



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ALTERNARIA İLE İNFEKTELİ PATATES BİTKİLERİNİN NaCl STRESİ
ALTINDAKİ BİYOKİMYASAL TEPKİLERİ**

SEVDE GÜLDÜR

BİTKİ KORUMA

**Şanlıurfa
2025**



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ALTERNARIA İLE İNFEKTELİ PATATES BİTKİLERİNİN NaCl STRESİ
ALTINDAKİ BİYOKİMYASAL TEPKİLERİ**

SEVDE GÜLDÜR

**BİTKİ KORUMA
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Murat DİKİLİTAŞ**

**Şanlıurfa
2025**

TEŐEKKÖR

Bu tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teőekkÖr ederim. Tezimin tÖm aőamasında katkı ve yÖn veren danıőmanım sayın Prof. Dr. Murat DİKİLİTAş'a, labaratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemiyen Diyarbakır Ziraat MÖcadele EnstitÖsÖ alıőanları Dr. Behzat BARAN ve Ziraat YÖksek MÖhendisi Osman İFİYE őÖkranlarımı sunarım. Ayrıca çalışmanın laboratuvar analizlerinin yapılmasında yardımcı olan tÖm Bitki Koruma Hocalarıma, istatistiksel analizlerde yardımlarını esirgemiyen Dr. Öğretim Üyesi Shahid FAROOQ'a teőekkÖr ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
SİMGELER	v
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. GEREÇ VE YÖNTEM	9
3.1. Gereç	9
3.1.1. Araştırmanın yürütüldüğü yer ve bitkisel materyaller	9
3.1.2. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması ve izolasyonu için kullanılan materyaller	9
3.1.3. Patojenisite testleri için kullanılan materyaller	9
3.1.4. Moleküler DNA analizinde kullanılan materyaller	9
3.1.5. Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar	9
3.1.6. Çalışmada kullanılan diğer aletler ve cihazlar	10
3.2. Yöntem	10
3.2.1. Laboratuvar çalışmaları	10
3.2.1.1. <i>Alternaria</i> sp.'nin izolasyonu ve morfolojik karakterizasyonu	10
3.2.1.2. Patojenisite testi ve re-izolasyon	11
3.2.2. <i>Alternaria</i> sp.'nin moleküler karakterizasyonu	11
3.2.2.1. DNA izolasyonu	11
3.2.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)	12
3.2.2.3. Agaroz jel elektroforezi	13
3.2.2.4. Örnek dizilemesi, sekans analizi ve filogenetik analiz	14
3.2.3. NaCl uygulamaları	14
3.2.4. Bitki Biyokimyasal Analizler	14
3.2.4.1. Klorofil analizi	15
3.2.4.2. Peroksidaz analizi (POX)	15
3.2.4.3. Katalaz analizi (CAT)	15
3.2.4.4. Protein analizi	16
3.2.4.5. Jasmonik asit analizi	16
3.2.4.6. Salisilik asit analizi	16
3.2.5. İstatistik analizi	17
4. BULGULAR	18
4.1. Hastalıkla İnokule Edilen Patates Bitkisinde Morfolojik Değişimler	18
4.2. Hastalığın Çoğaltılması	18
4.3. Örnek dizilemesi, sekans analizi ve filogenetik analiz	19
4.4. Patates Bitkisinde Biyokimyasal Değişimler	21
4.4.1. <i>Alternaria altarnata</i> Etmeninin Toplam Klorofil Miktarına Etkisi	22
4.4.2. <i>Alternaria altarnata</i> Etmeninin Protein İçeriğine Etkisi	22
4.4.3. <i>Alternaria altarnata</i> Etmeninin Peroksidaz Enzim Aktivitesine Etkisi	23
4.4.4. <i>Alternaria altarnata</i> Etmeninin Katalaz Enzim Aktivitesine Etkisi	24
4.4.5. <i>Alternaria altarnata</i> Etmeninin Salisilik Asid (SA) Enzim Aktivitesine Etkisi	25
4.4.6. <i>Alternaria altarnata</i> Etmeninin Jasmonik Asid (JA) Enzim Aktivitesine Etkisi	26
4.4.7. Farklı Biyokimyasal ve Fizyolojik Parametreler Arasındaki Korelasyon	27
5. TARTIŞMA	28
6. SONUÇLAR	30
7. ÖNERİLER	32
KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	40

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALTERNARIA İLE İNFEKTELİ PATATES BİTKİLERİNİN NaCl STRESİ ALTINDAKİ BİYOKİMYASAL TEPKİLERİ

SEVDE GÜLDÜR

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA

Tez Danışman: Prof. Dr. Murat DİKİLİTAŞ
Yıl: 2025, Sayfa : 40

Patates birçok abiotik ve biyotik stres faktörlerine maruz kalmaktadır. Aşırı sıcaklık ve fazla sulama ile toprakta tuz birikimi artmakta, bu nedenle biyotik stres faktörlerinin yıkıcı etkisi daha şiddetli olarak ortaya çıkmaktadır. Bu araştırmada, patates tarlasından izole edilen *Alternaria altarnata* etmeni yapay olarak bulaştırılan patates bitkilerinin tepkisi suni olarak oluşturulmuş NaCl stresi altında incelenmiştir. Çalışma *Alternaria* etmeni ile bulaştırılan bitkilerde tesadüf parselleri deneme desenine göre dört grupta altı tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüştür. Bu gruplar; a) kontrol, b) *Alternaria* ile infekteli bitkiler, c) 100 mmol L⁻¹ NaCl uygulaması yapılan sağlıklı bitkiler, d) 100 mmol L⁻¹ NaCl uygulanan *Alternaria* ile infekteli bitkilerden oluşmuştur. Her grupta yer alan bitkiler beş hafta boyunca 2-3 gün ara ile su ve tuz çözeltisi içeren suyla ihtiyaca göre sulanmıştır. Uygulamalar sonucunda yapraklardan alınan örneklerden klorofil, katalaz (CAT), jasmonik asit (JA), salisilik asit (SA), protein ve peroksidaz (POX) analizleri yapılmıştır. 100 mmol L⁻¹ NaCl uygulanan bitkilere kıyasla *Alternaria* ile enfekteli patates yapraklarında JA, SA, CAT ve POX enzim içerikleri azalış gösterirken protein ve klorofil içerikleri yüksek bulunmuştur (P<0.05). Bu çalışma, tuz stresi ve *Alternaria* enfeksiyonunun patates bitkisinde klorofil içeriği ile antioksidan enzim düzeylerinde meydana getirdiği değişimleri birlikte ele alan ilk araştırmalardan biridir. Elde edilen bulgular, tuz uygulamasının bitkideki patojenik baskıyı artırdığını ortaya koymaktadır. Tuz stresi koşullarında *Alternaria* etmenine karşı bitkinin gösterdiği biyokimyasal yanıtların anlaşılması, patatesin hastalıklara karşı dayanıklılık mekanizmalarının aydınlatılmasına ve etkili mücadele stratejilerinin geliştirilmesine önemli katkılar sağlayacaktır.

ANAHTAR KELİMELELER: Salisilik asit, Patates, Alternaria, Tuz, Jasmonik asit

ABSTRACT

MASTER THESIS

BIOCHEMICAL REACTIONS OF POTATO PLANTS INFECTED WITH *ALTERNARIA* UNDER NaCl STRESS

SEVDE GÜLDÜR

HARRAN UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRADUATE EDUCATION
PLANT PROTECTION

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Murat DİKİLİTAŞ

Year: 2025, Page : 40

Potato is exposed to many abiotic and biotic stress factors. With excessive temperature and excessive irrigation, salt accumulation in the soil increases, therefore the destructive effects of biotic stress factors become more severe. In this study, the response of potato plants artificially infected with *Alternaria altarnata* agent isolated from potato fields was investigated under artificially induced NaCl stress. The study was carried out in four groups with six replications according to the randomized plot design in plants infected with *Alternaria* agent. These groups consisted of; a) control, b) *Alternaria* infected plants, c) healthy plants to which 100 mmol L⁻¹ NaCl was applied, d) *Alternaria* infected plants to which 100 mmol L⁻¹ NaCl was applied. The plants in each group were watered with water and salt solution at 2-3 day intervals for five weeks according to the need. As a result of the applications, chlorophyll, catalase (CAT), jasmonic acid (JA), salicylic acid (SA), protein and peroxidase (POX) analyses were performed from the samples taken from the leaves. While JA, SA, CAT and POX enzyme contents decreased in potato leaves infected with *Alternaria* compared to plants treated with 100 mmol L⁻¹ NaCl, protein and chlorophyll contents were found to be higher ($P<0.05$). This study is one of the first to examine the changes in chlorophyll content and antioxidant enzyme levels in potato plants caused by salt stress and *Alternaria* infection. The findings obtained reveal that salt application increases pathogenic pressure in the plant. Understanding the biochemical responses of the plant to *Alternaria* under salt stress conditions will contribute significantly to the elucidation of the resistance mechanisms of potato to diseases and the development of effective control strategies.

KEYWORDS: Salicylic acid, Potato, *Alternaria*, Salt, Jasmonic acid

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. <i>Alternaria alternata</i> ile enfekteli patates yapraklarında nekrotik ve halkalı leke	18
Şekil 4.2. <i>Alternaria alternata</i> kolonisi (a), mikroskop altında <i>Alternaria</i> konidisi (b)	19
Şekil 4.3. Toplam DNA'dan ITS, LSU ve TEF-1 gen bölgesi için gerçekleştirilen PCR analiz sonuçları. W: su kontrol, M: DNA ladder DNA ladder (MBI Fermentas, Almanya). a)ITS jel görüntüsü b) LSU jel görüntüsü c) tef-1α jel görüntüsü	19
Şekil 4.4. ITS gen bölgesi için Tamura-Nei modeline dayalı Maksimum Olasılık yöntemi kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç. Ağaç nükleotid dizilerine dayanmaktadır ve dal desteği 1000 önyükleme tekrarı kullanılarak değerlendirilmiştir. Evrimsel analizler MEGA11 programı kullanılarak yürütülmüştür.	21
Şekil 4.5. tef-1α gen bölgesi için Tamura-Nei modeline dayalı Maksimum Olasılık yöntemi kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç. Ağaç nükleotid dizilerine dayanmaktadır ve dal desteği 1000 önyükleme tekrarı kullanılarak değerlendirilmiştir. Evrimsel analizler MEGA11 programı kullanılarak yürütülmüştür.	21
Şekil 4.6. <i>Alternaria alternata</i> ile enfekteli ve tuz uygulanmış patates bitkilerinin 50. gündeki durumu (Soldan sağa doğru;1: kontrol, 2: <i>Alternaria</i> enfekteli, 3:Tuz uygulanmış, 4: <i>Alternaria</i> enfekteli tuz uygulanmış)	21
Şekil 4.7. <i>A. alternata</i> ile infekteli, Tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam klorofil içeriği (A = <i>Alternaria</i>)	22
Şekil 4.8. <i>Alternaria alternata</i> ile infekteli, tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam protein içeriği (A = <i>Alternaria</i>)	23
Şekil 4.9. <i>Alternaria alternata</i> ile infekteli, tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam peroksidaz içeriği (A = <i>Alternaria</i>)	24
Şekil 4.10. <i>Alternaria alternata</i> ile infekteli, tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam katalaz içeriği (A = <i>Alternaria</i>)	25
Şekil 4.11. <i>Alternaria alternata</i> ile infekteli, tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam salisilik asid (SA) içeriği (A = <i>Alternaria</i>)	26
Şekil 4.12. <i>Alternaria alternata</i> ile infekteli, tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam jasmonik asid (JA) içeriği (A = <i>Alternaria</i>)	27
Şekil 4.13. Farklı biyokimyasal ve fizyolojik parametreler arasındaki korelasyon	27

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. PCR çalışmalarında kullanılan primerlerin sekansları, gen bölgeleri, primer bağlanma sıcaklıkları, amplikon boyutları (bp) ve referanslar	12
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan primerlerin PCR koşulları	13

SİMGELER

Mililitre	mL
CAT	Katalaz
g	Gram
JA	Jasmonik asit
POX	Peroksidaz
SA	Salisilik asit
°C	Santigrat derece
µl	Mikro litre
µM	Mikro molar

1. GİRİŞ

Patates bitkisinin (*Solanum tuberosum* L.) anavatanı Güney Amerika olarak bilinmektedir. Patates; farklı iklim bölgelerine hızlı bir şekilde uyum sağlayabilmesi, diğer ürünlere bakılarak daha az maliyetli olması, birim alandan alınan ürünün daha çok olması, dünyanın hemen her bölgesinde başarıyla yetiştirilebilmesi, yüksek besin değerleri içermesi gibi avantajlara sahip bir üründür (Arıoğlu vd., 2006; Kolsarıcı, 2011). Patates; yumruları direkt olarak veya fabrika artıkları şeklinde hayvan beslenmesinde, taze veya işlenmiş olarak insan beslenmesinde, bitkisel üretiminin devamlılığını sağlamak için tohumluk olarak ve çeşitli şekillerde gıda sanayinde işlenerek kullanılan önemli bir endüstri bitkisidir. Dünya nüfusunun artması ve buna bağlı olarak temel gıda ürünü olan patatesin kullanım alanlarının yaygınlaşması patatese olan talebi ve tüketimini hızlı bir şekilde arttırmaktadır. Bu nedenle dünyada en çok üretimi yapılan bitkisel ürünler sıralamasında şeker kamışı, mısır, pirinç ve buğdaydan sonra patates beşinci sırada gelmektedir. 2023 yılı FAO verilerine göre 16.8 milyon hektar alanda 383 milyon ton patates üretimi gerçekleşmiş olup toplam bitkisel üretim içerisindeki payı %3.8'dir (FAO, 2025).

Dünya patates üretimi 1990-1992 dönemi ortalaması 267 milyon ton iken, 1.43 kat artış göstererek 2023 yılında 383 milyon tona yükselmiştir. FAO 2023 yılı üretim verilerine göre dünya patates üretimindeki lider ülkeler sırasıyla, Çin (%24.4), Hindistan (%15.7), Ukrayna (%5.5), Amerika Birleşik Devletleri (%5.2) ve Rusya (% 5.1) dir. Dünya patates üretiminin %55.49'u bu 5 ülkede yapılmaktadır. Türkiye'nin dünya üretimindeki payı %1.24'tür ve patates üreten ülkeler arasında 19. sırada yer almaktadır (Singha ve Maezawa, 2019).

