

Vegetative Compatibility Groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* in Aydın Province*

Birsen GEÇİOĞLU ERİNCİK¹ Mustafa Timur DÖKEN²

¹Adnan Menderes University, Koçarlı Vocational School, 09100, Aydın, Turkey.

²Adnan Menderes University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 09100, Aydın, Turkey.

Corresponding author email: bgerincik@adu.edu.tr

Accepted by 17 December 2017

ABSTRACT

Fusarium oxysporum f.sp. *niveum* (FON), the causal agent of Fusarium wilt of watermelon, exists in widely variant forms in nature. A total of 73 FON isolates collected from Aydın Province in 2010 and 2011 were evaluated for vegetative compatibility. *Nit* mutants of 56 field isolates and the VCG testers (VCG 0080 and VCG 0082) of FON were generated in the culture media containing different nitrogen sources. *Nit* mutant of field isolates were paired with the *nit* mutant of the testers in minimal media to evaluate vegetative compatibility. Twenty-eight isolates were vegetatively compatible with VCG 0080 and 13 were VCG0082. Fifteen isolates were not compatible with the testers used in this study; however, they all were compatible with each other. These isolates may form a new VCG of FON or may fall into one of the other standard VCGs (VCG 0081 or VCG 0083) that were not tested in this study. As conclusion, the three VCGs of FON were detected in Aydın Province.

Key words: Watermelon, wilt, *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*, vegetative compatibility groups

ÖZET

Aydın İlinde *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*'un Vejetatif Uyum Grupları

Karpuzlarda *Fusarium solgunluğuna* neden olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* (FON), doğada çeşitli formlarda bulunmaktadır. Çalışmamızda 2010 ve 2011 yıllarında yapılan sörveylerde Aydın ilinden elde edilen 73 adet FON izolatının vejetatif uyum grupları belirlenmiştir. İzolatların farklı azot kaynakları içeren ortamlarda geliştirilmesiyle toplam 56 tarla izolatı ile 2 VCG tester (VCG 0080 ve VCG 0082) izolatın *nit* mutantları elde edilmiştir. Tarla izolatlarının *nit* mutantları ile tester mutantlar minimal ortam üzerinde yanyana eşleştirilmiş ve aralarındaki vejetatif uyumluluk değerlendirilmiştir. Testler sonucunda 28 izolat VCG 0080 ile 13'ü ise VCG 0082 grubu ile uyumlu bulunmuştur. Kalan 15 izolat ise test edilen hiçbir tester ile uyumluluk göstermezken kendi aralarında yapılan eşleştirmelerde birbirleri ile uyumlu bulunmuşlardır. Ancak VC grubu belirlenemeyen bu 15 FON izolatının, çalışmamızda test edemediğimiz diğer standart VC gruplarından birine (VCG 0081 veya VCG 0083) ait olabileceği gibi, bilinen VC gruplarının dışında yeni bir grubu da oluşturabilecekleri düşünülmüştür. Çalışmamız sonucu Aydın ilinde FON'un 3 farklı VC grubunun var olduğu saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: Karpuz, solgunluk, *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*, vejetatif uyum grupları

*Bu çalışma 5-8 Eylül 2016 tarihleri arasında Konya'da düzenlenen Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi'nde sözlü olarak sunulmuş ve kongre kitabında özet olarak basılmıştır.

GİRİŞ

Dünyada milyonlarca hektar üretim alanı ile en yaygın sebzeler içerisinde yer alan karpuzun varlığı ve üretimi 1800'lü yılların sonlarına doğru *Fusarium* solgunluğu nedeni ile olumsuz yönde etkilenmeye başlamıştır. *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (E.F. Sm.) Snyder & Hans. (FON) adlı bir fungal etmenin neden olduğu bu hastalık önce Amerika'da, daha sonra da Asya ve Avrupa'da karpuz üretim alanlarında büyük çapta tahribat oluşturmuştur (Martyn, 2012). Türkiye'de ilk kez 1965 yılında Marmara Bölgesinde saptanan *Fusarium* solgunluğu karpuzda %50' den fazla zarar yaptığı bildirilmiştir (Akdoğan, 1969). Daha sonra Ege Bölgesinde, İzmir, Manisa, Aydın illerinde belirlenen bu hastalığın (Filiz ve Turhan, 1991), Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde de bulunduğu (Kurt ve ark., 2005) ve bu bölgelerde ciddi ekonomik kayıplara neden olduğu saptanmıştır. Karpuz yapraklarında önce renk açılması şeklindeki belirtilerle dikkati çeken karpuz *Fusarium* solgunluğu bitkinin tüm gelişme dönemlerinde görülebilir. Genellikle kökboğazına yakın yaşlı yapraklarda başlayan ve uçlara doğru ilerleyen yaprak sararmaları, daha sonra solgunluk ve takiben kuruma bitkinin toprak üstü organlarında görülen hastalık belirtileridir (Egel and Martyn, 2007).

