

T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
2018-DR-002

AYDIN VE MERSİN İLLERİNDEN TOPLANAN  
ÇİLEKLERDE *BOTRYTIS CINEREA*  
POPULASYONLARINDAKİ TRANSPOZON  
SIKLIĞI VE FUNGUSİT DİRENÇLİLİĞİ

Bahadır TÖRÜN

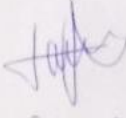
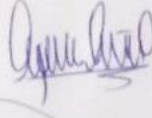
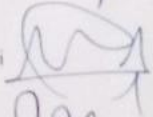
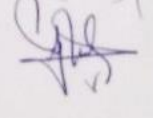

Tez Danışmanı:  
Prof. Dr. Hacı Halil BIYIK

AYDIN



**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Bahadır TÖRÜN tarafından hazırlanan Aydın ve Mersin illerinden toplanan çileklerde *Botrytis cinerea* populasyonlarındaki transpozon sıklığı ve fungusit dirençliliği başlıklı tez, 30/03/2018 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan :	Prof. Dr. Halil BIYIK	Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :	Prof. Dr. Celal ÜLGER	Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye :	Prof. Dr. Mustafa ATEŞ	Ege Üniversitesi	
Üye :	Doç. Dr. Emel SÖZEN	Anadolu Üniversitesi	
Üye :	Doç. Dr. Esin POYRAZOĞLU	Adnan Menderes Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun .....Sayılı kararıyla .....(tarih) tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Aydın ÜNAY  
Enstitü Müdürü



**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

30/03/2018

Bahadır TÖRÜN



## ÖZET

### AYDIN VE MERSİN İLLERİNDEN TOPLANAN ÇİLEKLERDE *Botrytis cinerea* POPULASYONLARINDAKİ TRANSPOZON SIKLIĞI VE FUNGUSİT DİRENÇLİLİĞİ

Bahadır TÖRÜN

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hacı Halil BIYIK

2018, 111 Sayfa

Çilek, hem sanayiye elverişli hem de taze olarak tüketilebilen lezzetli ve hoş kokulu bir meyvedir. Üretimde verimi etkileyen en önemli faktörlerden biri bitki koruma problemleridir. Funguslar ürettikleri metabolitlerden dolayı, halk sağlığını tehdit etmenin yanı sıra ciddi ekonomik zararlara da sebep olabilmektedir. *Botrytis cinerea* dünya çapında 200'den fazla türü enfekte edebilen nekrotrofik bir bitki patojenidir. Çileklerde, *B. cinerea* populasyonlarındaki transpozon sıklığı ve fungusit dirençliliğini belirlemek amacıyla Aydın ilinden üç, Mersin ilinden ise iki lokaliteden örnekler toplanmıştır. Toplanan örnekler PDA besiyerinde saflaştırılmıştır. Saflaştırılan örneklerin morfolojik ve moleküler tanısı yapılmış sonra belirlenen transpozon bölgeleri PCR ile çoğaltılmıştır. Toplamda elde edilen 154 *B.cinerea* izolatının % 21,1'i *transposa*, %46,1'i *boty*, %10,4'ü *flipper* ve %23,4'ü *vacuma* grubu olarak bulunmuştur. Aydın populasyonunda *transposa* % 19,5, *boty* % 48,3; *flipper* % 9,2 ve *vacuma* % 23,0 oranında bulunurken Mersin populasyonunda *transposa* % 20,9; *boty* % 43,3; *flipper* % 11,9 ve *vacuma* % 23,9 oranında bulunmuştur. Fungusit testlerinin spor aşamasında en etkili fungusit cyprodinil olurken, misel aşamasında fenhexamid olarak bulunmuştur. Yapılan denemelerde fungusitlere direnç durumu, fungusite göre değişmesine rağmen en hassas grup *Flipper* olarak gözlenmiştir. Test edilen üç fungusit içinde *B.cinerea*'ya karşı en etkili fungusit, en düşük dozda etki gösteren Fenhexamid iken ikinci sırada Cyprodinil, üçüncü sırada ise Carbendazim olarak bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Botrytis cinerea*, *Boty*, *Flipper*, Çilek, Transpozon, Fenhexamid, Fungusit dirençliliği





## ABSTRACT

### FREQUENCY OF TRANSPOSABLE ELEMENTS AND FUNGICIDE RESISTANCE IN *Botrytis cinerea* POPULATIONS ON STRAWBERRIES FROM AYDIN AND MERSIN PROVINCES

Bahadır TÖRÜN

PhD Thesis, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Hacı Halil BIYIK

2018, 111 Pages

Strawberry is a delicious fruit that can be consumed fresh and can be used in industry. One of the important factors that effects yield is the plant protection problems. Because of the metabolites that fungi produce, especially in foods, they pose a threat to health and also cause economical problems. *Botrytis cinerea* causes grey mold disease in over 200 plant species. For the purpose of detecting transposon frequencies and fungicide resistance samples were collected from three different localities from Aydın province, and from two different localities from Mersin province. Samples were incubated on PDA medium and then isoleted from mixed cultures. Morphological and molecular identification of the samples were made. Transposon sites were amplified by PCR. In total 154 *B.cinerea* samples were isolated of which consists *transposa* 20.1 %, *boty* 46.1 %, *flipper* 10.4 % and *vacuma* 23.4 %. In Aydın population *transposa* 19.5 %, *boty* 48.3 %, *flipper* 9.2 % and *vacuma* 23.0 %, in Mersin *transposa* 20.9 %, *boty* 43.3 %, *flipper* 11.9 % and *vacuma* 23.9 % was found. In spore stage tests of fungicide tests cyprodinil was found the most effective while fenhexamid was found the less effective. In mycelium stage tests of fungicide tests fenhexamid was found the most effective with the lowest concentration while carbendazim was found the less effective with the highest concentration. *Flipper* group was found most sensitive to the tested fungicides.

**Key Words:** *Botrytis cinerea*, *Boty*, *Flipper*, Transposon, Fenhexamid Fungicide resistance



## ÖNSÖZ

*Botrytis cinerea* hem tarımsal hem de sanayi bitkilerinde kurşuni küf hastalığına neden olan bir bitki patojenidir. Her yıl ağır maddi kayıplara yol açmaktadır. *B.cinerea* populasyonlarının genetik yapısının belirlenmesi, fungusit kullanımının bilinçli yapılmasına katkı sağlayacaktır.

Doktora eğitimim sırasında bana hem akademik hem de diğer konularda yardımcı olan doktora tez danışmanı hocam Prof. Dr. H. Halil BIYIK'a teşekkürlerimi sunarım.

Adnan Menderes Üniversitesinde bulunduğum süre boyunca benden desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Fevzi BARDAKÇI'ya, Prof. Dr. Celal ÜLGER'e, Doç. Dr. Esin POYRAZOĞLU'na, beni doktora eğitimimde de yalnız bırakmayan yüksek lisans tez danışmanı hocam Doç. Dr. Emel SÖZEN'e, moleküler çalışmalarda bana yardımcı olan Doç. Dr. Can YILMAZ'a teşekkür ederim.

Arazi çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Mehmet Ali YÖRÜKCE ve Fatma YAMAN'a teşekkür ederim.

Arkadaşlarım Dr. Emin BOZKURT, Dr. Esra YAYLAGÜL, Zeynep YILMAZ, Habibe GÜLER, Yusuf GEROĞLU ve diğer arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bana her zaman destek olan aileme teşekkür ederim.

Tez çalışmamın yürütülebilmesi için FEF-16022 No'lu proje ile maddi destek sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Proje Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tezde yer alan Mersin ilinin Anamur ilçesinde çıkan fungal türler 5-8 Temmuz 2017 Minsk, Belarus'ta düzenlenen Symposium on Euroasian Biodiversity (SEAB) 2017 adlı kongrede "Biodiversity of Fungi in Strawberry Fields in Anamur, Turkey" adı altında sunulmuş ve aynı adla International Journal of Secondary Metabolites adlı dergide yayınlanmıştır (DOI: 10.21448/ijsm.346209).

Bahadır Törün



## İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM .....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ .....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xvii
KISALTMALAR DİZİNİ .....	xix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xxiii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxvii
1 . GİRİŞ .....	1
1.1 . Dünya’da ve Türkiye’de Çilek.....	3
1.2 . Fungal Patojen <i>Botrytis cinerea</i> .....	6
1.3 . Transpozonlar.....	10
1.4 . Fungusitler.....	10
1.5 . Tür Tanılamada Kullanılan Belirteç Sistemleri.....	14
1.5.1 . Morfolojik Belirteçler .....	14
1.5.2 . Moleküler Belirteçler .....	15
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	17
2.1. Dünya’da Yapılan Çalışmalar .....	17
2.2. Türkiye’de Yapılan Çalışmalar .....	23

3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	26
3.1. Örneklerin Toplanması ve İzolatların Saflaştırılması.....	26
3.1.1. Örneklerin Toplanması.....	26
3.1.2. Kullanılan Besiyeri ve Çözeltiler .....	26
3.1.3. İzolatların Saflaştırılması.....	30
3.1.4. Morfolojik Tanılama .....	31
3.2. Genomik DNA İzolasyonu .....	31
3.3. Transpozonların Belirlenmesi, Gruplandırma ve ITS-PCR .....	33
3.4. Fungusit Direnç Testleri .....	35
3.5. Veri Analizi .....	39
4. BULGULAR .....	40
4.1. Morfolojik Tanılama .....	40
4.2. Genomik DNA İzolasyonu .....	41
4.3. Moleküler Tanılama ve Transpozonların Belirlenmesi .....	42
4.3.1. ITS-PCR .....	42
4.3.2. Transpozon Belirlenmesi.....	48
4.4. Fungusit Dirençlilik Testleri.....	68
4.4.1. Spor Aşaması Dirençlilik Testleri .....	68
4.4.2. Misel Aşaması Dirençlilik Testleri.....	73
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	89
5.1. Morfolojik ve Moleküler Tanılama .....	89

5.2. <i>Botrytis cinerea</i> Populasyonlarının Transpozon Gruplandırması .....	90
5.3. Fungusit Dirençlilik Testleri .....	93
5.4. Sonuç .....	96
KAYNAKÇA .....	98
ÖZGEÇMİŞ .....	109





## SİMGELER DİZİNİ

$\beta$  : Beta

> : Büyüktür

< : Küçüktür

$\mu$  : Mikro

$^{\circ}\text{C}$  : Santigrat derece



## KISALTMALAR DİZİNİ

ACT	: Aktin
ADP	: Adenozin di-fosfat
AICc	: Akaike Bilgi Kriteri, düzeltilmiş
ATP	: Adenozin tri-fosfat
bç	: Baz çifti
BenA	: $\beta$ -tubulin
BIC	: Bayesian Bilgi Kriteri
CAM	: Kalmodulin
CAPS	: Bölünmüş Amplifiye Polimorfik Diziler
cDNA	: Komplementer DNA
CTAB	: Cetyl trimethylammonium bromide
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dH <sub>2</sub> O:	: Distile su
EC <sub>50</sub>	: Etkili Doz 50 %
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
ELISA	: Enzyme-bağlı immunosorbent assay
FAO	: Food and Agriculture Organisation
FISH	: Floresan In-Situ Hybridizasyon
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su
G	: Gamma Dağılımı

GAPDH	: Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz
GIP	: Büyüme İnhibisyon Yüzdesi
GTR	: General Time Reversible
HKY	: Hasegawa-Kishino-Yano
I	: Evrimsel Değişmez
IC <sub>50</sub>	: İnhibisyon dozu 50 %
IFAS	: Institute of Food and Agricultural Sciences
IPM	: Entegre patojen yönetimi
ITS	: Internal Transcribed Spacer
ITR	: Internal Tandem Repeat
JC	: Jukes – Cantor
K2	: Kimura 2
kb	: Kilobaz
L	: Litre
lnL	: Maximum Benzerlik Değeri
LPM	: Laktofenol Pamuk Mavisi
LTR	: Uzun Uç Tekrarı
MEA	: Malt Extract Agar
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
MM	: Minimal Media

$\mu\text{L}$	: Mikrolitre
$\mu\text{m}$	: Mikrometre
$\mu\text{g}$	: Mikrogram
nm	: Nanometre
ORF	: Açık Okuma Çerçevesi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	: Potato Dextrose Agar
PVP	: Polivinilpirimidin
RAPD	: Rastgele Amplifiye Polimorfik DNA
RFLP	: Restriksyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
RPB2	: RNA polimeraz II
sdH <sub>2</sub> O	: Steril distile su
TE	: Transpozon
TN93	: Tamura – Nei
T92	: Tamura 3
X <sup>2</sup>	: ki-kare



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Dünya’da Çilek Üretimi (FAOSTAT, 2017) .....	4
Şekil 1.2 2010-2014 Dünya Çilek Üretimi (FAOSTAT, 2017) .....	5
Şekil 1.3 <i>B.cinerea</i> . a)petri görüntüsü, b)misel görüntüsü, c)spor yapıları.....	7
Şekil 1.4 <i>B.cinerea</i> yaşam döngüsü (Elad ve ark, 2016).....	8
Şekil 1.5 <i>B.cinerea</i> yaşam döngüsünde görülen belirtiler. Eşeyli üreme laboratuvar koşullarında oluşturulabilse de doğada nadir görülür ve kurşuni küf epidemiyolojindeki rolü kesin değildir (Elad ve ark., 2016) .....	9
Şekil 3.1 DNA izolasyon prosedürü şematik gösterimi (Doyle ve Doyle, 1987) ..	32
Şekil 3.2 Spor denemesi şematik gösterimi (Vercesi ve ark, 2014).....	37
Şekil 3.3 Misel denemesi şematik gösterimi (Fekete ve ark, 2012).....	38
Şekil 4.1 <i>B.cinerea</i> 10 günlük petri görüntüsü.....	40
Şekil 4.2 <i>B.cinerea</i> konidiafor ve konidia mikroskop görüntüsü.....	41
Şekil 4.3 Genomik DNA’nın agaroz jelde görüntülenmesi (M:1 kb DNA marker (GenMark), 9xx: Aydın örnekleri, 33xx: Mersin örnekleri).....	42
Şekil 4.4 Maximum likelihood yöntemiyle elde edilen filogenetik ağaç. İlişkili taksonların bir araya getirildiği ağaçların yüzdesi bootstrap (1000 tekrar) testi ile belirlenmiş ve dalların yanında verilmiştir .....	47
Şekil 4.5 Boty transpozonu PCR sonuçlarının agaroz jelde görüntülenmesi (M:100 bp DNA marker (GenMark), 9xx: Aydın örnekleri, 33xx: Mersin örnekleri) .....	49
Şekil 4.6 Boty transpozonu GenBank eşleşmesi .....	50

Şekil 4.7 Flipper transpozunu PCR sonuçlarının agaroz jelde görüntülenmesi (M:100 bp DNA marker (GenMark), 9xx: Aydın örnekleri, 33xx: Mersin örnekleri) .....	51
Şekil 4.8 Flipper transpozunu GenBank eşleşmesi .....	52
Şekil 4.9 Örneklerin gruplara göre frekans dağılımları (1: Transposa, 2: Boty, 3: Flipper, 4: Vacuma). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir .....	57
Şekil 4.10 Anamur örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: Transposa, 2: Boty, 3: Flipper, 4: Vacuma). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.....	59
Şekil 4.11 Atça örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: Transposa, 2: Boty, 3: Flipper, 4: Vacuma). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.....	60
Şekil 4.12 Silifke örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: Transposa, 2: Boty, 3: Flipper, 4: Vacuma). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.....	61
Şekil 4.13 Sultanhisar örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: Transposa, 2: Boty, 3: Flipper, 4: Vacuma). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir .....	62
Şekil 4.14 Yenipazar örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: Transposa, 2: Boty, 3: Flipper, 4: Vacuma). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.....	63
Şekil 4.15 Aydın ili örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: Transposa, 2: Boty, 3: Flipper, 4: Vacuma). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.....	65
Şekil 4.16 Mersin ili örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: Transposa, 2: Boty, 3: Flipper, 4: Vacuma). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.....	66
Şekil 4.17 Fenhexamid'e ait GIP değerlerinin box-whiskered grafiği.....	70



Şekil 4.18 Carbendazim'e ait GIP değerlerinin box-whiskered grafiği .....	71
Şekil 4.19 Cyprodinil'e ait GIP değerlerinin box-whiskered grafiği .....	72
Şekil 4.20 Fenhexamid'e ait misel aşaması yüzde inhibisyon grafiği.....	74
Şekil 4.21 Fenhexamid'e ait 5 mg/l konsantrasyonda <i>Boty</i> grubuna ait üreme .....	75
Şekil 4.22 Fenhexamid'e ait 5 mg/l konsantrasyonda <i>Vacuma</i> grubuna ait üreme	75
Şekil 4.23 Fenhexamid'e ait 5 mg/l konsantrasyonda <i>Flipper</i> grubuna ait üreme.	76
Şekil 4.24 Fenhexamid'e ait 5 mg/l konsantrasyonda <i>Transposa</i> grubuna ait üreme .....	76
Şekil 4.25 Carbendazim'e ait misel aşaması yüzde inhibisyon grafiği .....	78
Şekil 4.26 Carbendazim'e ait 5 mg/l konsantrasyonda <i>Vacuma</i> grubuna ait üreme .....	79
Şekil 4.27 Carbendazim'e ait 5 mg/l konsantrasyonda <i>Boty</i> grubuna ait üreme....	79
Şekil 4.28 Carbendazim'e ait 5 mg/l konsantrasyonda <i>Transposa</i> grubuna ait üreme .....	80
Şekil 4.29 Carbendazim'e ait 5 mg/l konsantrasyonda <i>Flipper</i> grubuna ait üreme	80
Şekil 4.30 Cyprodinil'e ait misel aşaması yüzde inhibisyon grafiği .....	82
Şekil 4.31 Cyprodinil'e ait 20 mg/l konsantrasyonda <i>Boty</i> grubuna ait üreme.....	83
Şekil 4.32 Cyprodinil'e ait 20 mg/l konsantrasyonda <i>Flipper</i> grubuna ait üreme .	83
Şekil 4.33 Agar delici ile koloni kenarından plaka alınması (sağda) ve MM ortamına yerleştirilmesi (solda) .....	84
Şekil 4.34 MM üzerinde Fenhexamidli besiyerinden aktarılan <i>Transposa</i> grubu üremesi.....	86

Şekil 4.35 MM üzerinde Carbendazimli besiyerinden aktarılan *Vacuma* grubu üremesi..... 86

Şekil 4.36 MM üzerinde Cyprodinilli besiyerinden aktarılan Boty grubu üremesi87

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 <i>Botrytis cinerea</i> taksonomik sınıflandırması (Index Fungorum) .....	6
Çizelge 1.2 Türkiye’de yıllara göre tüketilen pestisit türleri ve miktarları. 2006-2013 arası kullanılan pestisit türleri ve kullanım miktarları. Miktarlar ton cinsinden verilmiştir. Verilere bakır sülfat ve toz kükürt dahil değildir.....	12
Çizelge 3.1 PDA besiyeri bileşen ve miktarları .....	26
Çizelge 3.2 MEA besiyeri bileşen ve miktarları .....	27
Çizelge 3.3 FTS bileşen ve miktarları .....	27
Çizelge 3.4 Laktofenol mavisi stok çözelti bileşen ve miktarları .....	27
Çizelge 3.5 Laktofenol mavisi bileşen ve miktarları.....	28
Çizelge 3.6 Tween- 80 çözeltisi bileşen ve miktarları .....	28
Çizelge 3.7 HA Broth bileşen ve miktarları .....	28
Çizelge 3.8 MM besiyeri bileşen ve miktarları .....	29
Çizelge 3.9 Fenhexamid çözeltisi bileşen ve miktarları.....	29
Çizelge 3.10 Carbendazim çözeltisi bileşen ve miktarları .....	29
Çizelge 3.11 Cyprodinil çözeltisi bileşen ve miktarları .....	30
Çizelge 3.12 CTAB çözeltisi bileşen ve miktarları.....	30
Çizelge 3.13 Kullanılan PCR bileşenlerinin konsantrasyon ve miktarları (Boty)..	33
Çizelge 3.14 Kullanılan PCR bileşenlerinin konsantrasyon ve miktarları (Flipper) .....	34
Çizelge 3.15 Kullanılan PCR bileşenlerinin konsantrasyon ve miktarları (ITS) ...	34

Çizelge 3.16 Kullanılan PCR şartları (Boty).....	34
Çizelge 3.17 Kullanılan PCR şartları (Flipper).....	35
Çizelge 3.18 Kullanılan PCR şartları (ITS).....	35
Çizelge 3.19 Misel aşamasındaki fungusit testlerinde kullanılan fungusit konsantrasyonları (mg/l).....	38
Çizelge 4.1 ITS-PCR sonuçlarıyla ulaşılan tür adları ve Accession Numaraları ..	43
Çizelge 4.2 Test edilen modeller ve skorları. (BIC: Bayesian Information Criterion, AICc: Akaike Information Criterion, corrected, InL: Maximum Likelihood Value, G: Gamma Dağılımı, I: Evrimsel değişmez, GTR: General Time Reversible, HKY: Hasegawa-Kishina-Yano, TN93: Tamura-Nei, T92: Tamura3, K2:Kimura2, JC: Jukes-Cantor).....	44
Çizelge 4.3 Model testi ile belirlenen modele göre oluşturulan uzaklık matrisi .	46
Çizelge 4.4 <i>Boty</i> primer optimizasyonu bağlanma sıcaklığı aralıkları .....	48
Çizelge 4.5 <i>Boty</i> primer optimizasyonu bileşen miktarları .....	48
Çizelge 4.6 <i>Flipper</i> primer optimizasyonu bağlanma sıcaklığı aralıkları .....	49
Çizelge 4.7 <i>Flipper</i> primer optimizasyonu bileşen miktarları.....	51
Çizelge 4.8 <i>B.cinerea</i> transpozon grupları ve konumları. (9A: Atça, 9S: Sultanhisar, 9Y: Yenipazar, 33A: Anamur, 33S: Silifke).....	53
Çizelge 4.9 Örneklerin gruplara göre frekans ve yüzde dağılımları (1: <i>Transposa</i> , 2: <i>Boty</i> , 3: <i>Flipper</i> , 4: <i>Vacuma</i> ). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir) .....	57
Çizelge 4.10 Örneklerin konumlara göre frekans ve yüzde dağılımları (1: <i>Transposa</i> , 2: <i>Boty</i> , 3: <i>Flipper</i> , 4: <i>Vacuma</i> ). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir .....	58

Çizelge 4.11 Örneklerin illere göre frekans ve yüzde dağılımları (1: <i>Transposa</i> , 2: <i>Boty</i> , 3: <i>Flipper</i> , 4: <i>Vacuma</i> ). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.....	64
Çizelge 4.12 Örneklerin konum-grup crosstab tablosu (1: <i>Transposa</i> , 2: <i>Boty</i> , 3: <i>Flipper</i> , 4: <i>Vacuma</i> ). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir .....	67
Çizelge 4.13 Örneklerin konum-grup arası Ki-Kare testi. İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.....	67
Çizelge 4.14 Fenhexamid'e ait 492 nm absorbands değerleri (Kons: Konsantrasyon, K: Negatif kontrol) .....	68
Çizelge 4.15 Carbendazim'e ait 492 nm absorbands değerleri (Kons: Konsantrasyon, K: Negatif kontrol).....	68
Çizelge 4.16 Cyprodinil'e ait 492 nm absorbands değerleri (Kons: Konsantrasyon, K: Negatif kontrol) .....	68
Çizelge 4.17 Fenhexamid'e ait büyüme inhibisyon yüzdesi (GIP) değerleri.....	69
Çizelge 4.18 Carbendazim'e ait büyüme inhibisyon yüzdesi (GIP) değerleri .....	69
Çizelge 4.19 Cyprodinil'e ait büyüme inhibisyon yüzdesi (GIP) değerleri .....	69
Çizelge 4.20 Fenhexamid'e ait koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir) .	73
Çizelge 4.21 Fenhexamid'e ait yüzde inhibisyon oranları .....	73
Çizelge 4.22 Carbendazim'e ait koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir)	77
Çizelge 4.23 Carbendazim'e yüzde inhibisyon oranları .....	77
Çizelge 4.24 Cyprodinil'e ait koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir) ...	81
Çizelge 4.25 Cyprodinil'e yüzde inhibisyon değerleri.....	81
Çizelge 4.26 Fenhexamid'e ait MM koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir) .....	85

Çizelge 4.27 Carbendazim'e ait MM koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir) .....	85
Çizelge 4.28 Cyprodinil'e ait koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir)...	85
Çizelge 4.29 Fenhexamid için hesaplanan maksimum, minimum, IC <sub>50</sub> ve Hill katsayısı değerleri .....	87
Çizelge 4.30 Carbendazim için hesaplanan maksimum, minimum, IC <sub>50</sub> ve Hill katsayısı değerleri .....	88
Çizelge 4.31 Cyprodinil için hesaplanan maksimum, minimum, IC <sub>50</sub> ve Hill katsayısı değerleri .....	88

## 1. GİRİŞ

Çilek (*Fragaria x ananassa* Duch.) Rosaceae familyasında bulunan, çok yıllık, her dem yeşil bir bitkidir. Çileğin anavatanı kuzey ve güney Amerika'dır. Yıllar içinde çilek kültüre alınmış, hibritlenerek farklı türler ve çeşitler elde edilmiştir. Günümüzde en yaygın kullanılan *Fragaria x ananassa* türüdür. Bu türün Festival, Sabrosa, Sabrina, Elyana, Rubygem, Sweet Charlie, Camarosa, Amiga, 503 ve Fortuna çeşitleri kullanılmaktadır. Çilek toprakta, optimum 18-22 °C'de ve 6 - 6.5 pH aralığında yetişebilen, besin değerleri yüksek, günde 12-14 saatten az güneş ışığına ihtiyaç duyan, bir kısa gün bitkisidir. Food and Agriculture Organization (FAO) 2017 verilerine göre ülkemiz çilek üretiminde Dünya'da üçüncü sıradadır. Türkiye'de ise en fazla üretim Mersin ilinde gerçekleştirilmekte olup (132.556 ton) Aydın ili çilek üretiminde ikinci sırada gelmektedir (62.859 ton). Mersin ve Aydın illerini Antalya (56.412 ton) ve Bursa (43.000 ton) izlemektedir.

Çilek dikimden, son tüketiciye ulaşana kadar pek çok hastalık etmenine maruz kalmaktadır. Bu hastalık etmenleri; toprakta, sulama suyunda, havada, hasat sırasında ve hasat sonrası taşıma ve saklama ortamlarında bulunabilmektedir. Virüsler, bakteriler ve funguslar bu hastalık etmenlerinin başında gelmektedir. Verimi, en çok bu etmenler etkilemektedir. Çileğin, hem toprak altı hem de toprak üstü organlarını etkileyen çok sayıda patojen bulunmakla beraber, başlıca fungal hastalıkların şu şekilde sıralayabiliriz: kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Pers.) başta olmak üzere, külleme (*Sphaerotheca macularis* (Wallr.:Fr.Jacz.), yaprak leke hastalığı (*Mycosphaerella fragariae* (Tul. Lindau) ve antraknoz (*Collectotrichum spp.*), rhizoctonia çürüklüğü (*Rhizoctonia solani* (Kühn), yumuşak kabuk çürüklüğü (*Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) (J. Schröt), kırmızı kök çürüklüğü (*Phytophthora fragaria* (C. J. Hickman), verticillum solgunluğu (*Verticillium alboatrum* (Kleb), *Pythium spp.* ve *Fusarium spp.*'dir.

*Botrytis* cinsi için dünya genelinde çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Patojenitesi, enfekte ettiği bitkiler arasındaki etkileşimleri ve *Botrytis* türlerinin sebep olduğu hastalıkların ekonomik önemi, bu patojeni çiftçilerin, ziraatçıların, tarım danışmanlarının ve akademisyenlerin ilgi odağı haline getirmiştir (Elad ve ark, 2016). *B. cinerea* dünya üzerinde 200'den fazla bitki türünü enfekte edebilen fungal bitki patojenidir. Tarlalarda, çiçekliklerde ve seralarda enfeksiyona yol açmaktadır. Nemin yüksek olduğu ortamlar *Botrytis* enfeksiyonu için ideal

ortamlardır. Hem tarım hem de çiçekçilik alanında ekonomik kayıplara sebep olan bu patojen, fungusitlere karşı hızlı direnç geliştirebilmesinden dolayı kimyasal mücadeleyi de zor hale getirmektedir. Genetik yapısını hızla değiştirebilmesi genetik çeşitlilik oranını arttırmakta ve direnç geliştirmesini kolaylaştırmaktadır.

Fungusit direnci terimi, bir fungusun belirli bir antifungal maddeye karşı gösterdiği, edinilmiş veya kalıtsal, duyarlılığındaki azalmadır. Fungusit duyarlılığındaki düşük seviyedeki azalmalar için ‘azalmış duyarlılık’ veya ‘tolerans’ terimi kullanılmaktadır. ‘Tarla direnci’ terimi ise tarla şartları altında gösterilen direnci, ifade etmektedir. Yani laboratuvar koşullarında direnç görülmezken, tarlada direncin görülmesi olarak açıklanabilir (FRAC, 2018). Fungusit dirençliliğinin ortaya çıkması evrimsel bir süreçtir. Belirli şartların devamlılığı, bu şartlara uyumluluğun gelişmesine sebep olmaktadır. Uygulanan fungusit, patojen üzerinde seçim baskısı oluşturarak o fungusite karşı direnç geliştirmiş bireylerin, hayatta kalmasını sağlarken yabancı tip veya hassas bireylerin elenmesine sebep olmaktadır.

Bitkilerin hastalık ve diğer zararlılardan korumak ve oluşan zararı onarmak için yapılan fiziksel, kimyasal ve biyolojik çalışmalar ‘bitki koruma’ çalışmaları olarak adlandırılır (Anonim, 2013). Fiziksel mücadele, mekanik ve termik olmak üzere ikiye ayrılır. Mekanik yöntemler, hastalıklı, kurumuş, dökülmüş bitki kısımlarının uzaklaştırılması gibi uygulamalardır. Termik yöntemler ise toprağın ve diğer üretim materyallerinin ısıtılarak dezenfekte edilmesidir. Kimyasal koruma, pestisitlerin kullanımına dayanmaktadır. Funguslar için kullanılan pestisitler fungusit, bakteriler için kullanılanlar bakteriosit, yabancı otlar için kullanılanlar herbisit ve omurgasızlar için kullanılanlar insektisit olarak adlandırılır. Kimyasal yöntemler, zararlılarla mücadelede kullanılan en yaygın ve en ucuz yöntemdir. Kimyasal mücadelede pestisitler, bitkileri hastalıklardan korurken çevre ve insan sağlığına zarar vermemesi gerekmektedir. Bu nedenle fungusitlerin biyolojik, toksik ve fiziksel özelliklerine dikkat edilmelidir. Bir fungusitin biyolojik etkinliği onun hastalık etmenine yaptığı etkidir. Toksik özelliği sıcakkanlı canlılarda gösterdiği zehir etkisidir. Fiziksel özelliği ise formülasyon şekli olarak da adlandırılır. Fiziksel özellikler, fungusite üretim sırasında verilen özelliklerdir. Biyolojik mücadele; hastalık etmenleriyle mücadelede, başka canlıların kullanılmasıdır. Biyolojik mücadelede kullanılacak olan canlı, yalnızca istenilen zararlıyı kontrol etmeli, sürekliliği olmalı ve toplu üretim için uygun olmalıdır (Baykal, 1995).



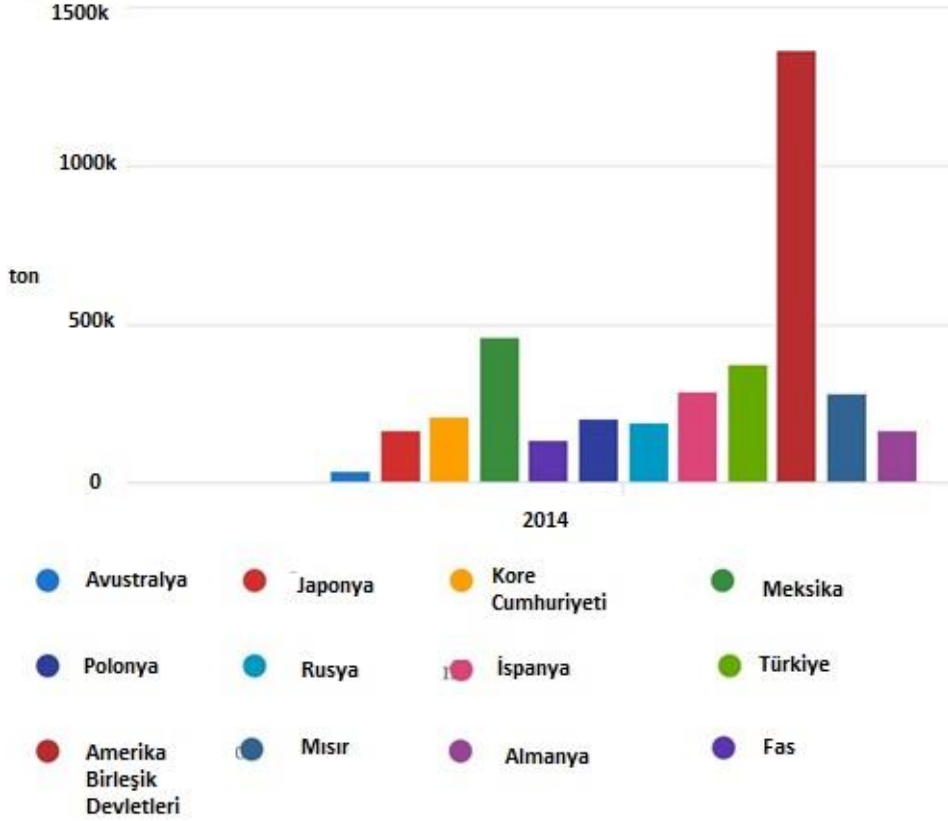
Fungusların tanılanmasında kullanılan yöntemler morfolojik ve moleküler yöntemler olarak ikiye ayrılabilir. Morfolojik yöntemlerin arasında konukçu özelleşmesi, besi ortamı, kültürde gelişimi, rengi, konidyanın yapısı, şekli, sporun yapısı ve şekli gibi mikroskobik özellikler, teleomorf yapısının bulunup bulunmaması gibi belirteçler sayılabilir. Moleküler yöntemler; DNA dizi analizi gerektirmeyen Fluorescent In-Situ Hybridization (FISH) ve DNA array hybridization ve DNA dizi analizi gerektiren ribozomal internal transcribed spacer (ITS), Calmodulin (CAL),  $\beta$ -tubulin 2 (TUB2), Aktin (ACT), gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH), RNA polimeraz II alt ünitesi (RPB2) gibi belirteçler ve Real-Time PCR uygulamalarıdır.

Yukarıda söz edilen bilgiler bize *B.cinerea*'nın fungusit dirençliliği üzerine yapılan çalışmaların devam ettirilmesinde tarım zararlıları ile mücadeleye katkı yapacağını göstermektedir. *B.cinerea*'nın transpozon yapısı ve bu yapının fungusit direnci ile ilgili çalışmalar Dünya'da az sayıda bulunurken, Türkiye'de ise daha önceden bu tür bir çalışmanın yapılmadığı literatür taramalarında görülmüştür. *B.cinerea* genetik yapısını hızla değiştirebilen bir türdür. Bu durum fungusit direncini de etkilemektedir. Bu değişimde transpozonların rolü gözardı edilemez. Bu sebeple araştırmamızda *B.cinerea* populasyonlarının transpozon yapısını belirleyerek bu patojenle daha etkili mücadele edebilmenin yolu hedef alınmıştır.