Türkiye'de 2023 yılı verilerine göre patates ekim alanı bakımından Niğde %12.07 pay ile birinci sırada, Afyonkarahisar %10.08 ikinci sırada, Konya % 8.7 pay ile pay ile üçüncü sırada yer almaktadır. Patates üretim miktarı bakımından Niğde 757480 ton ile birinci sırada, Afyonkarahisar 581850 ton ile ikinci sırada ve Konya 462545 ton ile üçüncü sırada yer almaktadır. Patates veriminin Türkiye ortalaması 3.777 kg/da'dır. İzmir ilinde patates denilince Ödemiş ilçesi akla gelmektedir. Ödemiş ilçesi üretim bakımından diğer üretim bölgelerine göre avantajlı konumdadır. Çünkü bu ilçede aynı üretim sezonunda aynı arazide iki defa patates üretimi yapılabilir (TUİK, 2025)

Alternaria türleri, geniş bir yayılım gösteren ve yıkıcı etkilere sahip olabilen önemli bitki patojenleri arasında yer almaktadır. *Alternaria solani* Sorauer ve

Alternaria alternata (Fr.) Keissler, ekonomik açıdan büyük öneme sahip bazı bitki hastalıklarının etmenleri olarak öne çıkmaktadır. *Alternaria solani*, *A. alternata*, *A. arborescens* Simmons ve *A. tenuissima* (Kunze) Wiltshire, askomiset sınıfına ait mantar patojenleri olup, bu türlerin hiçbirinde şimdiye kadar teleomorf evreye rastlanmamıştır (van der Waals vd., 2004). Bununla birlikte, paraseksüel aktivitenin varlığına bağlı olarak bu türlerde yüksek düzeyde genetik çeşitliliğin meydana geldiği öne sürülmektedir (van der Waals vd., 2004). Ayrıca, mutasyonların da bu genetik çeşitliliğe önemli ölçüde katkı sağladığı düşünülmektedir. *A. solani* ve küçük sporlu *Alternaria* türleri, hızlı çoğalma yetenekleri sayesinde kısa sürede yüksek miktarda spor üretimi gerçekleştirebilmektedir. (Petrunak ve Christ, 1992).

Alternaria alternata'nın 380'den fazla konukçu bitkide tanımlandığı bildirilmiştir (Farr ve Rossman, 2015). *A. alternata*'nın neden olduğu hastalıklar, enfekte ettiği konukçu bitkiye bağlı olarak farklı adlarla anılmaktadır. Patates, domates ve turuncgillerde meydana gelen enfeksiyonlar genellikle "kahverengi leke" olarak tanımlanırken, nar bitkisinde görülen enfeksiyon "siyah nokta" olarak adlandırılmaktadır. Muz, sorgum ve ceviz bitkilerinde ise bu patojenin neden olduğu hastalıklar "yaprak lekesi" ya da "yaprak yanıklığı" olarak bilinmektedir. *A. alternata*, domateste %20'ye kadar verim kaybına yol açabilmekte; patates üretim alanlarında ise bu oran %70-80'e kadar çıkabilmektedir (Fairchild, 2013; Soleimani ve Kirk, 2012; Van der Waals, 2001). Ayrıca, patates yumrularında "siyah çukur" olarak adlandırılan hastalık etmeninin *A. alternata* olduğu ve depolarda bu patojenin yaklaşık %10 oranında bulaşık olduğu rapor edilmiştir (Boyd, 1972).

Dünya genelinde ve Türkiye'de küresel ısınma, hızla artan nüfus, su kaynaklarındaki azalma ve hatalı tarım uygulamaları gibi etkenler nedeniyle kurak ve yarı kurak bölgelerde toprakların tuz içeriği önemli ölçüde artmakta ve bu durum bitki gelişimi açısından ciddi bir sorun teşkil etmektedir (Gorji vd., 2017).

Topraklarda tuz birikiminin zararlı seviyelere ulaşmasında, çözünebilir tuzların yer altı su seviyesinin yükselmesiyle birlikte buharlaşma yoluyla toprak yüzeyine taşınması etkili olmakta; bu süreç, toprakların tuzlulaşmasına neden olmaktadır (Okur ve Orçen, 2020).

Tuzluluk, bitkilerde kök ve gövde gelişiminin zayıflamasına, yaprak alanının küçülmesine, doku ve organlarda morfolojik farklılaşmalara ve bunun sonucunda meyve verimi ile kalite düzeyinde azalmaya neden olmaktadır (Arif vd., 2020).

Yüksek tuz stresi altında bulunan bitkiler, ozmotik basıncın artmasıyla birlikte su alımında güçlük yaşar ve bu durum bitki beslenmesini olumsuz etkiler. Na^+ ve Cl^- iyonlarının bitki dokularında birikmesi, besin elementlerinin hücrelere taşınmasını engelleyerek bitki metabolizmasının bozulmasına neden olur. Bu süreçte hücre içi sıvının mineral bileşimi ile birlikte özellikle Ca^{2+} dengesinde bozulmalar meydana gelir (Tanveer vd., 2020). Söz konusu stres koşulları genellikle stomaların kapanmasına ve fotosentez oranının azalmasına yol açar. Tuz stresinin devam etmesi halinde ise bitki büyümesi ve gelişimi tamamen durma noktasına gelebilir (Byrt vd., 2018).

Toprakta bulunan yüksek tuz konsantrasyonu, tohum çimlenmesi, enzim aktivasyonu, fide gelişimi ve protein sentezi gibi temel metabolik süreçleri olumsuz yönde etkileyerek bitki gelişimini ve büyümesini önemli ölçüde kısıtlamaktadır (Masonda vd., 2018).

Tuz stresi, enzim sentezini baskılayarak protein üretimini azaltmakta; bu durum bitkinin genel metabolik faaliyetlerine doğrudan yansımaktadır (Shah vd., 2021).

Yapraklarda meydana gelen klorofil miktarındaki değişim, tuz stresinin şiddeti ve süresine bağlı olarak farklılık göstermekte olup, aynı zamanda bitki türüne göre de değişmektedir. Ancak genel olarak stres koşulları altında klorofil içeriğinde azalma eğilimi gözlemlenmektedir (Najar vd., 2019).

Tuz stresi altındaki bitki hücrelerinde en yaygın olarak ölçülen metabolitlerden biri prolindir. Prolin, hücre içinde hidroksil radikallerinin düzenlenmesinde ve sitozolik pH'nın dengelenmesinde ozmolit olarak görev yapan önemli bir organik bileşiktir (Shafi vd., 2019).

Ayrıca, tuzluluk genellikle bitki yapraklarında erken yaşlanmayı tetiklemektedir (Yeo vd., 1991). Yaprak yaşlanması ise çoğunlukla klorofil ya da protein eksikliği ile hücre zarının geçirgenliğinde artışa bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Asad vd., 2019).

Tuz stresi sonucunda bitki yapraklarında meydana gelen erken yaşlanma, malondialdehit (MDA) birikimi ile yakından ilişkilidir. Bitki dokularında iyon birikiminin artması, MDA düzeylerinde de belirgin bir artışa neden olmaktadır. Çeltik bitkisi üzerinde yapılan bir çalışmada, tuza dayanıklı çeşitlerde MDA düzeyleri düşük bulunurken, tuza duyarlı çeşitlerde bu değerlerin oldukça yüksek

olduğu belirlenmiştir (Lutts vd., 1996). MDA molekülleri, membranlardaki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşmakta ve stres koşulları altında birikimleri artmaktadır. Bu nedenle, MDA düzeylerinin belirlenmesi, bitkilerin tuz stresine karşı tolerans düzeyinin değerlendirilmesinde önemli bir biyokimyasal gösterge olarak kabul edilmektedir (Dolatabadian vd., 2008).

Börülce bitkisine eşzamanlı olarak uygulanan abiyotik (tuz stresi) ve biyotik (Cowpea severe mosaic virus – CPSMV) stres faktörleri, bitki türü, patojen tipi ve stres yoğunluğuna bağlı olarak patojenlere karşı artan ya da azalan duyarlılıkla sonuçlanabilmekte; bu stresler sinerjistik (katkı sağlayıcı) ya da antagonistik etkileşim gösterebilmektedir. Ancak Varela vd. (2019) tarafından yürütülen çalışmada, tuz stresinin CPSMV enfeksiyonuna karşı duyarlılığı artırdığı belirlenmiştir.

Akkurak vd. (2022), '*Candidatus Phytoplasma asteris*' ile enfekte edilmiş marul (*Lactuca sativa*) bitkilerinde fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerde meydana gelen değişimleri incelemiştir. Araştırma sonucunda enfekte bitkilerde protein ve toplam klorofil miktarının azaldığı; buna karşılık MDA birikimi ile birlikte prolin, peroksidaz (POX) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerinde sağlıklı kontrol bitkilerine kıyasla artış eğilimi gözlemlendiği rapor edilmiştir.

Benzer şekilde, Ayvaci vd. (2022), '*Candidatus Phytoplasma aurantifolia*' etmeni ile enfekte edilmiş yonca (*Medicago sativa*) bitkisinde meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri araştırmışlardır. Çalışma bulgularına göre, enfekte bitkilerde protein ve toplam klorofil miktarının azaldığı; MDA birikiminin yanı sıra prolin, CAT, POX, fenol, salisilik asit ve jasmonik asit içeriklerinin enfekte bireylerde önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Şanlıurfa ilinde 2023 patates yetiştirilme sezonunda yaptığımız arazi gözlemlerinde patates yetiştirilen tüm alanlarda *Alternaria* sp. hastalık etmeni görülmüştür. Bu duruma iklim şartları, çeşit duyarlılığı ve fazla gübrelemden kaynaklanan tuzlanmanın neden olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle araştırma hastalığı tanılamak ve hastalıkla enfektelenmiş Agria patates çeşidinde 100 mM tuz seviyesinin biyokimyasal parametrelerde oluşturduğu değişikliği belirlemek için yapılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Patates (*Solanum tuberosum* L.), dünya genelinde temel gıda maddelerinden biri olup, karbonhidratlar, proteinler, diyet lifi, askorbik asit, riboflavin ve mineraller açısından zengin bir besin kaynağıdır (Chourasia vd., 2021). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından gıda güvenliğini sağlamada gelecek vadeden bir ürün olarak kabul edilen patates, abiyotik ve biyotik stres faktörlerinden önemli ölçüde etkilenmektedir. Bu stres faktörleri arasında tuzluluk ve fungal patojenler, patates üretimini ve verimliliğini sınırlayan başlıca etmenlerdir.

Tuz stresi, küresel ölçekte tarımsal üretimi tehdit eden en önemli abiyotik stres faktörlerinden biri olarak değerlendirilmektedir. Dünya genelinde yaklaşık 1128 milyon hektarlık alanın tuzluluk ve sodiklik nedeniyle olumsuz etkilendiği bildirilmektedir (Chourasia vd., 2021). Tuz stresi, bitkilerde ozmotik strese bağlı iyon toksisitesine yol açmakta; bu durum büyümenin inhibisyonu, besin dengesizlikleri, reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonunda bozulma, hücre zarlarında hasar ve fotosentetik aktivitelerde azalma gibi çeşitli fizyolojik değişikliklerle sonuçlanmaktadır.

Alternaria alternata, patates bitkisinde kahverengi yaprak lekesi hastalığına neden olan nekrotrofik bir fungal patojendir. Bu patojen, konak-seçici toksinler sentezleyerek bitki dokularında hızlı lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit (H_2O_2) birikimi ve programlı hücre ölümüne neden olmaktadır (Chung, 2012). *A. alternata*'nın patojenitesi büyük ölçüde bu toksinlerin üretimine bağlı olup, toksinlerin yokluğunda konakçıya saldırma kapasitesi anlamlı düzeyde azalmaktadır.

Tuz stresi ile *A. alternata* enfeksiyonu arasındaki etkileşimler, patates bitkisinin savunma mekanizmalarını ve genel fizyolojik süreçlerini çok yönlü ve karmaşık biçimde etkilemektedir. Bu çalışmada, söz konusu iki stres faktörü arasındaki pozitif ve negatif ilişkiler güncel bilimsel çalışmalar doğrultusunda ele alınmıştır.

Alternaria alternata, tuz stresinin neden olduğu oksidatif strese karşı çeşitli savunma sistemleri geliştirmiştir. Bu savunma mekanizmaları arasında, redoks-duyarlı transkripsiyon faktörleri olan YAP1 ve SKN7'nin aktivasyonu önemli bir rol oynamaktadır (Chung, 2012). YAP1, oksidatif stres koşullarında sitoplazmadan çekirdeğe transloke olarak, katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu düzenlemektedir. SKN7 ise, hücre duvarı

biyosentezi ve oksidatif stres yanıtında görev alan genlerin ekspresyonunu kontrol etmektedir.

Chung (2012) tarafından yürütülen çalışmada, *A. alternata*'daki YAP1 homologunun oksidatif stres toleransı açısından kritik bir öneme sahip olduğu gösterilmiştir. YAP1 geninin inaktivasyonu, fungusun hidrojen peroksit, menadion ve diğer oksidatif stres etmenlerine karşı duyarlılığını artırmakta; dolayısıyla patojenitesini önemli ölçüde azaltmaktadır. Bu bulgular, *A. alternata*'nın tuz stresi koşullarında yaşamını sürdürebilmesi ve patojenitesini devam ettirebilmesi için YAP1 aracılı oksidatif stres toleransının gerekli olduğunu göstermektedir.

A. alternata, tuz stresi koşullarında siderofora bağlı demir alımı yoluyla da ROS detoksifikasyonunda etkin rol oynamaktadır. Sideroforlar, mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, düşük moleküler ağırlıklı ve demir bağlama kapasitesine sahip bileşiklerdir. Demir, başta katalaz ve süperoksit dismutaz (SOD) olmak üzere birçok antioksidan enzimin aktivitesi için gereklidir. Bu nedenle siderofor aracılı demir alımı, oksidatif stresle mücadelede kritik bir öneme sahiptir (Chung, 2012).

A. alternata'da NADPH oksidaz (NOX) kompleksi aracılığıyla düşük düzeyde hidrojen peroksit (H_2O_2) üretimi, ROS direncinin modülasyonunda ve konidiyasyon sürecinin tetiklenmesinde rol oynamaktadır. NOX kompleksi tarafından üretilen H_2O_2 , YAP1 ve SKN7 gibi redoks-duyarlı düzenleyicileri ve mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) yollarından HOG1 üzerinden işleyen sinyal iletim sistemlerini aktive ederek, siderofor biyosentezinde görev alan genlerin ekspresyonunu düzenlemektedir (Yang ve Chung, 2012). Bu mekanizma, *A. alternata*'nın tuz stresine karşı hayatta kalma ve patojenitesini sürdürme kapasitesini artıran önemli bir adaptasyon stratejisi olarak değerlendirilmektedir.