Sadece karpuzlarda solgunluğa neden olan FON'un 0, 1, 2 ve 3 olmak üzere toplam 4 fizyolojik ırkı saptanmıştır (Zhou et al., 2010). Ayrıca genetik çeşitlilik açısından dört farklı vejetatif uyum grubu (VCG) altında toplanan FON izolatlarının VCG' leri VCG 0080, VCG 0081, VCG 0082 (Larkin et al., 1990) ve VCG 0083 (Zhou and Everts, 2007) olarak numaralandırılmıştır. *F. oxysporum* ile ilgili populasyon çalışmalarında izolatların fizyolojik ırklarının yanı sıra VCG' leri de belirlenmektedir. Puhalla (1985), *F. oxysporum*' u alt gruplara ayırmada VCG' lerini alternatif bir kriter olarak izolatların karakterizasyonunda kullanmıştır. *Fusarium oxysporum*' un genetik çeşitliliğini ortaya koymada yararlı bir yöntem haline gelen VCG testleri (Zhou and Everts, 2007) populasyonun patojen olmayan kısmının karakterizasyonuna da olanak sağlamaktadır (Correll, 1991). VCG ile ilgili yapılan çalışmalar bu etmenin patolojisi, populasyon biyolojisi ve ırk ilişkilerini anlama konusunda önemli katkılar sağlamıştır (Leslie, 1993).

F. oxysporum' un izolatları arasında vejetatif uyumluluğu analiz etmede nitrat kullanmayan (*nit*) mutantlardan yararlanılmaktadır (Puhalla, 1985). Bu mutantlar farklı azot kaynaklarını kullanabilme yeteneklerine göre *nit 1*, *nit 3* ve NitM olarak 3 farklı fenotipe ayrılmaktadır. Eğer iki izolatın *nit* mutantları minimal ortamda eşleştirildiğinde anastomosis oluşması sonucu yabancı tipte gelişme gösteren heterokaryon oluşuyor ise izolatların aynı VCG' ye ait oldukları belirlenmektedir (Correll et al., 1987). Larkin ve ark. (1990) farklı ülkelerden topraktan ve hasta karpuz bitkilerinden elde edilen 250 adet FON izolatın VCG' lerini ve FON ırklarını belirlemişlerdir. FON izolatları 3 farklı VC grubundan (VCG 0080, VCG 0081 ve VCG 0082) birinde yer alırken, karpuzdan izole edilen patojen olmayan izolatlar ile uyumlu bulunmamıştır. İrklar açısından ise FON izolatlarının iki farklı ırka ait olduğu (İrk 1 ve İrk 2) saptanmıştır. Ayrıca ırklar ile VCG' ler arasında korelasyon belirlenerek VCG 0080 ve VCG 0081' in İrk 1 izolatlarını, VCG 0082' nin tüm karpuz çeşitlerinde ciddi solgunluğa neden olan sadece İrk 2 izolatlarını içerdiği saptanmıştır. Bu çalışma ile vejetatif uyumluluk testinin FON izolatları arasında patojen yada patojen olmayan izolatların belirlenmesinde kullanılabileceği gibi FON' u diğer forma spesialeslerden ayırt etmede de kullanılabileceği ileri sürülmüştür.

Zhou ve Everts (2007)'de ABD'nin Delaware ve Maryland eyaletlerinde karpuz tarlalarında solgunluk belirtisi gösteren bitkilerden ve bulaşık topraklardan elde ettikleri 88 adet FON izolatından 74' ünün VC gruplarını belirleyerek bunların üç VCG (0080, 0082 ve 0083) altında toplandığını kaydetmişlerdir. Bu izolatların 41' nin VCG 0080' de yer aldığı saptayarak bunun en çok yaygınlık gösteren grup olduğunu bildirmişlerdir. 27 izolatın VCG 0082' ye ait olduğunu, 6' sının ise yeni bir VC grubunda (VCG 0083) yer aldığı belirlemişlerdir. VCG 0080 izolatları arasında 8' i İrk 0, 21' i İrk 1 ve 12' si İrk 2 iken, VCG 0082 izolatlarından 6' si İrk 0, 11' i İrk 1, 10' u İrk 2 olarak saptanmıştır. VCG 0083 izolatlarının hepsi İrk 2 olarak belirlenmiştir. Ülkemizde bu konuda yapılmış tek araştırmada da Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri' nden elde edilen FON' un 0, 1 ve 2 nolu ırklarına ait izolatların VCG yöntemi ile genetik analizi ve populasyondaki genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada *nit* mutantları arasında eşleştirmeler sonucu heterokaryon oluşturanlarda 4 farklı VC grubu tespit edilmiştir. Bu gruplardan İrk 2 tek bir grup içerisinde yer alırken İrk 0 ve İrk 1' in farklı gruplar içerisinde yer aldığı belirtilmiştir (Kurt ve ark., 2007). Verdiğimiz kaynak bilgilerden de anlaşılacağı üzere Aydın' da karpuz *Fusarium* solgunluğuna neden olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*' un vejetatif uyum grupları (VCG)' nin belirlenmesine yönelik bilgi bulunmaktadır. Bu çalışmamızda FON izolatlarının VCG' leri saptanarak Aydın ili karpuz üretim alanlarındaki FON populasyonlarının genetik çeşitliliğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Fusarium oxysporum f. sp. *niveum* İzolatlarının Elde Edilmesi