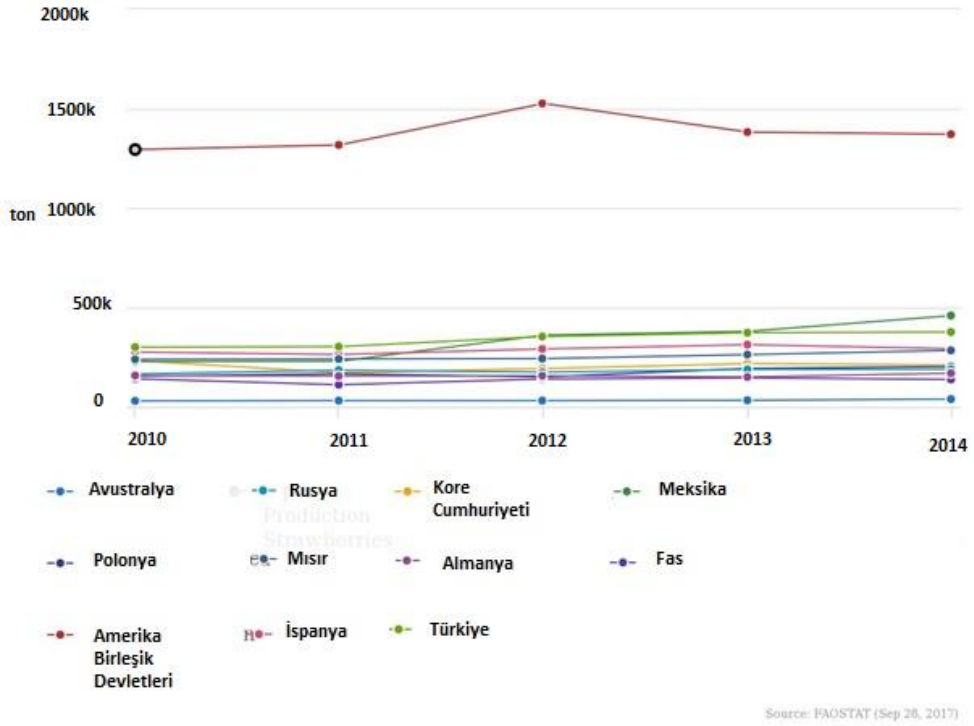
### 1.1. Dünya'da ve Türkiye'de Çilek

Çilek (*Fragaria x ananassa*) Rosaceae (Gülgiller) familyasından, üzümşü meyveler (bakka) grubundaki, çok yıllık, otsu bir bitkidir. İlkbaharda hiçbir meyvenin bulunamadığı bir zamanda olgunlaşması nedeniyle, tüketici tarafından tercih edilen bir meyvedir. Hem sanayiye elverişli hem de taze olarak tüketilebilen çok lezzetli ve hoş kokulu bir meyve türüdür. Bol miktarda A, B, C vitaminleri, kalsiyum, demir ve fosfor gibi mineral maddeler içerir. Taze olarak kullanılması yanında çileğin pastası, reçeli, kompostosu ve likörü de yapılmaktadır. İlk kültüre alınan çilek türü "Orman Çileği" olarak adlandırılan, meyveleri küçük fakat kokulu *Fragaria silvestris*'dir (Aybak, 2000). Günümüzde yetiştiriciliği yapılan kültür çeşitlerinin büyük çoğunluğu, *Fragaria chiloensis* ve *Fragaria virginiana* isimli iki türün hibritlenmesi ile elde edilen *Fragaria x ananassa*'dan elde edilmiştir (Maas, 1998). Dünyada ve ülkemizde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan çeşidi Kalifornia Üniversitesi'nde geliştirilen camarosa çeşididir. Bu çeşit günlük 12-14 saatten daha az ışığa ihtiyaç duyan kısa gün çeşidi olup erkenci ve iri

meyvelidir. Meyveleri parlak, kırmızı, sert ve taşımaya dayanıklıdır (Hancock, 1999). Çilek üretimi Dünya çapında 52 ülkede yapılmaktadır. FAO'nun 2017 verilerine göre ülkemiz Dünya çilek üretiminde üçüncü sıradadır (353.173 ton) (Şekil 1.1, 1.2).



Şekil 1.1 Dünya'da Çilek Üretimi (FAOSTAT, 2017)



Şekil 1.2 2010-2014 Dünya Çilek Üretimi (FAOSTAT, 2017)

Çilek gelişimini çevresel ve genetik faktörler etkilemektedir. Çevresel faktörleri; ışık, sıcaklık, su, nem, besin maddeleri ve atmosfer bileşimini içerirken, genetik faktörleri; kök, yaprak ve çiçek yapısı, olumsuz şartlar altında ifade edilen genlerin yapısı ve sayısı, bitkinin normal gelişimi sırasında ifade edilen genlerin yapısı olarak sıralayabiliriz. Verimi etkileyen en önemli faktörlerden biri koruma problemleridir. Yetiştirilen ürünler hem tarlada hem de hasat sonrasında pek çok viral, bakteriyel ve fungal hastalık etmenine maruz kalmaktadır. Çilekte görülen fungal hastalıklardan başlıcaları kurşuni küf (*Botrytis cinerea* (Pers.:Fr.), külleme (*Sphaerotheca macularis* (Wallr.:Fr.Jacz.), yaprak leke hastalığı (*Mycosphaerella fragariae* (Tul. Lindau), antraknoz (*Collectotrichum spp.*), rhizoctonia çürüklüğü (*Rhizoctonia solani* (Kühn), yumuşak kabuk çürüklüğü (*Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) (J. Schröt), kırmızı kök çürüklüğü (*Phytophthora fragaria* (C. J. Hickman), verticillium solgunluğu (*Verticillium alboatrum* (Kleb) dur (Maas, 1998; De los Santos vd., 2003).

## 1.2. Fungal Patojen *Botrytis cinerea*

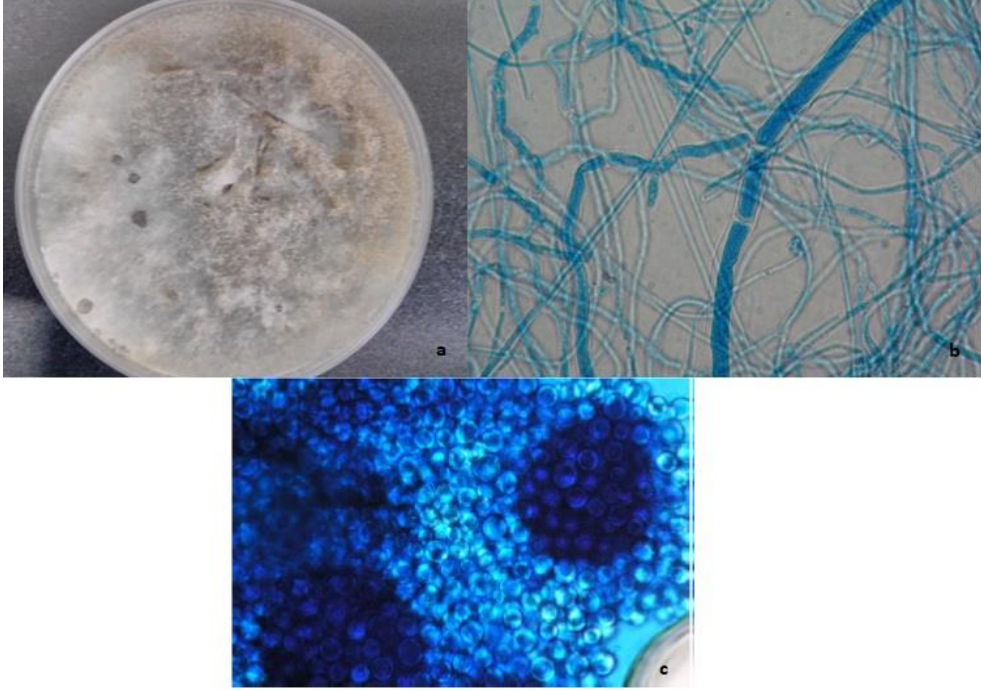
*Botrytis cinerea* Pers. (Şekil 1.3) (*Botryotinia fuckeliana* teleomorf, *Sclerotinia fuckeliana* sinonim) Pezizomycotinia alt şubesi içinde Sclerotiniaceae ailesine ait bir askomisettir (www.indexfungorum.org) (Tablo 1.1).

*B.cinerea*'nın hif ve konidia yapıları çok çekirdeklidir. Genellikle 3-6 çekirdek içerirken mikrokonidia tek çekirdek içerir (Grindle 1979; Lorenz ve Eichorn 1983; Shirane ve ark. 1988, 1989). Genç askosporlar tek bir diploid çekirdek içerirler ve mayoza giderek dört haploid çekirdek oluştururlar. Sonra mitoz ile sekiz askospor oluşur (Lorenz ve Eichorn 1983; Faretra ve Antonacci 1987 ). *B.cinerea*  $2n=16$  kromozoma sahiptir.

Çizelge 1.1 *Botrytis cinerea* taksonomik sınıflandırması (Index Fungorum)

<u><i>B.cinerea</i> taksonomik sınıflandırma</u>	
Domain	: Eukarya
Alem	: Fungi
Şube	: Ascomycota
Sınıf	: Leotiomycetes
Ordo	: Helotiales
Aile	: Sclerotiniaceae
Cins	: <i>Botrytis</i>
Tür	: <i>Botrytis cinerea</i> Pers.

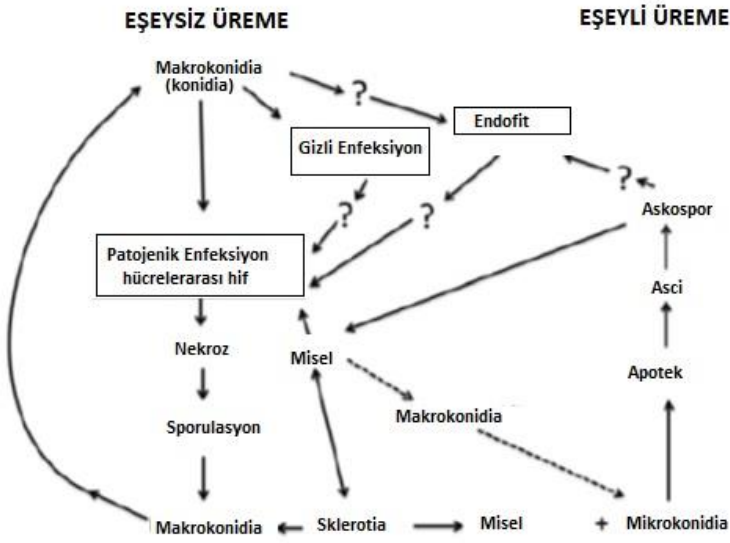
Önceleri *Botrytis cinerea* anamorf aşamanın, *Botryotinia fuckeliana* teleomorf aşamanın ismi olsa da 2011 yılında *Botrytis cinerea* olarak tek bir isim, (*one name one fungus* kuralına göre) altında birleştirilmiştir (Wingfield, 2012).



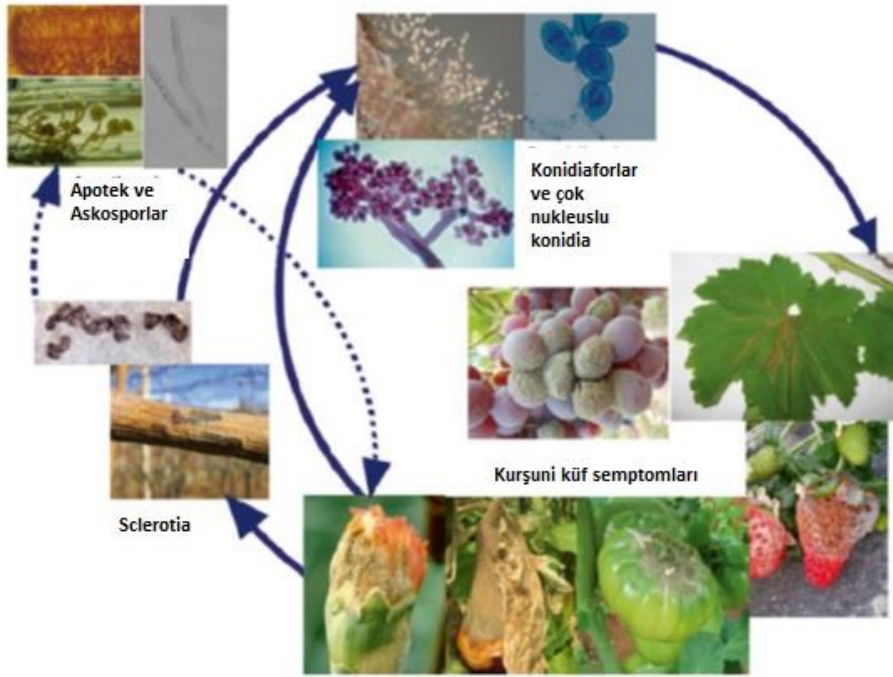
Şekil 1.3 *B. cinerea*. a) petri görüntüsü, b) misel görüntüsü, c) spor yapıları

*Bortytis* cinsi farklı biyoloji, ekoloji, morfoloji ve konakçı spektrumuna sahip türleri olan yüksek çeşitliliğe sahip bir cinstir (Elad ve ark. 2007). Moleküler yöntemlerdeki gelişmeler *Bortytis* cinsi içinde 30 tür, 1 hibrit ve bir tür kompleksi tanımlanmasını sağlamıştır (Beever ve Weeds, 2004). *Bortytis* türleri, geniş konakçı spektrumuna sahip olduğundan, tarım ve çiçekçilik sektöründe ağır ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Jarvis (1977) *Bortytis cinerea*'nın 200' den fazla bitki türünü enfekte ettiğini rapor etmiş olsa da günümüzde 586 bitki cinsini enfekte ettiği bilinmektedir (Elad ve ark. 2016). *Bortytis*'in sebep olduğu kurşuni küf genellikle açık tarlalarda, bağlarda ve seralarda görülmektedir. *B. cinerea* nekrotrofik (konakçusunu öldürerek beslenen) bir fungal patojendir. *Magnaporthe oryzae*'den sonra en önemli ikinci fungal bitki patojeni olarak literatürlerde bahsedilmektedir. (Dean ve ark., 2012). *Botrytis* enfeksiyonunun gelişimini yüksek nem teşvik eder. *B. cinerea*'nın doğal suşları arasında karyotip çeşitliliği siktir ve bazı suşları eşleşme genlerinde değişiklik olmaksızın çift-eşlilik gösterebilmektedir. Genom esnekliği ve evrimi transpozonlar gibi hareketli elementlerin (Biémont, 2010) ve inteinlerin (Liu ve Yang, 2004) varlığıyla açıklanabilir.

*Botrytis* türlerinin yaşam döngüsü eşeyli ve eşeysiz üreme olmak üzere iki aşamalıdır (Şekil 1.3). Büyüklükleri, türe göre değişen konidia oluştururlar. Nem, sıcaklık ve mikrobiyal aktiviteye bağlı olarak kısa ömürlüdür. Çevresel şartlara dayanıklı, 4 mm'ye kadar büyüyeabilen, sclerotia üretirler (Holtz ve ark. 2004). Sclerotia uygun koşullarda çimlenip misel ve konidia yapısını oluşturur (Şekil 1.4). Şekil 1.5'te ise farklı üreme aşamalarında bitki üzerindeki belirtileri görülmektedir. Erken enfeksiyonların sebebinin sclerotia olduğu düşünülmektedir (Hsiang ve Chastagner 1992). *B.cinerea*'nın eşeyli üremesi doğada yaygın olarak görülmez. Bu durumun sporokarp oluşmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Dewey ve Dawton, 2016). Mikrokonidia, çimlenme sonrası makrokonidia'dan gelişebileceği gibi yaşlı hiflerin içinden de gelişebilir (Brierley 1918; Fukumori ve ark. 2004), bu durumda mikrokonidyanın spermatia olarak davrandığı doğrulanır. (Fukumori ve ark, 2004). Alıcı sklerotial yapıların spermatia tarafından döllenmesi, askosporların oluştuğu, apotek (eşey yapıları) oluşumunu teşvik eder (Urbasch, 1983). Eşeyssel uyumluluk iki allele sahip tek lokus tarafından kontrol edilir, MAT1 ve MAT2 (Dewey ve Dawton, 2016). MAT1 ve MAT2 genellikle farklı suşlarda olsa da bazı bireylerin her iki tipinde de döllenebildiği gözlenmiştir (Amselem ve ark. 2011).



Şekil 1.4 *B.cinerea* yaşam döngüsü (Elad ve ark, 2016)



Şekil 1.5 *B.cinerea* yaşam döngüsünde görülen belirtiler. Eşeyli üreme laboratuvar koşullarında oluşturulabilse de doğada nadir görülür ve kurşuni küf epidemiyolojindeki rolü kesin değildir (Elad ve ark., 2016).

Çoğu *Botrytis* türleri dar konukçu aralığına sahip olsalar da *B.cinerea*'da bu durum geçerli değildir (Jarvis, 1977). Çünkü filogenetik analizlere göre *Botrytis* türleri iki klada ayrılır. Klad I, ödikotiledon konakçalarına patojen dört tür içerirken; klad II, monokotiledon konakçalarına patojen on beş tür, ödikotiledonlara patojen üç tür içerir, *Botrytis* türlerinin ortak ayrımının ve konak seçiminin, evrim sürecinde gerçekleşmediği, *Botrytis*'lerin türleşme sürecinde, yeni patojenite faktörlerinin kazanılmasıyla oluştuğu düşünülmektedir (Staats ve ark. 2005).

*Botrytis cinerea*'nın neden olduğu kurşuni küf, dünya çapında hem kalitatif (tat, aroma vb.) hem de kantitatif (verim, bitki sayısı vb.) kayıplara neden olmaktadır. Kurşuni küf'ün temel etkileri üzüm, domates, biber, patlıcan, salatalık, çilek, marul ve diğer salatalık malzemelerde, soğanlı bitkilerde görülmektedir. Örneğin kurşuni küf Florida'lı çilek üreticilerinin en büyük sorunlarından biridir (IFAS 2010).

### 1.3. Transpozonlar

Transpozon genom içinde konumunu değiştirebilen, mutasyon oluşturabilen veya tersine çevirebilen DNA dizileridir. İlk olarak 1950 yılında McClintock tarafından mısır bitkisinde (*Zea mays*) bulunmuş ve 1983'te Nobel ödülü kazandırmıştır (McClintock, 1950). Transpozonlar hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda mutasyonda insersiyon, delesyon ve yeniden düzenlenmelerle rol oynarlar. Transpozonlar çeşitli mekanizma ve yapılar da bulunabilen hareketli genetik elementlerdir (Feschotte ve Pritham, 2007). Ökaryotik genomların büyük bir kısmını oluştururlar ve hareketleriyle genlerin ve genomların şekillenmesinde büyük rol oynarlar. Retrotranspozonlar ve DNA transpozonları olmak üzere iki sınıfı vardır (Kapitonov ve Jurka, 2008). Retrotranspozonlar kendilerini RNA'ya kopyalarlar ve bu RNA ters transkripsiyon ile yeniden DNA'ya dönüşerek genom üzerinde yeni bölgelere yerleşirler. DNA transpozonları RNA aracısına ihtiyaç duymazlar; transpozaz enzimleriyle katalize olurlar (Craig ve ark, 2002).

*B.cinerea* genomunun yaklaşık % 1.3' ü tekrar dizilerinden oluşur (Staats ve Van Kan, 2012). *B.cinerea* da hem Sınıf I retroelementler hem de Sınıf II DNA transpozonlarına rastlanmıştır (Amselem ve ark, 2011). Kendilerini, genom üzerinde, bir yerden başka yere taşıyarak DNA dizilerinin, kromozomların, gen duplikasyonlarının, inaktivasyonlarının ve gen ifadesindeki değişimlerinin potansiyel nedeni olarak görülmüşlerdir (Fedoroff, 2012; 2013). *B.cinerea*'da bazı elementler inaktif olup atasal transpozonların kalıntıları olarak kabul edilse de (Deng ve ark, 2013), bazı çalışmalar bunların hala genetik çeşitliliğe katıldığını önermektedir. Dört grup, bir retrotranspozon olan *boty* ve DNA transpozonu *flipper* olmak üzere iki transpozonun varlığına dayanır. (Diolez ve ark. 1995; Levis ve ark. 1997; Giraud ve ark. 1999). İki transpozonu içeren grup *transpoza*, yalnızca tek bir transpozonu içeren *boty* ve *flipper*, her iki transpozonu da içermeyen *vacuma* grubudur. Bu grupların biyolojik ve patojenik davranışı buldukları bitki organına ve fungusitlere cevaplarına göre kısmi özelleşme ile ilişkilendirilebilir (Martinez ve ark. 2005; Pollastro ve ark. 2007; Samuel ve ark. 2012).

### 1.4. Fungusitler

Tarımsal mücadele; bitkilerin, hastalıklardan, zararlıların ve yabancı otların etkilerinden ekonomik ölçüler içinde korunması, ürünün ve kalitesinin



arttırılmasıdır. Bu basit tanımdan anlaşılacağı gibi, tarımsal mücadelede, ürünü ve kaliteyi arttırmanın yanı sıra, ekonomikliği de hedeflemektedir. Modern tarımsal mücadelenin, “*entegre hastalık ve zararlı yönetimi (IPM)*” görüşüne uygun olarak yapılması çevre sağlığı için bir ön koşuldur. IPM ya da kısa biçimiyle, entegre savaşım denildiğinde ise, tarımsal mücadelede bilinen tüm yöntemlerden bilinçli ve dengeli biçimde yararlanılarak, insan ve çevre sağlığına olumsuz etkileri en aza indirmeyi hedefleyen uygulamalar anlaşılır (Delen ve ark., 2005).

Bu yöntemlerden bir tanesi de tarım ilaçlarının, yani pestisitlerin kullanıldığı kimyasal mücadeledir. Her ne kadar kimyasal mücadele tarımsal mücadelenin içinde bir yöntem ise de, tüm mücadele yöntemleri arasında en çok kullanılanıdır. Çünkü bilinçli ve kontrollü uygulandığında, kimyasal mücadelenin değişik avantajları bulunmaktadır. Bu avantajlardan başlıcaları, diğer mücadele yöntemlerine oranla daha yüksek etkinliğe sahip olması, daha hızlı sonuç vermesi, ekonomikliği, ürünü, toksin salgılayan organizmalardan tarlada koruyabilmesi ve bitki gelişimini istenilen yönde etkileyebilmesidir (De Waard ve ark., 1993; Ragsdale, 1994).

Kısaca değinilen bu avantajları, kimyasal mücadelenin, modern bitki korumada uygulanması gerekli bir yöntem olma özelliğini, günümüzde de sürdürmesinin önemli nedenidir. Bu durumun sonucu olarak, dünya pestisit pazarı sürekli genişleme eğilimindedir ve her yıl yeni pestisitler kullanıma sunulmaktadır. Dünya pestisit tüketimindeki artış her ne kadar bir ara duraklama trendine girdiyse de (Anonim, 2003), 1983-1993'te %3.4 olan artış hızı 1993-1995'te %18.5'e yükselmiştir (Lorbeer ve ark., 2001), son yıllarda, özellikle de 2013 ve 2014'te bir çok uluslararası tarım ilacı firmasının satışlarında önemli yükselişler ortaya çıkmıştır (Anonim, 2008; 2014).

Gıda, Tarım ve Hayvancılık bakanlığının verilerine göre Türkiye'de pestisit kullanımı 1980-2004 yılları arasında 10-13 bin ton iken 2006 yılında 18232 ton, 2007'de 18944 ton, 2010'da 20121 ton, 2013'te 24565 tona çıkmıştır (2017) (Çizelge 1.2).

Çizelge 1. 2 Türkiye’de yıllara göre tüketilen pestisit türleri ve miktarları. 2006-2013 arası kullanılan pestisit türleri ve kullanım miktarları. Miktarlar ton cinsinden verilmiştir. Verilere bakır sülfat ve toz kükürt dahil değildir (Delen, 2016).

Türkiye’de yıllara göre tüketilen pestisit türleri ve miktarları					
Yıllar	Fungusit	İnsektisit	Herbisit	Diğerleri	Toplam
<b>2006</b>	4432	3406	5400	5020	18256
<b>2007</b>	4945	3568	4630	5793	18944
<b>2008</b>	4901	3219	5581	6331	20032
<b>2009</b>	2197	5290	2234	5697	15412
<b>2010</b>	7559	2953	6145	3464	20121
<b>2011</b>	9287	3958	10336	3880	27521
<b>2012</b>	8178	3582	8281	5419	25460
<b>2013</b>	8230	3687	7873	4775	24565

Ekonomik açıdan değerlendirecek olursak; 2000 yılında 31 milyar 977 milyon dolar olan pazar, 2005 yılında 36 milyar 95 milyon dolara çıkmış, 2006 yılında ise 35 milyar 575 milyon dolara inmiştir (Kantarıcı, 2007). Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’nın (2017) verilerine göre: 2007 yılında 598 milyon 466 bin 207 TL iken 2013 yılında 1 trilyon 200 milyar TL’ye ulaşmıştır. Pestisit kullanımındaki artış her ne kadar birim alanda verimi arttırsa da (Lorbeer ve ark., 2001) çevre ve insan sağlığı açısından sorun yaratmaktadır. Çevre ve insan sağlığının giderek önem kazandığı günümüzde bu bileşikler gıda güvenliği açısından da sorgulanmaya başlamıştır. Bunun sonucunda pestisit kullanımını azaltıcı stratejilerin yanında (Bürgen ve ark., 2008) daha düşük dozlarda etki gösterebilecek düşük riskli fungusitlere karşı ilgi artmıştır. Gelişmiş ülkeler pestisitlerin getirebileceği tehlikelere karşı çevrelerini ve insanlarını koruyabilirken ülkemizde pestisitlerin büyük ölçüde bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımı artmaktadır. Patojenlerin bir kimyasal maddeye karşı duyarlılığı azaldıkça, çiftçiler aynı etkinliği elde etmek için doz yükseltmekte veya daha sık uygulamaktadır (Georgopoulos, 1986). Buna karşın mikroorganizmalarda kimyasal maddeye karşı duyarlılık azalması da artmaktadır.

Fungusitler etki mekanizmalarına karşı ikiye ayrılırlar: Biricisi etki yeri özelleşmemiş, ikincisi etki yeri özelleşmiş fungusitlerdir (Delen, 2016). Etki yeri özelleşmemiş fungusitlerin içinde elementer kükürt, bakırlı fungusitler, ditiyokarbomat’lar bulunmaktadır. Bunlara klasik fungusitler de denilebilmektedir ve hiç birisi sistemik, yani bitki içinde taşınabilen ve taşındıkları yerde

özelliklerini gösterebilen özellikte değildir (Kuck ve Gisi, 2008). Bu fungusitlerin organizmada birden fazla metabolik olayı engelledikleri gösterilmiştir. Bu fungusitlerle en hızlı tepkimeye giren grup sistein'in thiol yapısıdır. Temel sistein yapılarının bloke edilmesi etki yeri özelleşmemiş fungusitlerin asıl etki nedenidir (Delen, 2016).

Etki yeri özelleşmiş fungusitler 1960'ların sonunda piyasaya çıkmıştır (Kuck ve Gisi, 2008). Bunlara modern fungusitler de denilebilmektedir ve üçüncü ve dördüncü nesil fungusitler olarak isimlendirilebilirler. Üçüncü nesil fungusitler organiktir fakat bitki dokusuna geçebilme özelliğine sahiptirler. Dördüncü nesil fungusitler ise bitki bünyesinde olduklarında patojenlerin bitkiye girişini engellemekte veya bitki dayanıklılığını arttırmaktadırlar (De Waard ve ark., 1993). Bu fungusitlerin pek çoğu sistemik özelliktedir. Direnç, günümüz fungusit uygulamalarında karşılaşılan en önemli sorundur. Bu sorunu önlemek amacı ile direnç oluşturma olasılığı yüksek fungusitler ile direnci düşük olan fungusitler karıştırılarak direnç oluşumunun geciktirilmesi amaçlanmaktadır (Delen, 2016). Üzerinde durulması gereken en önemli konu; fungusitleri karıştırmadan önce, her bir bireyin doğaya uyumunun ve duyarlı bireylerin dirençli bireylerle rekabet gücünün bilinmesidir. Eğer dirençli bireylerin doğaya uyumları iyi değilse, direnç kazanmış izolatlar duyarlı izolatlarla rekabet edemiyor ise oluşturulan karışımın uzun süreli kullanılabileceği söylenebilir (Mikaberidze ve ark., 2014).

Ayrıca etki yeri özelleşmemiş fungusitler etki yeri özelleşmiş fungusitlere göre daha yüksek dozda kullanılmaktadır (De Waard ve ark., 1993). Örneğin *B.cinerea*'ya etki yeri özelleşmemiş fungusitlerden thiram'ın dozu 2000 g/ha iken etki yeri özelleşmiş olan fenhexamid'in 750 g/ha'dır (Leroux, 2007).

Etki yeri özelleşmiş fungusitlerin piyasaya sunulması devrim olarak nitelendirilmişse de, bir süre sonra patojenlerin direnç kazanması sorunu ortaya çıkmıştır. Örneğin *B.cinerea* meyve ve sebze üretiminde en önemli patojenlerden biridir ve etki yeri özelleşmiş fungusitlere karşı yüksek direnç kazanma eğilimindedir. Bu nedenle dirençliliği önleyecek yöntemlerin yanı sıra alternatif mücadele programlarının da bilinçli kullanılması gereklidir (Hahn, 2014).

Carbendazim, benzimidazole grubuna dahil bir fungusittir. *B.cinerea*'da düşük yoğunluklarda hif gelişmesini engeller, çimlenme tüpü şekil bozuklukları ve anormal dallanma oluştururlar (Leroux, 2007; Ueyama ve Kurahashi, 2007).

Fungal tubulin'in  $\beta$ -tubulin alt ünitesine bağlanarak mikrotüp alanlarını çatlatırlar ve fungal hifin yapısında bozulmalar oluştururlar (Davidse ve Ishi, 1995).

Cyprodinil anilinopyrimidine grubuna dahil bir fungusittir. Cyprodinil metiyonin biyosentezi ile ilgili enzimleri ve miselyal gelişmeyi engelleyerek etki gösterir (Masner ve ark., 1994; Sierotzki ve ark., 2002).

Fenhexamid sterol biyosentezi engelleyicileri grubuna dahil bir fungusittir. Bu grup fungusitler kültür ortamında *B.cinerea*'ya yüksek etki gösterirken aynı performansı tarla koşullarında gösterememektedirler (Delen, 2016). Bunun sebebi fitotoksik etkilerinden dolayı yeteri kadar yüksek dozda kullanılamamalarıdır. Fenhexamid sterolün C4 demetilasyon'unda 3-ketoredüktaz engelleyicisidir (Fengping ve ark., 2014). 0.1  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 'de etkili olmasına karşın 10  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 'ye kadar çimlenmeyi durduramamaktadır (Delen, 2016). Fakat eğer patojen 10  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 'nin altında uzun süre tutulursa çimlenme tüpünde bozulmalar oluşmaktadır.

## **1.5. Tür Tanılamada Kullanılan Belirteç Sistemleri**

### **1.5.1. Morfolojik Belirteçler**

Fungusların morfolojik sınıflandırmasında kullanılan besi ortamı, koloni şekli, koloni dokusu, koloni rengi, koloni büyüme hızı, konidiofor, konidia şekli, vezikül, metula ve fiyalidler, sklerotia varlığı, şekli, rengi, boyutu, spor şekli ve boyutu, sporulasyon derecesi, eşeyli üreme aşamasının bulunup bulunmaması değerlendirme ölçütleri olarak alınmaktadır. Ayrıca *B. cinerea* için olumsuz koşullara karşı dayanıklılıkta büyük rol oynayan klamidosporlar morfolojik belirteçler arasındadır.

Daha önce bahsedildiği gibi fungusların yaşam döngülerinde hem eşeyli hem eşeysiz safha yer alır. Fungusların morfolojik sınıflandırılmasında dikkate alınan özellikler eşeyli aşamadaki yapılardır (Moore-Landecker, 1996). Önceden değinildiği gibi *B.cinerea*'nın eşeyli üremesi doğada nadiren gerçekleşmektedir. Eşeyli üreme yapıları tespit edilemeyen fungusların sınıflandırılması eşeysiz sporlara göre yapılır ve bu sınıflandırmaya anamorfik sınıflandırma denir (Sneh ve ark, 1991). Morfolojik sınıflandırma gözlemlere dayalıdır ve hata yapma olasılığı yüksektir. Morfolojik belirteçler ordo veya familya düzeyinde iyi sonuçlar verse de daha alt düzeylerde güvenilirliği azalmaktadır (Lutzoni ve ark., 2004).

### 1.5.2. Moleküler Belirteçler

Moleküler tanılamamanın geleneksel tanılamaya iki önemli üstünlüğü vardır. Birincisi tanılama çok az miktarda örnekle gerçekleştirilebilir, ikincisi ise diğer yöntemlere göre daha doğru sonuçlar verir. Sadece hedeflenen organizmanın DNA'sına bağlanan moleküler probalar kullanılarak ilgilenilen DNA milyon katlarda çoğaltılır, dizilenir ve elde edilen dizi veri bankasındaki dizilerle karşılaştırılarak tanılama yapılır. Günümüzde güvenilirliği daha yüksek olan moleküler yöntemler morfolojik yöntemlerin yerini yavaş yavaş almaktadır.

Belirteç seçerken şu noktalara dikkat etmek gerekir: tekrarlanabilirlik, güvenilirlik, kolay analiz, otomasyon uygunluğu ve maliyeti. Bu özellikler tek bir belirteçte olmadığı için bu özelliklerden en fazla uygunluk gösteren seçilmelidir (Tamam, 2008).

Günümüzde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) biyolojinin pek çok alanında farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Genetik çeşitlilik ve populasyon genetiği çalışmalarında, rekombinant DNA çalışmalarında, gen klonlamada, moleküler sistematik çalışmalarda, mikroorganizmaların tanılanmasında, blotlama işlemlerinde, cDNA kütüphanelerinin oluşturulmasında gibi pek çok işlemde kullanılmaktadır.

PCR'in üç temel aşaması vardır. Bunlar: denatürasyon, bağlanma ve uzamadır. Denatürasyon aşamasında çift iplikli kalıp DNA ısı yardımı ile denatüre edilir ve tek iplikli hale getirilir. Primer bu tek iplikli DNA üzerinde kendine komplementer olan bölgeye bağlanır. Taq DNA polimeraz enzimi ortamdaki dNTP'leri kullanarak yeni DNA ipliğini sentezler. Bu aşamaların hepsi bir döngüyü oluşturur. Bu döngü başlangıca dönerek 30-45 kez tekrar eder. PCR bileşenleri 10X Taq DNA polimeraz tamponu, MgCl<sub>2</sub>, dNTP'ler, primerler, kalıp DNA ve Taq DNA Polimeraz enzimidir. Taq DNA polimeraz tamponu enzim için uygun çalışma ortamı hazırlayan tampondur. MgCl<sub>2</sub> enzimin çalışması için gerekli kofaktör olarak iş görürken dNTP'ler enzimin zincire ekleyeceği nükleotitlerdir. Primerler enzimin bağlanacağı serbest 3'-OH ucunu sağlarlar. Taq DNA polimeraz enzimi kalıp DNA'dan hedef bölgeyi çoğaltır.

Fungusların moleküler tanılanmasında kullanılan yöntemleri hidridizasyona dayalı yöntemler ve PCR'a dayalı yöntemler olarak ikiye ayırabiliriz. Hibridizasyona

dayalı yöntemlerin arasında floresan probalar kullanarak kromozomun belirli bölgelerine yüksek dizi benzerliği ile bağlanma sağlayan moleküler bir teknik olan Floresan In-Situ Hibridizasyon (FISH) (Langer-Safer ve ark., 1982) ve mikroskobik DNA parçalarının katı bir yüzeye tutunduğu ve hedef DNA'ların bu katı yüzeydeki bu problara bağlanması prensibiyle çalışan DNA mikroçip hibridizasyonu gelmektedir (Pollack ve ark., 1999).