Bununla birlikte, yüksek tuz konsantrasyonlarının *A. alternata*'nın gelişimi ve virülansı üzerinde olumsuz etkileri olabilmektedir. Uranbeyi vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, yüksek NaCl konsantrasyonlarının bazı fungal patojenlerin gelişimini engelleyebildiği gösterilmiştir. Tuz stresi, fungal hücre zarında osmotik dengesizlik yaratarak hücre içi iyon dengesini bozmakta, bu da metabolik aktivitelerin aksamasına yol açmaktadır. Ayrıca, bu koşullarda *A. alternata* tarafından üretilen konak-seçici toksinlerin miktarı da azalabilmektedir. Toksin üretimi, patojenin konakçıya saldırı kapasitesi açısından hayati öneme sahip olduğundan, tuz stresinin toksin sentezini sınırlaması virülans üzerinde ciddi bir düşüşe neden olabilir.

Tuz stresinin etkileri yalnızca hücresel düzeyle sınırlı kalmamakta; aynı zamanda fungal yapının genel bütünlüğünü de etkilemektedir. Yüksek tuz konsantrasyonları, fungal hücrelerde su kaybına ve plazmolize neden olarak hücre bölünmesini ve büyümesini engellemektedir. Osmotik stres, ayrıca hücre duvarı bütünlüğünü bozarak *A. alternata*'nın konakçı bitkiye penetrasyon yeteneğini azaltmaktadır. Bu durum, hem bitki hem de fungal patojenin osmotik dengeyi kaybetmesi sonucu, enfeksiyon sürecinin başarısını olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Tuz stresi, patates bitkisinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırarak *A. alternata*'ya karşı savunma mekanizmalarının güçlenmesine katkı sağlayabilmektedir. Chourasia vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada, tuz stresinin patates bitkisinde antioksidan enzim aktiviteleri katalaz, süperoksit dismutaz ve peroksidaz gibi artırdığı gösterilmiştir. Bu enzimlerin aktivasyonu, bitki hücrelerinde ROS seviyelerinin düzenlenmesine olanak tanıyarak oksidatif hasarın azaltılmasını sağlamış ve fungal patojenlere karşı direnci artırmıştır. Ayrıca, tuz stresi altında patates bitkisinde patogenezle ilişkili proteinler (PR proteinleri), fitoaleksinler ve hücre duvarını güçlendiren enzimler gibi çeşitli savunma ile ilişkili genlerin ekspresyonunda artış gözlenmektedir. Bu savunma moleküllerinin sentezi, *A. alternata*'nın enfeksiyon kapasitesini sınırlandırabilmektedir. Öte yandan, uzun süreli tuz stresi patates bitkisinin savunma mekanizmalarını zayıflatarak *A. alternata* enfeksiyonuna karşı duyarlılığı artırabilmektedir. Kronik tuz stresi, bitki hücrelerinde enerji tüketimini ve metabolik dengeyi olumsuz etkileyerek savunma mekanizmalarının etkinliğini azaltmaktadır. Ayrıca, tuz stresinin neden olduğu membran hasarı ve iyon sızıntısı, fungal patojenin enfeksiyon sürecini kolaylaştırabilmektedir.

Tuz stresi ile *A. alternata* enfeksiyonu arasındaki etkileşimler, patates bitkisinin fizyolojik ve biyokimyasal yanıtlarını karmaşık ve çok yönlü biçimde etkilemektedir. Uranbeyi vd. (2017) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, tuz stresinin patates bitkisinde mikroyumru oluşumunu etkilediği ve karbon kaynaklarının kullanımında değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir. Bu değişiklikler, bitkinin enerji metabolizması ile savunma mekanizmalarını etkileyerek *A. alternata* enfeksiyonuna karşı duyarlılığını değiştirebilmektedir. Ayrıca, tuz stresi ve fungal enfeksiyon, patates bitkisinde özellikle absisik asit (ABA), jasmonik asit (JA) ve salisilik asit (SA) gibi hormonların seviyelerinde değişimlere neden olmaktadır. Bu hormonlar, bitki savunma mekanizmalarının düzenlenmesinde kritik rol

oynadığından, hormon dengesindeki bu değişiklikler bitkinin *A. alternata*'ya karşı direncini önemli ölçüde etkileyebilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırmanın yürütüldüğü yer ve bitkisel materyaller

Bu çalışma, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Çalışmanın bitkisel materyalini 'Agria' patates çeşidi oluşturmuştur. Denemede kullanılacak hastalık etmenini patates yetiştirilen alanlardan elde edilen ve tanılaması yapılacak *Alternaria* izolatu oluşturmuştur.

3.1.2. Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması ve izolasyonu için kullanılan materyaller

Örneklerin toplanması için, polyetilen torba, icebox, buz kalıpları, kese kağıdı, etiketler, mantar delici (cork borer), disk/diskler, öze, yüzey sterilizasyonu için sodyum hipoklorür (NaCl), etil alchool, petri kutuları, parafilm, fungal patojenin saklanması için gliserol, distile su, saf su ayrıca %0.25 NaCl, -20 °C, steril kurutma kağıtları ve peçeteler kullanılmıştır.

3.1.3. Patojenisite testleri için kullanılan materyaller

Patateste hastalık belirtileri gösteren hastalıklı bitki örneklerinden izole edilen *Alternaria* sp. ve inokulumunu hazırlamak için, Patates Dekstrozu Agarı (PDA) (Difco), Eppendorf tüp, antibiyotik (tetracycline), mikropipetler, kurutma kağıtları, gliserin, patates yumruları, mikrogüvenlik kabini, binoküler mikroskopotoklav, steril petriler, inkübatör, otoklav poşeti, patatesin yetişmesi için büyük boy saksılar, otoklav edilmiş ithal torf, perlit ethanol, hypoklorit kullanılmıştır.

3.1.4. Moleküler DNA analizinde kullanılan materyaller

Alternaria sp.'nin DNA izolasyonunda kullanılan kimyasallara ilaveten PCR analizinde, ITS (ITS1/ITS4), tef-1α (EF1-728F/EF1-986R) ve LSU (NL1/NL4) primerleri kullanılmıştır.

3.1.5. Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar

Çalışmada kullanılan %95'lik etil alkol (Sigma), glacial asetik asit (Sigma), izoamil alkol (Merck), EDTA (Sigma), izopropanol (Sigma), 6X yükleme boyası

(Fermentas), agaroz (Bioshop), etidyum bromid (Merck), 1000 bp'lik DNA markırları (Fermentas) Taq DNA polimeraz (Thermo) ve dNTP (Sigma) oluşturmuştur.

3.1.6. Çalışmada kullanılan diğer aletler ve cihazlar

Deney tüpü, 500 ml'lik şişe (ISOLab, Almanya), Buzdolabı (Profilo, Türkiye), hassas terazi (Dikomsan, NE-TB), beher, bunsen ocağı, makas, pens, bistüri, parafilm (BeMis, Türkiye), öze, Eppendorf tüpü (Eppendorf, Almanya), su banyosu, DNA konsantrasyon cihazı (Nanodrop, Maestronano, whatman filtre kağıdı (Sigma, ABD), -20 °C'lik Derin dondurucu (Arçelik, Türkiye), Termo shaker (Nüve), mikrodalga fırın (Arçelik, Türkiye), havan ve dibek, santrifüj (Hettich, Almanya), ABD), whatman kâğıdı no 3 (Sigma, ABD), vorteks (Ike, Genius 3, Almanya), 1000 µL, 100 µL, 10 µL ve 1 µL'lik pipetler ve mikropipet uçları (Eppendorf, Germany), PCR cihazı (ProFlex, USA), elektroforez (Cleaver, İngiltere), jel görüntüleme aygıtı (WilberLourmat, Fransa), OLYPUS BX5 araştırma mikroskobu (İngiltere) çalışmada kullanılan diğer alet ve ekipmanları oluşturmuştur.

3.2. Yöntem

3.2.1. Laboratuvar çalışmaları

3.2.1.1. *Alternaria* sp.'nin izolasyonu ve morfolojik karakterizasyonu

Patatesten hastalık belirtisi gösteren yapraklardan örnekler alınarak izolasyonlar yapılmıştır. Bu amaçla öncelikle izolasyon yapmada kullanılan besi ortamı hazırlanmıştır. Bunun için 39 gr PDA (Patates Dekstrozu Agar) hassas terazide tartılmış ve 1L'lik cam şişe içerisinde üzeri 1L'ye tamamlanacak şekilde distile saf su eklenmiştir. Hazırlanan PDA karışımı ısıtıcı üzerinde homojenize olana kadar karıştırılmış ve 121 °C' de 20 dk. otoklav edilmiştir. Otoklav edilen besi ortamı 45-50 °C ısıya erişince, bakteri gelişimini önlemek için antibiyotik (tetracycline 12mg/L) eklenmiştir. Tekrar homojen bir karışım haline gelinceye kadar PDA ortamı iyice karıştırılmıştır. Ortam steril Petri kaplarına eşit miktarlarda dökülüp katılaşması için yarım saat beklenmiştir. İzolasyon için alınan yaprak örnekleri küçük parçacıklar (2-4mm) halinde kesilmiştir. Daha sonra % 1'lik NaOCl solüsyonu içerisinde 1 dk yüzey sterilizasyonu yapılacaktır. Sterilize edilen bu dokular steril saf sudan 3 kez geçirildikten sonra %70'lik ethanol içerisinde de birkaç kez daldırılıp 3 saf sudan geçirilerek steril kurutma kağıtları üzerinde kurutulmak üzere 25-30 dk bırakılmıştır. Kuruyan dokular, antibiyotik eklenmiş olan Patates Dekstrozu Agar besi ortamı içeren Petri kaplarına alınmıştır (Michaillides vd., 1992). Daha sonra Petri kapları 25 oC

sıcaklıkta 5-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Saf kültür elde edebilmek için kolonilerden tek sporlar, otoklavlanan PDA'lı Petri kaplarına aktarılmıştır. İzolatlar daha sonra +4 °C'de 3-4 ay alt kültürde saklanmıştır. Uzun süreli patojen kültürlerini saklamak için %15'lik gliserol stoğundan 500µl alınıp eppendorf tüplere aktarılmış ve etmeden bir parça hif veya spor alınıp tüplere ilave edilmiştir. Tüpler etiketlenerek -20 °C'de saklanmıştır.

3.2.1.2. Patojenisite testi ve re-izolasyon

Patojenisite testleri için patates yapraklarından elde edilen saf olarak gelişen izolatlardan bir tane seçilerek kullanılmıştır. 10⁶ spor/ml yoğunluğunda spor süspansiyonu hazırlanarak sera koşullarında önceden yetiştirilen patates yapraklarına püskürtme yöntemi ile verilmiştir. Bitkiler 24 °C'de %80 nem içeren iklimlendirme odasında symptom belirtileri gösterinceye kadar bekletilmiştir. Oluşan yaprak lezyonlardan geri izolasyonlar yapılarak etmenin varlığı kontrol edilmiştir.

3.2.2. *Alternaria* sp.'nin moleküler karakterizasyonu

3.2.2.1. DNA izolasyonu

Elde edilen saf fungus kültürlerinden total DNA izolasyonu Ahrens ve Seemüller (1992) ve Türkölmez vd. (2015)'in izolasyon yönteminde bazı küçük modifikasyonlar yapılarak Total Nükleik Asit (TNA) izolasyon protokolüne göre aşağıda belirtildiği şekilde yapılmıştır.

1. Saf olarak geliştirilmiş misellerden 200 mg olacak şekilde 1.5 ml'lik eppendorf tüplere konulmuştur. Eppendorf tüplerin içinde bulunan fungus miselleri üzerine 200 µl DNA ekstraksiyon buffer eklenerek hızlı bir biçimde steril plastik mavi çubuk yardımıyla iyice ezilmiştir. Daha sonra üzerine 800 µl daha DNA ekstraksiyon bufferi ilave edilmiştir.

2. Fungus ekstraktını içeren eppendorf tüpler 500 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir.

3. Santrifüjden çıkartılan tüplerinsüpernatantından 600µl alınarak temiz eppendorflara aktarılmıştır. Daha sonra sıcak su banyosunda 65 °C'de 30 dak. İnkübe edilmiştir. Bu esnada en az 3 defa belirli sürelerle tüpler yukarı aşağı döndürerek karıştırılmıştır.

4. Sıcak su banyosundan çıkartılan fungus DNA solüsyonu içeren her bir tüpe 600µl kloroform izoamil (24:1) alkol karışımı ilave edilmiş ve 1dk vortex ile karıştırılmıştır. Bu süre sonunda 12.000 rpm’de 10 dk santrifüj edilmiştir.

5. Santrifüjden sonra tekrar süpernatant kısmından 500µl alınarak yeni eppendorflara aktarılmıştır. Eppendorf tüplerine 500µl kloroform izoamil alkol eklenmiş ve 1 dk karıştırılmıştır. Daha sonra 12.000 rpm’de 10 dk santrifüj edilmiştir.

6. Santrifüjden çıkan tüplerden tekrardan süpernatant kısmından 300µl alınmıştır. Eppendorf tüplerin üzerine 300µl isopropanol alkol ilave edilmiş ve 1dk vortexlenmiştir. Daha sonra -20 °C’de 1 saat bekletilmiştir.

7. -20 °C’den çıkartılan eppendorflar 12.000rpm’de 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden çıkartılan tüplerin sıvı katmanı tamamen dökülerek atılmıştır.

8. Eppendorflara 1.000µl Etanol eklenmiştir. Ardından 15 rpm’de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden çıkan tüplerin sıvı kısmı dökülmüştür. Eppendorflar daha sonra kurutma kağıdının üstünde ters çevirerek 1 saat kurutulmuştur.