2010-2011 yıllarında Aydın ili ve ilçelerinde (Merkez, Bozdoğan, Buharkent, Çine, Didim, Germencik, İncirliova, Karacasu, Karpuzlu, Koçarlı, Köşk, Kuşadası, Kuyucak, Nazilli, Söke, Sultanhisar, Yenipazar) karpuz üretiminin yapıldığı alanların tamamı gezilerek bitkiler incelenmiştir. Yapılan sörveyelerde tarlalarda tipik solgunluk belirtisi sergileyen bitkilerden alınan toplam 470 bitki örneğinde laboratuvarında izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen izolatlardan kültürel ve morfolojik özelliklerine göre *Fusarium* spp. olarak ayrılan 185 izolat arasından patojenisite testleri ve tanılama çalışmaları sonucu 73 adet *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* izolatı elde edilmiştir. Çalışmanın devamında ise tek sporları elde edilen bu FON izolatlarının fizyolojik irkları da saptanmıştır (Geçioğlu Erincik and Döken, 2017).

Fusarium oxysporum f.sp. *niveum* İzolatlarının Vejetatif Uyum Gruplarının (VCG) Belirlenmesi

1. Nit Mutantların Elde Edilmesi

Nit mutantların oluşturulması ve seçilmesinde %1.5 KClO₃ içeren Minimal Ortam (MM) kullanılmıştır. Minimal ortam 1 lt saf suya 30 g Sukroz, 2 g NaNO₃, 1 g KH₂PO₄, 0.5 g MgSO₄.7H₂O, 0.5 g KCl, 0.2 ml iz element solüsyonu ve 20 g Difco agar ilave edilerek hazırlanmıştır. İz element solüsyonu ise 95 ml saf su için 5 g sitrik asit, 5 g ZnSO₄. 7H₂O, 4.75 g FeSO₄.7H₂O, 1g Fe(NH₄)₂ (SO₄)₂. 6H₂O, 250 mg CuSO₄.5H₂O, 50 mg MnSO₄. H₂O, 50 mg H₃BO₃, 50 mg Na₂MoO₄. 2H₂O içermektedir (Puhalla, 1985).

Önceden PDA besi ortamında geliştirilmiş 73 adet *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* tek spor kültürlerinden alınan 2 mm²lik miselyal parçacıklar, içine %1.5 KClO₃ ilave edilmiş MM bulunan petri kaplarına aktarılmıştır. Her izolat bir petride 2 noktaya inokule edilmiş ve çalışma 5 yinelemeli olarak yapılmıştır. 25 °C’de karanlıkta 7-15 günlük inkübasyon sürecinde yavaş gelişme gösteren koloniler içinde hızlı gelişen, klorata dayanıklı miselyal alanlar belirlenmiştir. Hızlı gelişen bu alanlardan küçük parçalar kesilerek kloratsız MM içeren petrilere aktarılmış, gelişen koloniler incelenerek ince ve havai miselyum içermeyen koloniler nit mutantlar olarak ayrılmıştır (Correll et al., 1987).

2. Nit Mutantların Fenotiplerinin Belirlenmesi

Elde edilen her bir nit mutantı, üç farklı besi ortamına aktararak buradaki gelişimleri gözlemlenmiş ve üç farklı fenotipe ayrılmıştır. Her bir nit mutantından alınan küçük miselyal parçacıklar, 1) Nitrat ortamı (MM), 2) Nitrit ortamı (0.5 g/lt NaNO₂ içeren MM) ve 3) Hypoxanthine ortamı (0.2 g/lt hypoxanthine içeren MM)’na aktarılmıştır. 4 günlük inkübasyondan sonra koloni morfolojilerine bakılarak fizyolojik fenotipler nit1, nit3, NitM olarak ayrılmıştır (Çizelge 1). NaNO₂ içeren ortamda iyi (havai misel oluşumu) gelişip Hypoxathine’li ortamda ince gelişen koloniler NitM, NaNO₂ içeren ortamda ince gelişip Hypoxathine’li ortamda iyi gelişen koloniler nit3, her iki ortamda da iyi gelişen koloniler nit1 olarak belirlenmiştir (Correll et al., 1987).

