılmıştır. Domates eşitleri çimlendirme kaplarında (12x14x6 cm) oda sıcaklığında imlendirilmiş. PDA kültür ortamında geliştirilen funguslar inokulasyon için kullanılmıştır. Hastalık etmenlerinin bitkiler üzerindeki patojenik etkileri bakımından birbirlerinden farklı etki yapmadıkları ancak çeşitlerin reaksiyonları açısından farklılıklar olduğu görülmüştür. Bitkiler boy ve ağırlık ve klorofil bakımından negatif yönde etkilenmiş, kısmen dayanıklı olarak görülen SC 2121 ve H 2274 eşitleri diğer çeşitlere ve kontrol grubuna göre daha yüksek proline sentezi ve POD ve PPO enzim aktiviteleri ile diğer çeşitlerden ve kendi kontrol gruplarından istatistik olarak önemli bulunmuştur. Çalışmada kullanılan çeşitler, hastalık etmenlerinin virulent ırklarına karşı hassasiyet göstermiş, kısmen dayanıklı çeşitler ise yüksek metabolitler sentezlemişlerdir.

Sürekli olarak yenilenen fungusların etkinliği ve bitkide yol açtığı değişiklikler biyokimyasal olarak takip edilmiş, bitkilerin biyokimyasal karakterizasyonu yapılmıştır.

SUMMARY

In this study, pathogenic effects of *V. dahliae* and *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum* were evaluated on various tomato cultivars (SC 2121, H 2274, Ancon ve Falcon). Tomato seedlings were germinated in trays (12x14x6 cm) of seedlings at room temperature. The fungi grown on PDA were used for the inoculation. The pathogenic agents did not differ from each other regarding with the pathogenic effects on cultivars, however, the response of cultivars to the pathogens changed. The cultivars were affected negatively in height, relative growth rate and chlorophyll contents. Moderately resistant cultivars such as SC 2121 and H 2274 exhibited statistically higher proline contents as well as higher POD and PPO activities when compared to the other cultivars and their own control groups. The cultivars used in the study showed susceptibility to the virulent races of the pathogens, however, relatively more resistant cultivars exhibited higher metabolites.

Continuously renewed fungal agents in nature are able to break down the resistance barrier of plants. With this study, the biochemical changes in plants were also determined and characterized by biochemical assays.