9. Kurutma işleminden sonra 50µl Steril saf su veya TE tamponu tüplere eklenmiştir. Örnekler +4°C’de 1 gece bekletilerek, daha sonra kullanım için -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Alternaria alternata izolatları ITS (ITS1/ITS4), TEF-1α (EF1-728F/EF1-986R) ve LSU (NL1/NL4) ITS (Internal Transcribed spacer) gen bölgesi için ITS1 - ITS4 primerleri (White vd., 1990), LSU (Long Sub Unit) gen bölgesi için NL1-NL4 (O’Donnell 1993) ve TEF-1 (Smoll Sub Unit) gen bölgesi için EF1-728F - EF1-986R (Carbone vd., 1999) primerleri kullanılarak PCR analizleri yapılmıştır (Çizelge 3.1). Adı geçen primerlerden ITS primer çifti yaklaşık 700 bp’lik, ACT primerleri, yaklaşık 280 bp’lik, LSU primerleri ise yaklaşık 600-700 bp’lik DNA fragmentini amplifiye etmektedir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. PCR çalışmalarında kullanılan primerlerin sekansları, gen bölgeleri, primer bağlanma sıcaklıkları, ampikon boyutları (bp) ve referanslar

Gen Adı	Primer Adı	Primer Dizilimi	Boyut	Literatür
ITS	ITS-1	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	700 bp	White vd. (1990)
	ITS-4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'		
<i>tef-1a</i>	EF1-728F	5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3'	350 bp	Carbone vd. (1999)
	EF1-986R	5'-TACTTGAAGGAACCCCTACC-3'		
LSU	NL1	5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'	600-700 bp	O'Donnell 1993
	NL4	5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'		

Çizelge 3.1'de adları geçen primerler kullanılarak PCR koşulları ve programı, Camele vd. (2005)'na göre gerçekleştirilmiştir. DNA amplifikasyonunda; her bir reaksiyon için 10µl 10× enzim buffer 1µl 10mM dNTP (di nükleotid trifosfat), 50mM MgCl₂, 1µl primer, 0,25 µl Taq DNA polimeraz ve 1 µl (ng) DNA ve üzerine 35.75 µl steril saf su ilave edilerek toplam mix hacmi 50µl olacak şekilde hazırlanmış ve PCR uygulama programı Çizelge 3.2'deki gibi ayarlanmıştır.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan primerlerin PCR koşulları

PCR koşulları	Primerler		
	ITS1-ITS4	NL1-NL4	EF1-728F EF1-986R
İlk denatürasyon	95°C-3 dk	95°C-3 dk	95°C-3 dk
Denatürasyon	95°C-1dk 35 döngü	95°C-1dk 35 döngü	95°C-1dk 35 döngü
Primer bağlanması	55°C-1dk	52°C-1dk 52°C-1dk	52°C-1dk 52°C-1dk
Uzama	72°C-1dk	72°C-1dk	72°C-1dk
Son uzama	72°C-10 dk	72°C-10 dk	72°C-10 dk

3.2.2.3. Agaroz jel elektroforezi

Agaroz Jel Elektroforezi çalışması Galitelli ve Minafra, (1994)'ya göre gerçekleştirilmiştir. Agaroz jel elektroforezi için, %1 oranında hazırlanmış olan agaroz jel, 1X TAE (40 mM Tris, 20 mM glasiyel asetik asit, 1mM EDTA) solüsyonu içerisinde ısıtılarak eritilmiştir. Daha sonra soğuması için 30 dakika bekletilmeye bırakılmıştır. Soğuduktan sonra tarak tanka yerleştirilmiş çözelti jel

tankına dökülmüş ve jel polimerizasyonu sonrası taraklar dikkatli bir biçimde çıkarılarak jel 1xTAE tamponu içeren elektroforez tankına alınmıştır. DNA maklırları ve örnekler yüklendikten sonra 80-100 voltta 50-60 dakika süresince elektroforez yapılmıştır. Bu işlemten sonra agaroz jel elektroforez süreci bitirilmiştir. DNA'nın UV ışık altında görülebilmesi için elde edilen jel, oda sıcaklığında 1L H₂O+50µl Etidyumbromür (10mg/ml) karışımında 10 dakika süre beklenerek boyanmıştır. Jeldeki EtBr fazlalığından arındırmak için 10 dakika distile su içerisinde bekletilmiştir. Sonuçlar transilluminatör ile kontrol edilip ITS, ACT, LSU ve SSU gen bölgelerine ait bant boyutları ve görüntüleri sırasıyla edilmiştir.

3.2.2.4. Örnek dizilemesi, sekans analizi ve filogenetik analiz

PCR ve elektroforez çalışmalarından sonra fungus türü açısından pozitif olarak saptanan örneklerinden bir adet ITS1/ITS4, EF1-728F/EF1-986R ve NL1/NL4 ITS primerleri ile çoğaltılan ürünler sekans analizi için MEDSANTEK firmasına gönderilmiştir. Diziden gelen örneklerin Forward ve Reverse dizileri Bioedit programı (Hall, 1999) yardımıyla birleştirilmiş ve tek bir dizi elde edilmiştir. Gerekli düzenlemeler yapıldıktan sonra MEGAX (Kumar vd., 2016) programı kullanılarak dizi hizalaması (ClustalW) yapılmıştır. Diziler gen bankasında kayıtlı olan diziler ile BLAST yapılmıştır. Daha sonra elde edilen dizilerin gen bankasındaki izolatlarla benzerlik karşılaştırılması yapılmıştır. Son olarak elde edilen diziler ile filogenik ağaç oluşturularak dünyadaki diğer *A. altarnata* türleriyle olan benzerlikler ve farklılıklar analiz edilmiştir.

3.2.3. NaCl uygulamaları

Denemeler Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ne ait seralarda 1:1 oranında tof:perlit içeren saksılarda yürütülecektir. Deneme *Alternaria* etmeni ile bulaştırılan ve sağlıklı kontrol bitkileri üzerinde tesadüf parselleri deneme desenine göre dört grupta altı tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüştür. Bu gruplar; a) kontrol, b) *Alternaria* ile infekteli bitkiler, c) 100 mmol L⁻¹ NaCl uygulaması yapılan sağlıklı bitkiler, d) 100 mmol L⁻¹ NaCl uygulanan *Alternaria* ile infekteli bitkiler. Her bir grupta yer alan bitkiler su ihtiyacına göre (2-3 gün ara ile) dört hafta boyunca su ve tuz çözeltisi içeren suyla sulanacaktır. Deneme başlangıcı ve sonunda patates bitkilerinin yapraklarından alınan örnekler kese kağıtlarına konularak etiketlenip, -20°C'de biyokimyasal analizler yapılncaya kadar muhafaza edilmiştir.

3.2.4. Bitki Biyokimyasal Analizler

3.2.4.1. Klorofil analizi

Total, a ve b klorofil analizleri Arnon (1949) tarafından hazırlanan protokole göre yapılacaktır. Deneyde kullanılan biber bitkilerinden, yaklaşık 0.5 g yaprak örneği alınarak 5 ml aseton:su (% 80 v/v) çözeltisinde homojenize edilecek sonra filtre kağıdından süzülerek ışık görmeyen tüplerin içine alınacaktır. Okumalar spektrofotometre (Epoch-BioTek) kullanılarak klorofil *a* için 663.5 nm, klorofil *b* için 645 nm de gerçekleştirilmiştir. Blank %80 asetona karşı yapılarak spektrometrisi yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlar aşağıdaki formüllere göre mg/l taze ağırlık olarak hesaplanmış ve sonrasında mg g⁻¹ yaş ağırlık olacak şekilde ifade edilmiştir.

Aseton ekstratlarında klorofil konsantrasyonunun hesaplanması;

$$\text{Toplam klorofil (mg/l)} = 20.2A_{645} + 8.02A_{663.5}$$

$$\text{Klorofil } a \text{ (mg/l)} = 12.7A_{663.5} - 2.69A_{645}$$

$$\text{Klorofil } b \text{ (mg/l)} = 22.9A_{645} - 4.68A_{663.5}$$

3.2.4.2. Peroksidaz analizi (POX)

Cvikrova vd. (1994) tarafından kullanılan yöntemle göre peroksidaz aktivitesi için yaklaşık 0.5 g yaprak örneği alınarak 10 ml 50 mmol L⁻¹ Na-fosfat çözeltisinde homojenize edilmiştir. Homojenize özden 100 µl alınarak üzerine 3 ml reaksiyon karışımı (13 mmol L⁻¹ guaiacol, 5 mmol L⁻¹ H₂O₂ ve 50 mmol L⁻¹ sodyumfosfat, pH 6.5) ilave edilmiştir. Karışıma H₂O₂ eklenilerek reaksiyon başlatılmış ve spektrofotometre’de (EpochBio Tek) 470 nm’de 1 dakika ara ile 3 kez okuma yapılmıştır (25°C). Bir ünite peroksidaz aktivitesi ΔA₄₇₀ nm’de 0.1 absorbans/dakika olarak, sonuçlar ünite mg⁻¹ protein olarak ifade edilmiştir.

3.2.4.3. Katalaz analizi (CAT)

Milosevic ve Slusarenko (1996) tarafından hazırlanan metota göre katalaz aktivitesi ölçülmüştür. Protokole göre yaklaşık 0.5g yaprak örneği alınarak 10 ml sodyum fosfat çözeltisinde homojenize edilmiş, elde edilen ekstraktan 50 µl alınarak üzerine 2.95 ml (10 mmol L⁻¹ H₂O₂, 50 mmol L⁻¹ Na-fosfat çözeltisi, 4 mmol L⁻¹ Na₂EDTA, pH 7.0) reaksiyon karışımına ilave edilmiştir. Reaksiyon işlemi

başlatıldıktan hemen sonra spektrofotometre’de (Epoch-Bio Tek) 30 saniye içinde 240 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür (25°C). Bir ünite katalaz enzim aktivitesi ΔA_{240} nm’de ünite mg-1 protein olarak hesaplanmıştır. Bir katalaz enzim ünitesi 1 dakika içinde 1 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ ’u parçalayan enzim miktarı olarak ifade edilmiştir (Wang ve Han, 2009).

3.2.4.4. Protein analizi

Protein analizi Bradford (1976)’a göre yapılmış, yaklaşık 0.5 g yaprak örneği 5 ml sodyum fosfat buffer (50 mmol L⁻¹, pH 7) içinde homojenize edilmiştir. Daha sonra ele edilen bitki ekstraksiyonundan 100 μl alınarak üzerine Coomassie Brilliant Blue G-250 (100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 alınarak 5 ml %95’lik etanol ile çözündürülmüştür) boyama çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra örnekler spektrofotometrede (Epoch-Bio Tek) 595 nm’de okutulmuştur. Protein standart eğrisi için farklı konsantrasyonlarda (10-100 $\mu\text{g ml}^{-1}$) hazırlanan Bovine Serum Albumin Fraction V (Sigma) kullanılmıştır.

3.2.4.5. Jasmonik asit analizi

Jasmonik asit analizi Annigeri vd. (2011)’e göre yapılmıştır. 1 g taze biber bitkisi yaprağı alınarak üzerine 10 ml etanol eklenmiş ve 12 saat boyunca oda sıcaklığında karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Bu işlem sonrasında karışımlar filtre kâğıtlarından (Whatman No:1) süzölmüştür. Homojenize edilen karışımlardan 1 ml alınarak 323 nm’de spektrofotometre (Epoch-Bio Tek) cihazında okutulmuştur. JA konsantrasyonunun hesaplanmasında mutlak etanol içinde çözündürülmüş farklı JA konsantrasyonlarından hazırlanan standart eğri kullanılmıştır.

3.2.4.6. Salisilik asit analizi

Salisilik asit analizi, Rainsford (2004) tarafından hazırlanmış olan metoda göre yapılmıştır. Öncelikle 1 g taze biber bitkisi yaprak örneği 10 ml etanol içinde 12 saat boyunca oda sıcaklığında karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Homojenize olan çözelti daha sonra 10000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatant kısmından 100 μl alınıp %1’lik 2.9 ml ferrik klorür (FeCl_3) ile karıştırılmıştır.

Karışımın toplam hacmi daha sonra reaksiyon karışımı ile 3 ml’ye tamamlanacaktır. Fe^{3+} iyonu ile SA arasında oluşan pembe renkli karışım spektrofotometre (Epoch-Bio Tek) cihazında 540 nm’de ölçülecektir. SA içeriği etanol içinde hazırlanan 0-100 ppm arasındaki farklı SA konsantrasyonları

kullanılarak hazırlanacaktır. Bunun sonucunda SA standart eğrisi oluşturulacak ve buna göre hesaplamalar yapılmıştır. SA standartizasyon işleminde SA'ı çözen tüm çözücülerin kullanılabileceği belirlenecektir.

3.2.5. İstatistik analizi

İstatiksel analizler SPSS No. 23 ile varyans analizi (One-way ANOVA) ile yapılmıştır. Ortalamalarda bulunan farklılıklar Duncan's Multiple Range Test ile ($P<0.05$) saptanmıştır

4. BULGULAR

4.1. Hastalıkla İnokule Edilen Patates Bitkisinde Morfolojik Değişimler

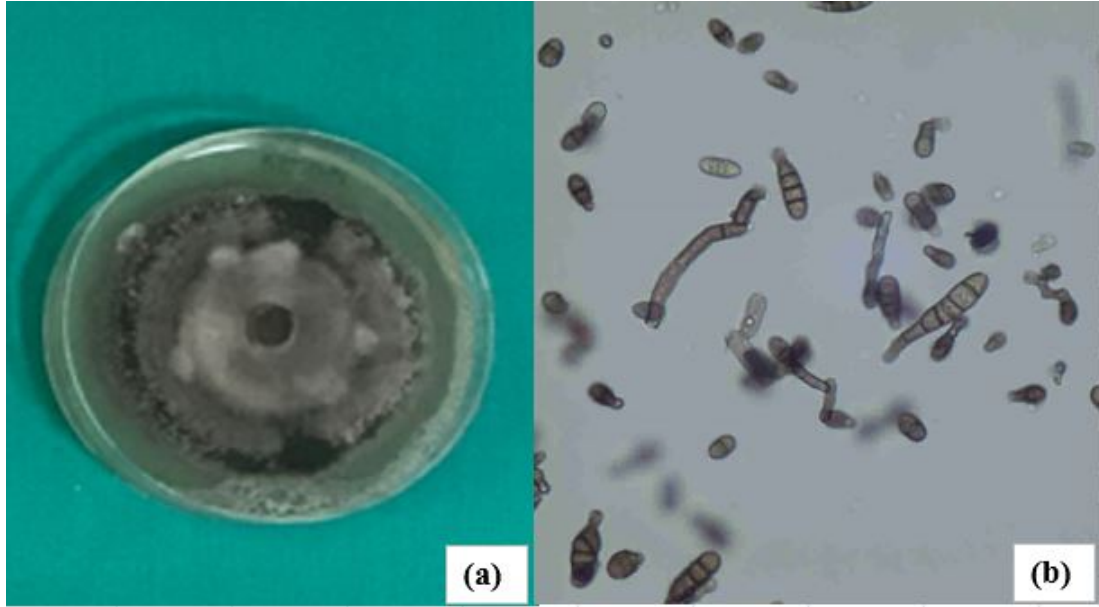
Alternaria altarnata ile inokule edilen patates bitkilerinde hastalık simptomu gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır. Örnekleme yapılan bitkilerde Sararma, iç içe geçmiş halkalı leke ve nekrotik lekeler biçiminde belirtiler gözlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *Alternaria altarnata* ile enfekteli patates yapraklarında nekrotik ve halkalı leke

4.2. Hastalığın Çoğaltılması

Hastalık PDA ortamında tek spordan petri kutularında çoğaltılmıştır (Şekil 4.2a). Çoğaltılan kültürler mikroskopta incelendiğinde tipik *Alternaria* konidileri ışık mikroskopunmda 10×40 büyütmede gözlenmiştir (Şekil 4.2b).