Çizelge 1. Farklı azot kaynaklarındaki gelişme durumlarına göre nit mutantların fenotipleri

nit mutant tipi	Farklı azot kaynaklarında FON'ların gelişimi		
	Nitrat ortamı (MM)	Nitrit ortamı (MM+NaNO ₂)	Hypoxathine ortamı (MM+ Hypoxathine)
NitM	-	+	-
nit3	-	-	+
nit1	-	+	+

(+): havai misel gelişimi (-): ince misel gelişimi

3. Vejetatif Uyum Gruplarının (VCG) Saptanması

Çalışma kapsamında nit mutantları elde edilen FON izolatlarının VC gruplarını saptamadan önce bu izolatlar arasında farklı fenotiplerde nit mutantlara sahip olanlar kendi aralarında self kompatibilite (kendine uyumluluk) yönünden eşleştirilmiştir. Eşleştirme testinde iki tamamlayıcı nit mutantın yani nit1/ nit3, nit1/ NitM ya da

VEGETATIVE COMPATIBILITY GROUPS OF *FUSARIUM*
OXYSPORUM F.SP. *NIVEUM* IN AYDIN PROVINCE

nit3/NitM kolonilerinin minimal ortam üzerinde karşılaştıkları yerde yoğun bir havai miselyum hattı oluşturması heterokaryon oluşumunu göstermektedir. Bu durumda kendi içinde uyumlu bulunan izolatlar daha sonra vejetatif uyum gruplarını saptamak üzere VCG'leri belirlenmiş referans FON izolatları ile eşleştirilmiştir. Correll ve ark. (1987)'nin yöntemine göre yapılan eşleştirmelerde Prof. Dr. Kathryn Everts'den temin edilen vejetatif uyum grubu VCG 0080 ve VCG 0082 olarak belirlenmiş referans FON izolatları kullanılmıştır. Diğer VC grupları olan VCG 0081 ve VCG 0083'e ait referans FON izolatlarını sağlamak üzere 2012 yılından bu yana farklı zamanlarda konu ile ilgili çalışmaları bulunan birçok kişiye ve kuruma ulaşılmaya çalışılmış fakat sonuç alınamamıştır. Bu nedenlerle VCG 0081 ve VCG 0083'ü temsil eden FON izolatları tüm uğraşlara rağmen elde edilemediğinden izolatlarımızla eşleştirilememiştir. Yapılan testlerde referans izolatlardan elde edilen NitM fenotipleri, FON izolatlarından elde edilen *nit1* veya *nit3* fenotipleri ile ayrı ayrı eşleştirilmiştir. Eşleştirilecek iki *nit* mutanta ait 2 mm² büyüklüğündeki koloni parçaları içinde MM bulunan petri kaplarının tam ortasına yaklaşık 1 cm aralıkla yerleştirilmiş ve 25 °C de, karanlıkta 7-14 gün inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen kolonilerin karşılaştığı yerde oluşan çizgi şeklinde yoğun havai miselyum gelişimi iki farklı izolatin *nit* mutantlarının heterokaryon oluşturduğunu göstermektedir (Puhalla, 1985). Bu durumda iki izolatin mutantlarının vejetatif olarak uyumlu buldukları ve dolayısı ile aynı VC grubuna ait oldukları kaydedilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Fusarium oxysporum f.sp. *niveum* İzolatlarının Vejetatif Uyum Grupları (VCG)

1. Nit Mutantlar ve Fenotipleri

Aydın ili karpuz üretim alanlarından elde edilen 73 adet FON tek spor izolatlarına ait koloni parçasını içeren disklerin, içinde %1.5 KClO₃ bulunan MM inkübasyon ortamında ince, hızlı miselyum gelişimi gösteren koloniler veya koloni sektörleri klorat'a dayanıklı olarak tanımlanmıştır. Denemeye alınan 73 FON tek spor izolatından toplam 374 adet klorata dayanıklı koloni elde edilmiştir. Klorata dayanıklı kolonilerin tamamı MM'ye aktarılmış ve bu ortamda ince, yaygın ve havai miselyum içermeyen 299 koloni *nit* mutant olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. İlçelere göre *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* izolatlarından elde edilen *nit* mutantlar ve fenotipleri

İlçeler	İzolat nosu	Klorat'a dayanıklı	Nit mutant sayısı	Nit mutantların fenotipleri		
				<i>nit 1</i>	<i>nit 3</i>	NitM
Koçarlı	KO-1	6	6	6	-	-
	KO-2	9	9	6	3	-
	KO-4	8	6	4	-	2
	KO-5	10	9	8	-	1
	KO-6	6	4	2	-	2
	KO-8	6	4	4	-	-
	KO-9	5	5	3	2	-
	KO-10	5	5	5	-	-
	KO-12	2	-	-	-	-
	KO-17	-	-	-	-	-
	KO-18	-	-	-	-	-
	KO-19	8	6	6	-	-
	KO-20	7	6	6	-	-
	KO-25	5	5	4	1	-
	KO-27	10	8	2	-	6
	KO-28	6	6	6	-	-
	KO-32	10	10	6	-	4
	KO-34	5	5	5	-	-
	KO-36	3	3	3	-	-
KO-38	10	8	2	6	-	
KO-42	-	-	-	-	-	