PCR'a dayalı yöntemler evrimsel süreçte konunmuş, kolay çoğaltılabilen DNA bölgelerinin kullanıldığı yöntemlerdir. Fungusların moleküler tanısı için kullanılan resmi DNA bölgesi rDNA internal transcribed spacer (*ITS*) bölgesidir (Schoch ve ark., 2012). Fakat bazı durumlarda *ITS* bölgesi yeterli gelmeyebilmekte, başka bir bölgenin de kullanılması gerekmektedir. Bu amaçla kullanılacak bölgeler *ITS*'de olduğu gibi evrensel bölge olması, yani tanılanmak istenen canlı grubunun bütün üyelerinde bulunması, PCR'da kolay ve verimli bir şekilde çoğaltılabilmesi gerekmektedir. Bu özellikleri taşıyan calmodulin (*CAM*),  $\beta$ -tubulin (*BenA*), Aktin (*ACT*), Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (*GAPDH*) ve RNA polimeraz II büyük alt birimi (*RPB2*) yine fungusların tanılanmasında kullanılmaktadır (Yoltaş, 2017). *RBP2* bölgesi *ITS* bölgesine göre PCR'da daha zor çoğaltılmaktadır (Větrovský ve ark. 2016). Ayrıca Ascomycota ve Basidiomycota dışındaki fungal türler için düşük verim alınmaktadır (Xu ve Adamowicz, 2016). *CAM* ve *BenA*, *RPB2*'ye göre daha kolay amplifiye olsa da protein kodlayan genlerin kopya sayısının tekrar bölgelerine göre daha az olması çoğaltılmalarını zorlaştırmaktadır (Raja ve ark., 2017). *GAPDH* bölgesi 300 bp'lik bir bölgeyi çoğaltmakta fakat bu uzunluk yakın türlerin birbirinden ayrılmasında her zaman yeterli gelmeyebilmektedir. Tür seviyesindeki tanılamalar için *ITS* en kullanışlı ve hızlı evrimleşen rDNA bölgesidir (Raja ve ark., 2017). Kolay amplifiye olması, yaygın kullanımı ve uygun büyüklükteki barkod boşluğu (interspesifik ve infraspesifik arasındaki çeşitlilik farkı) nedeniyle mikologlar birliği tarafından funguslar için resmi DNA barkodu olarak seçilmiştir (Schoch ve ark, 2012). Dahası *ITS* bölgesinin next-generation sequencing (yeni nesil dizileme) gibi amplikonları klonlamaya gerek duymayan modern dizileme yöntemlerine daha elverişli olması, *ITS*'nin seçilmesinde katkı sağlamıştır (Raja ve ark, 2017).

Ayrıca Real-Time PCR uygulamalarıyla hedef türe uygun primerler kullanarak hem tür tanılama hem de nicel bir sonuç elde edilebilmektedir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

*Botrytis cinerea* populasyonlarındaki transpozon sıklığı ve fungusit dirençliliğini belirlemek amacıyla Dünyanın değişik yerlerinde yetişen çilek, üzüm ve diğer meyvelerle ilgili farklı çalışmalar yapılmıştır. Fungusit dirençliliği çalışmaları sayıca fazla olmakla birlikte transpozon sıklığı ile ilgili çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. *B. cinerea*'nın fungusit dirençliliği ile ilgili çalışmalar Türkiye'de de yapılmış fakat transpozon sıklığı ile ilgili Türkiye'de yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır.

### 2.1. Dünya'da Yapılan Çalışmalar

Diolez ve ark. (1995) *B. cinerea*'da boty transpozonunu tanımlamışlardır. DNA dizi analizleri ile LTR'lere sahip retrotranspozonlar olduklarını göstermişlerdir. Transpozon içinde ORF'leri, ters-transkriptaz dizisini ve *pol* gen bölgelerini bulmuşlardır. *Boty* elementine bazı suşlarda rastlayıp bazı suşlarda rastlamamışlardır ve bunları *Boty* içeren ve *Boty* içermeyen olarak ikiye ayırmışlardır.

Levis ve ark. (1997) *B. cinerea*'dan *flipper* elementini izole etmişlerdir. Elementin içinde ITR, ORF ve transpozaz dizilerini bulmuşlardır. Flipper elementinin *B. cinerea*'da 0-20 kopya arasında rastlandığını söylemişlerdir.

Giraud ve ark. (1997) RFLP belirteçleri kullanarak *B. cinerea*'nın genetik çeşitliliğini incelemişler ayrıca transpozon bulundurup bulundurmamasına göre iki gruba ayırmışlardır, *transposa* (*boty*, *flipper* içeren) ve *vacuma* (transpozon içermeyen). *Transposa*'nın yerleşik ve iyi adapte olduğunu fakat *vacuma*'nın hareketli populasyonlar olduğunu önermişlerdir.

Alfonso ve ark. (2000) RAPD belirteçleriyle Almeria (İspanya)'da *B.cinerea* populasyonlarının genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. Kullandıkları 79 belirteçten 46'sını polimorfik, 33'ünü monomorfik olduğunu belirlemişlerdir. Toplam genetik çeşitliliğin % 98'ini alt-populasyonlar oluştururken, % 2'sini alt-populasyonlar arası çeşitliliğin oluşturduğunu söylemişlerdir.

Muñoz ve ark. (2002) Şili'deki *B. cinerea* populasyonlarının genetik karakterizasyonunu araştırmışlardır. Üzüm, domates, kiwi ve yaban mersinin'den

örnek almışlar, *transposa* ve *vacuma* gruplarını tanılamışlardır. Bunun yanında sadece *Boty* elementini bulunduran izolatlara da rastlamışlardır. Yaptıkları RAPD ve RFLP analizleriyle türün yüksek genetik çeşitlilik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Vaczy ve ark. (2004) Eger (Macaristan)'de *B. cinerea* populasyonlarının genetik karakterizasyonunu çalışmışlardır. Analiz MSB1 minisatellite dizilerinin ve transpozonların varlığı test edilerek sürdürülmüştür. Dizi analizleri yüksek genetik çeşitliliği belirlemiş ve alellerin kombinasyonunun bölgede eşeyli üremeyeyle gerçekleştiğini göstermişlerdir.

Ma ve Michailides (2005) Kalifornia'da *B. cinerea*'nın farklı konakçılardaki populasyonlarının genetik yapısını araştırmışlardır. Araştırmada transpozonları, MP-PCR ile üretilen mikrosatellitlerin DNA parmak izini ve fungusit hassasiyetini kullanmışlardır. İki yüz otuz dört izolatı test etmişler, 195'inde her iki TE'ye (*boty* ve *flipper*) rastlarken, 38'inde sadece *boty* ve sadece birinde hiçbir TE'ye rastlamamışlardır. MP-PCR belirteçleriyle çıkarılan fenograma dayanarak izolatların konakçıya veya TE'lere göre kümelenmediğini söylemişlerdir. Analizler konakçıya göre önemli bir genetik farklılık olmadığını göstermiştir. Populasyonlar arası genetik çeşitliliği % 96 olarak hesaplamışlardır.

Kretschmer ve Hahn (2008) Almanya'daki üzüm bağlarındaki *B. cinerea* izolatlarının genetik çeşitliliğini ve fungusit dirençliliğini çalışmışlardır. Yaptıkları deneylerin sonucunda düşük frekansta fungusit dirençliliğini (fenhexamid % 1.9, carbendazim % 3.4, cyprodinil % 3.8) hesaplamışlardır. İzolatların büyük çoğunluğu (% 62.7) iki TE'yi de içeren *transposa* grubu, % 23.7'si *boty*, % 14.4'ü her iki TE'yi buldurmeyen *vacuma* grubu olduğunu bulmuşlardır. RFLP analizleri % 88'lik genetik çeşitlilik oranını göstermiştir.

Vaczy ve ark. (2008) Macaristan'daki üzüm bağlarındaki *B. cinerea* populasyonlarının eşey rekombinasyonlarını araştırmışlardır. Yüz dokuz örnekle yaptıkları çalışmada 74 adet *transposa*, 13 adet *flipper*, 12 adet *boty* ve 10 adet *vacuma* grubu izolata rastlamışlardır. Beş mikrosatellit bölgesiyle yaptıkları analizle 109 izolatta 55 mikrosatellit haplotipi elde etmişlerdir.

Isenegger ve ark. (2008a) Bangladeş'te nohut tarlalarında *B. cinerea*'nın genotipik çeşitliliğini ve klonların göçünü mikrosatellit belirteçleriyle araştırmışlardır. Dokuz mikrosatellit bölgesi kullanarak 146 *B. cinerea* izolatında 51 alele



rastlamışlardır. Populasyon içi ve toplam genetik çeşitlilik oranını yüksek bulmuşlardır ( $H_S$ : 0.48,  $H_T$ : 0.54). Azami genetik çeşitliğin populasyonlar arası farklılık gösterdiğini söylemişler ve 69 adet haplotip bulmuşlardır. Bölgeler arası genotip akışına rastlamışlar ve klon hatlarının yayılım gösterdiğine işaret ettiğini söylemişlerdir.

Isenegger ve ark. (2008b) Güney Asya ve Avustralya'daki *B. cinerea* tür komplekslerinin durumunu ve transpozon gruplarının mikrosatellit analizlerini yapmışlardır. *B. cinerea*'nın Grup I ve Grup II olmak üzere iki kriptik türü, yani birbiriyle aynı morfolojik görünüme sahip fakat üreme bakımından yalıtılmış türler, olduğunu söylemişler ve bu kriptik türlerin Güney Asya ve Avustralya'daki varlığını test etmişlerdir. Her iki bölgeden toplam 169 mikrosatellit haplotipi ve Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) profillerinin sadece Grup II'nin varlığını gösterdiğini söylemişlerdir. Grup I'in olmamasını *B. cinerea* izolatlarının Avrupa'dan Asya ve Avustralya'ya göçünün sınırlandığına işaret ettiğini söylemişlerdir. Boty ve flipper transpozonlarının varlığına bağlı olarak dört transpozon grubu belirlemişlerdir. Bangladeş'te *flipper* ve *transposa* yüksek sıklıkta gözlenirken Hindistan ve Nepal'de ise *boty* gözlemlenmiş Avustralya'da ise *transposa* ve *boty* gözlemlenmiştir.

Decognet ve ark. (2008) *B. cinerea* populasyonlarının domates seralarına verildikten sonraki hızlı genetik çeşitlilik değişimini araştırmışlardır. Seralardaki dört ayrı bölüme iki farklı *B. cinerea* suşu uygulamışlar, hastalık gelişimini gözlemlemişler ve genetik çeşitlilik değişimini mikrosatellit belirteçleriyle belirlemişlerdir. Doğal olarak gerçekleşen hava kaynaklı *B. cinerea*'da yüksek genetik çeşitlilik gözlenmiş ve seralara verilen izolatlarla hızlıca yer değiştirmiştir. Yer değişimi ilk 14 günde % 66 düzeyindeyken 60'ıncı günde % 91'e çıkmıştır. Bu durumun ikincil inokulumun hastalık gelişiminde önemli rolü olduğunu önermişlerdir.

Martinez ve ark. (2008) Fransa üzüm bağlarındaki *B. cinerea* dağılımını belirlemek için yeni PCR primerleri uygulamışlardır. Grup I ve Grup II'nin genetik gruplarının varlığını ve ikinci grubun TE'leri içerdiğini söylemişlerdir. Bordeaux üzüm bağlarındaki populasyonlarda Grup I oranının düşük (% 2.3) olduğunu belirtmişler ve Grup II olarak belirlenen izolatlarda dört transpozon grubuna da rastlandığını belirtmişlerdir. *Flipper* dizisi için tasarlanan bu ilk primer çifti beklenmeyen 2287 bç'lik bir dizi çoğaltmıştır. Bu dizinin 5' ucu dizilenmiş ve

*flipper* elementinin potansiyel giriş bölgesi olarak tanımlanmış ve yeni PCR primerlerinin tasarlanmasına olanak sağladığını söylemişlerdir.

Zhao ve ark. (2009) *B. cinerea*'da *boty-II* LTR retrotranspozonunu tanımlamışlardır. Çalışmalarında iki tam (*boty-II* 76, *boty-II* 103) iki kısmi (*boty-II* 95, *boty-II* 141) LTR retrotranspozonu *in-slico* genomik analiz ile tanımlamışlardır.

Fekete ve ark. (2012) Macaristan'da *B. cinerea* kriptik türlerinin genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. Topladıkları örnekler içinde hem Grup I hem de Grup II türlerine bulmuşlar ve daha önce Grup I türlerinde görülmediği bildirilen *boty*'ye rastlamışlardır. Bu durumun türün genetik çeşitliliğin arttığına yorumlamışlardır. Fenhexamid direnci veya eşeysiz spor büyüklüğü gibi fenotipik belirteçlerin kriptik türleri ayırmaya uygun olmadığını belirtmişlerdir.

Kuzmanovska ve ark. (2012) domatesten izole edilen *B. cinerea* izolatlarının fenotipik ve genetik karakterizasyonunu çalışmışlardır. Yüz yirmi üç izolatla çalışmışlar ve misel yapısı, sporulasyon ve sklerot üretimine göre 9 farklı fenotip tanımlamışlardır. Kullandıkları 123 izolattan 20 tanesini *transposa*, 48 tanesini *vacuma* ve 55 tanesini *flipper* olarak tanımlamışlardır. Yaptıkları analizlerde fenotip, izolasyon yeri ve transpozonlar arasında herhangi bir ilişkiye rastlamamışlardır.

Samuel ve ark. (2012) Yunanistan'da çeşitli konakçılardan elde ettikleri *B. cinerea* izolatlarının transpozon sıklıklarına bakmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda dört transpozon grubuna da rastlamışlardır. Domates, salatalık, üzüm ve çilekte *transposa* izolatlarının daha fazla olduğu, kivi ve elmada ise *vacuma* izolatlarının baskın olduğunu bulmuşlar ayrıca *flipper* izolatlarının da yüksek sıklıkta olduğunu söylemişlerdir.

Asadollahi ve ark. (2013) iki açık tarladan aldıkları *B. cinerea* popülasyonlarının karşılaştırmasını yapmışlardır. Bu karşılaştırmada üç farklı veri seti kullanmışlardır. İlki ADP-ATP translokaz ve nitrat redüktaz enzimlerinin RFLP kesim verisi, ikincisi ise *MSBI* minisatellit verisi ve üçüncüsü de beş mikrosatellit lokusunun büyüklükleridir. Popülasyon yapılarını Nei'nin gen ve haplotip çeşitlilik modeline göre, benzer olarak bulmuşlardır. *F* istatistikleri ( $F_{ST}$ ,  $G_{ST}$ ) ve gen akışının simpatrik popülasyonlar içinde süregelen bir farklılaşmayı

gösterdiğini söylemişlerdir. Yaptıkları analizlerin sonucunda çok yıllık konakçılarda, konakçı özelleşmiş farklılaşmanın olduğunu söylemişlerdir.

Kecskemeti ve ark. (2014) Almanya’da üzüm bağlarındaki *B. cinerea* izolatlarında transpozon ve mikovirüslerin varlığına bakarak *B. cinerea* genetik çeşitliliğini araştırmışlardır. İncelenen izolatların % 98’inde transpozon, % 37’sinde ise mikovirüse rastlamışlardır. İzolatlardaki transpozon ve mikovirüslerin varlığının birbirinden bağımsız olduğunu söylemişlerdir.

Lorenzini ve Zapporoli (2014) üzümlerden *B. cinerea*’dan morfolojik ve filogenetik olarak farklı olası yeni bir *Botrytis* türü izole etmişlerdir. *B. cinerea* popülasyonlarının gözlemi yaparken taksonomik olarak tanılanmamış bir izolata rastlamışlardır. Moleküler tanılamada *B. cinerea* türünden farklı bir sonuç elde etmişler fakat izolatın *Botrytis* cinsine ait olduğunu bildirmişlerdir.

Vercesi ve ark. (2014) fungusit uygulanmış ve uygulanmamış *B. cinerea* popülasyonlarının karakterizasyonunu yapmışlardır. Bir fungusit uygulanmamış, bir fenhexamid uygulanmış ve bir de cyprodinil + fludioxonil uygulanmış popülasyonlarda araştırma yapmışlardır. Tekrarlanan fungusit kullanımının transpozon dağılımına etkisini araştırmışlar ve *vacuma* izolatlarının çoğunlukta, *transposa*, *boty* ve *flipper* olarak azalan şekilde görüldüğünü belirtmişlerdir. Fungusit uygulamasının, transpozon dağılımını etkilemediğini önermişlerdir.

Kumari ve ark. (2014) Hindistan ve Nepal’deki, *B. cinerea* izolatlarının genetik ve patojenik çeşitliliğini analiz etmişlerdir. RAPD analizi, transpozon varlığı ve eşey gen tiplerini analizlerinde kullanmışlardır. Transpozonlarla patojenitenin ilişkili olduğunu önermişler ve *transposa* grubunun patojenitesinin daha yüksek olduğunu söylemişlerdir.

Fernandez ve ark. (2014) hastalık belirtisi göstermeyen elmalarda latent enfeksiyon aşamasındaki *B. cinerea*’ların transpozon varlığını belirlemeye çalışmışlardır. Flipper ve Boty transpozonlarını kullanarak depolama sırasında hastalık belirtisi göstermeyen elmalarda *B. cinerea* varlığını belirlemeye çalışmışlardır. Elde edilen PCR sonuçları ile ELISA sonuçları karşılaştırılmış ve anlamlı bir korelasyon gösterdiğini söylemişlerdir. Metotlarının, transpozon gruplarını belirleyerek alt popülasyonlarını tespit ettiğini ve bunun uygun kontrol stratejileri geliştirmede kullanılabileceğini söylemişlerdir.

Fernandez-Ortuna ve ark. (2014) *B. cinerea*'nin yedi farklı kimyasala karşı dirençliliğini test etmişlerdir. Tiyofenol-metil, piroclostrobın, boscalid, cyprodinil, fenhexamid, iprodione ve fludioxonil'e karşı yapılan testlerde 2012 örneklerinde sırasıyla %76, 42, 29, 27, 25, 3 ve 1, 2013 örneklerinde sırasıyla %85, 89, 5, 17, 26, 2 ve 1 olarak belirlemişlerdir.

Grabke (2014) Güney Carolina'da yaptığı tez çalışmasında çileklerde *B. cinerea*'nin fungusit direncinin moleküler mekanizmalarını ve kontrolünü araştırmıştır. Fungisit olarak dicarboximide iprodione ve hydroxyanilide fenhexamid kullanmıştır. Toplanan izolatların %16,8'inin fenhexamid'e dirençli olduğu, % 2'sinin iprodione'e orta dirençli ve %17,6'sının iprodione düşük dirençli olduğunu bulmuştur. Fenhexamid'e direncin *erg27* genindeki nükleotit değişimiyle ilişkili olduğunu gözlemişlerdir. Iprodione direncin *bos1* genindeki mutasyonlarla ilişkili olduğunu gözlemişlerdir.

Panebianco ve ark. (2015) 2009-2013 yılları arasında Sicilya'da asma bahçelerinde çoklu fungusit direncine sahip *B. cinerea* izolatlarını belirlemişlerdir. Altı farklı fungusit grubu kullanmışlar ve örneklerin % 45,7'sinin en az bir fungusite karşı dirençli olduğunu bulmuşlardır. Otuz örneğin ise çoklu fungusit direnci gösterdiğini belirtmişlerdir.

Li (2015) Güney Carolina'da yaptığı tez çalışmasında böğürtlenlerden yeni *Botrytis* türlerinin karakterizasyonu ve *B. cinerea*'nin fungusit direnci üzerine çalışmıştır. Çalışmaları sonucunda *Botrytis caroliniana* türünü tanılamışlardır. Tür tanılamasında *G3PDH*, *HSP60* ve *RPB2* gen bölgelerini kullanmışlardır. Örnek aldıkları 6 bölgenin 4'ünde *B. cinerea* ile *B. caroliniana*'nın aynı anda bulunduğunu gözlemişlerdir. Fungisit direnç çalışması 198 *B.cinerea* izolatu üzerinde gerçekleştirilmiş, % 72'sinin thiophanate-methyl'e, %59'unun pyraclostrobin'e, %56'sının boscalid'e, %11'inin fenhexamid'e, %10'unun cyprodinil'e, % 8,6'sının iprodione ve %1'inin fludioxonil'e dirençli olduğunu görmüşlerdir.

Wessels ve ark. (2016) Güney Afrika'da armut çiçeklerindeki *B. cinerea* popülasyonlarının genetik yapısını ve fungusit direncini araştırmışlardır. Yaptıkları mikrosatellit analizi sonucunda total gen çeşitliliğini, popülasyon için hesaplanan ortalamanın (*H*) üzerinde bulmuşlardır. Armut bahçeleri arası gen

akışının olduğunu söylemişlerdir. Yapılan ilişki analiz indekslerine ( $I_A$  ve  $T_D$ ) göre popülasyonların genellikle eşeysiz ürediğini söylemişlerdir.

Lopes ve ark. (2017) Brezilya'da yaptıkları çalışmada *B. cinerea*'nin fungusit dirençliliğini araştırmışlardır. Çalışmalarında pyraclostrobin, iprodione ve thiophanate-methyl'in farklı konsantrasyonlarını kullanmışlardır. Dirençliliği hesaplamada etkin doz ( $EC_{50}$ ) değerini kullanmışlardır. İzolatların %93'ünün thiophanate-methyl'e, %53'ünün iprodione'e ve %25,7'sinin pyraclostrobin'e dirençli olduğunu bulmuşlardır.

Rupp ve ark. (2017) Almanya'da yaptıkları çalışmada çileklerde kurşuni küfe neden olan *B. cinerea*'dan farklı bir tür tanımlamışlar ve *Botrytis fragariae* olarak adlandırmışlardır. Bu yeni tanımlanan türün *B. cinerea* gibi hem kış hem de bahar aylarında görülmediğini, sadece kış aylarında görüldüğünü belirtmişlerdir.

Kanetis ve ark. (2017) Kıbrıs'ta ekin seralarındaki *B. cinerea* popülasyonlarının fungusit dirençlilik profillerini ve genetik yapısını araştırmışlardır. Araştırmalarının sonucunda seralardaki izolatların yalnızca % 8,6'sının fungusitlere karşı hassasiyet gösterdiğini bulmuşlardır. Popülasyonların % 67,3'ünde çoklu fungusit direncine rastlamışlardır. Eşey alellerinde *MAT-1* tipinin frekansının *MAT-2* frekansına göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir.

Zhang ve ark. (2017) Çin'deki, üzüm bağlarındaki *B. cinerea* izolatlarının karakterizasyonunu yapmışlardır. On beş ilden 135 örnekle çalışmışlardır. Karakterizasyonu *MAT-1* ve *MAT-2*'nin eşey alellerine, *Bc-hch* geninin RFLP profiline ve transpozon varlığına göre yapmışlardır. Araştırmalarının sonucunda 71 *MAT-1*, 64 *MAT 1-2* izolatına, RFLP sonucunda ise bütün izolatların Grup II'ye ait olduğunu, *transpoza*'nın % 51,9, *boty*'nin % 33,3, *flipper*'in % 10,4 ve *vacuma*'nın ise % 4,5 oranında bulmuşlardır. Yaptıkları mikrosatellit analizleri sonucunda 135 örnekte 127 genotipe rastlamışlardır.

## 2.2. Türkiye'de Yapılan Çalışmalar

Burçak ve Delen (2001) üzümlerden izole ettikleri *B. cinerea* izolatlarına bazı fungusitlerin etkilerini araştırmışlardır. Denemelerinde procymidone, iprodione, imazalil, carbendazim, myclobutanil kullanmışlardır. Analizler sonucunda carbendazim hariç diğer fungusitleri etkili bulmuşlardır.

Sarıbıyık (2005) yaptığı tez çalışmasında Aydın ilindeki çileklerde görülen kurşuni küf hastalığının kimyasal mücadelesi üzerine yaptığı çalışmasında en az hastalıklı bitkinin 2002-2003 sezonunda cyprodinil+fludioxonil, procymidone ve fenhexamid uygulanan alanlarda, 2003–2004 sezonunda ise fenhexamid, cyprodinil+fludioxonil, iprodione, procymidone uygulanan alanlarda gördüklerini bildirmişlerdir.

Demir (2009) yaptığı tez çalışmasında marulda *B. cinerea*'ya karşı in-vitro koşullarda biyolojik savaşım olanaklarını araştırmışlardır. *B. cinerea* izolatına karşı *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, Sim Derma (*T. harzianum* KUEN 1585)( $10^6$  kob/g) ve *Bacillus subtilis* ( $10^9$  kob/g)'in biyolojik formülasyonlarının etkilerini denemişlerdir. Kontrol fungusiti olarak captan ve fenhexamid kullanmışlardır. Sim Derma ve *B.subtilis* misel gelişimini %100 baskılarken, *T. harzianum* %56,87, *T. viride* % 73,85 oranında baskıladığını bulmuşlardır.

Soylu ve ark., (2010) yaptıkları çalışmada *B. cinerea*'ya karşı çeşitli bitkilerin esansiyel yağlarının in-vitro antifungal etkisine bakmışlardır. Kekik, lavanta ve biberiye bitkilerinin özütlerini kullanmışlar ve özütlerin sıvı ve uçucu fazlarının doza bağlı olarak büyümeyi inhibe ettiğini göstermişlerdir.

Yeşilçöllü ve ark. (2011) Ege bölgesinde çilek yetişen alanlarda virüs kaynaklı hastalık etmenlerini araştırmışlardır. 211 örnekle çalışmışlar, 85 örneğin enfekte olduğunu gözlemlemişler ve 7 farklı virüs türüne rastlamışlardır.

Altınok (2012) Antalya ve Mersin illerindeki örtüaltı patlıcan ekim alanlarındaki kurşuni küf ve beyaz çürüklük hastalıklarının yayılma oranının araştırmıştır. Antalya ilinde çalışılan alanın % 59'unun kurşuni küf, % 19'unun ise beyaz çürüklük hastalığıyla, Mersin ilinde çalışılan alanın % 46'sı kurşuni küf, % 16'sının ise beyaz çürüklük hastalığıyla enfekte olduğunu bulmuştur.

Sezer ve Dolar (2012) Ordu, Giresun ve Trabzon illerindeki fındık üretim alanlarında çotanaklarda hastalık oluşturan *B. cinerea*'nın yaygınlığı ve bazı fındık çeşitlerinin bu patojene verdikleri tepkileri araştırmışlardır. *B. cinerea*'nın yaygınlığı Ordu'da % 92,00, Giresun'da % 85,71 ve Trabzon'da % 64,86 olarak tespit etmişlerdir. Çeşit reaksiyon denemesinde Çakıldak çeşidinin % 33,33 - % 61,11 hastalık şiddeti değerleri ile etmene karşı diğer beş çeşide kıyasla daha tolerant olduğu sonucuna varmışlardır.

Uçar (2014) yaptığı tez çalışmasında Aydın'daki çilek çeşitlerinde kurşuni küf ve külleme hastalığının bulunma oranı ve hastalık şiddetini araştırmıştır. Kurşuni küf hastalığının Ocak ayı başlarında görülmeye başladığını ve nemin yüksek olduğu dönemlerde üst noktaya ulaştığını belirlemiştir. Külleme hastalığının ise Kasım ayı sonlarında ortaya çıktığını ve Aralık ayının ortalarında üst noktaya ulaştığını gözlemlemiştir.

Dinler (2014) yaptığı tez çalışmasında çilek fidelerinde toprak kaynaklı fungal elementlerin saptanması üzerine çalışmıştır. 2009-2011 yılları arasında 2366 çilek fidesiyle çalışmışlar ve 1014 izolat elde etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda 291 adet *Fusarium* spp., 153 *Rhizoctonia* spp., 4 *Macrophomina* sp., 9 *Cylindrocarpon* sp. cinslerine rastlamışlardır.

Ün (2015) yaptığı tez çalışmasında Aydın ilinde çilekteki fungal kontaminasyonun moleküler tanısı ve *B. cinerea*'nin genetik yapısını araştırmıştır. Onbir farklı cins ve 20 tür tanılaması yapmışlardır. Dokuz mikrosatellit bölgesi kullanmışlar ve genetik bir yapılanma olduğunu tespit etmişlerdir.

Kaynak özetlerinde görüldüğü üzere *B. cinerea*'nin transpozon yapısı üzerine ülkemizde yapılan bir çalışma mevcut değildir. Bu tarz çalışmanın Dünya'da örnekleri bulunmakla beraber sayısı çok fazla değildir. Önceden de değindiğimiz gibi *B. cinerea* genetik yapısını hızlı değiştirebilen bir türdür. Tez çalışmamızda, bu hızlı değişimin etmenlerinden biri olan transpozonların populasyonlar içindeki frekansını belirleyerek populasyon dinamiklerinin belirlenmesi yönünde bir adım atmak ve belirlenen transpozon frekansına bağlı olarak, en yaygın kullanılan üç fungusite karşı dirençlilik durumlarını belirlemek amaçlanmıştır.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Örneklerin Toplanması ve İzolatların Saflaştırılması

##### 3.1.1. Örneklerin Toplanması

Örnekler Aydın ve Mersin illerinden 2015 yılı Aralık ve 2016 yılı Nisan aylarında özellikle çilek üretiminin en fazla gerçekleştiği Atça, Sultanhisar, Yenipazar, Anamur ve Silifke ilçelerinden, her lokaliteden en az 20 örnek olacak şekilde, *Botrytis cinerea* kontaminasyonunun olduğu düşünülen meyveler toplanmıştır. Örnekler kilitli poşetler kullanılarak muhafaza edilmiştir. Toplanan örnekler araç buzdolabı kullanılarak Adnan Menderes Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmişlerdir. Meyveler, saflaştırma işlemine başlayana kadar +4 °C'de saklanmıştır.

##### 3.1.2. Kullanılan Besiyeri ve Çözeltiler

###### Potato Dextrose Agar (PDA)

Çizelge 3. 1 PDA besiyeri bileşen ve miktarları

<b>Potato Dextrose Agar (PDA)</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>Potato Infusion</b>	4 g/L
<b>D(+) Glukoz</b>	20 g/L
<b>Agar Agar</b>	15 g/L
<b>pH</b>	3.5 ± 0.2

Litrede 39 g olacak şekilde distile su ile hazırlanır. 121 °C'de 15 dk otoklavda sterilize edilir. 5mL'lik karyotüpler içinde yatık olarak hazırlanmış ve örneklerin stoklanmasında kullanılmıştır.



### Malt Extract Agar (MEA)

Çizelge 3. 2 MEA besiyeri bileşen ve miktarları

<b>Malt Extract Agar (MEA)</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>Malt extract</b>	30 g/L
<b>Mikolojik pepton</b>	5 g/L
<b>Agar Agar</b>	15 g/L
<b>pH</b>	5.4 ± 0.2

48 g/L olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritilmiş, 5 mL'lik kriyotüplere dağıtılmış ve otoklavda 121 °C'de 10 dakika sterilize edilmiştir. Tüpler yatık pozisyonda konularak, agarın yatık şekilde donması sağlanmıştır. Küflerin stok kültür yapılarak +4 °C'de uzun süre saklanması için kullanılmıştır.

### Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi (FTS)

Çizelge 3. 3 FTS bileşen ve miktarları

<b>Fizyolojik Tuzlu Su (FTS)</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>NaCl</b>	85 g/L
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	1000 mL

85 gram NaCl'nin 1 litre distile su içinde çözdürülmesiyle hazırlanmıştır. 121 °C'de 15 dk otoklavlanmıştır. Çileklerden küflerin saflaştırılması sırasında seyreltme tamponu olarak kullanılmıştır.

### Laktofenol Mavisi Çözeltisi

Çizelge 3. 4 Laktofenol mavisi stok çözelti bileşen ve miktarları

<b>Laktofenol Mavisi Stok Çözelti</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>% 85 Laktik asit</b>	99 mL
<b>Anilin mavisi</b>	1 g

Stok çözeltisi distile su ile %85'lik laktik asit çözeltisi içine anilin mavisi eklenmesiyle hazırlanmıştır.

Çizelge 3. 5 Laktofenol mavisi bileşen ve miktarları

<b>Laktofenol Mavisi Çözeltisi</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>% 85 Laktik asit</b>	100 mL
<b>Gliserol</b>	250 mL
<b>Stok Çözelti</b>	3 mL
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	50 mL

Bileşenler distile su içinde çözdürülerek hazırlanmıştır. Morfolojik tanılama yapılırken küflerin misel ve spor yapılarının boyanmasında kullanılmıştır.

### **Tween-80 Çözeltisi**

Çizelge 3. 6 Tween- 80 çözeltisi bileşen ve miktarları (% 0,1'lik)

<b>Tween-80 Çözelti</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>Tween-80</b>	0.1 mL
<b>Distile Su</b>	99.9 mL

0,1 mL Tween-80 99,9 mL distile su içinde çözdürülmüş ve 121 °C'de 15 dk otoklavlanmıştır. Spor süspansiyonu hazırlanmasında kullanılmıştır.

### **HA Broth**

Çizelge 3. 7 HA Broth bileşen ve miktarları

<b>HA Broth</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>Malt extract</b>	10 g/L
<b>Yeast extract</b>	4 g/L
<b>D(+) Glukoz</b>	4 g/L

Bileşenler 1 litre distile su içinde çözdürülmüş ve 121 °C de 15 dk otoklavlanmıştır. Fungusit denemelerinin spor aşamasında aktifleştirici ve fungusit içeren deneysel ortam olarak kullanılmıştır.

### Minimal Ortam (MM)

Çizelge 3. 8 MM besiyeri bileşen ve miktarları

<b>MM Besiyeri</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	1.5 g/L
<b>Yeast extract</b>	2 g/L
<b>D(+) Glukoz</b>	10 g/L
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	2 g/L
<b>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	1 g/L
<b>MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	5 g/L
<b>Agar agar</b>	12.5 g/L

Bileşenler 1 litre distile su içinde çözdürüldü ve 121 °C'de 15 dk otoklavlanmıştır. Fungusit denemelerinin misel aşamasında fungusitli ortamda gelişmiş izolatların kontrollerinde kullanılmıştır.

### Fenhexamid Çözeltisi

Çizelge 3. 9 Fenhexamid çözeltisi bileşen ve miktarları

<b>Fenhexamid Çözeltisi</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>Fenhexamid</b>	5 g/L
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	1000 mL

Konsantre fenhexamid (Forzol SC 500) 1 litre steril distile su içinde çözdürülmüştür. Fungusit denemelerinde seyreltmeleriyle birlikte kullanılmıştır.

### Carbendazim Çözeltisi

Çizelge 3. 10 Carbendazim çözeltisi bileşen ve miktarları

<b>Carbendazim Çözeltisi</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>Carbendazim</b>	0,75 g/L
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	1000 mL

Carbendazim (Angel 50 WP) 1 litre steril distile su içinde çözdürülmüştür. Fungusit denemelerinde seyreltmeleriyle birlikte kullanılmıştır.

### Cyprodinil Çözeltisi

Çizelge 3. 11 Cyprodinil çözeltisi bileşen ve miktarları

<b>Cyprodinil Çözeltisi</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>Cyprodinil</b>	0.40 g/L
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	1000 mL

Cyprodinil (Fragman 50 WP) 1 litre steril distile su içerisinde çözdürülmüştür. Fungisit denemelerinde seyreltmeleriyle birlikte kullanılmıştır.

### CTAB Çözeltisi

Çizelge 3. 12 CTAB çözeltisi bileşen ve miktarları

<b>CTAB Çözeltisi</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>2X CTAB</b>	200 µL
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	89 µL
<b>PVP</b>	0.01 g
<b>β-merkaptöetanol</b>	1 µL
<b>0.5M EDTA</b>	20 µL
<b>1 M Tris-HCl</b>	50 µL
<b>5 M NaCl</b>	140 µL

Bileşenler distile su içinde çözdürülmüştür. DNA izolasyonunda dokuları parçalamakta kullanılmıştır. Çizelgedeki miktarlar tek bir örnek için kullanılan miktarlardır. Hazırlanan miktar örnek sayısına göre ayarlanmıştır.

#### 3.1.3. İzolatların Saflaştırılması

Toplanan ve +4 °C'de saklanan hastalıklı çilek meyvelerinden doğrudan 1 g tartılıp önceden hazırlanmış olan 9 mL'lik FTS içine eklenmiş ve homojenize edilmiştir. Sonra bu homojenizatlardan 100 µL alınmış ve yayma ekim yöntemi kullanılarak hazırlanan PDA ve MEA besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Ekimlerden sonra örnekler 20 °C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda oluşan karışık kolonilerden fungus kolonileri seçilmiş, PDA'ya ekilmiş ve tekrar 20 °C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Saf koloniler elde edildikten sonra 5 mL'lik kryotüplerde yatık agar hazırlanmış ve saf kolonilerden bu yatık

agarda ekim yapılmış ve üremeye yukarıdaki şartlarda bırakılmıştır. Yatık agarda üremeden sonra üzerlerine hava almayacak şekilde steril mineral yağ eklenmiş ve örnekler buzdolabında saklanmıştır.