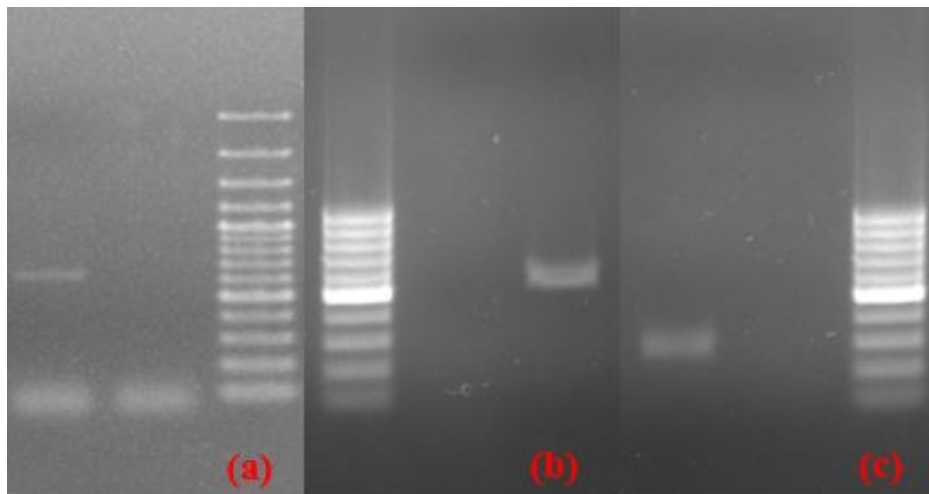


Şekil 4.2. *Alternaria alternata* kolonisi (a), mikroskop altında Alternaria konidisi (b)

4.3. Örnek dizilemesi, sekans analizi ve filogenetik analiz

Funguslardan izole edilen total DNA'lardan ITS (ITS1/ITS4), *tef-1α* (EF1-728F/EF1-986R) ve LSU (NL1/NL4) gen bölgeleri PCR yöntemi kullanılarak çoğaltılmıştır.

PCR ürünleri, %1.2'lik agaroz jel içerisinde yürütülmüş ve etidyum bromid ile boyanarak jel görüntüleme sisteminde UV ışık altında görüntülenmiştir (Şekil 4.3a, 4.3b, 4.3c).

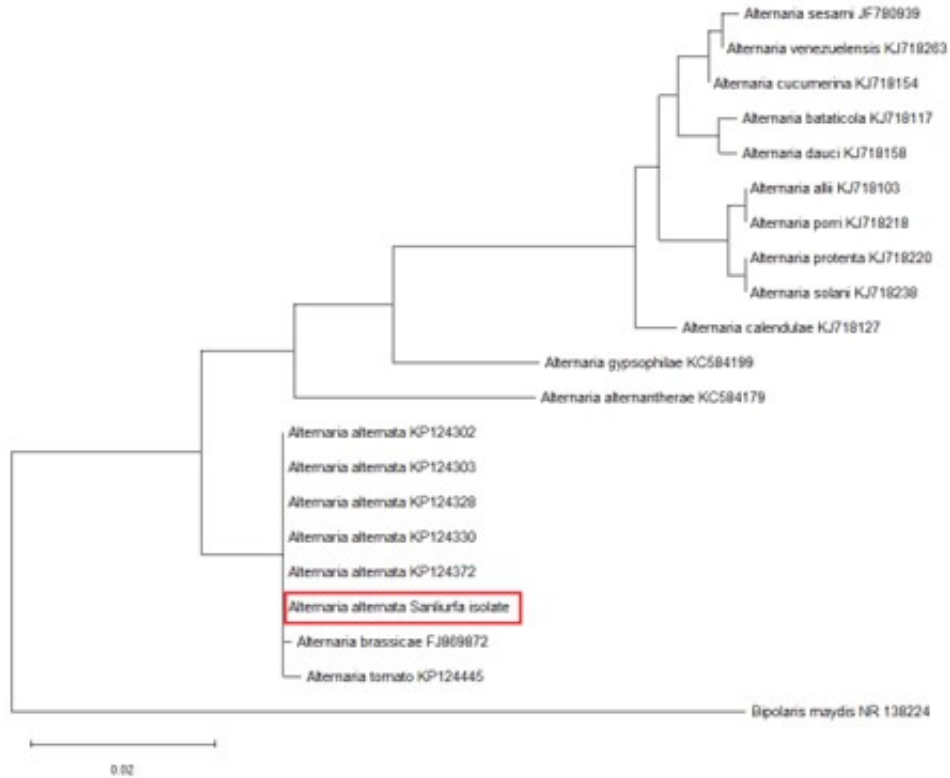


Şekil 4.3. Toplam DNA'dan ITS, LSU ve TEF-1 gen bölgesi için gerçekleştirilen PCR analiz sonuçları. W: su kontrol, M: DNA ladder DNA ladder (MBI Fermentas, Almanya). a)ITS jel görüntüsü b) LSU jel görüntüsü c) tef-1α jel görüntüsü

ITS gen bölgesi için yapılan PCR çalışması sonucunda 700 bp civarında bant gözlemlenmiştir (Şekil 4.3a). Elde edilen PCR ürünleri Medsantek firmasına gönderilerek DNA dizileme işlemi yapılmıştır. Elde edilen dizilerin NCBI BLAST analizi sonucunda Şanlıurfa izolatının *A. alternata* olduğu belirlenmiş ve bu izolatlar NCBI veri tabanına PV739788 erişim numarası ile kaydedilmiştir (Şekil 4.4).

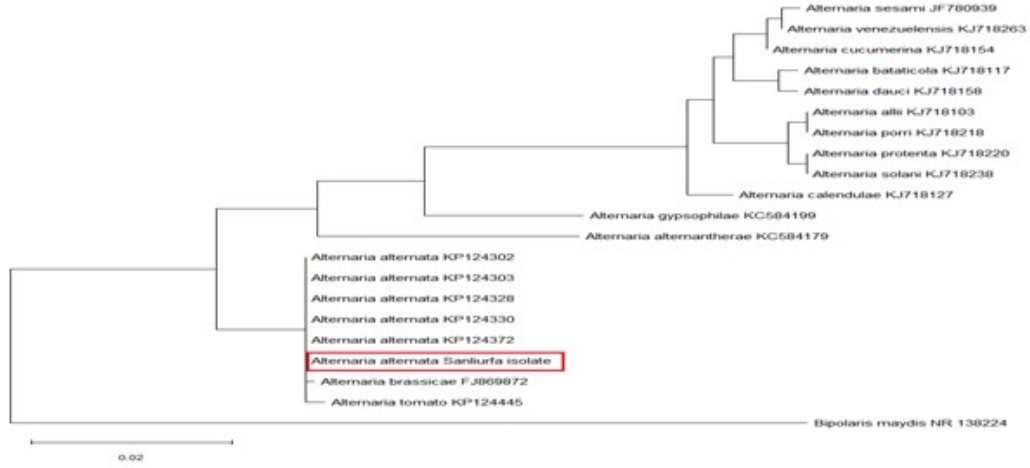
LSU gen bölgesi için yapılan PCR çalışması sonucunda 600-650 bp civarında bant gözlemlenmiştir (Şekil 4.3b). Elde edilen PCR ürünleri Medsantek firmasına gönderilerek DNA dizileme işlemi yapılmıştır. Elde edilen dizilerin NCBI BLAST analizi sonucunda Şanlıurfa izolatının *A. alternata* olduğu belirlenmiş ve bu izolatlar NCBI veri tabanına PV739789 erişim numarası ile kaydedilmiştir.

tef-1 α gen bölgesi için yapılan PCR çalışması sonucunda 250-300 bp civarında bant gözlemlenmiştir (Şekil 4.3.). Elde edilen PCR ürünleri Medsantek firmasına gönderilerek DNA dizileme işlemi yapılmıştır. Elde edilen dizilerin NCBI BLAST analizi sonucunda Şanlıurfa izolatının *A. alternaria* olduğu belirlenmiş ve bu izolatlar NCBI veri tabanına PV739783 erişim numarası ile kaydedilmiştir(Şekil 4.5).



Şekil 4.4. ITS gen bölgesi için Tamura-Nei modeline dayalı Maksimum Olasılık

yöntemi kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç. Ağaç nükleotid dizilerine dayanmaktadır ve dal desteği 1000 önyükleme tekrarı kullanılarak değerlendirilmiştir. Evrimsel analizler MEGA11 programı kullanılarak yürütülmüştür.



Şekil 4.5. tef-1α gen bölgesi için Tamura-Nei modeline dayalı Maksimum Olasılık yöntemi kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç. Ağaç nükleotid dizilerine dayanmaktadır ve dal desteği 1000 önyükleme tekrarı kullanılarak değerlendirilmiştir. Evrimsel analizler MEGA11 programı kullanılarak yürütülmüştür.

4.4. Patates Bitkisinde Biyokimyasal Değişimler

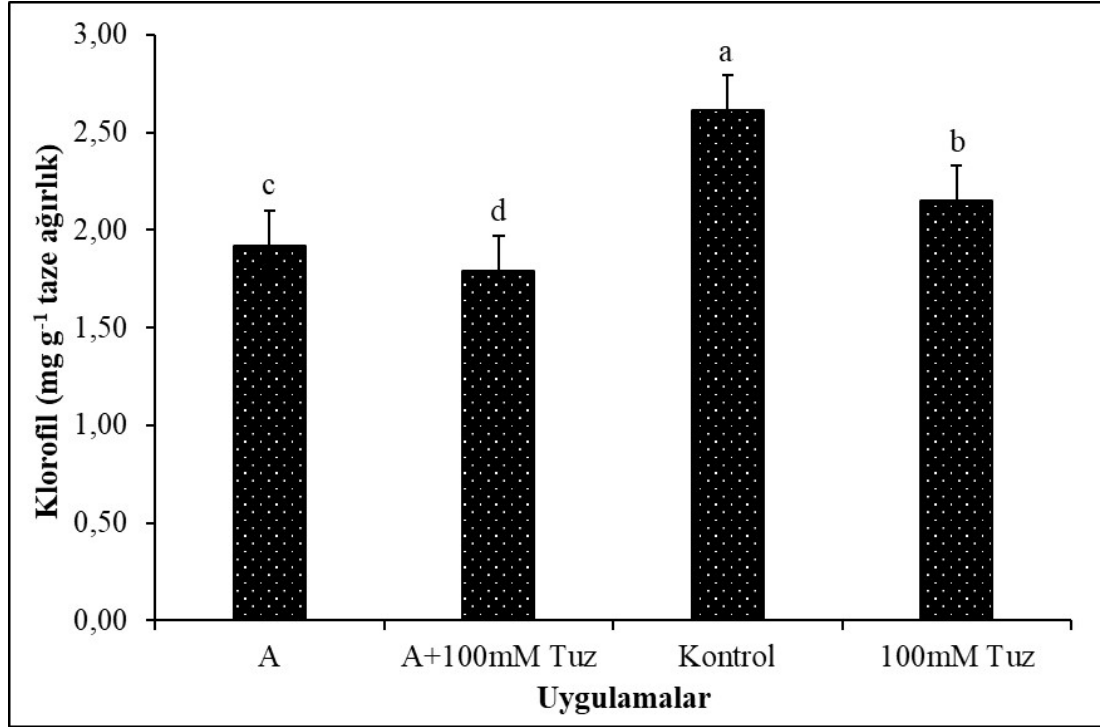
Bu çalışmada tuz stresi altında *A. Alternata* etmeni ile bulaşık patates bitkilerinde 50 gün sonra (Şekil 4.6) alınan yaprak örneklerinde bitkisi fizyolojisinde meydana gelen biyokimyasal değişimler incelenmiştir.



Şekil 4.6. *Alternaria alternata* ile enfekteli ve tuz uygulanmış patates bitkilerinin 50. gündeki durumu (Soldan sağa doğru;1: kontrol, 2: Alternaria enfekteli, 3:Tuz uygulanmış, 4: Alternaria enfekteli tuz uygulanmış)

4.4.1. *Alternaria alternata* Etmeninin Toplam Klorofil Miktarına Etkisi

Çalışmada *Alternaria* etmeni ile enfekteli, tuz uygulanmış ve kontrol grubundaki sağlıklı yapraklar arasındaki toplam klorofil içeriğinde önemli farklılıklar elde edilmiştir ($P<0.05$). Klorofil içeriği *A.alternata* ile enfekteli ve A+tuz uygulanmış yapraklarda düşük seviyelerde seyrederken, sağlıklı kontrol ve sadece tuz uygulanmış MC grupta daha yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir (Şelil 4.7).