Çizelge 2. Devam

İlçeler	İzolot nosu	Klorat'a dayanıklı	Nit mutant sayısı	Nit mutantların fenotipleri		
				nit 1	nit 3	NitM
Çine	CN-1	3	3	3	-	-
	CN-2	10	9	6	-	3
	CN-4	8	8	4	-	4
	CN-5	8	6	6	-	-
	CN-6	4	4	4	-	-
	CN-11	6	6	2	-	4
	CN-13	10	10	10	-	-
	CN-20	7	6	6	-	-
	CN-22	-	-	-	-	-
	CN-24	6	5	-	-	5
	CN-25	3	3	3	-	-
	CN-28	8	6	4	-	2
	CN-30	9	6	4	-	2
	CN-32	5	4	4	-	-
CN-33	-	-	-	-	-	
CN-34	4	-	-	-	-	

Çizelge 2. İlçelere göre *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* izolatlarından elde edilen nit mutantlar ve fenotipleri (devamı)

İlçeler	İzolot nosu	Klorat'a dayanıklı	Nit mutant sayısı	Nit mutantların fenotipleri		
				nit 1	nit 3	NitM
Söke	SO-2	4	3	3	-	-
	SO-3	6	3	3	-	-
	SO-6	8	6	4	2	-
	SO-8	6	6	6	-	-
	SO-9	9	7	2	1	4
	SO-10	6	5	5	-	-
	SO-11	10	5	5	-	-
	SO-12	5	3	3	-	-
	SO-21	-	-	-	-	-
	SO-22	-	-	-	-	-
	SO-25	-	-	-	-	-
	SO-26	5	5	5	-	-
	SO-29	10	10	10	-	-
SO-40	5	3	3	-	-	
Bozdoğan	BD-1	-	-	-	-	-
	BD-7	6	6	6	-	-
	BD-11	10	8	2	-	6
	BD-12	10	6	6	-	-
	BD-16	2	1	1	-	-
	BD-17	4	4	4	-	-
	BD-20	2	-	-	-	-
Merkez	ME-1	6	6	2	-	4
	ME-2	-	-	-	-	-
	ME-3	3	3	3	-	-
	ME-4	6	6	3	-	3
	ME-5	6	-	-	-	-
	ME-6	5	4	4	-	-
Yenipazar	YP-1	4	-	-	-	-
	YP-4	5	2	2	-	-
	YP-5	-	-	-	-	-
	YP-12	2	2	2	-	-
Sultanhisar	SH-3	3	2	2	-	-
	SH-8	-	-	-	-	-
	SH-12	2	1	1	-	-
İncirliova	IO-1	6	5	3	-	2
Nazilli	NA-1	6	6	2	-	4

VEGETATIVE COMPATIBILITY GROUPS OF *FUSARIUM*
OXYSPORUM F.SP. *NIVEUM* IN AYDIN PROVINCE

Nit mutantlarının fenotipik olarak ayırımında nitrat ortamında (MM) ince misel gelişimi gösterip, nitrit ortamı ve hypoxhantine ortamında havai misel gelişimi gösteren 226 adet *nit* mutant *nit1* (%75,6), nitrat ve nitrit ortamında ince misel gelişimi gösterip, hypoxhantine ortamında havai misel gelişimi gösteren 15 adet *nit* mutant *nit3* (%5), nitrat ve hypoxhantine ortamında ince misel gelişimi gösterip, nitrit ortamında havai misel gelişimi gösteren 58 adet *nit* mutant NitM (%19.4) olarak belirlenmiştir. Ancak 73 FON tek spor izolatının 17'sinden *nit* mutant elde edilememiştir (Çizelge 2). Bu izolatların 12'sinden (KO-17, KO-18, KO-42, CN-22, CN-33, SO-21, SO-22, SO-25, BD-1, ME-2, YP-5, SH-8) klorata dayanıklı koloni elde edilemediği için, diğer kalan 5 izolat (KO-12, CN-34, BD-20, ME-5, YP-1) ise başlangıçta klorata dayanıklı kolonilere benzer gelişim göstermesine karşın MM ortamına aktarıldığında havai miselyum içeren koloniler oluşturması nedeni ile *nit* mutant değerlendirmesine alınmamıştır. İzolatlardan genelde 1 veya 2 farklı *nit* mutant elde edilirken, Söke ilçesine ait SO-9 izolatından 3 farklı *nit* mutant belirlenmiştir.