#### **3.1.4. Morfolojik Tanılama**

PDA'da 20 °C'de 7-10 günlük koloniler çıplak gözle ve binoküler mikroskop altında incelenmiş koloni şekli, rengi ve sklerot oluşup oluşmadığı incelenmiştir.

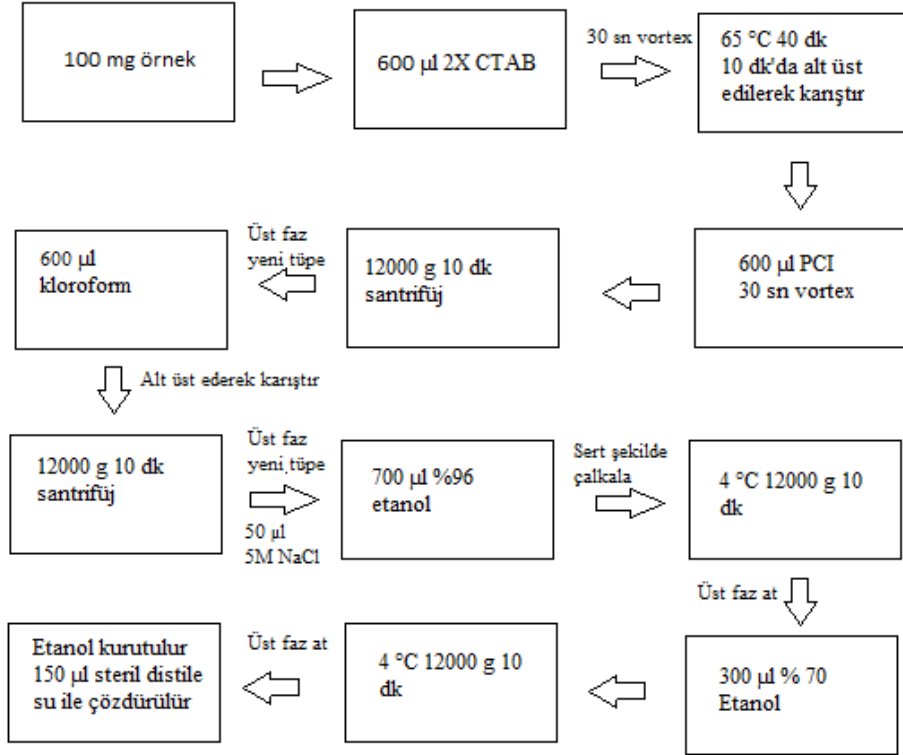
PDA besiyerinde üretilen saf kolonilerden öze ile parça alınmış ve üzerinde LPM bulunan lam üzerinde yavaşça karıştırılmıştır. Daha sonra üzeri lamelle kapatılıp kurumaya bırakılmıştır. Sonrasında mikroskop altında sklerot, klamidospor, konidia, konidiafor, miselyum ve spor yapıları incelenmiştir.

### **3.2. Genomik DNA İzolasyonu**

Genomik DNA tabanlı bütün çalışmalar için organ, doku veya hücrelerden DNA izolasyonu yapılması gereklidir. Bu sebeple toplanan ve morfolojik olarak *B. cinerea* olarak belirlenen örnekler sıvı azot yardımıyla toz haline getirilmiş ve sonrasında bu örneklerden 2X CTAB DNA izolasyon yöntemi kullanılarak genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

DNA izolasyonu Doyle ve Doyle (1987)'un 2X CTAB DNA izolasyon yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. Fungus miselleri sıvı azot yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz halindeki örneklerin üstüne 600 µL 2X CTAB tamponu eklenmiş ve 30 sn boyunca vorteks ile karıştırılmıştır. Daha sonra örnekler 65 °C'de 40 dk, 10 dk'da bir alt üst edilerek karışması sağlanmıştır. Üzerlerine 600 µL Fenol: Kloroform: izoamil alkol (25:24:1) eklenmiş ve 30 sn vortekslenmiştir. Sonra 12000 g'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüj bittikten sonra üst faz yeni eppendorfa alınmış ve üzerine 600 µL kloroform eklenmiş ve el ile alt üst edilerek karıştırılmıştır. Karıştırılmadan sonra 12000 g'de 10 dk santrifüj yapılmış ve süpernatant önceden içlerine 50 µL 5M NaCl çözeltisi bulunan 1,5 ml'lik eppendorf tüplere aktarılmıştır. Üzerlerine 700 µL % 96'lık soğuk etanol eklenmiş ve elde sert bir şekilde 3 dk çalkalayarak karıştırılmıştır. Karıştırılmadan sonra 4 °C'de 12000 x g'de 10 dk santrifüj yapılmıştır. Süpernatant atılmış ve pelletin üzerine 300 µL % 70'lik soğuk etanol eklenmiştir. 4 °C'de 12000 g'de 10 dk santrifüj işlemi tekrarlanmıştır. Süpernatant dökülmüş ve kalan etanolün

uzaklaşması için örnekler kurumaya bırakılmıştır. Kurumadan sonra örnekler 150 µL steril distile su içinde 1 gece çözülmeye bırakılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 DNA izolasyon prosedürü şematik gösterimi (Doyle ve Doyle, 1987)

İzolasyon sonrası elde edilen genomik DNA'ların saflık ve miktar tayinlerinin yapılması önemlidir. Bu amaçla genellikle spektrofotometrik yöntemler kullanılır. Spektrofotometrik yöntemler ışığın, örneğe göre değişen, belirli dalga boylarının örnek içinden geçirilmesi ve bu sırada örneğin ışığın ne kadarını tuttuğunu belirleyen yöntemlerdir. Çalışmada Nanodrop Spektrofotometre (Thermo) kullanılmıştır.

Nükleik asitler ışığı en iyi 260/280 nm dalga boyunda absorbe ederler. Ölçüm bu iki değer arasında yapılır ve bu değerlerin birbirine oranı eldeki genomik materyalin saflığını belirler. Bu oranın 1,8 – 2,0 arasındaki ölçümü ile nükleik asitler saf olarak kabul edilir. Bu aralığın dışındaki değerlerde RNA, protein

ve/veya fenol bileşiklerinin yeteri kadar uzaklaştırılmamasına bağlı kirlilik olduğu sonucuna ulaşılabilir.

### 3.3. Transpozonların Belirlenmesi, Gruplandırma ve ITS-PCR

Boty ve Flipper hareketli elementlerinin varlığı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yöntemi ile belirlenmiştir. *Flipper* için yaklaşık 1200 bp uzunluğunda ürün veren F300 (5'-GCA CAA AAC CTA CAG AAG A-3') ve F1550 (5'- ATT CGT TTC TTG GAC TGT A-3') primer çifti, *Boty* için yaklaşık 700 bp uzunluğunda ürün veren BotyF4 (5'- CAG CTG CAG TAT ACT GGG GGA-3') ve BotyR4 (5'- GGT GCT CAA AGT GTT ACG GGA G-3') primer çifti kullanılmıştır (Ma ve Michelides, 2005). *Boty* ve *flipper*, *B. cinerea*'ya özgü olduğu için moleküler tanılamada da bu elementler kullanılmıştır. Her iki transpozonu taşımayan örneklerin moleküler tanınmasında ise yaklaşık 700 bp uzunluğunda ürün veren ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') ve ITS4 (5'-TCC TCC GCT GCT TTA TTG ATA TGC-3') primer çifti kullanılmıştır

Ma ve Michelides (2005)'ten yola çıkılarak PCR bileşenlerinin optimizasyonu tamamlanmış ve optimizasyonda belirlenen konsantrasyonlar (Çizelge 3.13) ve PCR koşulları (Çizelge 3.14, 3.15, 3.16, 3.17, 3.18) çizelgelere verilmiştir.

Çizelge 3. 13 Kullanılan PCR bileşenlerinin konsantrasyon ve miktarları (*boty*)

PCR bileşenleri ve miktarları	
Bileşen	Miktar
sdH <sub>2</sub> O	15,8 µL
10X Taq	2,5 µL (1X)
Tampon(GenMark)	
25 mM MgCl <sub>2</sub>	1,5 µL (2 µM)
0.5 M dNTP Mix	5 µL
2.5 mM F Primer	0,3 µL
2.5 mM R Primer	0,3 µL
Kalıp DNA	1 µL (50 ng)
Taq Polimeraz	0,1 µL (1U)

Çizelge 3. 14 Kullanılan PCR bileşenlerinin konsantrasyon ve miktarları (*flipper*)

<b>PCR bileşenleri ve miktarları</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>sdH<sub>2</sub>O</b>	14,8 µL
<b>10X Taq tampon(GenMark)</b>	2,5 µL (1X)
<b>25 mM MgCl<sub>2</sub></b>	1,5 µL (2 µM)
<b>0.5 M dNTP Mix</b>	5 µL
<b>2.5 mM F Primer</b>	0,3 µL
<b>2.5 mM R Primer</b>	0,3 µL
<b>Kalıp DNA</b>	2 µL (100 ng)
<b>Taq Polimeraz</b>	0,1 µL (1U)

Çizelge 3. 15 Kullanılan PCR bileşenlerinin konsantrasyon ve miktarları (*ITS*)

<b>PCR bileşenleri ve miktarları</b>	
<b>Bileşen</b>	<b>Miktar</b>
<b>sdH<sub>2</sub>O</b>	15.5 µL
<b>10X Taq tampon(GenMark)</b>	2,5 µL (1X)
<b>25 mM MgCl<sub>2</sub></b>	1,8 µL (2 µM)
<b>0.5 M dNTP Mix</b>	5 µL
<b>2.5 mM F Primer</b>	0,3 µL
<b>2.5 mM R Primer</b>	0,3 µL
<b>Kalıp DNA</b>	1 µL (50 ng)
<b>Taq Polimeraz</b>	0,1 µL (1U)

Çizelge 3. 16 Kullanılan PCR şartları (*boty*)

	<b>Sıcaklık (°C)</b>	<b>Süre</b>	<b>Döngü Sayısı</b>
<b>Ön denatürasyon</b>	94	3 dk	1
<b>Denatürasyon</b>	94	30 sn	35
<b>Bağlanma</b>	64	30 sn	
<b>Uzama</b>	72	30 sn	
<b>Son Uzama</b>	72	3dk	1



Çizelge 3. 17 Kullanılan PCR şartları (*flipper*)

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
<b>Ön denatürasyon</b>	94	3 dk	1
<b>Denatürasyon</b>	94	40 sn	40
<b>Bağlanma</b>	60	40 sn	
<b>Uzama</b>	72	1 dk	
<b>Son Uzama</b>	72	10 dk	1

Çizelge 3. 18 Kullanılan PCR şartları (*ITS*)

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
<b>Ön denatürasyon</b>	94	2 dk	1
<b>Denatürasyon</b>	94	30 sn	35
<b>Bağlanma</b>	58	30 sn	
<b>Uzama</b>	72	1 dk	
<b>Son Uzama</b>	72	10 dk	1

5 µL PCR ürünleri, 3 µL 6X yükleme boyası ile karıştırılarak % 1.5'lik agaroz jelde 90 V'da 40 dk yürütülmüş ve görüntülenmiştir. Ürünlerin görüntülenmesinde 100 bç DNA ladder (GenMark) kullanılmıştır.

PCR sonuçları elde edildikten sonra izolatlar transpozonların varlığı veya yokluğuna göre, her iki transpozonda varsa *transposa*, tek bir transpozon varsa *boty* veya *flipper*, her iki transpozonda bulunmuyorsa *vacuma* grubu olarak sınıflandırılmıştır.

PCR işlemleri tamamlandıktan sonra *boty*, *flipper* örneklerinden ikişer adet ve tüm *ITS* ürünleri DNA dizilemesi için Macrogen (Hollanda) firmasına gönderilmiş ve gelen diziler BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) programıyla gen bankasındaki verilerle kıyaslanmış ve hem transpozonların doğrulaması hem de *ITS* ile moleküler tanılama gerçekleştirilmiştir.

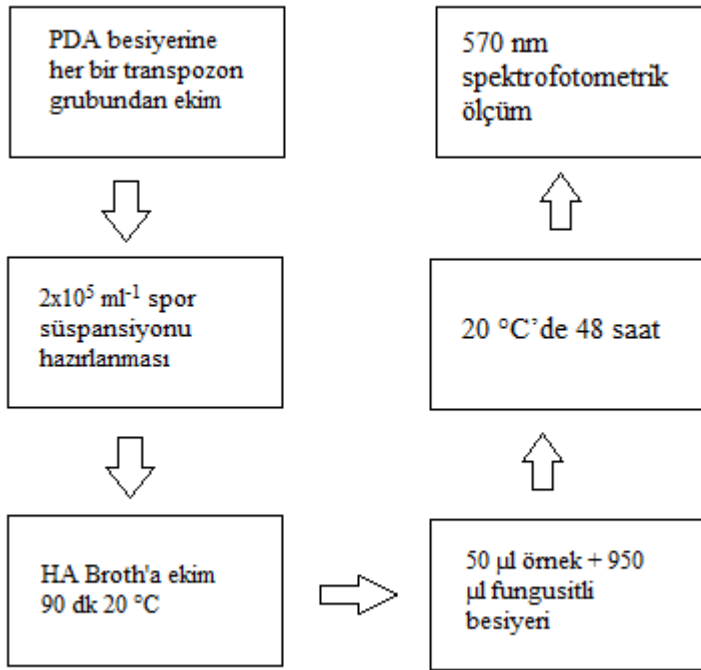
### 3.4. Fungusit Direnç Testleri

*B.cinerea*'yla mücadelede dünyada en yaygın olarak kullanılan üç etken madde araştırmamız için seçilmiştir. Bunlar fenhexamid, carbendazim ve cyprodinil etken maddelerine sahip fungusitlerdir. Her bir *B.cinerea* grubunun fungusit dirençliliği

hassas, orta ve dirençli olarak, İnhibisyon konsantarsyon ( $IC_{50}$ ) değerlerine göre, sınıflandırılmıştır (Amiri ve ark., 2008).  $IC_{50}$  değeri  $< 6 \mu\text{g/mL}$  ise hassas,  $7 - 49 \mu\text{g/mL}$  arasında tolerant,  $50 \mu\text{g/mL} <$  ise dirençli olarak değerlendirilmiştir.

Fungusit denemeleri laboratuvar ortamında iki şekilde yapılmıştır. Birincisi spor aşamasında sıvı besi yerinde, ikincisi ise miselden yapılan doğrudan ekimlerle katı besiyerinde gerçekleştirilmiştir.

Spor aşaması deneyleri Vercesi ve ark. (2014) 'na göre gerçekleştirilmiştir. Her bir transpozon grubundan PDA besiyerlerine ekimler yapılmış ve spor oluşması amacıyla 7 gün  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılmıştır. Sıvı besiyeri olarak HA broth kullanılmıştır. Yedi gün sonunda her bir grup izolattan  $2 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$  olacak şekilde spor süspansiyonu hazırlanmış ve süspansiyondan 1 mL HA besiyerine alınarak 90 dk  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra bu süspansiyondan  $50 \mu\text{L}$  alınıp içinde  $950 \mu\text{L}$ , farklı konsantrasyonlarda ( $3 \mu\text{g/mL}$ ,  $1 \mu\text{g/mL}$ ,  $0,3 \mu\text{g/mL}$  ve  $0,1 \mu\text{g/mL}$ ) fungusit içeren eppendorf tüplerdeki HA besiyerlerine aktarılmıştır. Sonra  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Yetmiş iki saat sonunda örneklerin spektrofotometrik ölçümleri (Shimadzu)  $492 \text{ nm}$ 'de yapılmıştır (Şekil 3.2).



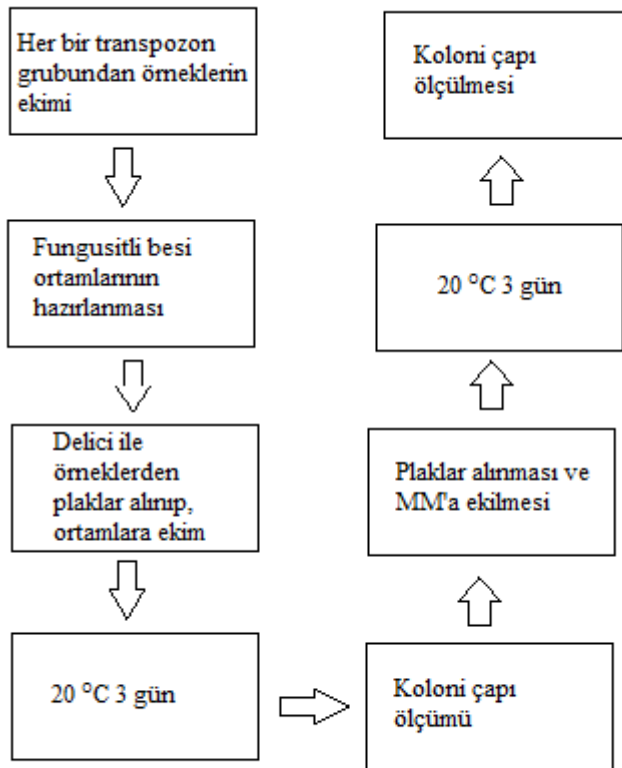
Şekil 3.2 Spor denemesi şematik gösterimi (Vercesi ve ark, 2014)

Misel aşaması deneyleri Fekete ve ark. (2012)'ye göre gerçekleştirilmiştir. Her bir fungusitten önerilen doz (fenhexamid: 5000 mg/L, carbendazim: 750 mg/L, cyprodinil: 400 mg/L) ve bu dozların değerinin altındaki konsantaryonda (Çizelge 3.18) fungusit içeren PDA besiyerleri hazırlanmıştır. Önceden ekilmiş her bir transpozon grubundan *B. cinerea* örneklerinden bir delici yardımıyla plaklar alınmış ve fungusitli besiyerinin ortasına, fungus üreyen kısım alta gelecek şekilde, bırakılmıştır. Sonra bu besiyerleri 20 °C'de üç gün inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda üreme görülen örneklerin koloni çapları ölçülmüştür (Şekil 3.3).

Çizelge 3. 19 Misel aşamasındaki fungusit testlerinde kullanılan fungusit konsantrasyonları (mg/L)

Fungusit testlerinde kullanılan konsantrasyonlar								
Fungusit	Fungusit konsantrasyonu (mg/L)							
<b>Fenhexamid</b>	5000	500	50	25	10	5	2	0
<b>Carbendazim</b>	750	75	7.5	5	2	0		
<b>Cyprodinil</b>	400	200	100	50	25	10	5	0

Üreme görülen örneklerin koloni çapları ölçüldükten sonra kolonilerden bir delici yardımıyla plaklar alınmış ve hazırlanan minimal ortamlara ekilmiştir. Üç gün 20 °C'de inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda, fungusite maruz bırakıldıktan sonra gelişimlerini gözlemek için, koloni çapları ölçülmüştür.



Şekil 3.3 Misel denemesi şematik gösterimi (Fekete ve ark, 2012)

### 3.5. Veri Analizi

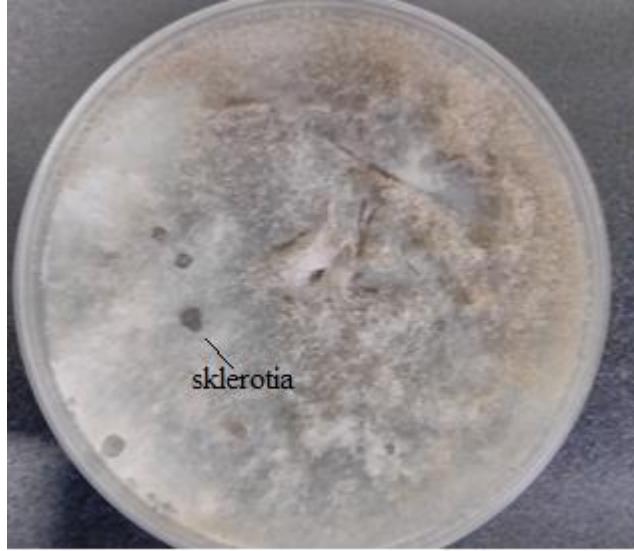
Elde edilen izolat gruplarının frekansları hesaplanmış, ki-kare ( $X^2$ ) testiyle ilişkileri belirlenmiş ve karşılaştırılmaları yapılmıştır. Fungusit testlerinde büyüme inhibisyon yüzdeleri hesaplanmış ve box-whiskers grafikleri çıkarılmıştır. İstatistiksel testlerin tümünde IBM SPSS v22 programı kullanılmıştır. IC<sub>50</sub> değerlerinin hesaplanmasında bu konuda özel olarak hazırlanmış olan <http://www.ic50.tk/> adresindeki hesaplama motoru kullanılmıştır. DNA dizilerinin analizi ve değerlendirmesi MEGA 7.0 programıyla gerçekleştirilmiştir.

## 4.. BULGULAR

### 4.1. Morfolojik Tanılama

PDA besiyerinde üretilen saf kolonilerden, öze ile alınarak üzerinde bir iki damla LPM bulunan lamlar üzerine yaydırılmış, sonra üzeri lamel ile kapatılmıştır. Hazırlanan bu preparatlar mikroskop altında incelenerek mikroskobik özellikleri belirlenmiştir.

İzolatların, koloni özellikleri binoküler mikroskop altında incelenmiştir. *Botrytis cinerea* kolonileri hızlı gelişen, beyaz, seyrek, yaklaşık 6 gün içinde PDA yüzeyini tamamen kaplayan, onuncu günde rengi grimsi kahverengi olabilen ve ayrıca petri kenarlarında sklerotia ve klamidospor oluşturabilen bir türdür (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 *B. cinerea* 10 günlük petri görüntüsü

Konidioforlar misellerden veya sklerotiadan genellikle püskül şeklinde oluşurlar. Yedi yüz elli mikrometreden 2 mm'ye kadar büyüeyebilen, düz duvarlı, gri kahverengiden kahverengiye, alt kısmı 18-23  $\mu$ m genişliğinde, hiyalin soluk kahverengi ve üst kısmı dallı, her dal ucu yarım daire veya daire şeklinde şişkin 5-12  $\mu$ m çapında konidia içeren çıkıntılardır (Şekil 4.2).



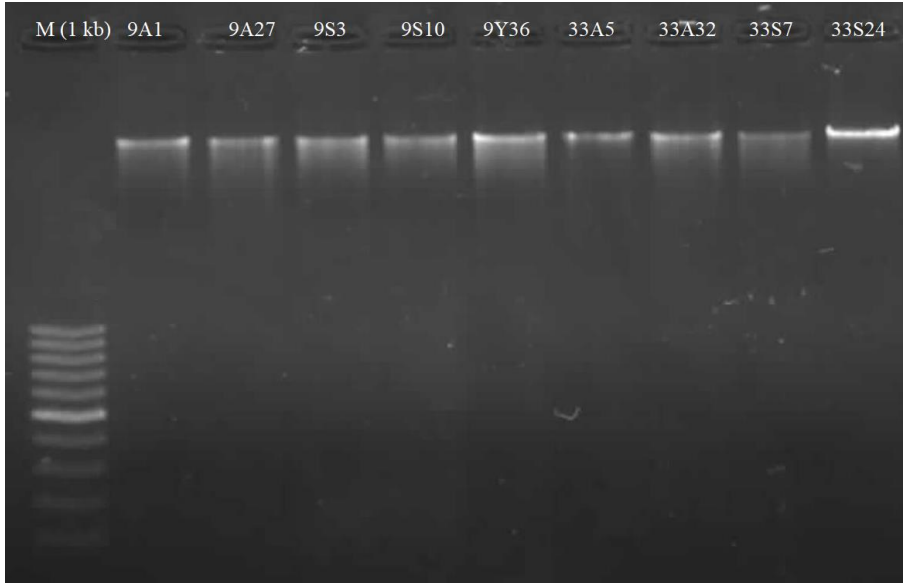
Şekil 4.2 *B.cinerea* konidiafor ve konidia mikroskop görüntüsü

Makrokonidia küresel, elipsoidal veya yumurta şekilli, düz soluk kahverengi hiyalinli, çıkıntılı hiliuma sahip, 8-14'e 6-9  $\mu\text{m}$  ölçülerindedir. Mikrokonidia doğada gözlenmeyip in-vitro oluşmakta ve makrokonidia'nın özelliklerinde, daha küçük boyutta olmaktadır (Ahmed ve ark, 2014). Sklerotia kalkan, mercek veya düzensiz şekilde, kahverengiden siyaha, 0,2-0,5 mm çapında, yoğun paketlenmiş medulla ve pseudoparankimaya sahip, koyu kahverengiden siyaha 5-10  $\mu\text{m}$  çapında kortikal hücre tabakası halindedir.

#### 4.2. Genomik DNA İzolasyonu

Çalışmada kullanılan örneklerin absorbans değerleri 1,78 – 2,24 değerleri arasında bulunmuş, sınırların dışında kalan örnekler PCR'da başarılı sonuçlar verdikleri için tekrar genomik DNA izolasyonuna gerek duyulmamıştır. Örneklerin miktarları ise 45 ng/ $\mu\text{L}$  ile 542 ng/ $\mu\text{L}$  arasında tespit edilmiştir.

Spektrofotometrik yöntemle kantitatif ölçümü yapılan genomik DNA örneklerinin kalitatif olarak gözlenmesi % 0,8'lik agaroz jelde 3  $\mu\text{L}$  yükleme boyası, 7  $\mu\text{L}$  örnek olacak şekilde yüklenmiş ve 90 V'ta 40 dk yürütülerek yapılmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Genomik DNA'nın agaroz jelde görüntülenmesi (M: 1 kb DNA marker (GenMark), 9xx: Aydın örnekleri, 33xx: Mersin örnekleri)

### 4.3. Moleküler Tanılama ve Transpozonların Belirlenmesi

#### 4.3.1. ITS-PCR

ITS bölgesinin çoğaltılması için yaklaşık 700 bp uzunluğunda ürün veren ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') ve ITS4 (5'-TCC TCC GCT GCT TTA TTG ATA TGC-3') primer çifti kullanılmıştır. Çizelge 3.16'daki koşullarda gerçekleştirilen PCR işleminden sonra örnekler agaroz jelde kontrol edilmiş ve DNA dizileme işlemi için Macrogen (Hollanda) firmasına gönderilmiştir.

Gelen DNA dizi sonuçları GenBank'taki verilerle, nBLAST programı kullanılarak, karşılaştırılarak moleküler tanılaması gerçekleştirilmiştir. Elde edilen türler Çizelge 4.1'de verilmiştir.



Çizelge 4. 1 ITS-PCR sonuçlarıyla ulaşılan tür adları ve Accession Numaraları

ITS sonuçlarına göre bulunan türler				
Tür Adı	Konum	Accession No	Adet	Eşleşme (%)
<i>Botrytis cinerea</i>	Hepsi	KX766413.1 KX387891.1 KP234034.1 KP151607.1	154	100
<i>Alternaria alternata</i>	Hepsi	KP131535.1 KX463014.1 KP131533.1	14	100
<i>Aspergillus niger</i>	Atça, Silifke, Sultanhisar, Yenipazar	AF108474.1	5	100
<i>Trichoderma atroviride</i>	Yenipazar, Atça	AF456920.1 KX538952.1	2	100
<i>Fusarium proliferatum</i>	Yenipazar, Atça, Sultanhisar	GU074010.1 GQ856689.1 EU151490.1	8	100
<i>Syncephalastrum monosporum</i>	Yenipazar, Atça	JQ954866.1	2	100
<i>Pestalotiopsis clavispora</i>	Anamur	JF327826.1	3	100
<i>Mucor circinelloides</i>	Anamur, Silifke	KJ584557.1	13	98-100
<i>Mucor recemosus</i>	Anamur	JN205991.1	4	100
<i>Mucor fragilis</i>	Anamur, Silifke	JF327830.1	5	100
<i>Geotrichum candidum</i>	Silifke	KJ579937	3	100
<i>Fusarium equiseti</i>	Silifke	KT366737.1	2	100
<i>Fusarium clamydosporum</i>	Silifke	HQ671187.1	5	100
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Silifke	JN644249.1	3	100
<i>Fusarium oxysporum</i>	Anamur	GQ121286.1	3	100

ITS dizi verileri kullanılarak MEGA 7.0 programıyla hizalama, model testi (Çizelge 4.2), uzaklık matrisi (Çizelge 4.3) ve filogenetik ağaç (Şekil 4.6) çıkarılmıştır.

ITS dizilerinin hizalanması MEGA programı içinde bulunan ClustalW kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4. 2. Test edilen modeller ve skorları. (BIC: Bayesian Information Criterion, AICc: Akaike Information Criterion, corrected, lnL: Maximum Likelihood Value, G: Gamma Dağılımı, I: Evrimsel değişmez, GTR: General Time Reversible, HKY: Hasegawa-Kishina-Yano, TN93: Tamura-Nei, T92: Tamura3, K2:Kimura2, JC: Jukes-Cantor)

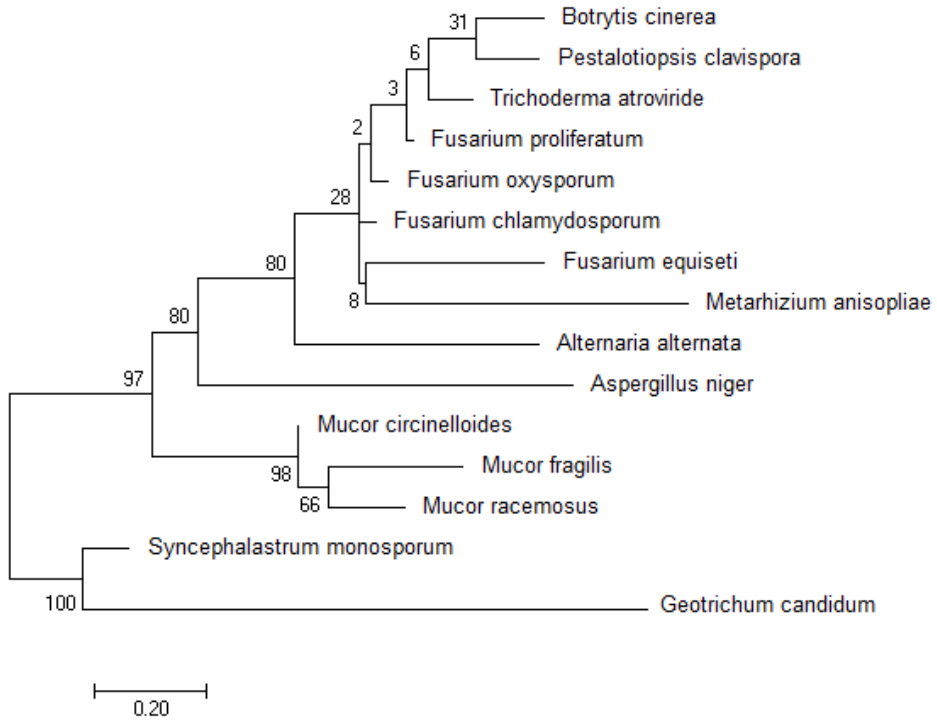
<b>Model Test Skorları</b>				
<b>Model</b>	<b>Parametre</b>	<b>BIC</b>	<b>AICc</b>	<b>lnL</b>
<b>T92+G</b>	32	6019.347	5822.486	-2878.941
<b>T92+G+I</b>	33	6027.518	5824.524	-2878.942
<b>K2+G</b>	31	6027.743	5837.016	-2887.225
<b>K2+G+I</b>	32	6035.914	5839.053	-2857.225
<b>HKY+G</b>	34	6036.864	5827.739	-2897.529
<b>TN93+G</b>	35	6040.949	5825.693	-2877.486
<b>HKY+G+I</b>	35	6045.035	5829.779	-2879.529
<b>T92</b>	31	6046.294	5855.567	-2896.500
<b>T92+I</b>	32	6048.413	5851.552	-2893.475
<b>TN93+G+I</b>	36	6049.120	5827.735	-2877.487
<b>K2</b>	30	6056.337	5871.745	-2905.607
<b>JC+G</b>	30	6058.729	5874.137	-2906.803
<b>GTR+G</b>	38	6063.490	5829.849	-2876.501
<b>HKY</b>	33	6063.884	5860.890	-2897.125
<b>HKY+I</b>	34	6066.045	5856.919	-2894.120
<b>JC+G+I</b>	31	6066.900	5876.173	-2906.803
<b>TN93</b>	34	6067.076	5857.950	-2894.635
<b>TN93+I</b>	35	6069.642	5854.386	-2891.833
<b>GTR+G+I</b>	39	6071.661	5831.894	-2876.501
<b>JC</b>	29	6086.025	5907.569	-2924.536
<b>GTR</b>	37	6089.386	5861.872	-2893.534
<b>JC+I</b>	30	6089.948	5905.357	-2922.413
<b>GTR+I</b>	38	6091.895	5858.254	-2890.703
<b>K2+I</b>	31	6122.340	5931.613	-2934.524

En düşük BIC skoruna sahip model en iyi ikame düzenini tanımlamaktadır. Ağaç oluştururken en düşük BIC skoruna sahip model seçilir. Her bir model için AICc ve  $\ln L$  değerleride verilmiştir (Nei ve Kumar, 2000). Evrimsel oranların birliğinin olmaması 5 oranlı kategorilerle Gamma dağılımı kullanılarak modellenmiş ve bölgelerin belirli kısımlarının evrimsel değişmez olduğu kabul edilmiştir. Çizelge 4.2’de görüldüğü üzere en düşük BIC skorunu gamma dağılımlı Tamura 3 (T92+G) modeli vermiştir. Uzaklık matrisi ve Maximum Likelihood ağacı bu model kullanılarak oluşturulmuştur.

Çizelge 4. 3. Model testi ile belirlenen modele göre oluşturulan uzaklık matrisi

No	Fungus Adı	Uzaklık Matrisi														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	<i>Aspergillus niger</i>	1	0,199	0,782	0,220	0,184	1,191	0,287	0,232	0,369	0,142	0,169	0,136	0,464	0,139	0,168
2	<i>Botrytis cinerea</i>	1,737	2	0,048	0,067	0,030	0,377	0,066	0,313	0,135	0,119	0,026	0,034	0,111	0,031	0,077
3	<i>Ficarium chlamydosporium</i>	2,194	0,837	3	0,035	0,012	0,228	0,064	0,184	0,169	0,121	0,030	0,025	0,138	0,019	0,075
4	<i>Ficarium equiseti</i>	1,308	0,618	0,290	4	0,040	0,856	0,105	0,150	0,349	0,175	0,066	0,062	0,197	0,047	0,095
5	<i>Ficarium oxysporum</i>	1,361	0,317	0,069	0,341	5	0,306	0,065	0,089	0,146	0,110	0,030	0,025	0,133	0,016	0,079
6	<i>Geotrichum canthianum</i>	1,697	1,761	1,582	2,017	1,669	6	0,532	0,475	0,511	0,308	0,181	0,340	0,108	0,234	0,649
7	<i>Metarhizium anisopliae</i>	1,402	0,600	0,564	0,855	0,581	1,660	7	0,140	0,382	0,143	0,071	0,069	0,136	0,064	0,107
8	<i>Micor chrysoloides</i>	1,965	1,735	1,784	1,095	1,017	1,807	1,112	8	0,029	0,025	0,075	0,111	0,089	0,091	0,132
9	<i>Micor fragilis</i>	1,684	1,232	1,365	1,493	1,292	1,897	1,565	0,276	9	0,036	0,129	0,377	0,119	0,172	0,434
10	<i>Micor raemosus</i>	1,397	1,220	1,231	1,241	1,169	1,752	1,191	0,280	0,413	10	0,102	0,123	0,115	0,112	0,158
11	<i>Pestalotiopsis clavispora</i>	1,384	0,264	0,329	0,625	0,327	1,491	0,661	0,987	1,224	1,172	11	0,034	0,163	0,032	0,075
12	<i>Trichoderma atroviride</i>	1,314	0,395	0,258	0,541	0,255	1,835	0,654	1,221	1,756	1,304	0,384	12	0,203	0,018	0,077
13	<i>Synechocactium monosporium</i>	1,713	1,090	1,211	1,279	1,206	1,075	1,107	1,035	1,201	1,199	1,295	1,474	13	0,150	0,154
14	<i>Ficarium proliferatum</i>	1,256	0,337	0,150	0,398	0,132	1,643	0,602	1,049	1,406	1,187	0,350	0,155	1,254	14	0,081
15	<i>Alternaria alternata</i>	1,452	0,890	0,844	0,748	0,880	1,985	0,937	1,306	1,775	1,446	0,869	0,931	1,386	15	0,898

Analizler Tamura 3 parametresine göre gamma dağılımlı gerçekleştirilmiştir. Diziler arasından bölge başına baz ikame sayıları alt kısımda, Standart sapma hesaplamaları ise üst kısımda gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Maximum likelihood yöntemiyle elde edilen filogenetik ağaç. İlişkili taksonların bir araya getirildiği ağaçların yüzdesi bootstrap (1000 tekrar) testi ile belirlenmiş ve dalların yanında verilmiştir.