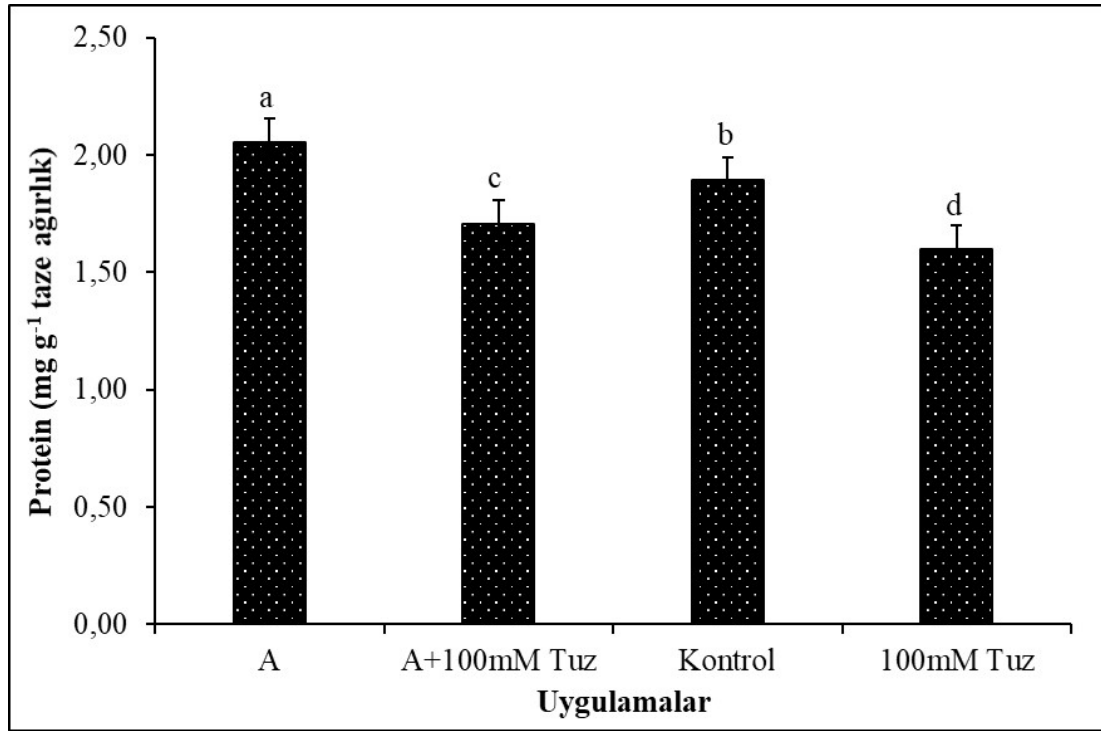
Şekil 4.7. *A. alternata* ile enfekteli, Tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam klorofil içeriği (A = *Alternaria*)

Fitoplazma ile enfekteli badem, antepfıstığı, asma, elma ve mısırdaki klorofil içeriğinin azaldığı daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Akkurak vd., 2024). Enfekteli bitkilerde fotosenteze etki eden genlerin baskılanarak klorofil içeriğinde azalma meydana geldiği rapor edilmiştir (Pérez-Bueno vd., 2019). Akkurak vd. (2022) antepfıstığında yaptıkları çalışmada fitoplazma enfeksiyonunun bitkide kloroplast ve klorofil mekanizmasını bozduğunu ve bunun klorofil miktarını azalttığını bildirmişlerdir.

4.4.2. *Alternaria alternata* Etmeninin Protein İçeriğine Etkisi

Patates yapraklarında protein içeriğinin *Alternaria* etmeni, tuz uygulanmış ve kontrol grubundaki sağlıklı yapraklar arasındaki toplam protein içeriğinde önemli farklılıklar elde edilmiştir ($P<0.05$). Hastalık uygulanmış bitkilerde kontrol grubuna

kıyasla hastalık etmeni ile enfekteli patates yapraklarda protein içeriğinde artma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8).



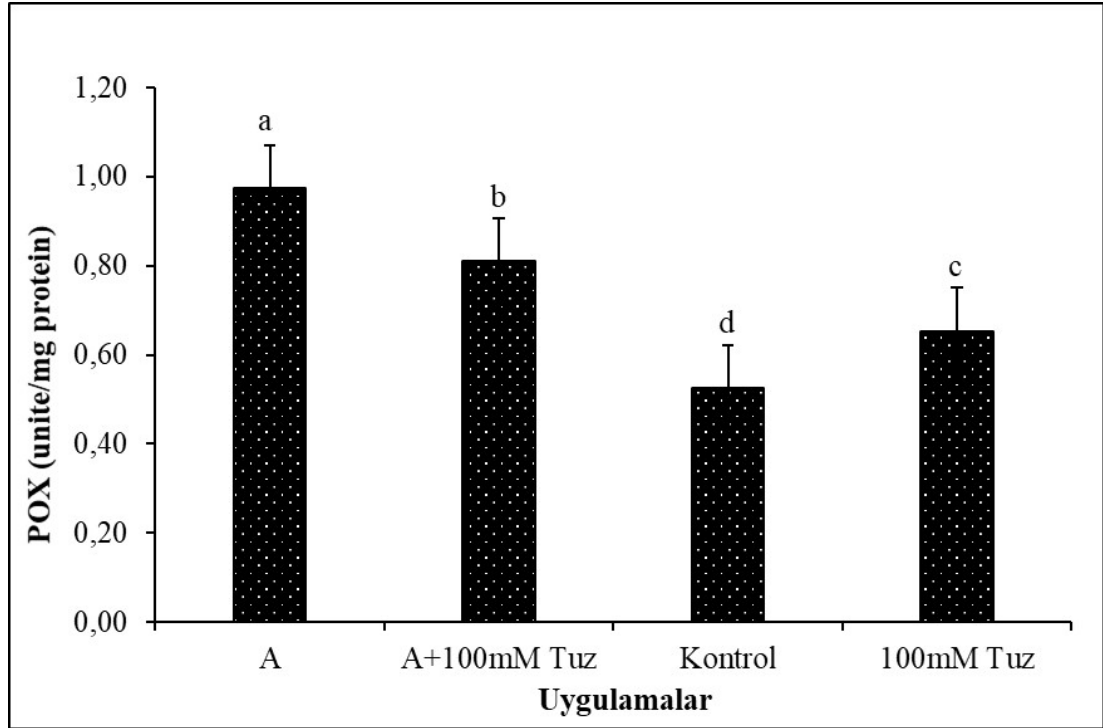
Şekil 4.8. *Alternaria altarnata* ile enfekteli, tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam protein içeriği (A = *Alternaria*)

Farklı hastalık etmenleri konukçu bitkide çözülebilir proteinin bozulmasına yol açarak azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (Martin vd., 2003). Fitoplazma enfeksiyonunun protein içeriğinde azalmaya neden olduğu daha önce antepfıstığı, bademde ve yoncada bildirilmiştir (Akkurak vd., 2024). Bununla birlikte bu araştırmada Agria patates çeşidinde *Alternaria* ile enfekteli bitki grubunda protein içeriği yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni bu patates çeşidinin nematodlara dayanıklı olmasından kaynaklanabilir. Nitekim Tsuyama vd. (2023), Proschiri çipslik patates çeşidinin altın kist nematoduna ve paytates uyuzuna dayanıklı olduğunu açıklamıştır. Ancak, bu durumun daha kapsamlı bir şekilde anlaşılabilmesi için, nematoda dayanıklı farklı çeşitler ve uygun çevresel koşullar altında yapılan daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

4.4.3. *Alternaria altarnata* Etmeninin Peroksidaz Enzim Aktivitesine Etkisi

Patates yapraklarında *A. altarnata* enfeksiyonun Peroksidaz (POX) enzim aktivitesinde tuz uygulanmış ve sağlıklı kontrol grubuna kıyasla önemli değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Sağlıklı ve sadece tuz uygulanmış bitkilerde

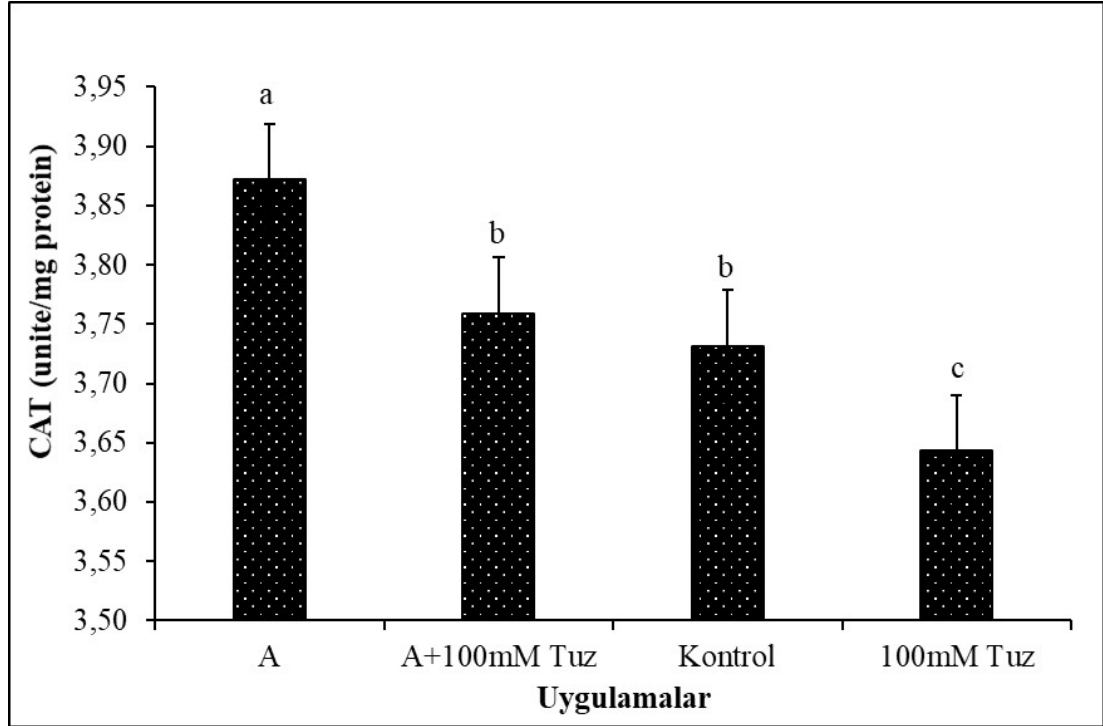
POX enzim içeriğinde azalma, *Alternaria* ile enfekteli ve A+ Tuz uygulanmış patates yapraklarında artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.9). Benzer şekilde Ayvacı vd. (2022), yoncada *Ca. P. australasia* enfeksiyonuyla peroksidaz enzim aktivitesinde önemli düzeyde artış olduğunu bildirmiştir



Şekil 4.9. *Alternaria altarnata* ile infekteli, tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam peroksidaz içeriği (A = *Alternaria*)

4.4.4. *Alternaria altarnata* Etmeninin Katalaz Enzim Aktivitesine Etkisi

Patates yapraklarında *Alternaria* enfeksiyonunun katalaz enzim aktivitesini önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ($P<0.05$). *Alternaria* ile enfekteli patates yapraklarında katalaz enzimi artarken, sağlıklı kontrol grubunda azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.10).

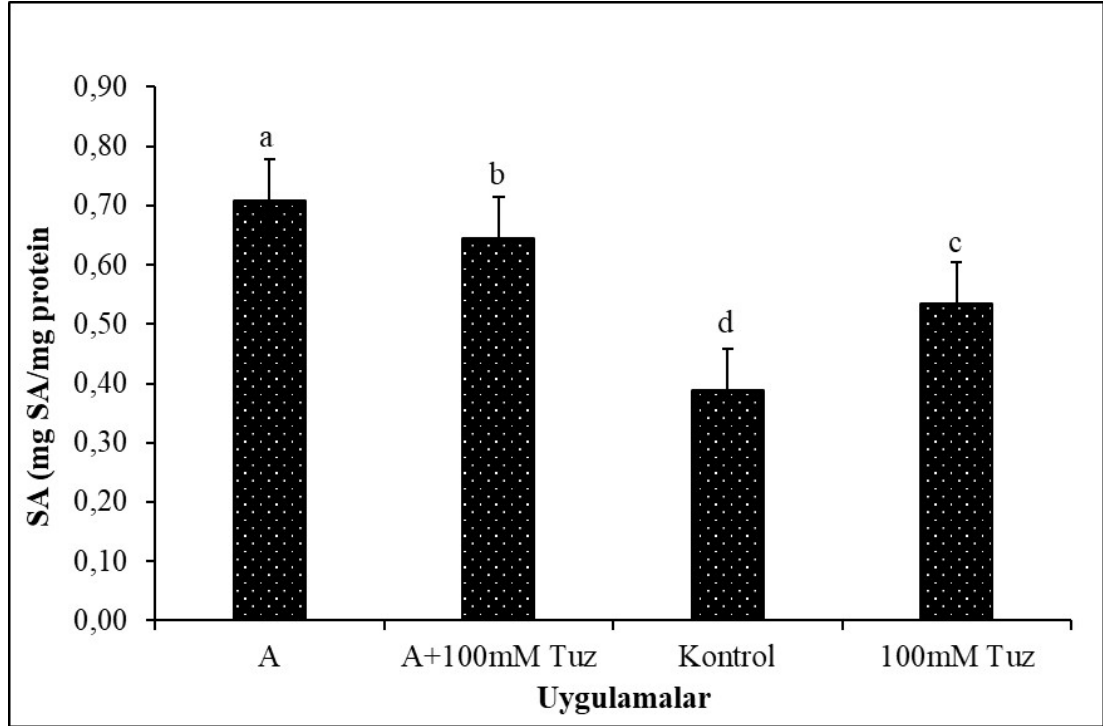


Şekil 4.10. *Alternaria altarnata* ile enfekteli, tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam katalaz içeriği (A = *Alternaria*)

Genellikle katalaz enzimi stres koşullarında artmaktadır (Magbanua vd., 2007). Serbest radikal saldırıları olduğu zaman katalaz enzimi, koruma sağlama özelliğine sahip önemli enzimlerden biridir (Ighodaro ve Akinloye, 2018). Araştırmada *Alternaria* enfekteli ve A+Tuz bitki gruplarında katalaz enzimi artış göstermiştir.

4.4.5. *Alternaria altarnata* Etmeninin Salisilik Asid (SA) Enzim Aktivitesine Etkisi

Patates yapraklarında *Alternaria* enfeksiyonunun SA enzim aktivitesini önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$). *Alternaria* ile enfekteli patates yapraklarında SA enzimi artarken, sağlıklı kontrol grubunda azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8). Sağlıklı ve sadece tuz uygulanmış bitkilerde SA enzim içeriğinde azalma, *Alternaria* ve A+tuz uygulanmış enfekteli patates yapraklarında artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11).