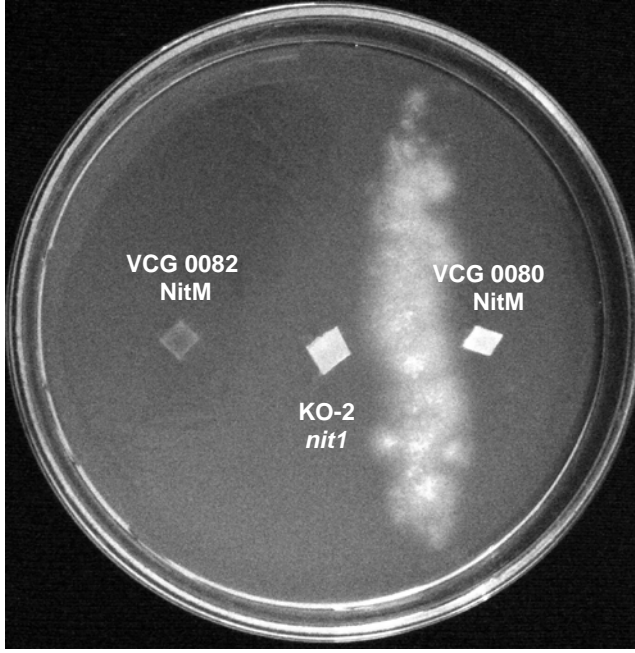
Bu çalışmanın yanısıra referans izolatlarından da *nit* mutantları elde edilmiş ve özellikle NitM fenotipli mutantın eldesine özen gösterilmiştir. Nitekim Puhalla (1985), Correll ve ark. (1987) çalışmalarındaki vejetatif uyum testlerinde referans izolatlarla yapılan eşleştirmelerde referans izolatların NitM mutantlarının en güvenilir olduğunu, bu nedenle araştırmacıların kullandıkları referans izolatların NitM mutantlarını elde etmeleri gerektiğini önemle işaret etmişlerdir.

Aydın ilinden elde edilen 73 FON'un tek spor izolatlarının 56'sından farklı fenotiplerde *nit* mutantlar elde edilmiştir. Bu 56 izolatın VC gruplarının saptanması amacıyla tester izolatlarla eşleştirme çalışmalarına geçmeden önce farklı fenotipte *nit* mutantlara sahip 21 FON izolatı kendi içerisinde kendine uyumluluk (self kompatibilite) yönünden eşleştirilerek testlenmiştir. Bu denemede her bir izolatın farklı fenotipteki *nit* mutantları, minimal ortam üzerinde karşılaştıkları yerde yoğun bir havai miselyum hattı görünümünde heterokaryon oluşturduklarından kendi aralarında birbirleriyle tam uyumlu bulunmuşlardır.

2. *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* İzolatlarının Vejetatif Uyum Grupları (VCG)

Aydın ili karpuz üretim alanlarından bu çalışma kapsamında izole edilen ve tek sporları elde edilen 73 FON izolatının farklı fenotiplerde *nit* mutantlara sahip 56 adet izolatının (Çizelge 2.) vejetatif uyum gruplarını (VCG) belirlemek üzere eşleştirme testleri yapılmıştır. Ancak diğer 17 FON izolatından mutant elde edilemediğinden eşleştirme yapılamamış ve VC grupları belirlenememiştir. Elli altı adet izolatın *nit* mutantlarından *nit1* veya *nit3*, vejetatif uyum grubu belirtilmiş referans FON izolatlarının (VCG 0080 ve VCG 0082) NitM mutanı ile eşleştirilmiştir (Şekil 1). Puhalla (1985)'nin da belirttiği gibi eşleştirme testinde; vejetatif olarak uyumlu *nit* mutantlar minimal ortamda birbiri ile temas ettiğinde anastomosis gerçekleşmiş ve temas ettiği kısımda havai misel gelişimi görülmüş yani aralarında heterokaryon oluşturmuşlardır. Bu oluşum sonucu da iki izolatın mutantlarının vejetatif olarak uyumlu ve aynı VCG grubuna ait olduğuna karar verilmiştir (Şekil 1). Eşleştirmelerde VCG 0080 ve VCG 0082 grubuna dahil referans izolatların NitM fenotipi kullanılırken, Çine ilçesine ait CN-24 izolatından sadece NitM elde edilmesi nedeniyle bu izolat, tester izolatların *nit1* mutantları ile eşleştirilmiştir.

56 FON izolatı içinde VCG çeşitliliğini belirlemek amacıyla yapılan eşleştirme çalışmaları sonucunda üç farklı vejetatif uyum grubu saptanmıştır (Çizelge 3). Bunlardan 28'i VCG 0080 grubuna, 13'ü VCG 0082 grubuna ait olduğu bulunmuştur. Kalan 15 FON izolatına ait *nit* mutantları birbirleri ile eşleştirildiğinde güçlü bir heterokaryosis oluşturduğu için hepsinin aynı VC grubuna dahil olduğu saptanmıştır. Ancak VC grubu belirlenemeyen bu 15 FON izolatının VC grubunun Larkin ve ark. (1990)'nın FON izolatları içerisinde belirledikleri VCG 0081 veya Zhou ve Everts (2007)'in bildirdikleri VCG 0083 grubuna ait olabileceği gibi, bilinen VC gruplarının dışında beşinci ve yeni bir grupta olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamız sonucu Aydın ilinde VCG 0080, VCG 0082 ve bir diğer farklı grup olarak 3 VC grubu saptanmıştır. Ülkemizde bu konuda yapılmış tek çalışmada ise Kurt ve ark. (2007) Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde FON'un 4 farklı VC grubunu tespit etmişlerdir. Ancak bu çalışmada sadece gruplandırma yapılmış olup, tester izolatlar kullanılarak VC gruplarının tanılaması yapılmamıştır.