Evrimsel tarih Tamura 3 parametresi modelini temel alınarak Maximum likelihood yöntemi kullanılarak yorumlanmıştır. Bölgeler arası evrimsel oran farklılıklarını modellemek için gamma dağılımı (5 katagori, +G parametresi: 3.1712) kullanılmıştır.

### 4.3.2. Transpozon Belirlenmesi

*Boty* ve *Flipper* transpozonlarının belirlenmesinde PCR yöntemi kullanılmıştır. *Boty* transpozonu için BotyF4 (5'- CAG CTG CAG TAT ACT GGG GGA-3') ve BotyR4 (5'- GGT GCT CAA AGT GTT ACG GGA G-3') primer çifti, *flipper* transpozonu için F300 (5'-GCA CAA AAC CTA CAG AAG A-3') ve F1550 (5'- ATT CGT TTC TTG GAC TGT A-3') primer çifti kullanılmıştır.

*Boty* primer çiftinin optimizasyonu için bağlanma sıcaklığı 60, 61, 62, 63, 64 ve 65°C'de, MgCl<sub>2</sub> 1,2, 1,5 ve 1,8 µL, DNA konsantrasyonu 50, 75 ve 100 ng/µL olarak denenmiştir (Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

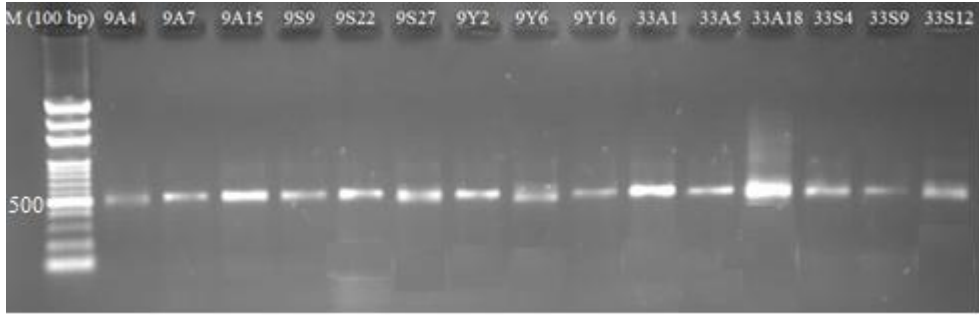
Çizelge 4. 4 *Boty* primer optimizasyonu bağlanma sıcaklığı aralıkları

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
<b>Ön denatürasyon</b>	94	3 dk	1
<b>Denatürasyon</b>	94	30 sn	35
<b>Bağlanma</b>	60-65	30 sn	
<b>Uzama</b>	72	30 sn	
<b>Son Uzama</b>	72	3dk	1

Çizelge 4. 5 *Boty* primer optimizasyonu bileşen miktarları

PCR bileşenleri ve miktarları	
Bileşen	Miktar
sdH <sub>2</sub> O	15,5 µL
10X Taq	2,5 µL (1X)
Tampon(GenMark)	
25 mM MgCl <sub>2</sub>	1.2,1.5,1.8 µL
0.5 M dNTP Mix	5 µL
2.5 mM F Primer	0,3 µL
2.5 mM R Primer	0,3 µL
Kalıp DNA	50, 75, 100 ng
Taq Polimeraz	0,1 µL (1U)

Yapılan denemelerin sonucunda Çizelge 3.11 ve Çizelge 3.14'teki değerlere ulaşılmıştır. Belirlenen şartlarda PCR kurulmuştur.



Şekil 4.5. *Boty* transpozonu PCR sonuçlarının agaroz jelde görüntülenmesi (M:100 bp DNA ladder (GenMark), 9xx: Aydın örnekleri, 33xx: Mersin örnekleri)

PCR sonucunda *boty* primerlerinden beklenildiği gibi yaklaşık 600 bp uzunluğunda ürünler elde edilmiştir.

*Flipper* primer çiftinin optimizasyonu için bağlanma sıcaklığı 57, 58, 59, 60, 61 ve 62 °C'de, MgCl<sub>2</sub> 1,5 ve 1,8 µL, DNA konsantrasyonu 50, 75 ve 100 ng/µL olarak denenmiştir (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

Çizelge 4. 6 *Flipper* primer optimizasyonu bağlanma sıcaklığı aralıkları

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
<b>Ön denatürasyon</b>	94	3 dk	1
<b>Denatürasyon</b>	94	30 sn	35
<b>Bağlanma</b>	57-62	30 sn	
<b>Uzama</b>	72	30 sn	
<b>Son Uzama</b>	72	3dk	1

		Download		GenBank		Graphics	
B.cinerea long terminal repeat DNA of retrotransposon Boty							
Sequence ID: <a href="#">X81790.1</a> Length: 764 Number of Matches: 1							
Range 1: 1 to 764		<a href="#">GenBank</a>		<a href="#">Graphics</a>		▼ Next Match ▲ Previous Match	
Score		Expect	Identities	Gaps		Strand	
1411 bits(764)		0.0	764/764(100%)	0/764(0%)		Plus/Plus	
Query	1	AAAGTTTTGATTGAAGAAGAAATTGAAATGAAATAAGTGAATGATTTACCCCTTACTTCC				60	
Sbjct	1	AAAGTTTTGATTGAAGAAGAAATTGAAATGAAATAAGTGAATGATTTACCCCTTACTTCC				60	
Query	61	CCTCCCCCTTAAACTTTCGTGTTACGACGATTAGTAACAGGCTGTAGAATCACCAACGTAT				120	
Sbjct	61	CCTCCCCCTTAAACTTTCGTGTTACGACGATTAGTAACAGGCTGTAGAATCACCAACGTAT				120	
Query	121	AGGCTATAATGGTATTATAGGCCCTCAGCGATTGAGCTGCAGTATACTGGGGGACACTAGG				180	
Sbjct	121	AGGCTATAATGGTATTATAGGCCCTCAGCGATTGAGCTGCAGTATACTGGGGGACACTAGG				180	
Query	181	CACCCAAGGAAAGCCTCAGGCATGTATATAGTATTAGTCATAGGATATCCTAGAAACGTA				240	
Sbjct	181	CACCCAAGGAAAGCCTCAGGCATGTATATAGTATTAGTCATAGGATATCCTAGAAACGTA				240	
Query	241	GGACAATAGGTCCTAGGAAACACCGAACATAAATTTGCAAACTTTTCGCGAAGTTATATT				300	
Sbjct	241	GGACAATAGGTCCTAGGAAACACCGAACATAAATTTGCAAACTTTTCGCGAAGTTATATT				300	
Query	301	AGTAATGTCCAGGGGATGGCCCTAGGATAAAAGATAAGCTAGGACACGGGAAGACACG				360	
Sbjct	301	AGTAATGTCCAGGGGATGGCCCTAGGATAAAAGATAAGCTAGGACACGGGAAGACACG				360	
Query	361	GGAAACCGGTATCACGTGATGGCCGTCATCAATCCACCGATTATTATCAATGGGATC				420	
Sbjct	361	GGAAACCGGTATCACGTGATGGCCGTCATCAATCCACCGATTATTATCAATGGGATC				420	
Query	421	ATGGGGATCCATCACTCCCACCACTTCCGGTGAGTGGGATCGATGGGACAAACAGAGTACG				480	
Sbjct	421	ATGGGGATCCATCACTCCCACCACTTCCGGTGAGTGGGATCGATGGGACAAACAGAGTACG				480	
Query	481	AAGGTCTATATAAGGGAAATGGGTTTCCTTATATGTAGAGCTTCGTGCTCAAGAACAATCA				540	
Sbjct	481	AAGGTCTATATAAGGGAAATGGGTTTCCTTATATGTAGAGCTTCGTGCTCAAGAACAATCA				540	
Query	541	TTAGTTTCATTAATAAGTTACGAGAATTGCAATCAGTTACAACCTTATTGAATCCCTAC				600	
Sbjct	541	TTAGTTTCATTAATAAGTTACGAGAATTGCAATCAGTTACAACCTTATTGAATCCCTAC				600	
Query	601	TTGAAGTCTAGTCTAAACCACTCGAGAGATCTCTAGACACTTCCACGTGACCCTAGAGG				660	
Sbjct	601	TTGAAGTCTAGTCTAAACCACTCGAGAGATCTCTAGACACTTCCACGTGACCCTAGAGG				660	
Query	661	CAGCTCCCCTAACACTTTGAGCACCTTTCTGGCCAAGTACCGATTGATAACCCACCGC				720	
Sbjct	661	CAGCTCCCCTAACACTTTGAGCACCTTTCTGGCCAAGTACCGATTGATAACCCACCGC				720	
Query	721	TGAAATATGGCAACCAGAAATACCGCCACAGGTCAGTCTACCGG			764		
Sbjct	721	TGAAATATGGCAACCAGAAATACCGCCACAGGTCAGTCTACCGG			764		

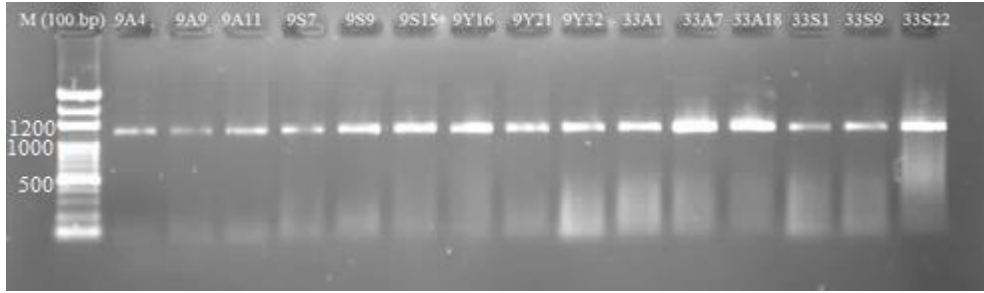
Şekil 4.6 *Boty* transpozonu GenBank eşleşmesi



Çizelge 4. 7 *Flipper* primer optimizasyonu bileşen miktarları

PCR bileşenleri ve miktarları	
Bileşen	Miktar
sdH <sub>2</sub> O	15,5 µL
10X Taq	2,5 µL (1X)
Tampon(GenMark)	
25 mM MgCl <sub>2</sub>	1.5,1.8 µL
0.5 M dNTP Mix	5 µL
2.5 mM F Primer	0,3 µL
2.5 mM R Primer	0,3 µL
Kalıp DNA	50, 75, 100 ng
Taq Polimeraz	0,1 µL (1U)

Yapılan denemelerin sonucunda Çizelge 3.12 ve Çizelge 3.15'teki değerlere ulaşılmıştır. Belirlenen şartlarda PCR kurulmuştur.



Şekil 4.7 *Flipper* transpozonu PCR sonuçlarının agaroz jelde görüntülenmesi (M:100 bp DNA ladder (GenMark), 9xx: Aydın örnekleri, 33xx: Mersin örnekleri)

PCR sonucunda *flipper* primerlerinden beklenildiği gibi yaklaşık 1200 bp uzunluğunda ürünler elde edilmiştir.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda Aydın ilinden elde edilen toplam 87 örneğin 17'si *transposa*, 42'si *boty*, 8 tanesi *flipper* ve 20 tanesi *vacuma* grubu olarak bulunmuştur. Mersin ilinde elde edilen toplam 67 örnekten 14 tanesi *transposa*, 29 tanesi *boty*, 8 tanesi *flipper* ve 16 tanesi *vacuma* grubu olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Botryotinia fuckelliana transposon flipper, complete sequence

Sequence ID: [KF533049.1](#) Length: 1129 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 1129		<a href="#">GenBank</a>	<a href="#">Graphics</a>	▼ Next Match	▲ Previous Match
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Plus/Plus
2085 bits(1129)	0.0	1129/1129(100%)	0/1129(0%)		
Query 1	TTTAGTACAGGAAGCCCTAGGAAC	TAGCCCTACCCATCGTCAAA	TACGAGAATTAAGGAGA	60	
Sbjct 1	TTTAGTACAGGAAGCCCTAGGAAC	TAGCCCTACCCATCGTCAAA	TACGAGAATTAAGGAGA	60	
Query 61	GTCCATTCTCAACCTCGAAGG	AGGTGATTTATCTCTGGGCA	AGCGATGGATACATAGTTT	120	
Sbjct 61	GTCCATTCTCAACCTCGAAGG	AGGTGATTTATCTCTGGGCA	AGCGATGGATACATAGTTT	120	
Query 121	TTTGGAAAAGAAACCAGAGATT	AAAGACTAAAAGGCAATTA	AAAATCGATAAAGCCCGGATC	180	
Sbjct 121	TTTGGAAAAGAAACCAGAGATT	AAAGACTAAAAGGCAATTA	AAAATCGATAAAGCCCGGATC	180	
Query 181	ATGGGGCAACACCGAAATTA	AAAGCAAGTTCTTGAAAAG	TGGATCACCAGCAATTAAGC	240	
Sbjct 181	ATGGGGCAACACCGAAATTA	AAAGCAAGTTCTTGAAAAG	TGGATCACCAGCAATTAAGC	240	
Query 241	ATATCAGCCGAAAAAGATG	GGAATAGGGATGAAAGCT	GGTAAACGGAAAGCCAGGGTCTC	300	
Sbjct 241	ATATCAGCCGAAAAAGATG	GGAATAGGGATGAAAGCT	GGTAAACGGAAAGCCAGGGTCTC	300	
Query 301	AACCGTATGGTACTGGGG	AGTTCAAAAGACGTTTATT	CGAAAAAGCAACCCGGTTC	360	
Sbjct 301	AACCGTATGGTACTGGGG	AGTTCAAAAGACGTTTATT	CGAAAAAGCAACCCGGTTC	360	
Query 361	AACGTGGACCTCTTTATT	GAGTGTATCTCAGATAC	GGGAAGGCACTTTTACTTTGGTCA	420	
Sbjct 361	AACGTGGACCTCTTTATT	GAGTGTATCTCAGATAC	GGGAAGGCACTTTTACTTTGGTCA	420	
Query 421	TATTCAAAGGTAATAAC	CAACAATGGTTTCCATT	AAACTTGATAACCATGAAGG	480	
Sbjct 421	TATTCAAAGGTAATAAC	CAACAATGGTTTCCATT	AAACTTGATAACCATGAAGG	480	
Query 481	GTGGGAGTTCACTGCTA	CAGATAATGGGTGGACT	ACGGATTCTACAGGTTGGAA	540	
Sbjct 481	GTGGGAGTTCACTGCTA	CAGATAATGGGTGGACT	ACGGATTCTACAGGTTGGAA	540	
Query 541	AAGAGGTGTTTATACCA	CAATCAGCACCAACTG	ACCAGAAAGCAAGCAACTCCTTGT	600	
Sbjct 541	AAGAGGTGTTTATACCA	CAATCAGCACCAACTG	ACCAGAAAGCAAGCAACTCCTTGT	600	
Query 601	TGGATGGGCTAGAAAG	CCATGAAACCCTCATT	TATGCTTGAATGCTTCAAG	660	
Sbjct 601	TGGATGGGCTAGAAAG	CCATGAAACCCTCATT	TATGCTTGAATGCTTCAAG	660	
Query 661	ACACCTCTATTTTACC	ACCCCATACATCGCAT	GTACTACACCTCTGATTTATCATATTT	720	
Sbjct 661	ACACCTCTATTTTACC	ACCCCATACATCGCAT	GTACTACACCTCTGATTTATCATATTT	720	
Query 721	TCACCTCTGAAAAA	GAATATCGATACCA	CCCTCATACTCTCGATT	780	
Sbjct 721	TCACCTCTGAAAAA	GAATATCGATACCA	CCCTCATACTCTCGATT	780	
Query 781	CCCATTGGCAAAA	GAAACTTTCTTGCCT	GCTATCAAAAAGCTAGATA	840	
Sbjct 781	CCCATTGGCAAAA	GAAACTTTCTTGCCT	GCTATCAAAAAGCTAGATA	840	
Query 841	CGAATATCACTTCT	GAGTGGAAAGGCTT	CAGTTTATGGCTCAAAA	900	
Sbjct 841	CGAATATCACTTCT	GAGTGGAAAGGCTT	CAGTTTATGGCTCAAAA	900	
Query 901	TGTCCAGATATGCT	CGAAACAGTAATC	AGAGTGATATCAAA	960	
Sbjct 901	TGTCCAGATATGCT	CGAAACAGTAATC	AGAGTGATATCAAA	960	
Query 961	TCGAGCTCATGAAT	ATACGTCATCTTT	TATGTCATGGAAA	1020	
Sbjct 961	TCGAGCTCATGAAT	ATACGTCATCTTT	TATGTCATGGAAA	1020	
Query 1021	TATTCGAAAAAT	GCTGATATAATGG	AGAAAAGTTGATGAG	1080	
Sbjct 1021	TATTCGAAAAAT	GCTGATATAATGG	AGAAAAGTTGATGAG	1080	
Query 1081	GCTGCTTTTT	CGAAAAGATCATA	ATGGCACTAGAATGCT	1129	
Sbjct 1081	GCTGCTTTTT	CGAAAAGATCATA	ATGGCACTAGAATGCT	1129	

Şekil 4.8 *Flipper* transpozonu GenBank eşleşmesi

Çizelge 4. 8. *B. cinerea* transpozon grupları ve konumları. (9A: Atça, 9S: Sultanhisar, 9Y: Yenipazar, 33A: Anamur, 33S: Silifke)

<b>Transpozon Grupları ve Konumları</b>			
<b>Örnek Adı</b>	<b>Grup</b>	<b>Konum</b>	<b>İl</b>
9A1	<i>Vacuma</i>	Atça	Aydın
9A2	<i>Vacuma</i>	Atça	Aydın
9A3	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A4	<i>Transposa</i>	Atça	Aydın
9A5	<i>Transposa</i>	Atça	Aydın
9A6	<i>Transposa</i>	Atça	Aydın
9A7	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A8	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A9	<i>Transposa</i>	Atça	Aydın
9A10	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A11	<i>Transposa</i>	Atça	Aydın
9A12	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A13	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A14	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A15	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A16	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A17	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A18	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A19	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A20	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A21	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A22	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A23	<i>Vacuma</i>	Atça	Aydın
9A24	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A25	<i>Vacuma</i>	Atça	Aydın
9A26	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A27	<i>Vacuma</i>	Atça	Aydın
9A28	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A29	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A30	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A31	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A32	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A33	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A34	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A35	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
9A36	<i>Boty</i>	Atça	Aydın

<b>9A37</b>	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
<b>9A38</b>	<i>Boty</i>	Atça	Aydın
<b>9S1</b>	<i>Vacuma</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S2</b>	<i>Flipper</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S3</b>	<i>Vacuma</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S4</b>	<i>Transposa</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S5</b>	<i>Transposa</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S6</b>	<i>Transposa</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S7</b>	<i>Vacuma</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S8</b>	<i>Transposa</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S9</b>	<i>Flipper</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S10</b>	<i>Transposa</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S11</b>	<i>Transposa</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S12</b>	<i>Transposa</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S13</b>	<i>Transposa</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S14</b>	<i>Boty</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S15</b>	<i>Boty</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S16</b>	<i>Boty</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S17</b>	<i>Boty</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S18</b>	<i>Vacuma</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S19</b>	<i>Boty</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S20</b>	<i>Flipper</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S21</b>	<i>Boty</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S22</b>	<i>Vacuma</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9S23</b>	<i>Vacuma</i>	Sultanhisar	Aydın
<b>9Y1</b>	<i>Boty</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y2</b>	<i>Vacuma</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y3</b>	<i>Boty</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y4</b>	<i>Vacuma</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y5</b>	<i>Boty</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y6</b>	<i>Boty</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y7</b>	<i>Boty</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y8</b>	<i>Vacuma</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y9</b>	<i>Transposa</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y10</b>	<i>Boty</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y11</b>	<i>Boty</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y12</b>	<i>Flipper</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y13</b>	<i>Flipper</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y14</b>	<i>Vacuma</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y15</b>	<i>Transposa</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y16</b>	<i>Vacuma</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y17</b>	<i>Flipper</i>	Yenipazar	Aydın

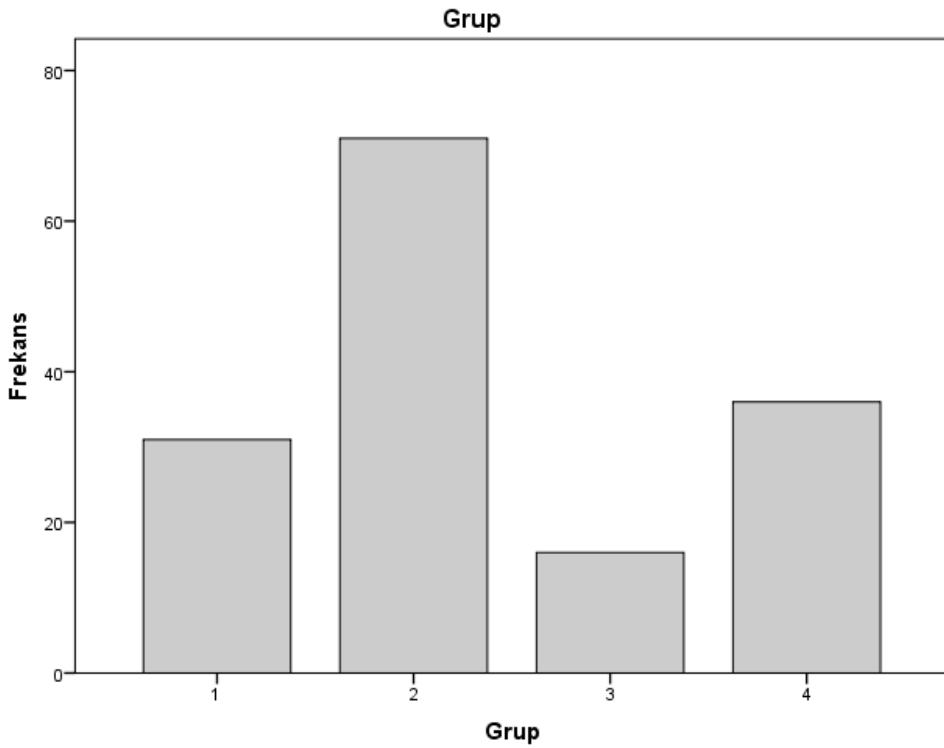
<b>9Y18</b>	<i>Flipper</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y19</b>	<i>Transposa</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y20</b>	<i>Vacuma</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y21</b>	<i>Vacuma</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y22</b>	<i>Vacuma</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y23</b>	<i>Flipper</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y24</b>	<i>Boty</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y25</b>	<i>Vacuma</i>	Yenipazar	Aydın
<b>9Y26</b>	<i>Transposa</i>	Yenipazar	Aydın
<b>33A1</b>	<i>Transposa</i>	Anamur	Mersin
<b>33A2</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A3</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A4</b>	<i>Flipper</i>	Anamur	Mersin
<b>33A5</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A6</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A7</b>	<i>Flipper</i>	Anamur	Mersin
<b>33A8</b>	<i>Transposa</i>	Anamur	Mersin
<b>33A9</b>	<i>Flipper</i>	Anamur	Mersin
<b>33A10</b>	<i>Transposa</i>	Anamur	Mersin
<b>33A11</b>	<i>Transposa</i>	Anamur	Mersin
<b>33A12</b>	<i>Flipper</i>	Anamur	Mersin
<b>33A13</b>	<i>Transposa</i>	Anamur	Mersin
<b>33A14</b>	<i>Vacuma</i>	Anamur	Mersin
<b>33A15</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A16</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A17</b>	<i>Vacuma</i>	Anamur	Mersin
<b>33A18</b>	<i>Vacuma</i>	Anamur	Mersin
<b>33A19</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A20</b>	<i>Transposa</i>	Anamur	Mersin
<b>33A21</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A22</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A23</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A24</b>	<i>Transposa</i>	Anamur	Mersin
<b>33A25</b>	<i>Vacuma</i>	Anamur	Mersin
<b>33A26</b>	<i>Vacuma</i>	Anamur	Mersin
<b>33A27</b>	<i>Transposa</i>	Anamur	Mersin
<b>33A28</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A29</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A30</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A31</b>	<i>Vacuma</i>	Anamur	Mersin
<b>33A32</b>	<i>Vacuma</i>	Anamur	Mersin
<b>33A33</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin

<b>33A34</b>	<i>Vacuma</i>	Anamur	Mersin
<b>33A35</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A36</b>	<i>Boty</i>	Anamur	Mersin
<b>33A37</b>	<i>Vacuma</i>	Anamur	Mersin
<b>33S1</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S2</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S3</b>	<i>Flipper</i>	Silifke	Mersin
<b>33S4</b>	<i>Vacuma</i>	Silifke	Mersin
<b>33S5</b>	<i>Transposa</i>	Silifke	Mersin
<b>33S6</b>	<i>Transposa</i>	Silifke	Mersin
<b>33S7</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S8</b>	<i>Vacuma</i>	Silifke	Mersin
<b>33S9</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S10</b>	<i>Flipper</i>	Silifke	Mersin
<b>33S11</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S12</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S13</b>	<i>Transposa</i>	Silifke	Mersin
<b>33S14</b>	<i>Vacuma</i>	Silifke	Mersin
<b>33S15</b>	<i>Vacuma</i>	Silifke	Mersin
<b>33S16</b>	<i>Flipper</i>	Silifke	Mersin
<b>33S17</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S18</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S19</b>	<i>Vacuma</i>	Silifke	Mersin
<b>33S20</b>	<i>Transposa</i>	Silifke	Mersin
<b>33S21</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S22</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S23</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S24</b>	<i>Vacuma</i>	Silifke	Mersin
<b>33S25</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S26</b>	<i>Flipper</i>	Silifke	Mersin
<b>33S27</b>	<i>Transposa</i>	Silifke	Mersin
<b>33S28</b>	<i>Transposa</i>	Silifke	Mersin
<b>33S29</b>	<i>Boty</i>	Silifke	Mersin
<b>33S30</b>	<i>Vacuma</i>	Silifke	Mersin

İki il ve 5 lokasyondan toplam 154 örnek toplanmıştır. Bu 154 örneğin frekans ve yüzde dağılımları Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Örneklerin gruplara göre frekans ve yüzde dağılımları (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

Gruplara göre frekans ve yüzde dağılımı					
	Grup	Frekans	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
<b>Geçerli</b>	1	31	20,1	20,1	20,1
	2	71	46,1	46,1	66,2
	3	16	10,4	10,4	76,0
	4	36	23,4	23,4	100,0
	Total	154	100	100	



Şekil 4.9 Örneklerin gruplara göre frekans dağılımları (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

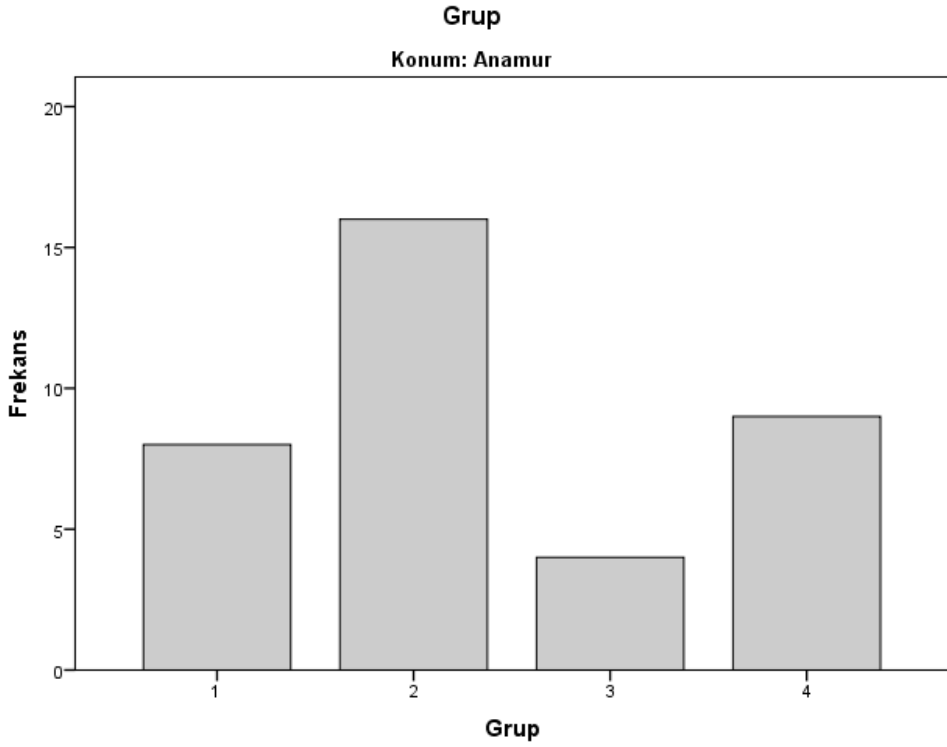
Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9'da görüldüğü üzere *boty* grubu örneklerin genelinde en yüksek frekansta görülürken *flipper* grubu en düşük frekansta görülmüştür.

Konuma göre gerçekleştirilen istatistiksel analizler Çizelge 4.10 ve Şekil 4.10, 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14’da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Örneklerin konumlara göre frekans ve yüzde dağılımları (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatistiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

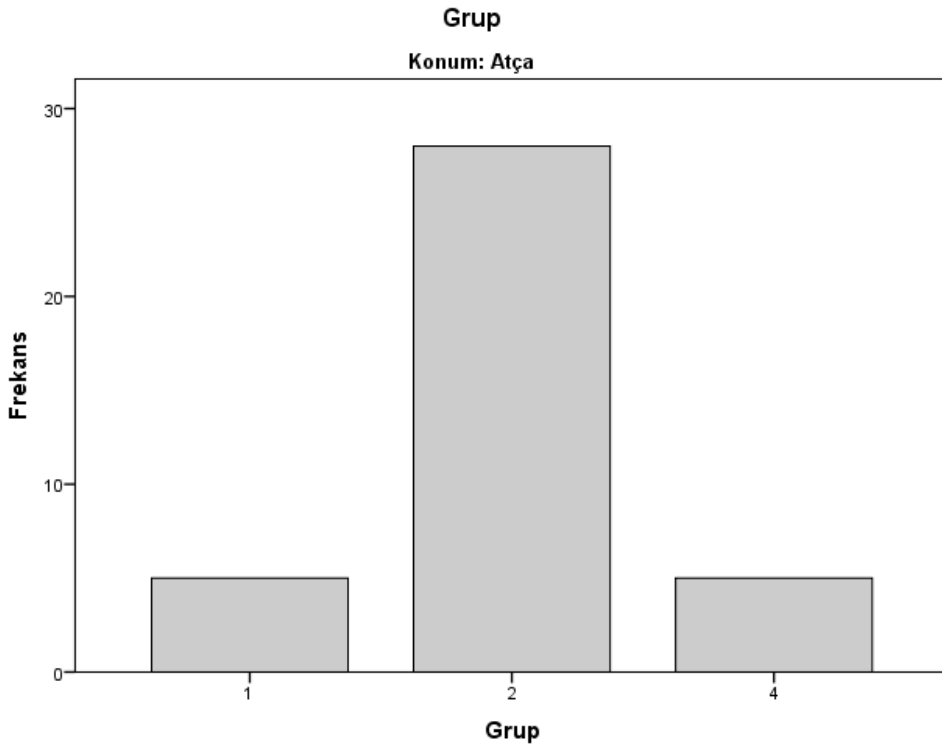
Konumlara göre frekans ve yüzde dağılımı					
Konum	Grup	Frekans	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
<b>Anamur</b>	1	8	21,6	21,6	21,6
	2	16	43,2	43,2	64,9
	3	4	10,8	10,8	75,7
	4	9	24,3	24,3	100,0
	Total	37	100,0	100,0	
<b>Atça</b>	1	5	13,2	13,2	13,2
	2	28	73,7	73,7	86,8
	3	0	0	0	86,8
	4	5	13,2	13,2	100,0
	Total	38	100,0	100,0	
<b>Silifke</b>	1	6	20,0	20,0	20,0
	2	13	43,3	43,3	63,3
	3	4	13,3	13,3	76,7
	4	7	23,3	23,3	100,0
	Total	30	100,0	100,0	
<b>Sultanhisar</b>	1	8	34,8	34,8	34,8
	2	6	26,1	26,1	60,9
	3	3	13,0	13,0	73,9
	4	6	26,1	26,1	100,0
	Total	23	100,0	100,0	
<b>Yenipazar</b>	1	4	15,4	15,4	15,4
	2	8	30,8	30,8	46,2
	3	5	19,2	19,2	63,4
	4	9	34,6	34,6	100,0
	Total	26	100,0	100,0	





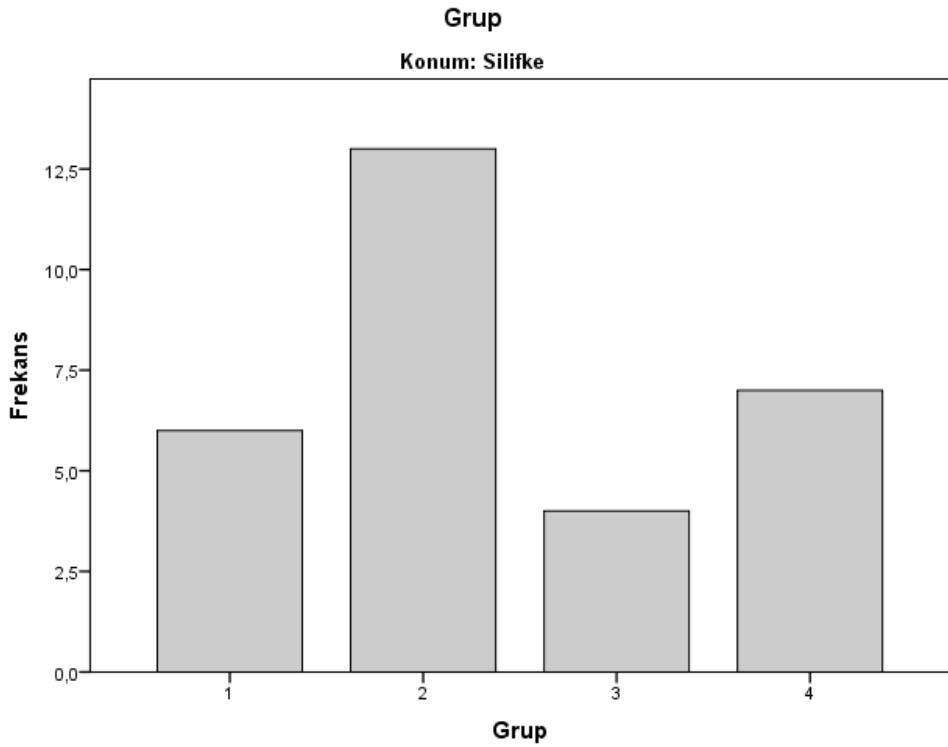
Şekil 4.10 Anamur örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

Anamur ilçesinden toplanan örneklerde *boty* en yüksek frekansa sahip grup olurken, *boty* grubunu, yüksek frekanstan düşük frekansa doğru, sırasıyla *vacuma*, *transposa* ve *flipper* grubu izlemiştir.