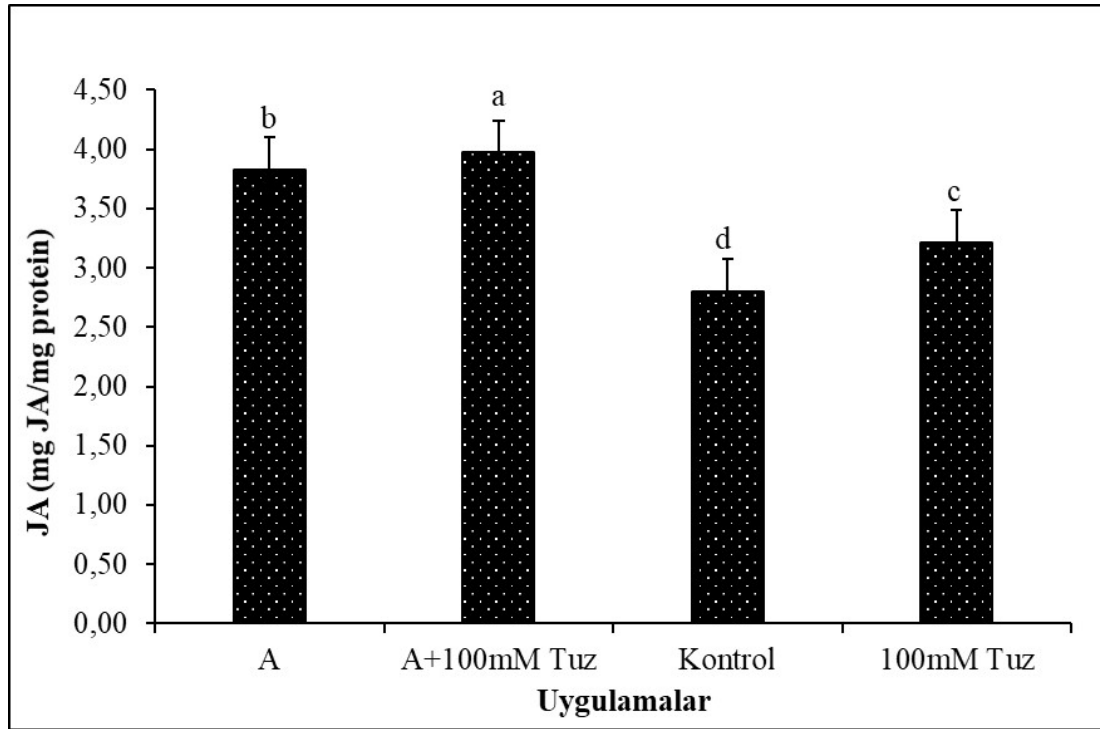


Şekil 4.11. *Alternaria altarnata* ile enfekteli, tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam salisilik asid (SA) içeriği (A = Alternaria)

Literatürdeki mevcut veriler, SA'in patates bitkilerinde hastalıklara karşı etkili bir savunma mekanizması oluşturabileceğini göstermektedir. Bulaşık bitkilerde savunma mekanizmalarını güçlendirerek kontrole göre artış göstermiştir (Şekil 4.6).

4.4.6. *Alternaria altarnata* Etmeninin Jasmonik Asid (JA) Enzim Aktivitesine Etkisi

Patates yapraklarında *Alternaria* enfeksiyonunun JA enzim aktivitesini önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$). *Alternaria* ile enfekteli ve A+Tuz uygulanmış patates yapraklarında JA enzimi artarken, sağlıklı kontrol grubunda azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. *Alternaria altarnata* ile infekteli, tuz uygulanmış ve kontrol bitkilerinde toplam jasmonik asid (JA) içeriği (A = Alternaria)

4.4.7. Farklı Biyokimyasal ve Fizyolojik Parametreler Arasındaki Korelasyon

Toplam Klorofil ile stres göstergeleri (SA, JA, POX) arasında çok güçlü negatif korelasyonlar bulunmuştur. Bu, bitkide stres arttıkça (özellikle SA ve JA hormonları ile) klorofil miktarının azaldığını göstermektedir. Antioksidan enzimler (CAT, POX) birbiriyle ve stres hormonlarıyla pozitif ilişki içinde bulunmaktadır. Bu da stres durumunda antioksidan savunmanın aktive olduğunu göstermektedir. Protein miktarı, özellikle CAT ile ilişkili olarak belirlenmiştir. Bu, protein sentezinin enzim aktivitesiyle bağlantılı olduğunu göstermektedir (Şekil 4.13).

Variables	Toplam Klorofil	Protein	CAT	SA	POX	JA
Toplam Klorofil	1					
Protein	0.094	1				
CAT	-0.375	0.843	1			
SA	-0.935	0.218	0.607	1		
POX	-0.841	0.424	0.744	0.966	1	
JA	-0.969	0.101	0.547	0.944	0.891	1

Şekil 4.13. Farklı biyokimyasal ve fizyolojik parametreler arasındaki korelasyon

5. TARTIŞMA

Elde edilen verilere göre, tuzluluk uygulamasının *Alternaria alternata* ile enfekte edilmiş patates bitkilerinin fizyolojik parametreleri üzerinde önemli etkileri olduğu gözlemlenmektedir. Özellikle klorofil düzeylerinde belirgin bir azalma, bitkinin fotosentetik kapasitesinin tuzluluk stresine karşı hassasiyetini göstermektedir. Bu durum, yüksek tuzluluk koşullarında bitkinin kloroplast yapısının bozulması ve pigment sentezinin engellenmesinden kaynaklanabilir (Munns ve Tester, 2008).

Ayrıca, malondialdehit (MDA) düzeylerindeki artış, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Bu bulgu, tuzluluk ve patojen enfeksiyonunun birlikte hücre zar bütünlüğünü bozduğunu ve oksidatif zararı artırdığını göstermektedir. Bu sonuç, bitkinin antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kaldığını düşündürmektedir (Gill ve Tuteja, 2010).

Bitkiler çevresel stres koşullarına karşı gelişmiş fizyolojik ve biyokimyasal yanıt mekanizmaları geliştirirler. Bu mekanizmaların etkileşimlerini ortaya koymak amacıyla yapılan korelasyon analizi, çeşitli parametreler arasındaki ilişki düzeylerini anlamamıza olanak tanımaktadır. Şekil 4.13'te sunulan korelasyon matrisi, toplam klorofil, protein içeriği, katalaz (CAT), salisilik asit (SA), peroksidaz (POX) ve jasmonik asit (JA) arasındaki istatistiksel ilişkileri göstermektedir.

Toplam klorofil miktarı ile savunma yanıtı göstergeleri olan JA ($r = -0.969$), SA ($r = -0.935$) ve POX ($r = -0.841$) arasında yüksek düzeyde negatif korelasyonlar tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, bitki stres koşullarında savunma metabolitlerinin artışıyla birlikte klorofil içeriğinin azaldığını göstermektedir. Fotosentetik pigmentlerden biri olan klorofilin azalması, stresin fotosentez mekanizması üzerindeki olumsuz etkilerine işaret eder (Demiral ve Türkan, 2005). Jasmonik asit ve salisilik asit gibi sinyal bileşiklerinin artışı ise, bitkide stres koşullarında savunma sistemlerinin aktive edildiğini düşündürmektedir (Wasternack ve Hause, 2013).

Katalaz enzimi ile protein içeriği arasında pozitif ve güçlü bir ilişki ($r = 0.843$) bulunmuştur. Bu bulgu, stres koşullarında oluşan reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonunda görevli olan katalaz enziminin aktivitesinin, genel metabolik faaliyetlerin bir göstergesi olan protein sentezi ile paralel arttığını göstermektedir. Benzer şekilde, CAT ile SA ($r = 0.607$) ve POX ($r = 0.744$) arasındaki pozitif korelasyonlar, bu üç bileşenin oksidatif stres yanıtında birbirini destekleyici rollere sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Mittler, 2002).

POX enzimi ile SA ($r = 0.966$) ve JA ($r = 0.891$) arasında saptanan çok güçlü pozitif korelasyonlar, bitki savunma sistemlerinde sinyal iletiminde önemli görevler üstlenen bu bileşiklerin eş zamanlı olarak arttığını ortaya koymaktadır. Bu bulgu, salisilik asit ve jasmonik asitin bitkinin sistemik edinilmiş direnci (SAR) ve yaralanma yanıtı gibi mekanizmalarda ortak görev aldığını desteklemektedir (Glazebrook, 2005).

Genel olarak, korelasyon verileri stres koşullarında savunma sistemleri ile fotosentetik faaliyetler arasında belirgin bir denge mekanizmasının olduğunu göstermektedir. Artan savunma bileşenleri (JA, SA, POX) klorofil içeriğini baskılamak, antioksidan enzim aktiviteleri (CAT ve POX) birbirleriyle pozitif ilişkiler göstererek bitkinin oksidatif hasarı sınırlandırmaya yönelik tepkilerini yansıtmaktadır. Bu ilişkiler, stres altında bitkinin yaşamını sürdürebilmesi için enerji kullanımını yeniden yapılandırıldığını ve fizyolojik öncelikleri değiştirdiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, elde edilen bulgular, patates bitkisinin hem *A. alternata* enfeksiyonu hem de tuzluluk stresi altında fizyolojik olarak ciddi baskı altında kaldığını göstermektedir. Bu tip stres faktörlerinin bir araya gelmesi, bitkinin gelişimini ve verimini daha da olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle, özellikle tuzlu topraklarda patates tarımı yapılacaksa, hem hastalık yönetimi hem de tuzluluk toleransı yüksek çeşitlerin tercih edilmesi önerilmektedir.

6. SONUÇLAR

Alternaria hastalık etmeni ve tuz uygulanmış patates yapraklarında meydana gelen biyokimyasal etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

Patates yapraklarında tipik *Alternaria* hastalık etmeninin belirtileri olan iç içe geçmiş halkalı leke ve nekrozlar saptanmıştır.

Alternaria enfeksiyonunun patates yapraklarında sebep olduğu biyokimyasal tepkimeler incelenmiştir.

Sağlıklı yapraklara kıyasla *Alternaria* ile enfekteli Patates yapraklarında prolin ve enzim aktivitesi (Peroksidaz; POX ve Katalaz: CAT) artış göstermiştir. Enfekteli patates grubunda Protein içeriğinde azalma beklenirken protein içeriği artış göstermiştir.

Toplam klorofil içeriğinin *Alternaria* enfekteli ve tuz uygulanmış patates yapraklarında önemli miktarda azaldığı belirlenmiştir.

Sağlıklı ve sadece tuz uygulanmış bitkilerde POX enzim içeriğinde azalma, *Alternaria* ile enfekteli patates yapraklarında artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir.

Klorofil içeriği *Alternaria* ile enfekteli ve tuz uygulanmış yapraklarda düşük seviyelerde seyrederken, sağlıklı kontrol ve MC grubunda daha yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir.

Alternaria ile enfekteli patates yapraklarında katalaz enzimi artarken, sağlıklı kontrol grubunda azalma olduğu belirlenmiştir.

Patates yapraklarında *Alternaria* enfeksiyonunun SA enzim aktivitesini önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir. Sağlıklı ve sadece tuz uygulanmış bitkilerde SA enzim içeriğinde azalma, *Alternaria* ve A+tuz uygulanmış enfekteli patates yapraklarında artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir.

Patates yapraklarında *Alternaria* enfeksiyonunun JA enzim aktivitesini önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir. Sağlıklı ve sadece tuz uygulanmış bitkilerde JA

enzim içeriğinde azalma, *Alternaria* ve A+tuz uygulanmış enfekteli patates yapraklarında artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir

7. ÖNERİLER

Bu çalışma ile patatesten *Alternaria* hastalık etmeninin meydana getirdiği protein, prolin, klorofil içeriği ve antioksidant enzimlerin değişimi ilk kez araştırılmıştır. Buna ilave olarak mikronize kalsit uygulanmış patates yapraklarında *Alternaria* etmeninin biyokimyasal tepkilerinin bilinmesi dayanıklılık ve kontrol stratejilerinin geliştirilmesinde önemli ipuçları sağlayacağı düşünülmektedir.

Gelecekteki araştırmalar, tuz toleransını artıran genlerin veya biyolojik ajanların *A. alternata*'ya karşı direnci nasıl etkilediğini moleküler düzeyde daha derinlemesine incelemelidir. Ayrıca, tuzlu koşullarda patates bitkisinin *A. alternata* enfeksiyonlarına karşı direncini artırmak için entegre mücadele yöntemleri (örneğin, tuz toleranslı çeşitlerin geliştirilmesi, uygun besleme stratejileri ve biyokontrol ajanlarının kullanımı) üzerinde durulmalıdır. Bu tür yaklaşımlar, küresel gıda güvenliğini tehdit eden tuzluluk ve bitki hastalıkları sorunlarına karşı daha dirençli tarım sistemleri oluşturulmasına katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahrens, U., & Seemüller, E. (1992). Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasma-like organisms by a polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16 S rRNA gene. *Phytopathology*, 82(8), 828-832.
- Akkurak, H., Güldür, M., & Dikilitaş, M. (2022). Biochemical alterations in lettuce (*Lactuca sativa* L.) infected with 'Candidatus Phytoplasma asteris' related strain (16SrI-B subgroup). *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 26(1), 15-24.
- Annigeri, S., Shakil, N.A., Kumar, J., & Singh, K. (2011). Kök-ur nematodu *Meloidogyne incognita* ile enfekte edilmiş domateste Jasmonat (Jasmonik Asit) yaprak spreyinin dayanıklılık üzerine etkisi. *Bitki Koruma Bilimleri Yıllıkları*, 19 (2), 446-450.
- Anonim. (2018). TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Patates Raporu 2018. http://zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=31082&tipi=38&sube=0 (erişim tarihi: 10 Haziran 2024).
- Arıoğlu, H., Çalışkan, M. E., & Onaran, H. (2006). Türkiye'de patates üretimi, sorunları ve çözüm önerileri. IV. *Ulusal Patates Kongresi*, 6(08), 1-10.
- Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A., & Hayat, S. (2020). Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 64-77.
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 24(1), 1-15.
- Asad, M. A. U., Zakari, S. A., Zhao, Q., Zhou, L., Ye, Y., & Cheng, F. (2019). Abiotic stresses intervene with ABA signaling to induce destructive metabolic pathways leading to death: premature leaf senescence in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 256.
- Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 206-216. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006>
- Avenot, H. F., Van Den Biggelaar, H., Morgan, D. P., Moral, J., Joosten, M. H. A. J., & Michailides, T. J. (2014). Sensitivities of baseline isolates and boscalid-resistant mutants of *Alternaria alternata* from pistachio to fluopyram, penthiopyrad, and fluxapyroxad. *Plant Disease*, 98(2), 197-205.
- Ayvacı, H., Güldür, M. E., & Dikilitaş, M. (2022). Physiological and biochemical changes in lucerne (*Medicago sativa*) plants infected with 'Candidatus *Phytoplasma australasia*'-related strain (16SrII-D Subgroup). *The Plant Pathology Journal*, 38(2), 146.
- Bauske, M. J., & Gudmestad, N. C. (2018). Parasitic fitness of fungicide-resistant and-sensitive isolates of *Alternaria solani*. *Plant disease*, 102(3), 666-673.
- Bauske, M. J., Mallik, I., Yellareddygar, S. K. R., & Gudmestad, N. C. (2018a). Spatial and temporal distribution of mutations conferring QoI and SDHI