Şekil 1. VCG 0080 ve VCG 0082 grubuna ait referans izolatlarla eşleştirilen KO-2 kodlu *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* izolatının VCG 0080 ile oluşturduğu heterokaryosis

Bu çalışma kapsamında elde ettiğimiz FON izolatlarının %50 sinin VCG 0080 grubuna, %23.2'sinin VCG 0082 grubuna, %26.8'inin diğer VC grubuna ait olduğu hesaplanarak, Aydın ilçelerinde en yaygın VC grubunun VCG 0080 olduğu belirlenmiştir.

Aydın ve ilçelerinden elde edilen izolatların vejetatif uyum gruplarının ilçelere göre dağılımlarına bakıldığında (Çizelge 3) vejetatif uyum grubu saptanan izolatlardan Koçarlı ilçesine ait 17 izolatın 9'u VCG 0080'e, 3'ü VCG 0082'ye, 5'i ise diğer VC grubuna, Çine ilçesine ait 13 izolatın 5'i VCG 0080'e, 4'ü VCG 0082'ye, 4'ü de diğer VC grubuna ait bulunmuştur. Karpuz üretimi yüksek olan ilçelerimizden Söke ilçesinde 11 izolatın 8'i VCG 0080'e, 1'i VCG 0082'ye, 2'si diğer VC grubuna, Bozdoğan ilçesinde ise 5 izolatın 3'ü VCG 0080'e, 2'si VCG 0082'ye dahil edilmiştir. İzolat sayıları az olan ilçelerimizden Merkez ilçesine ait 4 izolatın 2'si VCG 0080'de, 1'i VCG 0082'de, 1'i diğer VC grubunda, Yenipazar ilçesine ait 2 izolatın 1'i VCG 0080'de, 1'i diğer VC grubunda, Sultanhisar ilçesine ait 2 izolatın 1'i VCG 0082'de, 1'i diğer VC grubunda yer almıştır. Sadece birer izolatı olan ilçelerden Nazilli izolatının diğer VC grubuna, İncirliova izolatının ise VCG 0082 grubuna ait olduğu saptanmıştır.

Vejetatif uyum grupları içerisindeki FON izolatlarının, daha önce başka bir çalışmamızda belirlenmiş olan ırklarının (Geçioğlu Erincik and Döken, 2017) dağılımları incelendiğinde ise VCG 0080 grubuna dahil izolatlardan 7'si Irk 0, 6'sı Irk 1, 15'i Irk 2, VCG 0082 grubuna dahil izolatlardan tamamı Irk 1, diğer VC grubuna dahil izolatlardan 8'i Irk 0, 3'ü Irk1, 4'ü Irk 2 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3). Elde ettiğimiz bu verilere göre VCG 0082 grubuna ait izolatların tamamının Irk 1 oluşu Larkin ve arkadaşlarının (1990) ileri sürmüş olduğu ırklar ile VC grupları arasında bir ilişki olasılığını kuvvetlendirmekle birlikte, VCG 0080 ve diğer VC grubunun her birinde yer alan izolatların farklı ırklara ait olması nedeni ile de bir korelasyon olmadığı görülmektedir. Nitekim Zhou ve Everts (2007) de yaptıkları çalışma sonucunda, ırklarla VCG'ler arasında bir korelasyon olduğu düşüncesinin aksine; bir VCG içerisinde birden fazla ırk olabileceğini ve hatta birden fazla VC grubunun aynı bitkiden ya da aynı tarladan izole edilebileceğini bildirmişlerdir. Ülkemizde Kurt ve ark. (2007) tarafından yapılan araştırmada ise Irk 2 izolatlarının tek bir VCG içinde, Irk 0 ve Irk 1 izolatlarının ise farklı gruplar içerisinde yer aldığı belirtilmiştir.