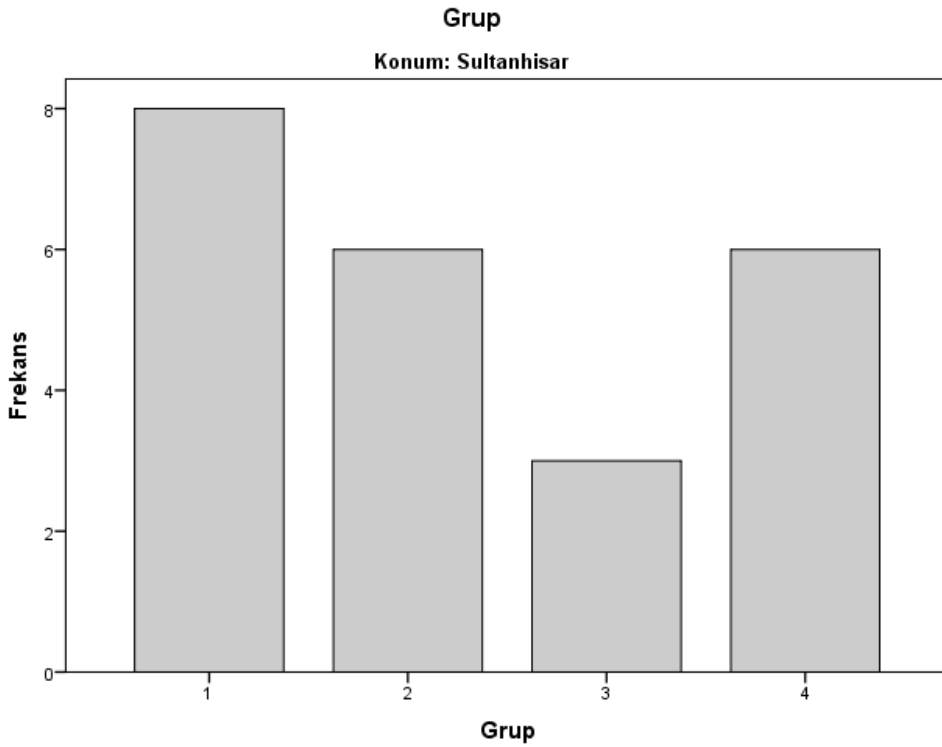
Şekil 4.11 Atça örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

Atça ilçesinde toplanan örneklerde *boty* grubu en yüksek frekansta çıkarken *flipper* grubuna rastlanmamıştır. *Transposa* ve *vacuma* grubu ise aynı frekansta görülmüştür.



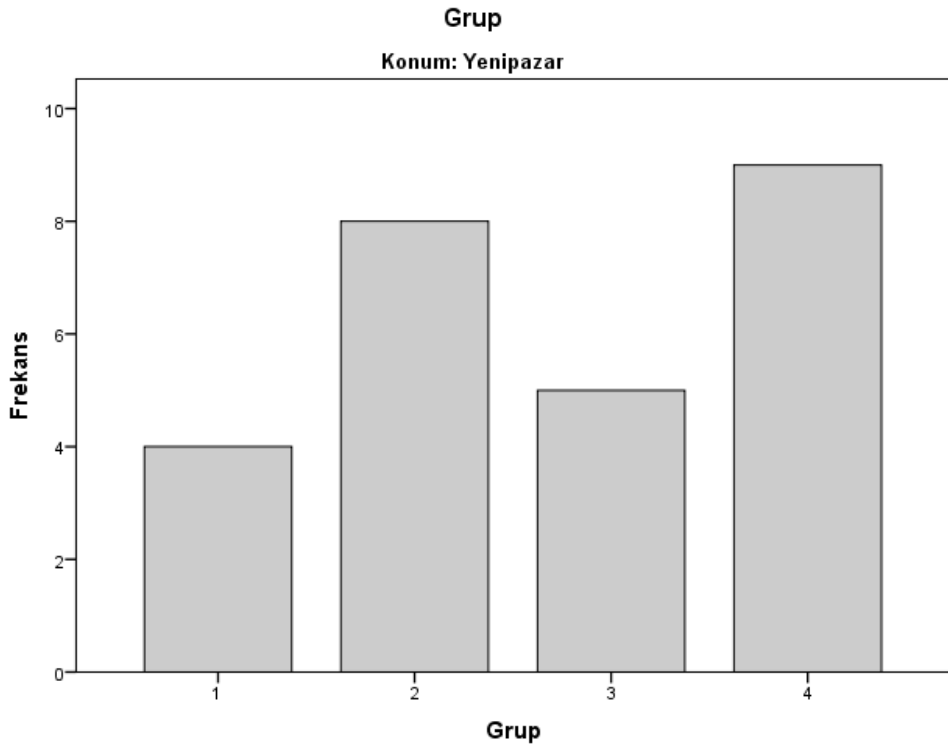
Şekil 4.12 Silifke örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

Silifke ilçesinde *boty* en yüksek frekansa sahip grup olurken *flipper* en düşük frekansa sahip grup olmuştur. İkinci sırada *vacuma* grubu bulunurken üçüncü sırayı *transposa* grubu almıştır.



Şekil 4.13 Sultanhisar örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

Sultanhisar ilçesinde *transposa* grubu en yüksek frekansta çıkarken *boty* ikinci sırayı almış, *vacuma* üçüncü sırada gelmiş ve *flipper* ise son sırada yer almıştır.



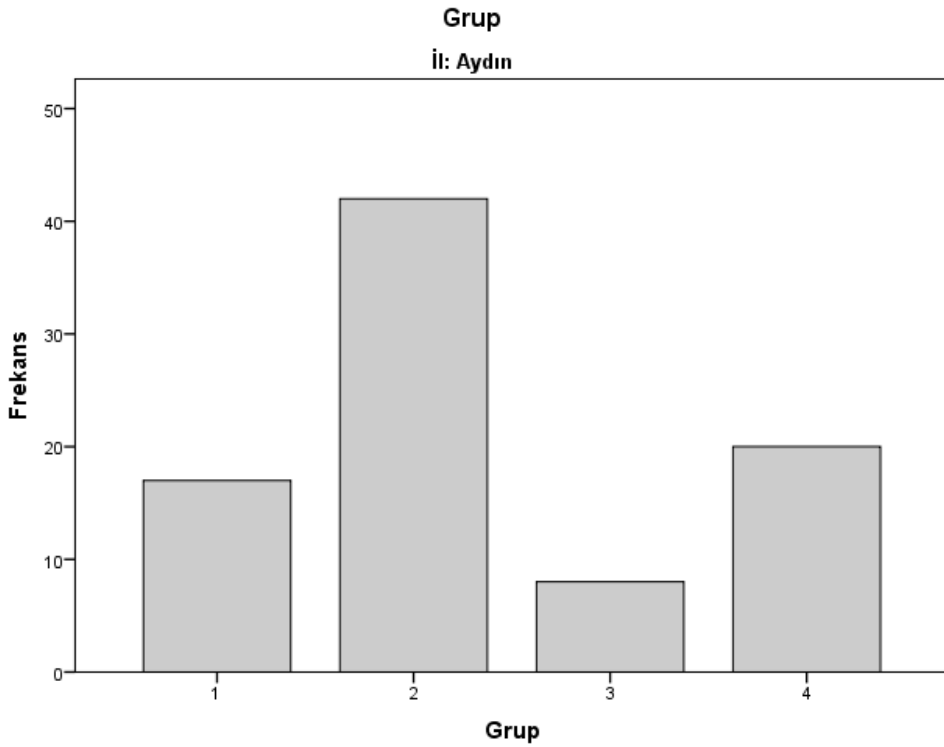
Şekil 4.14 Yenipazar örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

Yenipazar ilçesinde *vacuma* grubu en yüksek frekansa sahipken, *boty* grubu ikinci sırada, *flipper* grubu üçüncü sırada ve *transposa* grubu son sırada yer almıştır.

İllere göre gerçekleştirilen istatistiksel analizler Çizelge 4.11 ve Şekil 4.15 ve 4.16'de gösterilmiştir.

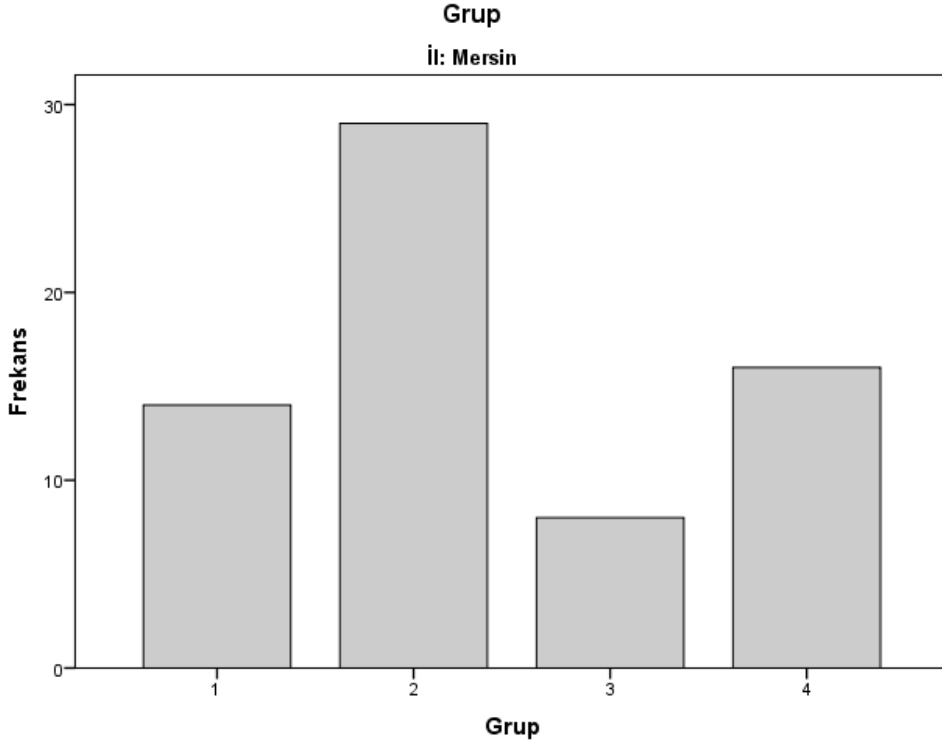
Çizelge 4.11. Örneklerin illere göre frekans ve yüzde dağılımları (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatistiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

Konumlara göre frekans ve yüzde dağılımı					
İl	Grup	Frekans	Yüzde	Geçerli Yüzde	Kümülatif Yüzde
<b>Aydın</b>	1	17	19,5	19,5	19,5
	2	42	48,3	48,3	67,8
	3	8	9,2	9,2	77,0
	4	20	23,0	23,0	100,0
	Total	87	100,0	100,0	
<b>Mersin</b>	1	14	20,9	20,9	20,9
	2	29	43,3	43,3	64,2
	3	8	11,9	11,9	76,1
	4	16	23,9	23,9	100,0
	Total	67	100,0	100,0	



Şekil 4.15 Aydın ili örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

Aydın ilinden toplanan örneklerde *boty* grubu en yüksek frekansta bulunurken *flipper* en düşük frekansta bulunmuştur. İkinci en yüksek frekansa sahip grup *vacuma*, üçüncü ise *transposa* grubudur.



Şekil 4.16 Mersin ili örneklerinin gruplara göre frekans dağılımları (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

Mersin ilinden toplanan örneklerde Aydın örneklerinde olduğu gibi *boty* grubu en yüksek frekansta bulunurken *flipper* en düşük frekansta bulunmuştur. İkinci en yüksek frekansa sahip grup *vacuma*, üçüncü ise *transposa* grubudur.



Çizelge 4.12 ve 4.13’de verilen crosstab ve ki-kare tablosunda konum ve gruplar arasındaki ilişkiyi, her bir konumda her bir gruptan kaç adet bireyin olduğu ve grupların yüzdeleri verilmiştir.

Çizelge 4.12. Örneklerin konum-grup crosstab tablosu (1: *transposa*, 2: *boty*, 3: *flipper*, 4: *vacuma*). İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

Grup*Konum Crosstabulation						
Grup	Anamur	Atça	Silifke	Sultanhisar	Yenipazar	Total
1	8	5	6	8	4	31
2	32	56	26	12	16	142
3	12	0	12	9	15	48
4	36	20	28	24	36	144
Total	88	81	72	53	71	365

Çizelge 4.13. Örneklerin konum-grup arası Ki-Kare testi. İstatiksel analizler IBM SPSS v22 programıyla gerçekleştirilmiştir.

Ki-kare Testi			
Grup	Değer	df	Önem değ (2 taraflı)
Pearson Ki-Kare	54,400 <sup>a</sup>	12	,000
Benzerlik oranı	62,447	12	,000
Geçerli sayı	365		

Konum ve transpozon grubu arasındaki ilişkiyi belirlemek için yapılan ki-kare testi sonucunda hesaplanan değer beklenen değerden yüksek çıkmıştır. Aynı zamanda istatiksel önem değerinin 0,5’ten küçük çıkması da konum ve transpozon grubu arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir.

#### 4.4. Fungusit Dirençlilik Testleri

##### 4.4.1. Spor Aşaması Dirençlilik Testleri

Farklı fungusit konsantrasyonlarında hazırlanan (3 µg/mL, 1 µg/mL, 0,3 µg/mL, 0,1 µg/mL) sıvı besi ortamlarına her bir transpozon grubundan ekimler yapılmış ve 48 saat 20 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda örneklerin spektrofotometrik ölçümü 492 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Örneklerin absorbands değerleri Çizelge 4.14, 4.15 ve 4.16’da verilmiştir.

Çizelge 4. 14 Fenhexamid’e ait 492 nm absorbands değerleri (Kons: Konsantrasyon, K: Negatif kontrol)

<b>Fenhexamid</b>						
<b>Kons.</b>	<b>0.saat</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>	<b>K</b>
<b>3 µg/mL</b>	0,0254	0,8816	1,0774	0,8161	0,8290	1,1157
<b>1 µg/mL</b>	0,0537	0,6142	0,6223	0,6204	0,6105	1,1367
<b>0.3 µg/mL</b>	0,0388	0,2516	0,2163	0,2717	0,2894	1,1146
<b>0.1 µg/mL</b>	0,0513	0,1975	0,1802	0,1798	0,1667	1,1120

Çizelge 4. 15. Carbendazim’e ait 492 nm absorbands değerleri (Kons: Konsantrasyon, K: Negatif kontrol)

<b>Carbendazim</b>						
<b>Kons.</b>	<b>0.saat</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>	<b>K</b>
<b>3 µg/mL</b>	0,0146	0,7018	0,7479	0,7174	0,2001	1,1157
<b>1 µg/mL</b>	0,0524	0,2187	0,2868	0,5424	0,1453	1,1367
<b>0.3 µg/mL</b>	0,0336	0,1861	0,1603	0,2368	0,1221	1,1146
<b>0.1 µg/mL</b>	0,0527	0,1777	0,1631	0,1927	0,0667	1,1120

Çizelge 4. 16. Cyprodinil’e ait 492 nm absorbands değerleri (Kons: Konsantrasyon, K: Negatif kontrol)

<b>Cyprodinil</b>						
<b>Kons.</b>	<b>0.saat</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>	<b>K</b>
<b>3 µg/mL</b>	0,0123	0,1336	0,1074	0,1121	0,1513	1,1157
<b>1 µg/mL</b>	0,0569	0,1388	0,1123	0,1537	0,1627	1,1367
<b>0.3 µg/mL</b>	0,0428	0,1428	0,1146	0,1624	0,1734	1,1146
<b>0.1 µg/mL</b>	0,0510	0,1830	0,1254	0,1869	0,1810	1,1120

Fungusitlerin büyüme inhibisyon yüzdeleri (Growth Inhibition Percentence, GIP) aşağıdaki formülle hesaplanmış ve Çizelge 4.17, 4.18 ve 4.19 ile Şekil 4.17, 4.18 ve 4.19'de verilmiştir.

$$[(AC_{t2} - AC_{t0}) - (AF_{t2} - AF_{t0})]x \frac{100}{(AC_{t2} - AC_{t0})}$$

Formülde AC<sub>t2</sub>: Kontrol grubu 72. saat absorbands değeri, AC<sub>t0</sub>: Kontrol grubu 0. saat absorbands değeri, AF<sub>t2</sub> Fungusit grubu 72. saat absorbands değeri, AF<sub>t0</sub>: Fungusit grubu 0. Saat absorbands değerini ifade etmektedir.

Çizelge 4. 17 Fenhexamid'e ait büyüme inhibisyon yüzdesi (GIP) değerleri

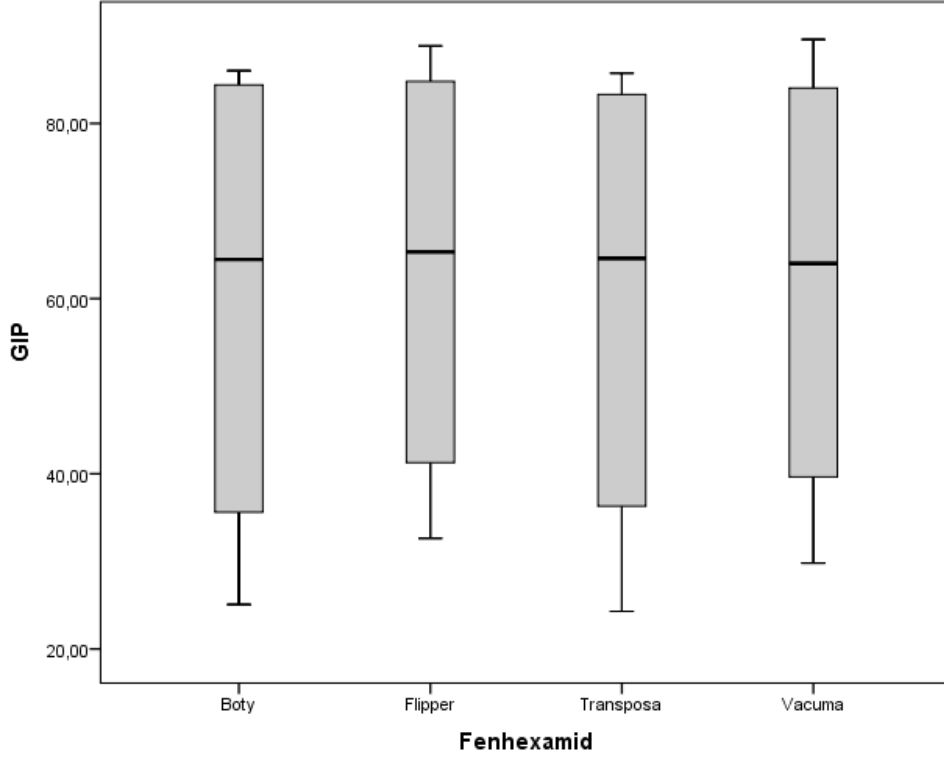
<b>Fenhexamid GIP değerleri</b>				
<b>Kons.</b>	<b>Transposa</b>	<b>Boty</b>	<b>Flipper</b>	<b>Vacuma</b>
<b>3 µg/mL</b>	85,745	86,034	88,857	89,582
<b>1 µg/mL</b>	80,866	82,777	80,737	78,505
<b>0,3 µg/mL</b>	48,316	46,148	48,316	49,517
<b>0,1 µg/mL</b>	24,297	25,088	24,297	29,791

Çizelge 4. 18 Carbendazim'e ait büyüme inhibisyon yüzdesi (GIP) değerleri

<b>Carbendazim GIP değerleri</b>				
<b>Kons.</b>	<b>Transposa</b>	<b>Boty</b>	<b>Flipper</b>	<b>Vacuma</b>
<b>3 µg/mL</b>	87,056	86,602	87,603	98,736
<b>1 µg/mL</b>	86,302	86,655	83,706	93,735
<b>0,3 µg/mL</b>	83,374	75,532	56,702	91,640
<b>0,1 µg/mL</b>	39,980	51,886	41,239	86,693

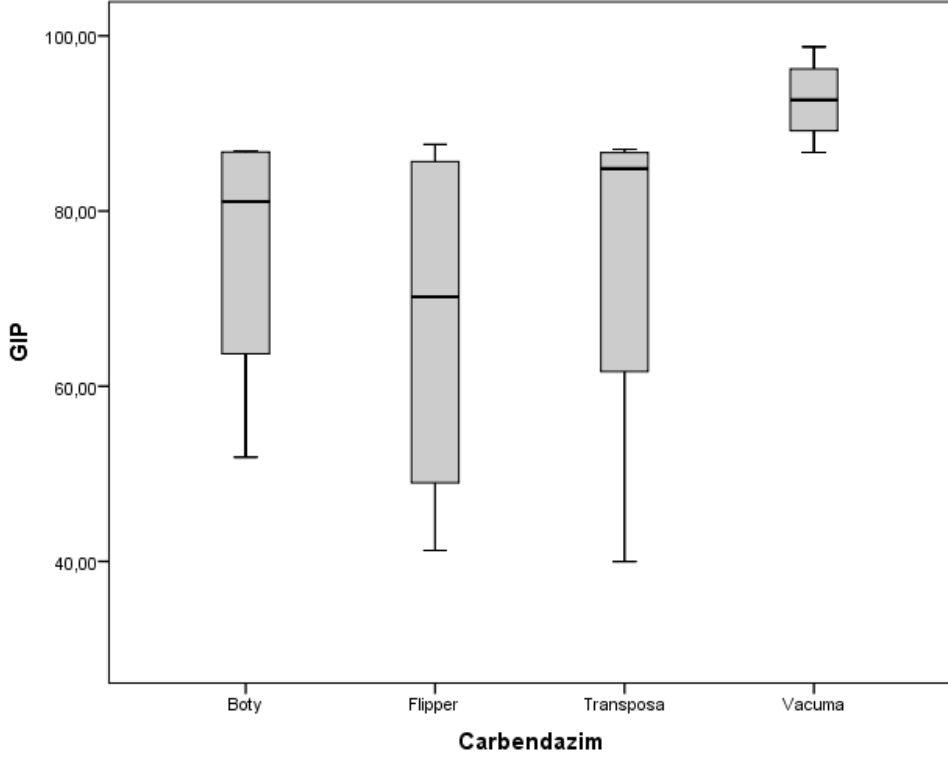
Çizelge 4. 19 Cyprodinil'e ait büyüme inhibisyon yüzdesi (GIP) değerleri

<b>Cyprodinil GIP değerleri</b>				
<b>Kons.</b>	<b>Transposa</b>	<b>Boty</b>	<b>Flipper</b>	<b>Vacuma</b>
<b>3 µg/mL</b>	91,844	91,420	91,544	90,945
<b>1 µg/mL</b>	91,377	90,978	91,377	89,916
<b>0,3 µg/mL</b>	91,018	90,770	91,018	88,950
<b>0,1 µg/mL</b>	87,513	89,796	87,407	88,264



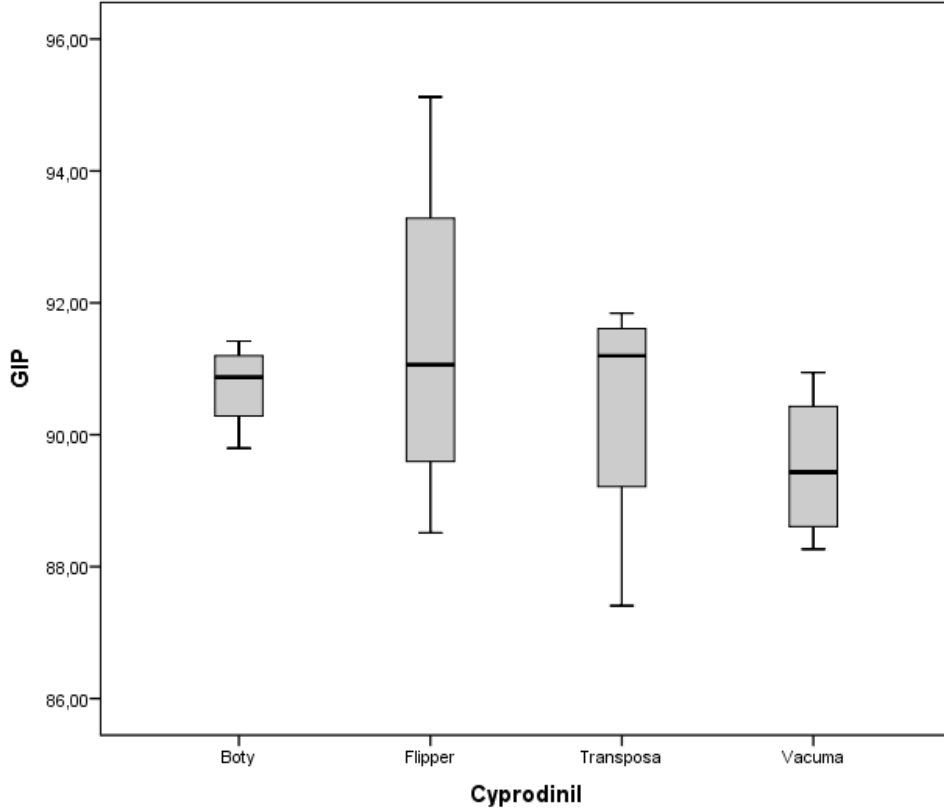
Şekil 4.17 Fenhexamid'e ait GIP değerlerinin box-whiskered grafiği

Spor aşaması denemelerinde fenhexamid'e ait grafikte fenhexamid'in, denenen üç fungusit içinde, fungus sporları üstünde en düşük etkiye sahip olduğu görülmektedir (yüzde inhibisyon oranlarına göre). Bununla birlikte fenhexamid *flipper* grubu üzerinde en yüksek etkiyi gösterirken en düşük etkiyi *boty* grubu üzerinde göstermiştir.



Şekil 4.18 Carbendazim'e ait GIP değerlerinin box-whiskered grafiği

Spor aşaması denemelerinde carbendazim'e ait grafikte carbendazim'in, denenen üç fungusit içinde, fungus sporları üstünde orta derecede etkiye sahip olduğu görülmektedir (yüzde inhibisyon oranlarına göre). Bununla birlikte carbendazim *vacuma* grubu üzerinde en yüksek etkiyi gösterirken en düşük etkiyi *flipper* grubu üzerinde göstermiştir.



Şekil 4.19 Cyprodinil'e ait GIP değerlerinin box-whiskered grafiği

Spor aşaması denemelerinde cyprodinil'e ait grafikte cyprodinil'in, denenen üç fungusit içinde, fungus sporları üstünde en yüksek etkiye sahip olduğu görülmektedir (yüzde inhibisyon oranlarına göre). Bununla birlikte cyprodinil *boty* grubu üzerinde en yüksek etkiyi gösterirken en düşük etkiyi *flipper* grubu üzerinde göstermiştir.

#### 4.4.2. Misel Aşaması Dirençlilik Testleri

Çizelge 3.13'teki konsantrasyonlarda fungusit içeren PDA besi ortamları hazırlanmış ve her bir transpozon grubundan hazırlanan besi ortamlarına ekim yapılmış ve 20 °C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda petriler üzerinde oluşan kolonilerin çapı ölçülmüştür.

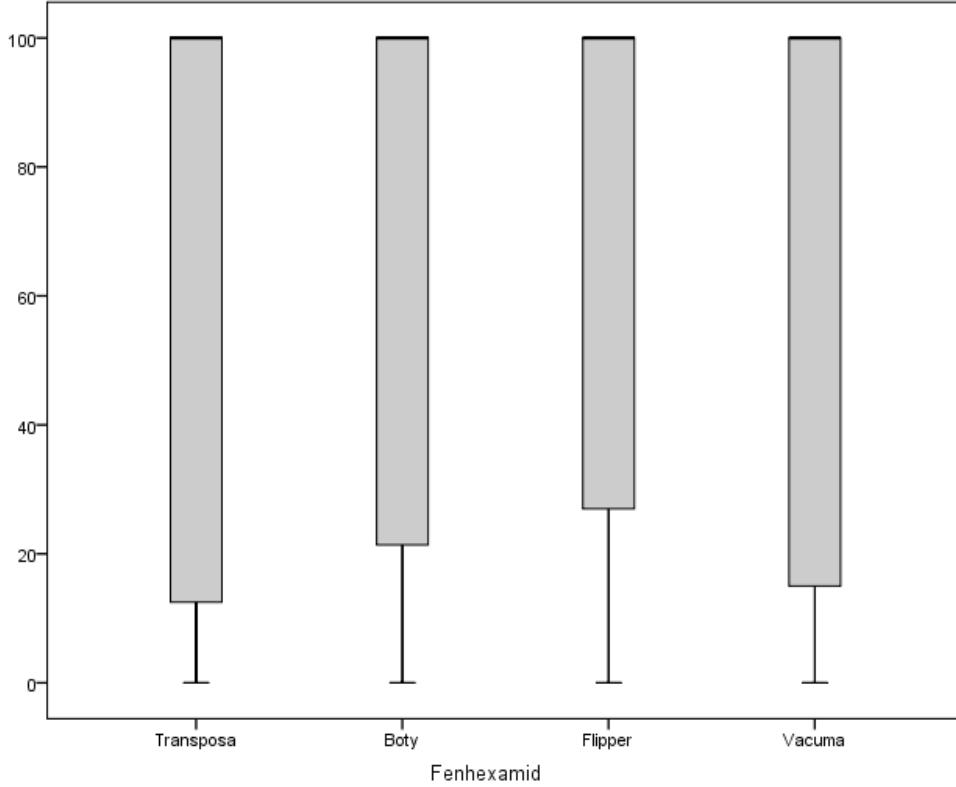
Elde edilen zon çapları ve inhibisyon yüzdeleri kullanılan fungusite göre sırasıyla fenhexamid, carbendazim ve cyprodinil olmak üzere Çizelge 4.20, 4.21, 4.22, 4.23, 4.24 ve 4.25'de Şekil 4.20, 4.21, 4.22, 4.23, 4.24, 4.25, 4.26, 4.27, 4.28, 4.29, 4.30, 4.31 ve 4.32'te verilmiştir.

Çizelge 4. 20 Fenhexamid'e ait koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir)

<b>Fenhexamid koloni çapları</b>				
<b>Kons.</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>
<b>5000 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>500 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>50 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>25 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>12,5 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>10 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>5 mg/L</b>	35	55	40	45
<b>2 mg/L</b>	36	56	44	50
<b>0 mg/L</b>	40	70	55	53

Çizelge 4.21 Fenhexamid'e ait yüzde inhibisyon oranları

<b>Fenhexamid koloni çapları</b>				
<b>Kons.</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>
<b>5000 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>500 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>50 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>25 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>12,5 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>10 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>5 mg/L</b>	12.5	21.4	27	15
<b>2 mg/L</b>	10	20	20	5.6
<b>0 mg/L</b>	0	0	0	0



Şekil 4.20 Fenhexamid'e ait misel aşaması yüzde inhibisyon grafiği

Misel aşaması denemelerinde fenhexamid'e ait inhibisyon değerlerine baktığımızda fenhexamid'in en düşük dozda etki göstererek en yüksek inhibisyon oranına sahip olduğu görülmektedir. En yüksek inhibisyon *flipper* grubunda gözlenirken, en düşük inhibisyon *transposa* grubunda gözlenmiştir.

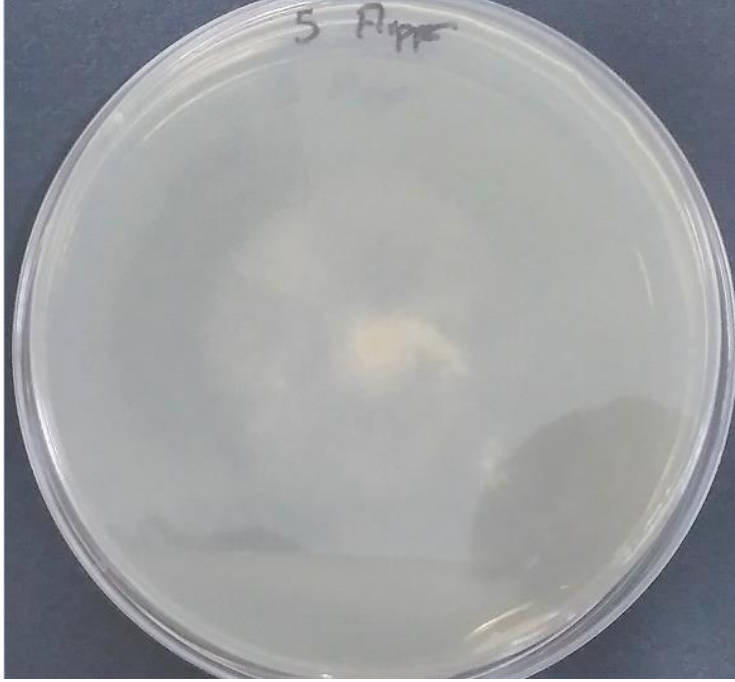




Şekil 4.21 Fenhexamid'e ait 5 mg/L konsantrasyonda *botry* grubuna ait üreme



Şekil 4.22 Fenhexamid'e ait 5 mg/L konsantrasyonda *vacuma* grubuna ait üreme



Şekil 4.23 Fenhexamid'e ait 5 mg/L konsantrasyonda *flipper* grubuna ait üreme



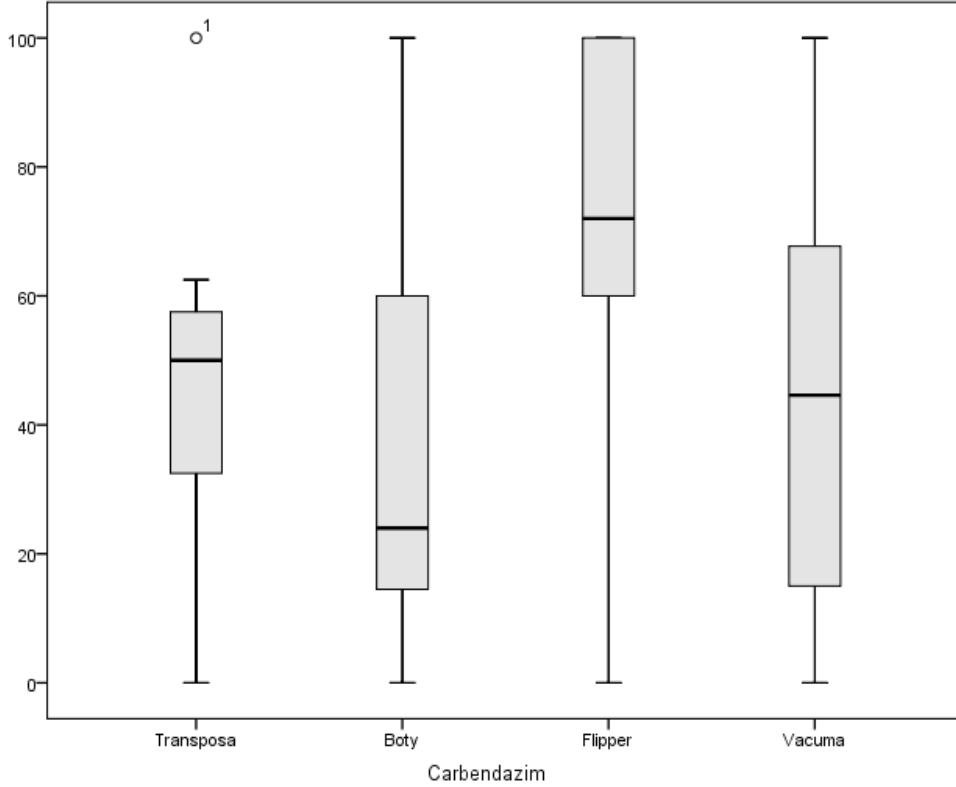
Şekil 4.24 Fenhexamid'e ait 5 mg/L konsantrasyonda *transposa* grubuna ait üreme

Çizelge 4. 22 Carbendazim'e ait koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir)

<b>Carbendazim koloni çapları</b>				
<b>Kons.</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>
<b>1250 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>1000 mg/L</b>	15	23	0	19
<b>750 mg/L</b>	17	24	0	21
<b>75 mg/L</b>	19	45	0	32
<b>50 mg/L</b>	20	47	12	36
<b>7,5 mg/L</b>	21	50	15	43
<b>5 mg/L</b>	27	53	17	55
<b>2.5 mg/L</b>	30	54	21	56
<b>0 mg/L</b>	40	62	43	65

Çizelge 4. 23 Carbendazim'e yüzde inhibisyon oranları

<b>Carbendazim koloni çapları</b>				
<b>Kons.</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>
<b>1250 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>1000 mg/L</b>	62.5	62	100	70.7
<b>750 mg/L</b>	57.5	60	100	67.7
<b>75 mg/L</b>	52.5	27.4	100	51.8
<b>50 mg/L</b>	50	24	72	44.6
<b>7,5 mg/L</b>	47.5	20	65	33.8
<b>5 mg/L</b>	32.5	14.5	60	15
<b>2,5 mg/L</b>	25	12.9	51	13
<b>0 mg/L</b>	0	0	0	0

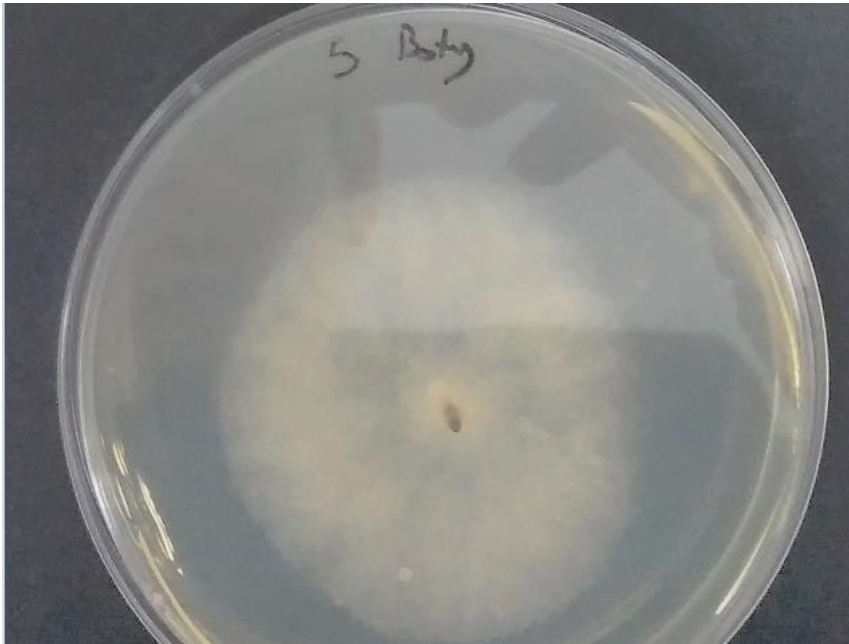


Şekil 4.25 Carbendazim'e ait misel aşaması yüzde inhibisyon grafiği

Misel aşaması denemelerinde carbendazim'e ait inhibisyon değerlerine baktığımızda carbendazim'in en yüksek dozda etki göstererek en düşük inhibisyon oranına sahip olduğu görülmektedir. En yüksek inhibisyon *transposa* grubunda gözlenirken, en düşük inhibisyon *vacuma* grubunda gözlenmiştir.