- resistance in *Alternaria solani* across the United States. *Plant Disease*, 102(2), 349-358.
- Bauske, M. J., Yellareddygar, S. K. R., & Gudmestad, N. C. (2018b). Potential impact of fluopyram on the frequency of the D123E mutation in *Alternaria solani*. *Plant Disease*, 102(3), 656-665.
- Boyd, A. E. W. (1972). Potato storage diseases. *Review of Plant Pathology*, 51(5), 297-319.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Byrt, C. S., Munns, R., Burton, R. A., Gilliam, M., & Wege, S. (2018). Root cell wall solutions for crop plants in saline soils. *Plant science*, 269, 47-55.
- Camele, I., Marcone, C., & Cristinzio, G. (2005). Detection and identification of Phytophthora species in southern Italy by RFLP and sequence analysis of PCR-amplified nuclear ribosomal DNA. *European Journal of Plant Pathology*, 113(1), 1-14.
- Carbone, I., & Kohn, L. M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, 91(3), 553-556.
- Chourasia, K. N., Lal, M. K., Tiwari, R. K., Dev, D., Kardile, H. B., Patil, V. U., ... & Pramanik, D. (2021). Salinity stress in potato: Understanding physiological, biochemical and molecular responses. *Life*, 11(6), 545.
- Christ, B. J., & Maczuga, S. A. (1989). The effect of fungicide schedules and inoculum levels on early blight severity and yield of potato. *Plant Disease*, 73, 695-698.
- Chung, K. R. (2012). Stress response and pathogenicity of the necrotrophic fungal pathogen *Alternaria alternata*. *Scientifica*, 2012(1), 635431.
- Cvikrová, M., Hrubcová, M., Vägner, M., Macháčková, I., & Eder, J. (1994). Phenolic acids and peroxidase activity in alfalfa (*Medicago sativa*) embryogenic cultures after ethephon treatment. *Physiologia Plantarum*, 91(2), 226-233.
- Çaylak, Ö. (2002). Ham yumru kalitesini belirleyen faktörler. *Patates Tarımı*, (Editör: Doç. Dr. Yaşar ŞİMŞEK) Sayfa, 104-110.
- Demiral, T., & Türkan, I. (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53(3), 247-257.
- Dolatabadian, A., Sanavy, S. A., & Chashmi, N. A. (2008). The effects of application of ascorbic acid (Vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidant and proline accumulation of Canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress. *Journal Agronomy and Crop Science*, 931-2250.
- Duan, Y., Xiu, Q., Li, H., Li, T., Wang, J., & Zhou, M. (2019). Pharmacological

- characteristics and control efficacy of a novel SDHI fungicide pydiflumetofen against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 103(1), 77-82.
- Esendal, E. (1990). Nişasta Şeker Bitkileri ve Islahı. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayınları.
- Fairchild, K. L., Miles, T. D., & Wharton, P. S. (2013). Assessing fungicide resistance in populations of *Alternaria* in Idaho potato fields. *Crop Protection*, 49, 31-39.
- FAO, (2025). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Bitkisel üretim verileri. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (erişim tarihi: 12 Temmuz 2025),
- Farr, D F, Rossman, AY. 2015. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.
- Fernández-Ortuño, D., Chen, F., & Schnabel, G. (2013). Resistance to cyprodinil and lack of fludioxonil resistance in *Botrytis cinerea* isolates from strawberry in North and South Carolina. *Plant disease*, 97(1), 81-85.
- Fonseka, D. L., & Gudmestad, N. C. (2016). Spatial and temporal sensitivity of *Alternaria* species associated with potato foliar diseases to demethylation inhibiting and anilino-pyrimidine fungicides. *Plant Disease*, 100(9), 1848-1857.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909–930.
- Glazebrook, J. (2005). Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 43, 205–227.
- Gorji, T., Sertel, E., & Tanik, A. (2017). Monitoring soil salinity via remote sensing technology under data scarce conditions: A case study from Turkey. *Ecological indicators*, 74, 384-391.
- Gudmestad, N. C., Arabiat, S., Miller, J. S., & Pasche, J. S. (2013). Prevalence and impact of SDHI fungicide resistance in *Alternaria solani*. *Plant Disease*, 97(7), 952-960.
- Haverkort, A. (1981). Potato production in Turkey, and its improvement in the Gudalan Valley. *Proceedings of International Potato Center (Region IV) and The Turkish National Potato Research and Training Programme, Menemem, Turkey*, 35.
- Holm, A. L., Rivera, V. V., Secor, G. A., & Gudmestad, N. C. (2003). Temporal sensitivity of *Alternaria solani* to foliar fungicides. *American Journal of Potato Research*, 80(1), 33-40.
- Hou, Y. P., Chen, Y. L., Wu, L. Y., Wang, J. X., Chen, C. J., & Zhou, M. G. (2018). Baseline sensitivity of *Bipolaris maydis* to the novel succinate dehydrogenase

- inhibitor benzovindiflupyr and its efficacy. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 149, 81-88.
- Hou, Y. P., Mao, X. W., Wang, J. X., Zhan, S. W., & Zhou, M. G. (2017). Sensitivity of *Fusarium asiaticum* to a novel succinate dehydrogenase inhibitor fungicide pydiflumetofen. *Crop Protection*, 96, 237-244.
- Ishii, H., Zhen, F., Hu, M., Li, X., & Schnabel, G. (2016). Efficacy of SDHI fungicides, including benzovindiflupyr, against *Colletotrichum* species. *Pest Management Science*, 72(10), 1844-1853.
- Karadoğan, T., & Şanlı, A. (2019, April). Patates yetiştiriciliğindeki güncel gelişmeler. 4th International Anatolian Agriculture. In *Food, Environment and Biology Congress* (pp. 20-22).
- Kolsarıcı, Ö. (2011). Endüstri Bitkileri: Nişasta ve Şeker Bitkileri. Tarla Bitkileri (Düzeltilmiş İkinci Baskı), Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, pp. 434-456.
- Lutts, S., Kinet, J. M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of botany*, 78(3), 389-398.
- Mallik, I., Arabiat, S., Pasche, J. S., Bolton, M. D., Patel, J. S., & Gudmestad, N. C. (2014). Molecular characterization and detection of mutations associated with resistance to succinate dehydrogenase-inhibiting fungicides in *Alternaria solani*. *Phytopathology*, 104(1), 40-49.
- Masondo, N. A., Kulkarni, M. G., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2018). Influence of biostimulants-seed-priming on *Ceratotheca triloba* germination and seedling growth under low temperatures, low osmotic potential and salinity stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147, 43-48.
- Michailides, T. J., & Morgan, D. P. (1991). Control of alternative late blight of pistachio by skipping one critical irrigation and by applying organic fungicides. *Calif. Pistachio Industry. Annu. Res. Rep. Crop Year, 1992*, 80-92.
- Milliken, G. A., & Johnson, D. E. (1992). One-way treatment structure in a completely randomized design with heterogeneous errors. *Analysis of messy data*, 1, 16-28.
- Milosevic, N., & Slusarenko, A. J. (1996). Active oxygen metabolism and lignification in the hypersensitive response in bean. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 49(3), 143-158.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410.
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681.
- Najar, R., Aydi, S., Sassi-Aydi, S., Zarai, A., & Abdelly, C. (2019). Effect of salt stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in *Medicago*

truncatula. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 153(1), 88-97.

- Neves, D. L., & Bradley, C. A. (2019). Baseline sensitivity of *Cercospora zeae-maydis* to pydiflumetofen, a new succinate dehydrogenase inhibitor fungicide. *Crop Protection*, 119, 177-179.
- O'Donnell, G. (1993). On the state, democratization and some conceptual problems: A Latin American view with glances at some postcommunist countries. *World development*, 21(8), 1355-1369.
- Okur, B., & Örçen, N. (2020). Soil salinization and climate change. In *Climate change and soil interactions* (pp. 331-350). Elsevier.
- Outwater, C. A., Proffer, T. J., Rothwell, N. L., Peng, J., & Sundin, G. W. (2019). Boscalid resistance in *Blumeriella jaapii*: distribution, effect on field efficacy, and molecular characterization. *Plant disease*, 103(6), 1112-1118.
- Öztürk, E., & Polat, T. (2017). Tohumluk patates yetiştiriciliği ve önemi. *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 32(1), 99-104.
- Pasche, J. S., & Gudmestad, N. C. (2008). Prevalence, competitive fitness and impact of the F129L mutation in *Alternaria solani* from the United States. *Crop Protection*, 27(3-5), 427-435.
- Pasche, J. S., Piche, L. M., & Gudmestad, N. C. (2005). Effect of the F129L mutation in *Alternaria solani* on fungicides affecting mitochondrial respiration. *Plant Disease*, 89(3), 269-278.
- Pasche, J. S., Wharam, C. M., & Gudmestad, N. C. (2004). Shift in sensitivity of *Alternaria solani* in response to QoI fungicides. *Plant disease*, 88(2), 181-187.
- Rainsford, K. D. (2004). *Aspirin and related drugs*. CRC Press.
- Salaman, R. N., & Burton, W. G. (1985). *The history and social influence of the potato*. Cambridge University Press.
- Shafi, A., Zahoor, I., & Mushtaq, U. (2019). Proline accumulation and oxidative stress: Diverse roles and mechanism of tolerance and adaptation under salinity stress. In *Salt Stress, Microbes, and Plant Interactions: Mechanisms and Molecular Approaches: Volume 2* (pp. 269-300). Singapore: Springer Singapore.
- Shah, W. H., Rasool, A., Saleem, S., Mushtaq, N. U., Tahir, I., Hakeem, K. R., & Rehman, R. U. (2021). Understanding the integrated pathways and mechanisms of transporters, protein kinases, and transcription factors in plants under salt stress. *International Journal of Genomics*, 2021(1), 5578727.
- Shaner, G., & Finney, R. E. (1977). The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*, 67(8), 1051-1056.
- Shtienberg, D., Bergeron, S. N., Nicholson, A. G., Fry, W. E., & Ewing, E. E. (1990). Development and evaluation of a general model for yield loss

- assessment in potatoes. *Phytopathology*, 80(5), 466-472.
- Singha, U., & Maezawa, S. (2019). Production, marketing system, storage and future aspect of potato in Bangladesh. *Reviews in Agricultural Science*, 7, 29-40.
- Şenol, S. (1970). Türkiye ziraatında patatesin önemi, yeri ve gelişme imkânları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1(3), 106-116.
- Tamura, K., Nei, M., & Kumar, S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(30), 11030-11035.
- Thomas, A., Langston Jr, D. B., & Stevenson, K. L. (2012). Baseline sensitivity and cross-resistance to succinate-dehydrogenase-inhibiting and demethylation-inhibiting fungicides in *Didymella bryoniae*. *Plant disease*, 96(7), 979-984.
- Tsuyama, M., Ogawa, S., Ogawa, K., Igarashi, T., & Koizumi, E. (2023). Development of 'Poroshiri', a chip processing potato variety with golden cyst nematode and common scab resistance. *Breeding Science*, 73(3), 343-348.
- TÜİK, (2025). Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=t r> (erişim tarihi: 10 Temmuz 2025).
- Türkölmez, Ş., Çiftçi, O., Canihoş, E., Serçe, Ç. U., & Derviş, S. (2015). Phytophthora Crown and Root Rot of Apricot Caused by *Phytophthora palmivora* in Turkey. *Journal of Phytopathology*, 163(6), 498-502.
- Uranbey, S., Akdoğan, G., Ahmed, H. A. A., Köm, D., & Koçak, N. Patateste Tuz Stresi Altında In Vitro Mikro Yumru Üretimine Yönelik Karbon Kaynağı Tiplerinin Etkinliklerinin Araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(1), 48-53.
- van der Waals, J. E., Korsten, L., & Slippers, B. (2004). Genetic diversity among *Alternaria solani* isolates from potatoes in South Africa. *Plant Disease*, 88(9), 959-964.
- Varela, A. L. N., Oliveira, J. T. A., Komatsu, S., Silva, R. G. G., Martins, T. F., Souza, P. F. N., ... & Silveira, J. A. G. (2019). A resistant cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) genotype became susceptible to cowpea severe mosaic virus (CPSMV) after exposure to salt stress. *Journal of proteomics*, 194, 200-217.
- Villani, S. M., Ayer, K., & Cox, K. D. (2016). Molecular characterization of the *sdhB* gene and baseline sensitivity to penthiopyrad, fluopyram, and benzovindiflupyr in *Venturia inaequalis*. *Plant Disease*, 100(8), 1709-1716.
- Wasternack, C., & Hause, B. (2013). Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *An update to the 2007 review in Annals of Botany*. *Annals of Botany*, 111(6), 1021-1058.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. (1990). Amplification and

- direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322.
- Wong, F. P., & Wilcox, W. F. (2002). Sensitivity to azoxystrobin among isolates of *Uncinula necator*: Baseline distribution and relationship to myclobutanil sensitivity. *Plant Disease*, 86(4), 394-404.
- Woudenberg, J. H. C., Seidl, M. F., Groenewald, J. Z., De Vries, M., Stielow, J. B., Thomma, B. P., & Crous, P. W. (2015). *Alternaria* section *Alternaria*: Species, formae speciales or pathotypes?. *Studies in mycology*, 82(1), 1-21.
- Yang, S. L., & Chung, K. R. (2012). The NADPH oxidase-mediated production of hydrogen peroxide (H₂O₂) and resistance to oxidative stress in the necrotrophic pathogen *Alternaria alternata* of citrus. *Molecular plant pathology*, 13(8), 900-914.
- Yellareddygar, S. K. R., Pasche, J. S., Taylor, R. J., & Gudmestad, N. C. (2016). Individual participant data meta-analysis of foliar fungicides applied for potato early blight management. *Plant Disease*, 100(1), 200-206.
- Yellareddygar, S. K. R., Taylor, R. J., Pasche, J. S., Zhang, A., & Gudmestad, N. C. (2018). Predicting potato tuber yield loss due to early blight severity in the Midwestern United States. *European journal of plant pathology*, 152(1), 71-79.