Sonuç olarak; çalışmamızda tek sporları elde edilen 73 FON izolatından farklı fenotiplerde *nit* mutantlara sahip 56'sının yapılan eşleştirme testleri sonucu vejetatif uyum grubu (VCG) çeşitliliği belirlenmiştir. Bu

VEGETATIVE COMPATIBILITY GROUPS OF *FUSARIUM*
OXYSPORUM F.SP. *NIVEUM* IN AYDIN PROVINCE

izolatlardan 28'inin VCG 0080 ile, 13'ünün VCG 0082 ile uyumlu olduğu bulunmuştur. Kalan FON 15 izolatın ise bir başka VC grubuna dahil olduğu saptanmıştır. Vejetatif uyum grupları içerisindeki FON izolatlarının ırk dağılımları ise VCG 0080 grubuna dahil izolatlardan 7'si Irk 0, 6'sı Irk 1, 15'i Irk 2, VCG 0082 grubuna dahil izolatlardan tamamı Irk 1, diğer VCG grubuna dahil izolatlardan 8'i Irk 0, 3'ü Irk1, 4'ü Irk 2 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3. *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* izolatlarının elde edildiği ilçeler, bu izolatların ırkları ve vejetatif uyum gruplarına göre dağılımı

İlçeler	VCG0080		VCG0082		VCG Diğer	
	İzolat No	İrk No	İzolat No	İrk No	İzolat No	İrk No
Koçarlı	KO-9	0	KO-8	1	KO-1	0
	KO-10	0	KO-20	1	KO-6	0
	KO-25	0	KO-28	1	KO-36	0
	KO-19	1			KO-5	1
	KO-34	1			KO-32	1
	KO-2	2				
	KO-4	2				
	KO-27	2				
Çine	CN-30	1	CN-1	1	CN-28	0
	CN-2	2	CN-4	1	CN-11	2
	CN-5	2	CN-24	1	CN-20	2
	CN-6	2	CN-32	1	CN-25	2
	CN-13	2				
Söke	SO-2	0	SO-8	1	SO-10	0
	SO-3	0			SO-12	2
	SO-26	1				
	SO-6	2				
	SO-9	2				
	SO-11	2				
	SO-29	2				
Bozdoğan	BD-16	1	BD-7	1		
	BD-17	1	BD-11	1		
	BD-12	2				
Merkez	ME-6	0	ME-3	1	ME-4	1
	ME-1	2				
Yenipazar	YP-12	0			YP-4	0
Sultanhisar			SH-12	1	SH-3	0
İncirliova			IO-1	1		
Nazilli					NA-1	0

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Doktora çalışmasının bir bölümü olup ZRF-12011 proje kodu ile Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından maddi olarak desteklenmiştir. Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Akdoğan, M. 1969. Research on the chemical control method against wilt disease (*Fusarium* spp.) occurring in melons and watermelons. *Plant Protection Bulletin* (9):123-128.
- Correll, J. C., Klittich, C. J. R. and Leslie, J. F. 1987. Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* (77):1604-1646.
- Correll, J. C. 1991. The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* (81):1061-1064.
- Egel, D. S. and Martyn, R. D. 2007. Fusarium wilt of watermelon and other cucurbits. *The Plant Health Instructor* DOI: 10.1094/PHI-I-2007-0122-01.
- Geçioğlu Erincik, B. and Döken, M.T. 2017. Races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* in the Aydın Province. *The Journal of Turkish Phytopathology* (46): 33-41.
- Filiz, N. ve Turhan, G. 1991. Karpuzlarda *Fusarium* solgunluğu etmenlerinin ırklarının saptanması ve karpuz çeşitlerinin reaksiyonları üzerinde araştırmalar. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 7-11 Ekim İzmir 1991, 115-119.
- Kurt, Ş., Derviş, S., Soylu, E.M., Tok, F.M., Baran, B., Soylu, S. ve Yetişir, H. 2005. Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde Karpuz Solgunluk Hastalığı Etmenlerinin Yaygınlıkları ve Patojenisitetleri. *Gap 4. Tarım Kongresi Bildirileri*, 21-23 Eylül Şanlıurfa 2005, 1385-1390.
- Kurt, S., Derviş, S., Soylu, E. M., Tok, F. M., Yetişir, H. ve Soylu, S. 2007. Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinden Elde Edilen Karpuz Solgunluk Patojeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* İzolatlarının Vejetatif Uyum Grubu (VCG) Yöntemiyle Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi. *Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri*, 27-29 Ağustos Isparta 2007, s286.
- Larkin, R. P., Hopkins, D. L. and Martin, F. N. 1990. Vegetative compatibility within *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and its relationship to virulence, aggressiveness, and race. *Canadian Journal of Microbiology* (36):352-358.
- Leslie, J. F. 1993. Fungal vegetative compatibility. *Annual Review Phytopathology* (31):127-50.
- Martyn, R. D. 2012. Fusarium wilt of watermelon: A historical review Cucurbitaceae 2012, Proceedings of the Xth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae (eds. Sari, Solmaz and Aras) Antalya (Turkey) 2012, 136-156.
- Puhalla, J. E. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative incompatibility. *Canadian Journal of Botany* (63):179-183.
- Zhou, X. G. and Everts, K. L. 2007. Characterization of a regional population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* by race, cross pathogenicity, and vegetative compatibility. *Phytopathology* (97):461-469.
- Zhou, X. G., Everts, K. L. and Bruton, B. D. 2010. Race 3, a new and highly virulent race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* causing Fusarium wilt in watermelon. *Plant Disease* (94):92-98.