Şekil 4.26 Carbendazim'e ait 5 mg/L konsantrasyonda *vacuina* grubuna ait üreme



Şekil 4.27 Carbendazim'e ait 5 mg/L konsantrasyonda *botry* grubuna ait üreme



Şekil 4.28 Carbendazim'e ait 5 mg/L konsantrasyonda *transposa* grubuna ait üreme



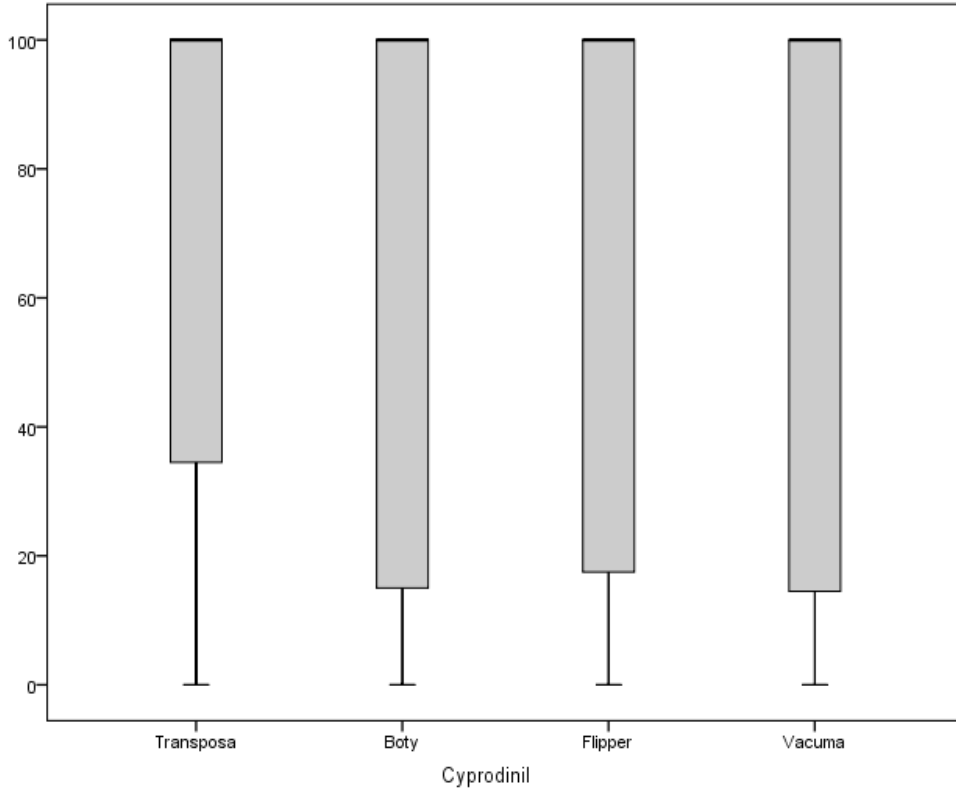
Şekil 4.29 Carbendazim'e ait 5 mg/L konsantrasyonda *flipper* grubuna ait üreme

Çizelge 4. 24 Cyprodinil'e ait koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir)

<b>Cyprodinil koloni çapları</b>				
<b>Kons.</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>
<b>400 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>200 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>100 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>50 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>25 mg/L</b>	0	0	0	0
<b>20 mg/L</b>	27	55	33	50
<b>10 mg/L</b>	32	58	38	55
<b>0 mg/L</b>	45	66	43	61

Çizelge 4. 25 Cyprodinil'e yüzde inhibisyon değerleri

<b>Cyprodinil koloni çapları</b>				
<b>Kons.</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>
<b>400 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>200 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>100 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>50 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>25 mg/L</b>	100	100	100	100
<b>20 mg/L</b>	40	17	23	19
<b>10 mg/L</b>	29	13	12	10
<b>0 mg/L</b>	0	0	0	0



Şekil 4.30 Cyprodinil'e ait misel aşaması yüzde inhibisyon grafiği

Misel aşaması denemelerinde cyprodinil'e ait inhibisyon değerlerine baktığımızda cyprodinil'in denenen üç fungusit içinde orta derecede inhibisyon oranına sahip olduğu görülmektedir. En yüksek inhibisyon *transposa* grubunda gözlenirken, en düşük inhibisyon *boty* grubunda gözlenmiştir.



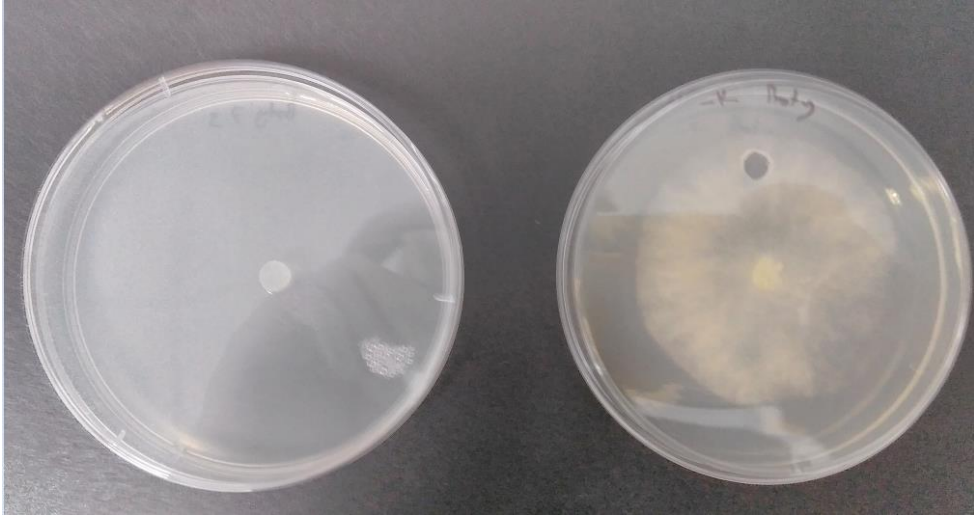


Şekil 4.31 Cyprodinil'e ait 20 mg/L konsantrasyonda *boty* grubuna ait üreme



Şekil 4.32 Cyprodinil'e ait 20 mg/L konsantrasyonda *flipper* grubuna ait üreme

Daha sonra üreme gösteren petrilerden koloni kenarından bir delici yardımıyla 6 mm çapında plaklar alınmış ve hazırlanan minimal ortamların (MM) merkezine fungus üreyen kısım altta kalacak şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 4.33).



Şekil 4.33 Agar delici ile koloni kenarından plaka alınması (sağda) ve MM ortamına yerleştirilmesi (solda).

Sonrasında besi ortamları 20 °C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda petriler üzerinde oluşan kolonilerin çapı ölçülmüştür. Elde edilen değerler Çizelge 4.26, 4.27 ve 4.28'de ve Şekil 4.34, 4.35 ve 4.36'de verilmiştir.

Çizelge 4. 26 Fenhexamid'e ait MM koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir)

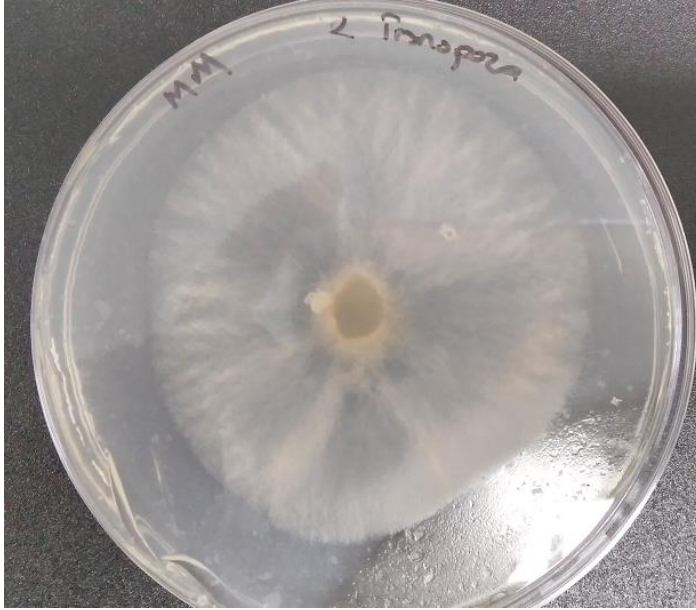
<b>Fenhexamid MM koloni çapları</b>				
<b>Kons.</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>
<b>5 mg/L</b>	50	90	58	90
<b>2 mg/L</b>	55	90	60	70
<b>0 mg/L</b>	67	90	70	90

Çizelge 4. 27 Carbendazim'e ait MM koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir)

<b>Carbendazim MM koloni çapları</b>				
<b>Kons.</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>
<b>1000 mg/L</b>	48	80	0	76
<b>750 mg/L</b>	40	66	0	65
<b>75 mg/L</b>	34	46	0	54
<b>50 mg/L</b>	29	42	0	54
<b>7.5 mg/L</b>	27	35	0	52
<b>5 mg/L</b>	26	35	0	46
<b>2.5 mg/L</b>	44	38	0	49
<b>0 mg/L</b>	41	54	43	67

Çizelge 4. 28 Cyprodinil'e ait koloni çapları (Değerler milimetre cinsindedir)

<b>Cyprodinil MM koloni çapları</b>				
<b>Kons.</b>	<b><i>Transposa</i></b>	<b><i>Boty</i></b>	<b><i>Flipper</i></b>	<b><i>Vacuma</i></b>
<b>20 mg/L</b>	48	80	33	71
<b>10 mg/L</b>	37	61	38	52
<b>0 mg/L</b>	47	64	45	59



Şekil 4.34 MM üzerinde fenhexamidli besiyerinden aktarılan *transposa* grubu üremesi



Şekil 4.35 MM üzerinde carbendazimli besiyerinden aktarılan *vacuma* grubu üremesi



Şekil 4.36 MM üzerinde cyprodinilli besiyerinden aktarılan *boty* grubu üremesi

Hem spor hem de misel aşaması denemeleri tamamlandıktan sonra  $IC_{50}$  değerleri aşağıdaki formülle, <http://www.ic50.tk/> internet adresindeki hesaplama motoru kullanılarak hesaplanmıştır. Çizelgeler aynı internet sitesinden elde edilmiştir (Çizelge 4.29,4.30 ve 4.31).

$$y = a + \frac{(b-a)}{\left(1 + \left(\frac{x}{c}\right)^d\right)}$$

Formülde y:  $IC_{50}$ , c: konsantasyon, a: minimum değer, b: maksimum değer, d: Hill katsayısı, x: istenilen konsantrasyonu ifade etmektedir.

Çizelge 4. 29 Fenhexamid için hesaplanan maksimum, minimum,  $IC_{50}$  ve Hill katsayısı değerleri

<b>Fenhexamid <math>IC_{50}</math> değeri</b>				
	<i>Transposa</i>	<i>Boty</i>	<i>Flipper</i>	<i>Vacuma</i>
<b>Minimum</b>	10	20	20	5,6
<b>Maximum</b>	100	100	100	100
<b><math>IC_{50}</math></b>	5,35	5,39	5,21	5,23
<b>Hill katsayısı</b>	52,29	53,16	50,42	52,91

Çizelge 4. 30 Carbendazim için hesaplanan maksimum, minimum, IC<sub>50</sub> ve Hill katsayısı değerleri

<b>Carbendazim IC<sub>50</sub> değeri</b>				
	<i>Transposa</i>	<i>Boty</i>	<i>Flipper</i>	<i>Vacuma</i>
<b>Minimum</b>	25	12,9	51	13
<b>Maximum</b>	100	100	100	100
<b>IC<sub>50</sub></b>	165,63	166,1	51,99	211,34
<b>Hill katsayısı</b>	0,072	1,47	18,94	0,088

Çizelge 4. 31. Cyprodinil için hesaplanan maksimum, minimum, IC<sub>50</sub> ve Hill katsayısı değerleri

<b>Cyprodinil IC<sub>50</sub> değeri</b>				
	<i>Transposa</i>	<i>Boty</i>	<i>Flipper</i>	<i>Vacuma</i>
<b>Minimum</b>	29	13	12	10
<b>Maximum</b>	100	100	100	100
<b>IC<sub>50</sub></b>	20,38	20,39	20,24	20,27
<b>Hill katsayısı</b>	153,20	156,88	161,1	162,52

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çilek hem günlük beslenmede hem de sanayide kullanılan ve ithalatı yapıldığı için ticari açıdan da öneme sahip bir tarımsal üründür. Fakat çilek çok çabuk bozulabilen bir meyvedir. Funguslara bağlı ortaya çıkan küflenme çilekte en yaygın görülen bozulma sebebidir. Hasat öncesi, hasat zamanı ve hasat sonrası dönemlerde ürün kayıplarına yol açmaktadır. Bu patojenlerin hem türlerinin hem de bu türlerin popülasyonlarının genetik yapısının doğru bir şekilde tanınması ürün kayıplarına karşı mücadelede yüksek öneme sahiptir. Bu patojen küf türlerinin yalnızca morfolojik yöntemlerle tanınması bunlarla mücadelede yetersiz kalmaktadır. Çünkü morfolojik tanılamada cins düzeyinde tanılama yapılırken tür düzeyine inildiğinde; bazı türlerin birbirinden ayrılması zorlaşmaktadır. Bununla birlikte morfolojik tanılamada popülasyonların genetik yapıları belirlenememektedir. Bu ise bilinçsiz fungusit kullanımını arttırmaktadır. Gün geçtikçe gelişen moleküler ve biyoteknolojik yöntemler fungusların hem tür seviyesinde hem de genetik yapılarının tanınmasında güvenilir ve hızlı sonuçlar sağlamaktadır. Çalışmada Aydın ve Mersin illerinden toplanan hastalıklı çilek meyvelerinden elde edilen fungusların tür düzeyinde tanınması moleküler yöntemlerle gerçekleştirilmiş, *B.cinerea* türünün popülasyon yapısı transpozon gruplarına göre belirlenmiş ve her bir transpozon grubunun farklı fungusitlere karşı dirençliliği ölçülmüştür.

### 5.1. Morfolojik ve Moleküler Tanılama

Bu çalışmada 2016-2017 yıllarında çilek üretiminin en yüksek olduğu 5 konumdan (Atça, Sultanhisar, Yenipazar, Anamur ve Silifke) hastalıklı çilek meyveleri toplanmış ve bu toplanan çileklerden 10 cinse ait 15 tür tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). *Botrytis cinerea* ve *Alternaria alternata* bütün konumlardan elde edilmiştir. Bu durum Ün (2015)'ün yaptığı yüksek lisans tez çalışmasıyla uyusmaktadır.

Funguslarda morfolojik tanılama yapılırken koloni şekli, koloni rengi, konidia yapısı, şekli, rengi, spor yapısı ve şekli gibi karakterlere bakılmaktadır. Fakat bu karakterler çevre şartlarına göre değişebilmektedir. Konukçu veya kullanılan besi ortamı, diğer biyotik ve abiyotik faktörler morfolojik karakterleri etkilemektedir. Fakat moleküler tanılama yöntemleri genom bilgisini kullanmaktadır. Çevresel etmenler fenotipik karakterleri etkilerken genotip üzerine etkisi yoktur veya kalıcı etki oluşturması uzun zaman almaktadır. Moleküler tanılama için seçilen genom

bölgesi korunmuş bir bölge olduğu için evrimsel süreçte değişikliğe uğramamış veya çok az değişikliğe uğramıştır. Bu durum morfolojik yöntemlere göre daha güvenilir bir tanılamaya olanak sağlamaktadır.

Internal transcribed spacer (ITS) bölgesi fungusların moleküler tanılanmasında kullanılan, evrimsel süreçte korunmuş, fungus taksonomisinde kabul gören bir rDNA bölgesidir (Schoch ve ark., 2012). Morfolojik olarak cins düzeyinde tanılama yapılırken moleküler olarak tür düzeyine inilmiştir. ITS bölgelerinin PCR ile çoğaltılıp, dizi analizi yapılması sonucunda, çalışmamızda kullanılan *B. cinerea*'da dahil olmak üzere 10 cins ve 15 tür elde edilmiştir. Bu türlerin filogenetik ilişkileri MEGA 7.0 programında Gamma dağılımlı Tamura 3 modeliyle oluşturulmuştur (Şekil 4.6). Oluşturulan ağaçta aynı cinsle ait türlerin yakın dallarda çıkması bootstap testinin yanında, ağacın doğruluğunu gösteren bir bulgudur.

ITS bölgesiyle çalışmadaki bütün türlerin tanılaması yapılabilmektedir. *Geotrichum candidum* hariç diğer bütün türler bitki patojeni olarak geçmektedir (Johnson ve ark., 1990; Adrian ve ark., 1997; Lagopodi ve Thanossouloupolos, 1998; Narasimhan ve ark., 2001; Herman ve ark., 2004; Saremi, 2011; Zhao ve ark., 2011; Van Hemelrijck ve ark., 2017; Zhou ve ark., 2017). *Geotrichum candidum*'un ise bitki patojeni olduğuna dair bir durum rapor edilmemiştir. Memeli patojeni olarak geçmekte olup nadiren hastalığa sebep olmaktadır (Pottier ve ark., 2008) ve sadece üç örneğin tanılanması tarlada çalışan işçilerden veya tarlaya giren kedi köpek gibi küçük memelilerden kontaminasyonla olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmada elde edilen bitki patojeni funguslar açısından Aralık ve Nisan aylarında toplanan örneklerde tür bakımından farklılık görülmemiş, sadece sayı bakımından Nisan ayında daha yüksek sayıda örnekler elde edilmiştir. Bunun sebebinin kışın düşük sıcaklıkta fungal aktivitenin azalmasından kaynaklandığı söylenebilir.

## **5.2. *Botrytis cinerea* Populasyonlarının Transpozon Gruplandırması**

*Botrytis cinerea* *boty* ve *flipper* adlı iki adet transpozonun bulunup bulunmamasına göre dört gruba ayrılmaktadır. Bunlar her iki transpozon'un da bulunduğu *transposa*, yalnızca birinin bulunduğu *boty* veya *flipper*, her iki transpozonun da bulunmadığı *vacuma* gruplarıdır. Yapılan çalışmalar farklı transpozon gruplarının



fungusitlere karşı farklı direnç düzeyleri gösterdiğini ortaya koymuşlardır (Kretschmer ve Hahn, 2008; Samuel ve ark., 2012; Fekete ve ark., 2012). Bu çalışmada popülasyonların transpozon frekansları belirlenerek popülasyonun genetik yapısı belirlendi ve yapılan fungusit dirençlilik testleriyle etkili doz *in-vitro* olarak tespit edildi ve bunun pratikte kullanımına laboratuvar verileri ışığında yorum yapılmaya çalışıldı.

Toplamda tanılanan 154 örneğin transpozon gruplarına göre frekans dağılımı *transposa* 31, *boty* 71, *flipper* 16 ve *vacuma* 36 olarak belirlenmiş, yüzdeleri ise sırasıyla % 20,1, % 46,1, % 10,4 ve % 23,4 olarak bulunmuştur. Transpozonların genom üzerinde hareket edebilmesi popülasyonun genetik yapısını değiştirebilmektedir. Bu durum patojenin mücadele yöntemlerine kolay adapte olmasına yol açabilmektedir. Ülkemizde ilk defa gerçekleştirilen bu çalışmayla bu değişim dinamiklerinin anlaşılması için ilk adım atılmıştır. Son yıllarda bu tarz çalışmalar diğer ülkelerde devam etmekte; yıllar içinde de tekrarlanarak popülasyonların transpozonlara bağlı genetik yapı değişiminin daha iyi anlaşılması için çalışmalar yapılmaktadır. Kretschmer ve Hahn (2008) Kaiserslautern, Almanya’da yaptıkları çalışmada *transposa* grubunu % 30 ile ilk sırada, *boty* grubunu % 23,5 ile ikinci sırada, *vacuma* grubunu % 14,4 ile üçüncü sırada bulurlarken *flipper* grubuna rastlamamışlardır. Samuel ve ark. (2012) Thessaloniki, Yunanistan’da yaptıkları çalışmada *transposa* grubunu en fazla, *vacuma* grubunu ikinci sırada, *flipper* grubunu üçüncü sırada, *boty* grubunu ise dördüncü sırada bulmuşlardır. Fekete ve ark. (2012) Debrecen, Macaristan’da yaptıkları çalışmada ilk sırada *boty*, ikinci sırada *transposa*, üçüncü sırada *vacuma* ve en son olarak *flipper* grubunun geldiğini bulmuşlardır. Asadollahi ve ark. (2013) Debrecen, Macaristan’da yaptıkları çalışmada sırasıyla yüksekten düşüğe *transposa*, *flipper*, *boty* ve *vacuma* grubu olarak bulmuşlardır. Kumari ve ark. (2014) Yeni Delhi, Hindistan’da yaptıkları çalışmada ilk sırada *boty*, İkinci sırada *flipper*, üçüncü sırada *vacuma* ve son sırada ise *transposa* grubunu bulmuşlardır. Transpozonlara göre popülasyonların yapısı ülkeden ülkeye değişiklik göstermekle beraber; *B. cinerea*’nın transpozonlara bağlı popülasyon yapısı sıklıkla değişebilmektedir. Debrecen, Macaristan’da bir yıl arayla yapılan çalışmada 2012 yılında *boty* grubu ilk sıradayken, 2013 yılında üçüncü sıraya gerilemiştir. *Transposa* grubu 2012 yılında bulunduğu ikinci sıradan 2013 yılında ilk sıraya yükselmiştir. *B. cinerea*’nın fungusitlere karşı yüksek direnç göstermesinin en önemli sebeplerinden biri popülasyon yapısının hızla değişebilmesidir.

Transpozon gruplarının dağılımı ülkeler ve aynı ülke içindeki bölgeler arasında ve yıllara göre farklılık gösterebilmektedir. Bu farklılığın nedenlerinin başında kullanılan mücadele yöntemleri gelmektedir. Çalışmada belirlenen bölgelerdeki *B. cinerea* populasyonlarının transpozon yapıları belirlenmiştir. Zamanla bu yapı değişebilecek olsa da populasyondaki transpozon dinamiklerinin anlaşılması açısından önemli bir çalışmadır.

Transpozonların ilçe bazında dağılımına baktığımızda benzer bir frekans dağılımı gösterdiğini anlayabiliriz. Örnek toplanan bütün ilçelerde *boty* ilk sırada gelirken, *vacuma* ikinci sırada, *transposa* üçüncü sırada ve *flipper* dördüncü sırada gelmektedir. Atça hariç bütün ilçelerde dört transpozon grubuna da rastlanırken yalnızca Atça'da *flipper* grubuna rastlanmamıştır. *Flipper* grubu bütün populasyonlar içinde en az sayıda rastlanan gruptur. Hali hazırda az sayıda olan bu grubun fungusit hassasiyeti de göz önüne alındığında bazı populasyonlar arasında kaybolma ihtimali vardır. Kumari ve ark. (2014) Yeni Delhi, Hindistan'da yaptıkları çalışmada Doğu Hindistan'da *boty* ve *transposa*'ya rastlamayıp sadece *flipper* ve *vacuma*'ya rastlamışlardır. Kuzey Hindistan'da dört gruba da rastlamışlardır. Aynı şekilde Merkez Nepal'de yalnızca *boty* grubunun bulunduğunu göstermişlerdir. Bu durum transpozonların buldukları bölgeye göre oranlarının değişebildiğini göstermektedir. Yapılan çalışmada frekans ve yüzdeler farklı olsa da genel dağılım durumu bütün ilçelerde benzerdir. Konum-grup arasındaki ki-kare testine bakacak olursak (Çizelge 4.13) gözlenen değer beklenen değerden yüksek çıktığını görebiliriz. Ayrıca p değeri 0,05'ten küçük çıkmıştır. Yani grup ve konum arasında anlamlı bir ilişki olduğunu söyleyebiliriz.

İllere göre duruma baktığımızda da genel ve ilçelerle benzer bir frekans düzeni ortaya çıkmaktadır. Farklı olarak Mersin'de *boty* grubu Aydın'a göre % 5 daha fazla görülmüştür. Diğer gruplarda fark % 1,5'un altında çıkmıştır. Örnekleme yapılan iki ilde de transpozon oranlarının bu kadar yakın çıkmasının sebepleri arasında kullanılan tarımsal yöntemlerin benzer olması, mevsimsel işçilerle ve/veya rüzgar gibi faktörlerle sporların taşınması olabilir.

### 5.3. Fungusit Dirençlilik Testleri

Örnek toplanan yerlerdeki çiftçilerin çilekte kurşuni küf hastalığıyla mücadele için yaptıkları uygulama ziraat mühendisinin tavsiye ettiği zamanlarda sulama suyuna tercih ettikleri fungusiti karıştırmakla sınırlıdır. Ekim öncesinde toprağa veya fidelere herhangi bir sterilizasyon işlemi uygulanmamaktadır. Ayrıca çileklerin tarlada buldukları dönemde bitkinin çürüyen kısımlarının uzaklaştırılması aşamasında bitkiden koparılarak alınan bu kısımlar tarladan uzaklaştırılmamakta, genellikle sulama kanallarının içine bırakılmaktadırlar. Seraların içindeki sıcak havasında etkisiyle fungus sporları seranın tamamına yayılabilmektedir. Bu durum kontaminasyonun tam anlamıyla kontrol altına alınamamasına yol açmaktadır.

Fungusit dirençlilik testleri üç fungusitle iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada fungusitlerin fungal sporlar üzerindeki etkilerine bakılmış, ikinci aşamada fungusitlerin miseller üzerindeki etkisine bakılmıştır.

Hesaplanan değerler ışığında kullanılan fungusitler içinde, spor aşaması deneylerinde, Cyprodinil en etkili (% 87<) bulunurken, en az etkili Fenhexamid (% 24 - % 89) bulunmuştur. Carbendazim'in etkisi % 39 ile % 98 arasında bulunmuştur.

Cyprodinil'in etkisini methionin biyosentezini engelleyerek gösterir. Ökaryotlarda protein sentezi metiyonin amino asidi ile başlar. Bu amino asidin biyosentezinin engellenmesi protein sentezine de ket vuracaktır. Bu özelliği dikkate alırsak en etkili fungusitin Cyprodinil olması olasıdır. Sporlar çimlenme aşamasını geçememekte, bu da absorbansta fazla bir artış olmasını engellemektedir.

Carbendazim hücrenin iskelet elemanlarından biri olan  $\beta$ -tubulin'in alt ünitesine bağlanarak spordan oluşan çimlenme tüpünün yapısını bozmakta, sporlar çimlenmeye başlasa da bozuk iskelet yapısından dolayı bu aşamanın ötesine geçememektedir. Fakat sporlar çimlenmeye başladığı için absorbansta artış olmaktadır.

Fenhexamid'in daha çok koruyucu olarak kullanılması en az etkili olmasını açıklamaktadır. Fenhexamid'in 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  konsantrasyona kadar çimlenmeyi engellemediği Delen (2016) tarafından rapor edilmiştir. Delen ayrıca bu konsantrasyonlardan daha düşük konsantrasyonlarda uzun süre bekletmenin durdurucu etki yaptığından bahsetmiştir. Fakat bu uygulama toprağın ve ekilecek

çilek fidelerinin uzun süreli fungusite maruz kalması anlamına gelmektedir. Uzun süreli bu maruz kalmada toprakta ve bitki bünyesinde fungusit birikmesi olacaktır. Bu uygulama laboratuvar şartlarında uygulanabilirken tarlada uygulanması fungusit birikiminden dolayı hem sağlık hem de ekonomik açıdan mümkün değildir.

Fungusitlerin spor aşamasındaki etkisine transpozon grupları üzerinden bakacak olursak cyprodinil için sırasıyla yüksekten aza *transposa*, *boty*, *flipper* ve *vacuma* olarak bulunmuştur. Carbendazim için sırasıyla yüksekten aza *vacuma*, *flipper*, *transposa* ve *boty* olarak bulunmuştur. Fenhexamid için sırasıyla yüksekten aza *vacuma*, *flipper*, *boty* ve *transposa* olmuştur. Beklenildiği gibi uygulanan doz miktarı ile fungusitin etkisi doğru orantılıdır.

Misel aşamasında her bir transpozon grubundan PDA besi yerine misel ekilmiş ve inkübasyona bırakılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan fungusitleri içeren PDA besiyerlerine her bir transpozon grubundan ekim yapılmıştır. Üreme görülen konsantrasyonlarda koloni çapı ölçülmüştür.

Misel aşamasındaki denemelerde her üç fungusit içinde etki sırası yüksekten aza *flipper*, *transposa*, *vacuma* ve *boty* olmuştur. Etki eden konsantrasyonlar ise fungusite göre değişmektedir. Fenhexamid için önerilen doz olan 5000 mg/L dozun çok altında 10 mg/L dozda etki etmekte altındaki dozlarda ise etki görülmemektedir. Delen (2016) laboratuvar koşullarında Fenhexamid'in etkili olabildiğini fakat tarla koşullarında laboratuvardaki kadar etkili olmadığını belirtmiştir. Bunun sebebi laboratuvar koşullarında patojenin fungusitle direkt maruz kalırken tarla ortamında dış etkilere maruz kalmakta bu da etkisini azaltmaktadır. Ayrıca fenhexamid toksik etkisinden dolayı yüksek dozlarda kullanılamamakta, sadece koruyucu olarak kalmaktadır. Sadece elde edilen sonuçlar ışığında, laboratuvar şartlarında, fenhexamid en düşük dozda etki göstermiştir. Bunu cyprodinil ve carbendazim izlemiştir. fenhexamid ve cyprodinil tavsiye edilen dozun altında da etki gösterirken carbendazim tavsiye edilen 750 mg/L dozun üstüne çıkmış, 1000 mg/L'de bile üreme görülmüş, 1250 mg/L de üreme görülmemiştir. *Flipper* transpozon grubu ise bu duruma uymamış 50 mg/L üzeri dozlarda üreme görülmemiştir. Doz olarak baktığımızda fenhexamid, laboratuvar koşullarında en düşük dozda etki göstermiş, carbendazim ise en yüksek dozlarda etki göstermiştir. Her bir fungusitin, misel aşaması deneyleri için, yüzde inhibisyon oranlarına bakıldığında; fenhexmid için (5 mg/L), en yüksek

yüzde inhibisyonun *flipper*'da en düşükünde *transposa*'da olduğunu görebiliriz. Bu bilgi ışığında fenhexamid'e en hassas transpozon grubunun *flipper* (% 27), en dirençli transpozon grubunun ise *transposa* (% 12.5) olduğunu söyleyebiliriz.

Carbendazim için ise (50 mg/L) yine en hassas transpozon grubunun *flipper* (% 72), en dirençli transpozon grubunun ise *boty* (% 24) olduğu görülmektedir. Cyprodinil için (20 mg/L), en hassas grup *transposa* (% 40), en dirençli grubun ise *boty* (% 17) olduğu görülmektedir. Her üç fungusit içinde en hassas transpozon grubu *flipper* grubu olurken, en dirençli grupların *transposa* ve *boty* olduğunu görebiliriz. İki transpozonu da taşımayan *vacuma* grubu fenhexamid için ikinci sırada, carbendazim için üçüncü sırada, cyprodinil için yine ikinci sırada gelmektedir. Bu farkın sebebi her üç fungusitin de farklı etki mekanizmalarına sahip olması olarak açıklanabilir. Spor denemelerinde en etkili fungusitin metiyonin biyosentezini engelleyen cyprodinil olması çimlenmenin başlamasını engellemekte dolayısıyla üreme gerçekleşmemektedir. Misel aşaması deneylerinde ekim misellerden yapıldığı için hücre zarı yapısında bulunan sterol biyosentezini engellediği için misellerin yapısını bozmakta, bu ise üreme oranını düşürmektedir.

Her bir fungusitin  $IC_{50}$  değerlerine baktığımızda fenhexamid için değerlerin 5,20 – 5,40  $\mu\text{g/L}$  arasında olduğu görülmektedir. Litrede 6  $\mu\text{g}$ 'dan düşük çıkan değerler için *B. cinerea*'nın fenhexamid'e karşı hassas olduğu söylenebilir. Transpozon grupları açısından baktığımızda *flipper* 5,21  $\mu\text{g/L}$  ile en hassas grup, *boty* ise 5,39  $\mu\text{g/L}$  ile en dirençli grup olarak bulunmuştur.

Carbendazim için bütün  $IC_{50}$  değerleri 50  $\mu\text{g/L}$ 'nin üstünde bulunmuştur. Bu durum *B. cinerea*'nın carbendazim'e karşı dirençli olduğunu göstermektedir. Fenhexamid de olduğu gibi carbendazimde de en hassas grup 51,99  $\mu\text{g/L}$  ile *flipper* olurken en dirençli grup 211,34  $\mu\text{g/L}$  ile *vacuma* olmuştur.

Cyprodinil için hesaplanan  $IC_{50}$  değerlerine baktığımızda değerlerin 20.24 – 20.39  $\mu\text{g/L}$  arasında olduğu görülmektedir. Bu durumda tolerant olarak değerlendirmek mümkündür. Yine en hassas grup 20.24  $\mu\text{g/L}$  ile *flipper* grubu olurken en dirençli grup 20.39  $\mu\text{g/L}$  ile *boty* olarak bulunmuştur.

$IC_{50}$  değerlerini dikkate alarak, *B. cinerea*'nın fenhexamid'e karşı hassas, cyprodinil'e karşı tolerant, carbendazim'e karşı dirençli olduğu görülmüştür.

Transpozon grupları açısından *flipper* grubu her üç fungusit içinde en hassas grup olarak öne çıkmaktadır. *Flipper* grubunun diğer gruplara göre daha az sayıda çıkmasının nedenlerinin başında bu durumun olduğu söylenebilir.

#### 5.4. Sonuç

Sonuç olarak, çalışmada, morfolojik ve moleküler tanılamada, kullandığımız *B.cinerea* da dahil olmak üzere 10 farklı cins ve 15 farklı tür elde edilmiştir. Yapılan arazi çalışmalarında iki ilden toplam 154 adet *B. cinerea* izole edilmiş ve bu popülasyonların Boty ve Flipper transpozon yapıları belirlenmiştir. Toplanan 154 örneğin 31 tanesi *transposa*, 71 tanesi *boty*, 16 tanesi *flipper* ve 36 tanesi *vacuma* olarak bulunmuştur. Yapılan iki aşamalı fungusit dirençlilik testlerinde spor aşamasında cyprodinil'in, misel aşamasında ise fenhexamid'in daha etkili olduğu görülmüş; bu farkın farklı etki mekanizmalarına sahip olmalarıyla ilişkili olabileceği kanısına varılmıştır. Ayrıca boty elementini içeren *transposa* ve *boty* grubu bireylerin fungusitlere daha dirençli olduğu görülmüştür. Sadece *flipper* elementinin olduğu *flipper* grubunun fungusitlere karşı hassas olması arazide daha az görülmesinin sebebi olarak görülebilir. Bu durum transpozon hassasiyetini etkileyen bölgenin flipper transpozonu üzerinde olduğu yorumuna açıktır. *B.cinerea*'ların fenhexamid'e karşı hassas, carbendazim'e karşı dirençli ve cyprodinil'e karşı tolerant olduğunu IC<sub>50</sub> değerlerine bakarak söyleyebiliriz.

Popülasyonların transpozon yapıları bölgelere göre veya zaman içinde değişiklik göstereceği yapılan bu çalışma popülasyon dinamiklerinin anlaşılması açısından önemli bir çalışmadır. Türkiye'de ilk kez gerçekleşen bu çalışma sonrasında çilek üretilen diğer bölgelerde yapılacak çalışmalar ve bu çalışmaların zamana yayılmasıyla popülasyonların transpozon dinamikleri daha iyi anlaşılacaktır. Bu sayede bu patojenle mücadelede daha etkili planlamalar gerçekleştirilebilir.

Bu çalışmada çileklerde *B. cinerea* popülasyonlarının transpozon yapısı ve fungusit dirençliliği araştırılmıştır. Fakat laboratuvar koşullarında elde edilen sonuçlar ile saha denemelerinde elde edilen sonuçlar farklılık gösterebilmektedir. Bu sebeple sonraki aşamada transpozon gruplarına göre fungusit uygulamalarının saha denemeleri gerçekleştirilmelidir. Spor aşamasında ve misel aşamasında farklı fungusitlerin daha etkili olması tarlada, kış aylarında ve bahar aylarında farklı fungusitlerin kullanılması önerilebilir. Bitki patojenleriyle yapılan kimyasal mücadele her ne kadar bilinçli yapılsa da kullanılan ilaçların zamanla bünyede

birikmesi kısa ve uzun vadede sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Bu sebeple araştırmacılar biyolojik mücadele yöntemlerine yönelmeye başlamışlardır. Transpozon grupları da göz önüne alınarak; biyolojik mücadele yöntemlerinin *B. cinerea* üzerindeki etkileri de araştırılmalıdır.

## KAYNAKÇA

- Ahmed, A. U., Zaman, S., Mazid, M., Rahman, M.M., Sarkar, M.M.R., Arbia, L., Ud-deen, M.M., Kabir G. 2014. Studies of *Botrytis cinerea* Causing Botrytis Gray Mold Disease in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Journal of Bio-Science**, 22: 69–76.
- Alfonso, C., Raposo, R., Melgarejo P. 2000. Genetic Diversity in *Botrytis cinerea* Populations on Vegetable Crops in Greenhouses in South-Eastern Spain. **Plant Pathology**, 49: 243–51.
- Amiri, A., Scherm, H., Brannen, P. M., and Schnabel, G. 2008. Laboratory evaluation of three rapid, agar-based assays to assess fungicide sensitivity in *Monilinia fructicola*. **Plant Disiase**, 92:415-420.
- Amselem, J., Cuomo C.A., Van Kan, J.A.L., Viaud, M., Benito E.P., et al. 2011. Genomic Analysis of the Necrotrophic Fungal Pathogens *Sclerotinia Sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. **PLOS Genetics** [Electronic Journal], 7: 1-27. Erişim [<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002230>.]
- Angelini, R.M., Pollastro, S., Faretra, F.2016. Genetics of *Botrytis cinerea* In: *Botrytis*-the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems. (Fillinger, S., Elad, Y. Eds.) Springer International Publishing pp 35-53, Switzerland.
- Anonim, 2003. European agchem market declines. Agrow. Erişim [<https://agrow.agribusinessintelligence.informa.com/>]
- Anonim, 2008. R & D news. Outlook pest management, 18: 252-253.
- Anonim, 2013. Symbiosis in Plant Protection, Bayer Scientific Reserch Magazine 25: 48-53
- Anonim, 2014. Agrow world crop protection news. Erişim [[www.agra-net.net](http://www.agra-net.net)]
- Asadollahi, M., Fekete, E., Karaffa, L., Fliphi, M., Arnyasi, M., Esmielli, M., Vaczy, K.Z., Sandor, E. 2013. Comparison of *Botrytis cinerea* Populations Isolated from Two Open-Field Cultivated Host Plants. **Microbiological Research**, 168: 379–388.
- Baykal N., 1995. Bitkileri hastalıklardan koruma yöntemleri. İçinde Bitki Koruma (Baykal N., Kovancı B. Ed.). Anadolu Üniversitesi Yayınları, Yayın No:902. Ünite 5 p. 60-74.
- Beever, R.E., Weeds, P.L. 2004 Taxonomy and genetic variation of *Botrytis* and *Botryotinia* . In: *Botrytis*: biology, pathology and control. (Elad,Y.,



- Williamson, B., Tudzynski P., Delen, N. Eds.) Kluwer Academic Publishers, pp 30–31, Dordrecht, Holland.
- Biémont, C. 2010. A Brief History of the Status of Transposable Elements: From Junk DNA to Major Players in Evolution. **Genetics**, 186: 1085–93.
- Brierley, W.B. 1918. Microconidia of *Botrytis cinerea*. **Bull Mis Inf R Bot Gardens Kew**, 4:129–146.
- Burçak, A.A, Delen, N. 2001. Üzümlerden izole edilen kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Pers.) izolatlarına bazı fungusitlerin etkileri üzerinde araştırmalar. **Bitki Koruma Bülteni**, 41: 183-194.
- Bürger, J, de Mol, F., Gerowitt, B. 2008. The necessary Extent of Pesticide Use- Thoughts about a Key Term in German Pesticide Policy. **Crop Protection**, 27: 343–351.
- Chen, F., Han, P., Liu P., Si, N., Liu, J., Liu, X. 2014. Activity of the Novel Fungicide SYP-Z048 against Plant Pathogens. **Scientific Reports**, 4.
- Craig, N.L. 2002. Introduction to Mobile DNAs: What They Are, Their Cellular Roles, How They Move and How to Exploit Them. In: Mobile DNA II. (Craig NL, Craigie R, Gellert M, Lambowitz AM. Eds.) ASM Press, pp. 3-59. Washington DC, USA.
- Davidse L.C., Ishii H. 1995. Biochemical and molecular aspect of the mechanisms of action benzimidazoles, N-phenylcarbamates and N-phenylformamidoximes and the mechanisms of resistance to those compounds in fungi. In: Modern Selective Fungicides Properties, Applications, Mechanisms of Action, 2nd Edition. (Lyr H., Eds.) pp. 305-322. Gustav Fischer Verlag Jena, New York, USA.
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J. Foster, G. D. 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, 13: 414–430.
- De los Santos, B., Barrau, C., Romero, F. 2003. Strawberry fungal diseases. **Journal of Food Agriculture and Environment**, 1: 129-132.
- De Miccolis A., Milvia, R. 2014. Occurrence of Fungicide Resistance in Populations of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) on Table Grape and Strawberry in Southern Italy. **Pest Management Science**, 70: 1785–1796.

- De Waard, M.A., Georgopoulos, G.D., Hollomon, D.W., Ishi, H., Leroux, P., Ragsdale, N.N., Schwin, F.J. 1993. Chemical Control of Plant Diseases: Problems and Prospects. **Annu. Rev. Phytopathology**, 31: 403–421.
- Decognet, V, Bardin, Y., Trottin-Caudal, Nicot P.C. 2009. Rapid Change in the Genetic Diversity of *Botrytis cinerea* Populations after the Introduction of Strains in a Tomato Glasshouse. **Phytopathology**, 99: 185–193.
- Delen, N., Durmuşoğlu, A., Güncan, N., Güngör, C., Burçak, T., Burçak, A. 2005. Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. **Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi**, pp. 629-648., TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Cilt 2 Milli Kütüphane, Ankara.
- Delen N. 2016. Fungusitler. 2. Baskı Nobel Yayınları, Ankara.
- Deng, H., Shu, D., Luo, D. 2013. Scatter: A Novel Family of Miniature Inverted-Repeat Transposable Elements in the Fungus *Botrytis cinerea*. **Journal of Basic Microbiology**, 53: 815–822.
- Demir, M. 2009. Marulda *Botrytis cinerea*'ya Karşı In Vitro Koşullarda Biyolojik Savaşım Olanakları Üzerine Bir Araştırma. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ.
- Dewey, F.M., Grant-Dawton, R. 2016. *Botrytis*, Biology, Detection, and Quantification. In: *Botrytis-the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*. (Fillinger, S., Elad, Y. Eds.) Springer International Publishing pp 17-34, Switzerland.
- Dinler, H. 2014. Çilek Fidelerinde Toprak Kaynaklı Fungal Etmenlerin Saptanması Üzerinde Araştırmalar. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Aydın
- Diomez, A., Marchez, F., Fortini, D., Brygoo, Y. 1995. Boty, a Long-Terminal-Repeat Retroelement in the Phytopathogenic Fungus *Botrytis cinerea*. **App. Enviro. Microbiol**, 61(1): 103–108.
- Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., Delen, N. 2007. *Botrytis* spp. and Diseases They Cause in Agricultural Systems. In: *Botrytis: biology, pathology and control*. (Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., Delen, N. Eds.) Kluwer Academic Publishers (Springer), pp. 1-6, Dordrecht, Holland.
- Elad, Y., Vivier, M., Fillinger, S. 2016. *Botrytis*, the Good, the Bad and the Ugly. In: *Botrytis-the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*. (Fillinger, S., Elad, Y. Eds.) Springer International Publishing pp 1-15, Switzerland.

- Faretra, F., Antonacci, E. 1987. Production of Apothecia of *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetz. under Controlled Environmental Conditions. **Phytopathologia Mediterranea**, 26: 29–35.
- Fedoroff, N. V. 2012. Transposable Elements, Epigenetics, and Genome Evolution. **Science**, 338: 758–767.
- Federoff, N., 2013. McClintok and Epigenetics. In: Plant Transposons and Genome Dynamics in Evolution. (Federoff, N. Eds) Wiley-Blackwell, pp. 61-70. USA.
- Fekete, E., Fekete, E., Irinyi, L., Karaffa, L., Arnyasi, M., Asadollahi, M., Sandor, E. 2012. Genetic Diversity of a *Botrytis cinerea* Cryptic Species Complex in Hungary. **Microbiological Research**, 167: 283–291.
- Fernandez, J.G., Fernandez-Baldo, M.A., Munoz, C., Salinas, E., Raba, J., Sanz, M.I. 2014. Detection Transposable Elements in *Botrytis Cinerea* in Latent Infection Stage from Symptomless Apples. **Journal of Coastal Life Medicine**, 2: 125–131.
- Feschotte, C., Pritham, E. J. 2007. DNA Transposons and the Evolution of Eukaryotic Genomes. **Annual Review of Genetics**, 41: 331–368.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO. 2017. Statistical Databases. Erişim [<http://www.fao.org/faostat/en/#home>]
- FRAC, 2018. Resistance. Fungicide Resistance Action Committee. Erişim [<http://www.frac.info/resistance-overview>]
- Fukumori, Y., Nakajima, M., Akutsu, K. 2004. Microconidia Act the Role as Spermatia in the Sexual Reproduction of *Botrytis cinerea*. **Journal of General Plant Pathology**, 70: 256–260.
- Georgopoulos S.G., 1986. Plant pathogens. In: Pesticide resistance: Strategies and tactics for management. (National Reserch Council, Eds.) pp. 100-110. National Academy Press, Washington DC, USA.
- Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 2017. Tarımsal Veriler. Erişim [[http://www.tarim.gov.tr/Belgeler/SagMenuVeriler/Tarimsal\\_Veriler.pdf](http://www.tarim.gov.tr/Belgeler/SagMenuVeriler/Tarimsal_Veriler.pdf)]
- Giraud, T., Fortini, D., Levis, C., Leroux, P., Brygoo, Y. 1997. RFLP Markers Show Genetic Recombination (*Botrytis cinerea*) and Transposable Elements Reveal Two Sympatric Species. **Molecular Biology and Evolution**, 14: 1177–1185.

- Giraud, T., Fortini, D., Levis, C., Leroux, P., Brygoo, Y. 1999. Two Sibling Species of the *Botrytis cinerea* Complex, *Transposa* and *Vacuma*, are Found in Sympatry on Numerous Host Plants. **Phytopathology**, 89: 967–973.
- Grabke, A. 2014. Fungicide Resistance in *Botrytis cinerea* from Strawberry - Molecular Mechanisms and Management. Clemson University, Plant and Environmental Sciences, Yüksek Lisans Tezi, Güney Carolina, ABD.
- Grindle, M. 1979. Phenotypic Differences Between Natural and Induced Variants of *Botrytis cinerea*. **Journal of General Microbiology**, 111: 109–120.
- Hancock, J.F. 1999. Strawberries. CAB International, Wallingford, UK.
- Holtz, G., Coertze, S., Williamson, B. 2004. The ecology of *Botrytis* on plant surfaces. In: *Botrytis: biology, pathology and control*. (Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski P., Delen, N. Eds.) Kluwer Academic Publishers, pp 9–24, Dordrecht, Holland.
- Hahn, M. 2014. The Rising Threat of Fungicide Resistance in Plant Pathogenic Fungi: *Botrytis* as a Case Study. **Journal of Chemical Biology**, 7: 133–141.
- Hsiang, T., Chastagner, G.A. 1992. Production and Viability of Sclerotia from Fungicide- resistant and Fungicide- sensitive Isolates of *Botrytis cinerea*, *B. elliptica* and *B. tulipae*. **Plant Pathology**, 41: 600–605.
- IFAS (2010) Interactive strawberry budget. Plant city, 2008–2009 season. Erişim [<http://www.fred.ifas.ufl.edu/iatpc/files/strawberries09L.xls>]
- Index Fungorum. 2017. Erişim [<http://www.indexfungorum.org/>]
- Isenegger, D. A., MacLeod, W. J., Ford, R., Taylor, P. W. J. 2008. Genotypic Diversity and Migration of Clonal Lineages of *Botrytis cinerea* from Chickpea Fields of Bangladesh Inferred by Microsatellite Markers. **Plant Pathology** 57: 967–973. [a]
- Isenegger, D.A., Ades, P.K., Ford, R., Taylor, P.W.J.. 2008. Status of the *Botrytis cinerea* Species Complex and Microsatellite Analysis of Transposon Types in South Asia and Australia. **Fungal Diversity**, 17–26. [b]
- Jarvis, W.R. 1977. *Botrytinia* and *Botrytis* species: taxonomy, physiology, and pathogenicity, a guide to the literature. Monograph No. 15. Canada Department of Agriculture, Ottawa, Canada.
- Kanetis, L., Christodoulou, S., Iacovides, T. 2017. Fungicide Resistance Profile and Genetic Structure of *Botrytis cinerea* from Greenhouse Crops in Cyprus. **European Journal of Plant Pathology**, 147: 527–40.

- Kantarıcı, M. 2007. Global BKÜ pazarı ve Ar-Ge. **Tarım ilaçları kongre ve sergisi**, pp 13-23. TMMOB, Kimya ve Ziraat Mühendisleri Odaları, Bildiri Kitabı, Ankara.
- Kapitonov, V. V., Jurka, J. 2008. A Universal Classification of Eukaryotic Transposable Elements Implemented in Repbase. **Nature Reviews Genetics**, 9: 411–412.
- Kecskemeti, E., Brathuhn, A., Kogel, K.H., Berkemann-Löhnertz, B., Reineke, A. 2014. Presence of Transposons and Mycoviruses in *Botrytis cinerea* Isolates Collected from a German Grapevine Growing Region. **Journal of Phytopathology**, 162: 582–595.
- Kretschmer, M., Hahn, M. 2008. Fungicide Resistance and Genetic Diversity of *Botrytis cinerea* Isolates from a Vineyard in Germany. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 115: 214–219.
- Kuck, K. H., Gisi, U. 2008. FRAC Mode of Action Classification and Resistance Risk of Fungicides. **Modern Crop Protection Compounds**, 415–432.
- Kumari, S., Tayal, P., Sharma, E., Kapoor, R. 2014. Analyses of Genetic and Pathogenic Variability among *Botrytis Cinerea* Isolates. **Microbiological Research**, 169: 862–872.
- Kuzmanovska, B., Rusevski, R., Jankuloski, L., Jankulovska, M., Ivic, D., Bandzo K. 2012. Phenotypic and Genetic Characterization of *Botrytis cinerea* Isolates from Tomato. **Genetika**, 44: 633–647.
- Langer-Safer, P.R, Levine, M., Ward, D.C. 1982. Immunological method for mapping genes on Drosophila polytene chromosomes . **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 79: 4381–4385.
- Leroux P. 2007. Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. In: *Botrytis: biology, pathology and control*. (Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., Delen, N. Eds.) Kluwer Academic Publishers (Springer), pp. 195-222. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London.
- Levis, C., Fortini, D., Brygoo, Y. 1997. Flipper, a Mobile Fot1-like Transposable Element in *Botrytis cinerea*. **Molecular and General Genetics**, 254: 674–680.
- Li, X. 2015. Characterization of a New *Botrytis* Species and Fungicide Resistance in *Botrytis cinerea* from Blackberry. Clemson University, Plant and Environmental Sciences, Doktora Tezi, Güney Carolina, ABD.

- Liu, X. Q., Yang J. 2004. *Prp8* Intein in Fungal Pathogens: Target for Potential Antifungal Drugs. **FEBS Letters**, 572: 46–50.
- Lopes, U.P., Zambolim, L., Capobianco, N.P., Gracia, N.A.O., Freitas-Lopes, R.L. 2017. Resistance of *Botrytis cinerea* to fungicides controlling gray mold on strawberry in Brazil. **Bragantia**.76: 266-272.
- Lorbeer, J.W., Delen, N., Tosun, N. 2001. Chemical control. In: Encyclopedia of Plant Pathology, (Maloy, O.C., Murray, T.D., Eds.) Vol 2: 199-203. John Wiley and Sons, Inc. Washington DC, USA.
- Lorenzini, M., Zapparoli, G. 2014. An Isolate Morphologically and Phylogenetically Distinct from *Botrytis Cinerea* Obtained from Withered Grapes Possibly Represents a New Species of *Botrytis*. **Plant Pathology**, 63: 1326–1335.
- Lorenz, D.H., Eichhorn, K.W. 1983. Untersuchungen an *Botryotinia fuckeliana* Whetz., dem Perfektstadium von *Botrytis cinerea* Pers. **Z Pfl anzenkrankh Pfl anzenschutz**, 90:1–11.
- Lutzoni, F., Kauff, F., Cox, C.J. et al. 2004. Assembling the Fungal Tree of Life: Progress, Classification, and Evolution of Subcellular Traits. **American Journal of Botany**, 91:1446–1480.
- Maas, J.L. 1998. Compendium of Strawberry Diseases, second edition. APS press Minnesota USA.
- Ma, Z., Michailides, T.J. 2005. Genetic Structure of *Botrytis cinerea* Populations from Different Host Plants in California. **Plant Disease**, 89: 1083–1089.
- Martinez, F., Dubos, B., Fermaud, M. 2008. New PCR Primers Applied to Characterize Distribution of *Botrytis cinerea* Populations in French Vineyards. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, 47: 217–226.
- Martinez, F., Dubos, B., Fermaud, M. 2005. The Role of Saprotrophy and Virulence in the Population Dynamics of *Botrytis cinerea* in Vineyards. **Phytopathology**, 95: 692–700.
- Masner, P., Muster, P., Schmid, J. 1994. Possible Methionine Biosynthesis Inhibition by Pyrimidinamine Fungicides. **Pesticide Science**, 42: 163–166.
- McClintock, B. 1950. The Origin and Behavior of Mutable Loci in Maize. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 36: 344–355.

- Mikaberidze, A., McDonald, B.A., Bonhoeffer, S. 2014. Can High-Risk Fungicides Be Used in Mixtures Without Selecting for Fungicide Resistance? **Phytopathology**, 104: 324–31.
- Moore-Landecker, E. 1996. Fundamentals of the Fungi, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Muñoz, G., Hinrichsen, P., Brygoo, Y., Giraud, T. 2002. Genetic Characterisation of *Botrytis cinerea* Populations in Chile. **Mycological Research**, 106: 594–601.
- Panebianco, A., Castello, I., Cirvileri, G., Perrone, G., Epifani, F., Ferrara, M., Polizzi, G., Walters, D.R., Vitale A. 2015. Detection of *Botrytis cinerea* Field Isolates with Multiple Fungicide Resistance from Table Grape in Sicily. **Crop Protection**, 77: 65-73
- Pollack, J.R, Perou, C.M, Alizadeh, A.A, Eisen, M.B, Pergamenschikov, A, Williams, C.F, Jeffrey, S.S, Botstein, D, Brown, P.O. 1999. Genome-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays. **Nat Genet** . 23: 41–46.
- Pollastro, S., De Miccolis Angelini, R.M., Rotolo, C. 2007. Characterisation of vacuua and transposa biotypes of *Botryotinia fuckeliana* . In: **Abstracts of the XIV international Botrytis Symposium**, 21–26 October 2005, Cape Town, South Africa.
- Pottier, I., Gente, S., Vernoux, J.P., Guéguen, M. 2008. Safety Assessment of Dairy Microorganisms: *Geotrichum candidum*. **International Journal of Food Microbiology**, 126: 327–332.
- Raja, H. A., Miller, A.N., Pearce, C., Oberlies, N.H. 2017. Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. **Journal of Natural Products**, 80:756–770.
- Ragsdale, N.N., 1994. Fungicides. **Encyclopedia of Agricultural Science**, 2: 445-453.
- Rupp, S., Plesken, C., Rumsey, S., Dowling, M., Schnabel, G., Weber, R.W.S., Hahn, M. 2017. *Botrytis fragariae*, a new species causing graymold on strawberries, shows high frequencies of specific and efflux-based fungicide resistance. **Appl Environ Microbiol**. Erişim [83:e00269-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00269-17>].
- Samuel, S., Veloukas, T., Papavasileiou A., Karaoglanidis, G.S. 2012. Differences in Frequency of Transposable Elements Presence in *Botrytis cinerea* Populations from Several Hosts in Greece. **Plant Disease**, 96: 1286–1890.

- Saremi, H . 2011. Fusarium Diseases as the Main Soil Borne Fungal Pathogen on Plants and Their Control Management with Soil Solarization in Iran. **African Journal of Biotechnology**, 10: 18391–18398.
- Sarıbıyık, D. 2005. Aydın İli Çilek Alanlarında Görülen Kurşuni Küf Hastalığı (*Botrytis cinerea* Pers.)’nın Kimyasal Mücadelesi Üzerine Çalışmalar. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Schindel, D. et al. 2012. Nuclear Ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) Region as a Universal DNA Barcode Marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 109: 6241–6246.
- Sezer, A, Dolar, S. 2012. Ordu, Giresun ve Trabzon illeri fındık üretim alanlarında çotanaklarda hastalık oluşturan *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr.’nın yaygınlığı ve bazı çeşitlerin etmene karşı reaksiyonlarının belirlenmesi. **Bitki Koruma Bülteni**, 52: 93-110.
- Shirane, N., Masuko, M., Hayashi, Y. 1988. Nuclear Behavior and Division in Germinating Conidia of *Botrytis cinerea*. **Cytology and Histology**, 78: 1627-1630.
- Shirane, N, Masuko, M., Hayashi, Y. 1989. Light Microscopic Observation of Nuclei and Mitotic Chromosomes of *Botrytis* Species. **Phytopathology**, 79: 728–730.
- Sierotzki, H., Wüllschleger, J., Alt, M., Bruyere, T., Pillonet, C., Parisi, S., Gisi, U., 2002. Potential mode of resistance to anilopyrimidine fungicides in *B.cinerea*. In: Modern fungicides and Antifungal Compounds III. (Dehne H.W., Gisi U., Kuck K.H., Russell P.E., Lyr H. Eds.) pp. 141-148. Agroconcept, Bonn, Germany.
- Sneh, B., Burpee, L., Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species, APS PRESS The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota, USA
- Soylu, E. M., Kurt, Ş., & Soyly, S. 2010. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. **International Journal of Food Microbiology**, 143: 183-189.
- Staats, M., Van Baarlen, P., Van Kan, J.A.L. 2005. Molecular Phylogeny of the Plant Pathogenic Genus *Botrytis* and the Evolution of Host Specificity. **Molecular Biology and Evolution**, 22: 333–346.



- Staats, M., Van Kan, J.A.L. 2012. Genome Update of *Botrytis cinerea* Strains B05.10 and T4. **Eukaryotic Cell**, 11: 1413–1414.
- Tamam, A. 2008. Bazı Avokado (*Persea americana* Mill.) Çeşitlerinin Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Uçar, A. 2014. Aydın İlinde Yetiştirilen Bazı Çilek Çeşitlerinde Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea*) ve Külleme (*Podosphaera aphanis*) Hastalığının Bulunma Oranı ve Hastalık Şiddeti. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Ueyama, I., Kurahashi, Y., 2007. Pencycuron a phenylurea fungicide for *Rhizoctonia solani*. In: Modern Crop Protection Compounds. (Kramer W., Schirmer U. Eds), Vol 2, pp. 591-603. Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim, Germany.
- Ün, Z. 2015. Aydın İlinde Çilekteki Fungal Kontaminasyonun Moleküler Tanısı ve *Botrytis cinerea* Türünün Genetik Yapısı. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Urbasch, I. 1983. Über Entstehung und Keimung der Chlamydosporen von *Botrytis cinerea* Pers. **Journal of Phytopathology**, 108: 54–60.
- Váczy, K. Z, Sandor, E., Karaffa, L., Fekete, E., Fekete, E., Arnyasi, M., Czegledi L., Kövics G.J., Druzhinia I.S., Kubicek, C.P. 2008. Sexual Recombination in the *Botrytis cinerea* Populations in Hungarian Vineyards. **Phytopathology**, 98: 1312–1319.
- Větrovský, T., Kolařík, M., Žifčáková, L., Zelenka, T., Baldrian, P. 2016. The rpb2 Gene Represents a Viable Alternative Molecular Marker for the Analysis of Environmental Fungal Communities. **Molecular Ecology Resources**, 16:388–401.
- Wessels, B. A., Linde, C.C., Fourie, P.H., Mostert, L. 2016. Genetic Population Structure and Fungicide Resistance of *Botrytis Cinerea* in Pear Orchards in the Western Cape of South Africa. **Plant Pathology**, 65: 1473–1483.

- Wingfield, M.J., De Beer, Z.W., Slippers, B., Wingfield, B.D., Groenewald, J.Z., Lombard, L., Crous, P.W. 2012. One fungus, one name promotes progressive plant pathology. **Mol Plant Pathol**, 13: 604–613.
- Wunderlich, N., Savocchia, S., Steel, C.C., Ash, G.J., Raman, H. 2008. Identification of *Botryosphaeria* spp. and first report of *Dothiorella viticola* (*Botryosphaeria viticola*) associated with bunch rot in Australia. **Abstracts of Oral and Poster Presentations given at the 6th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases**, *Phytopathologia Mediterranea* 48: 159–188. Florence, Italy.
- Yeşilçöllü, S., Gümüş, M, Paylan, İ.C. 2011. Studies on the Detection of Viruses in Strawberry Growing Areas in Aegean Region. **J. Turk. Phytopath.**, 40: 13-20.
- Yoltaş, A. 2017. Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen *Aspergillus* Section *Nigri* Türlerinin Fenotipik ve Moleküler Biyolojik Yöntemlerle Karakterizasyonu. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İzmir.
- Zhang, C Q, Liu, Y H., Zhu, G.N. 2010. Detection and Characterization of Benzimidazole Resistance of *Botrytis cinerea* in Greenhouse Vegetables. **European Journal of Plant Pathology**, 126: 509–515.
- Zhao, M., Zhou, J.Y., Li, Z.D., Song W.W., Gong T., Tan, H. 2011. “Boty-like Retrotransposons in the Filamentous Fungus *Botrytis cinerea* Contain the Additional Antisense Gene Brtn. **Virology**, 417: 248–52.
- Zhao, M., Zhou, J.Y., Li, Z.D., Song W.W., Gong T., Tan, H. 2009. Boty-II, a Novel LTR Retrotransposon in *Botrytis cinerea* B05.10 Revealed by Genomic Sequence. **Electronic Journal of Biotechnology** [Electronic Journal], 12: 1-9. Erişim [<http://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology>]
- Zhou, F., Lu, F., Zhang C., Qi, H.X., Wang X.D., Zhang G.Z. 2017. Occurrence of Fenhexamid Resistance in *Botrytis cinerea* from Greenhouse Strawberries in China. **Journal of Phytopathology**, 165: 455–462.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Bahadır Törün

Doğum Yeri Ve Tarihi :Aydın- 21.11.1985

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Ağırlıklı Biyoloji Opsiyonu

Yüksek Lisans Öğrenimi : Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji  
Bölümü Botanik Anabilim Dalı

Yabancı Diller : İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

#### A) Makaleler

-Bıyık HH, Ün Z, Törün B, Poyrazoğlu E. Fungal Biodiversity of Strawberry Fields in Aydın, TURKEY. *Int J Second Metab.* 2018;5(2):60-66.

-Poyrazoğlu E., Touray, M., **Törün, B.**, Bıyık, H.H. 2018. Biodiversity of Bacteria Isolated from Home-Made Wine and Vinegar. *Int. Jour. Sec. Metab*, 5(1): 42-48.

-Törün B, Yörükce MA, Yaman F, Bıyık H. 2018. Biodiversity of Fungi in Strawberry Fields in Anamur, TURKEY. *Int J Second Metab.* 5 (1): 20-26.

-Poyrazoğlu E., Bıyık H.H., **Törün B.** 2017. Investigation of Antimicrobial Effects in Different Solvents of *Pistacia terebenthus* L . Fruits Collected from Aydın. *JABS*, 11(3):20–22.

-Bıyık, H.H., Babacan Ü., Poyrazoğlu E., **Törün B.**, Erçin Z., Aydın N. 2017. Investigation of Antimicrobial Effect by Improving Various Compounds in *Padina Pavonica* (Aydın, Turkey). *JABS*, 11(3):33–38.

-**Törün B**, Poyrazoğlu Çoban E, Bıyık H, Barışık E. 2017. Antimicrobial Activity of *Echinophora tenuifolia* L. and *Raphanus sativus* L. Extracts. IJPER.51 (3): 373-376

-Poyrazoğlu Çoban E, Bıyık H **Törün B**, Yaman F. 2017. Evaluation the Antimicrobial Effects of *Pistacia terebinthus* L. and *Papaver rhoeas* L. Extracts against Some Pathogen Microorganisms. IJPER. 51(3): 377-380.

-Bıyık H, Poyrazoğlu Çoban E, **Törün B**, Yörükce M.A. 2017. Comparison of Antimicrobial Effects of Chemical Disinfectants with Centaury Oil. IJPER. 51(3): 381-384.

-**Törün B.**, Kalyoncu R.G., Poyrazoğlu E., Bıyık H.H. 2017. *Bacterial Biodiversity of Industrial Soils from Aydın and Trabzon Provinces*. Int.Jour.Sec.Metabolites. 4(2): 90-98

-Bıyık H.H., **Törün B.**, Geroğlu Y., Poyrazoğlu E., Başbülbul G. 2016. *Presevation and molecular identification of Aspergillus and Penicilium species with ITS-PCR*. European Journal of Biotechnology and Biosciences. 4(11):4-7

## B) Bildiriler

### -Symposium on Euroasian Biodiversity, SEAB 2017

05.07.2017 – 08.07.2017, Minsk – Belarus

*Verbal Presentation*, Biodiversity of Fungi in Strawberry Fields in Anamur, Turkey

Bahadır Törün, Mehmet Ali Yörükce, Fatma Yaman, Halil Bıyık

### -III<sup>rd</sup> International Congress on Biosensors

5.10.2016 – 7.10.2016, Ankara-Turkey

*Poster Presentation*, *Molecular Identification of Aspergillus and Penicilium Species with ITS-PCR*

H.Halil Bıyık, Bahadır Törün, Yusuf Geroğlu, Esin Poyrazoğlu Çoban, Gamze Başbülbul

### -VII<sup>th</sup> International Scientific Symposium for PhD Students and Students of Agriculture Colleagues

14.09.2016 - 17.09.2016, Bydgoszcz-Polonya

*Sözlü Sunum ve Poster Katılımcısı*

*Sözlü Sunum, Determination of Transposon Frequencies of Botrytis cinera Populations on Strawberries from Umurlu and Köşk Districts in Aydın, Turkey*

Bahadır Törün, Zeynep Ün, H.Halil Bıyık

*Poster, Effects of Two Fungal Species on Triticum aestivum L. Growth*

Yusuf Geroğlu, Bahadır Törün, Mustapha Touray, Esin Poyrazoğlu Çoban, H.Halil Bıyık

*Poster, Effects of Some Growth Promoting Bacteria on Triticum aestivum Growth*

Esin Poyrazoğlu Çoban, Bahadır Törün, H.Halil Bıyık, Mehmet Ali Yörükçe

*Poster, Effects of some Growth Inducing Bacteria on Oryza sativa L. Growth*

Fatma Yaman, Bahadır Törün, Mustapha Touray, H.Halil Bıyık, Esin Poyrazoğlu Çoban

**-Symposium on Euroasian Biodiversity, SEAB 2016**

23.05.2016 – 27.05.2016, Antalya – Türkiye

*Sözlü Sunum Katılımcısı, Bacterial Biodiversity of Aydın and Trabzon Provinces's Industrial Soils*

Bahadır Törün, Rabia Gizem Kalyoncu, Esin Poyrazoğlu Çoban, H.Halil Bıyık

**-VI<sup>th</sup> International Scientific Symposium for PhD Students and Students of Agriculture Colleagues**

17.09.2015 - 19.09.2015, Bydgoszcz-Ciechocinek-Polonya

**-2.Uluslararası Bitki Bilimlerindeki Gelişmeler Kongresi**

18.11.2014 - 22.11.2014, ICAPS. Kuching - Malaysia

*Poster Sunum Katılımcısı, Determination of Genetic Diversity Between Some Rice Varieties Developed in Turkey Using ISSR Technique*

Bahadır Törün, Emel Sözen

**-22. Ulusal Biyoloji Kongresi**

23.06.2014 - 27.06.2014, Eskişehir - Türkiye

*Sözlü Sunum Katılımcısı, Gluconacetobacter hansenii'nin Genetik Çeşitliliğinin RAPD-PCR ile Belirlenmesi*

Bahadır Törün, Esin Poyrazoğlu Çoban, H.Halil Bıyık

**İLETİŞİM**

E-Posta Adresi : bahadirtrn@yahoo.com.tr

Tarih :30/03/2018