

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



***Mi-1.2* GENİNİN SAĞLADIĞI DAYANIKLILIKTA ROL ALAN GENLERİN
Meloidogyne incognita'YA KARŞI TRANSKRİPSİYON SEVİYELERİNİN
qRT-PCR İLE ARAŞTIRILMASI**

Tevfik ÖZALP

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



***Mi-1.2* GENİNİN SAĞLADIĞI DAYANIKLILIKTA ROL ALAN GENLERİN
Meloidogyne incognita'YA KARŞI TRANSKRİPSİYON SEVİYELERİNİN
qRT-PCR İLE ARAŞTIRILMASI**

Tevfik ÖZALP

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ 2021

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Mi-1.2* GENİNİN SAĞLADIĞI DAYANIKLILIKTA ROL ALAN GENLERİN
Meloidogyne incognita'YA KARŞI TRANSKRİPSİYON SEVİYELERİNİN
qRT-PCR İLE ARAŞTIRILMASI**

Tevfik ÖZALP

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FDK-2020-5298 nolu proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ 2021

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Mi-1.2* GENİNİN SAĞLADIĞI DAYANIKLILIKTA ROL ALAN GENLERİN
Meloidogyne incognita'YA KARŞI TRANSKRİPSİYON SEVİYELERİNİN
qRT-PCR İLE ARAŞTIRILMASI**

Tevfik ÖZALP
BİTKİ KORUMA
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez/...../2021 tarihinde jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN(Danışman)

Prof. Dr. İbrahim Halil ELEKCİOĞLU

Prof. Dr. Uğur GÖZEL

Doç. Dr. Engin YOL

Doç. Dr. Cengiz İKTEN

ÖZET

***Mi-1.2* GENİNİN SAĞLADIĞI DAYANIKLILIKTA ROL ALAN GENLERİN *Meloidogyne incognita*'YA KARŞI TRANSKRİPSİYON SEVİYELERİNİN qRT-PCR İLE ARAŞTIRILMASI**

Tevfik ÖZALP

Doktora Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN

Temmuz 2021; 97 sayfa

Kök-ur nematodları, domateste verim ve kalite kaybına neden olan zararlılardan biridir. Domateste *Mi-1.2* geni, en yaygın kök-ur nematodu türleri olan *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria*'ya karşı dayanıklılık sağlamaktadır. Ancak, *Mi-1.2* virulent popülasyonların giderek yaygınlaşması bu genin etkinliğini ciddi ölçüde sınırlandırmaktadır.

Nematodun beslenmeye başladığı bölgede nematod ve bitki arasında uyumlu ve uyumsuz ilişkisinde birçok genin ifadesinde değişimler gözlenmektedir. *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılıkta birçok gen etkili olmaktadır. Bu genlerin nematod enfeksiyon sürecindeki ifade düzeylerinin bilinmesi mücadele stratejilerinin geliştirilmesinde önemli olabilecektir. Bu tez kapsamında *Mi-1.2* geni ile birlikte dayanıklılıkla ilgili olduğu düşünülen *PR-1a*, *PR-2*, *PR-5*, *WRKY72a*, *WRKY72b*, *WRKY45*, *WRKY3*, glycogenin glucosyltransferase, *HsfA1a*, *Hsp90* ve peroksidaz genleri ile çalışılmıştır. Bu genleri taşıyan dayanıklı ve duyarlı domates bitkilerinin *Meloidogyne incognita*'nın *Mi-1.2*-virulent (V30) ve avirulent (S6) izolatlarına tepkisi sonucu gen ifadelerindeki değişim qRT-PCR ile araştırılmıştır. *Mi-1.2* geninin ekspresyon miktarını belirlemek için kullanılan FjMi-1.2 primeriyle inokulasyondan sonra 2. günde, ToMi-1.2 primeriyle ise 5. günde kontrol grubu ve inokulasyon yapılmış bitkiler arasında farklılık bulunmuştur. *Mi-1.2* virulent ve avirulent izolatları karşı bitkilerin *Mi-1.2* için elde edilen ΔCT değerleri arasında istatistiki önemde farklılık görülmemiştir. Dayanıklı ve hassas domates bitkilerindeki *PR-1a* geninin ΔCT değerleri *M. incognita*'nın *Mi-1.2* virulent ve avirulent izolatına göre değişim göstermemiştir. *PR-2* geninin hassas bitkideki ifadesi nematod inokulasyonundan sonra 3. güne kadar azalmış daha sonra artmaya başlamış buna karşın dayanıklı bitkide ise günlere ve izolata göre değişiklik göstermemiştir. *PR-5* geninin ifadesi hassas bitkide nematod inokulasyondan sonra 5. güne kadar artış göstermiş, dayanıklı bitkide ise *Mi-1.2* virulent izolatın inokulasyonundan 3 gün sonra artış göstermiştir. *SIWRKY72a*, *SIWRKY72b*, *SIWRKY45* ve *SIWRKY3* genlerinin *M. incognita*'nın *Mi-1.2* virulent ve avirulent izolatları ile inokulasyonu yapılmış dayanıklı bitkileri ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol grubu bitkilerinden aynı gün içerisinde elde edilen ΔCT değerleri arasında farklılık bulunmamıştır. Hassas domates çeşidinde nematod inokulasyonundan sonra ilk 5 gün içerisinde *SIWRKY72a* geninin ΔCT değerleri, kontrol bitkisiyle istatistiki önemde farklılık göstermemiştir. *M. incognita*'nın avirulent ve *Mi-1.2* virulent izolatlarla inokulasyonu yapılan hassas

bitkilerde *SIWRKY72b* ve *SIWRKY3* genleri için inokulasyondan 2 gün sonra, *SIWRKY45* için 4 gün sonra elde edilen Δ CT değerleri arasında önemli farklılık görülmüştür. Glycogenin glucosyltransferase ve *HsfA1a* genlerinin, hassas ve dayanıklı bitkilerde *M. incognita*'nın avirüent ve *Mi-1.2* virüent izolatları ile inokulasyonundan sonra uyarılmadığı görülmüştür. *Hsp90* geninin ifadesi *M. incognita*'nın *Mi-1.2* virüent izolat ile inokulasyon yapılmış dayanıklı bitkide inokulasyondan sonra 4. ve 5. günlerde artış göstermiş ancak hassas bitkilerde bu durum gözlemlenmemiştir. Peroksidaz geninin hassas bitkideki ifadesi, *M. incognita*'nın avirüent ve *Mi-1.2* virüent izolatlarının inokulasyonu yapıldıktan 2 gün sonra en yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Dayanıklı bitkide ise avirüent izolat inokulasyonu yapılan bitkilerdeki ifade düzeyi *Mi-1.2* virüent izolat inokulasyonu yapılan bitkilerden daha düşük bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlar, PR genlerinin hassas domates bitkisindeki nematodlara karşı bazal savunmada rol alabileceğini göstermektedir. Bu tez çalışmasının *Mi-1.2* geninin virüent popülasyonlara karşı daha uzun süre başarılı şekilde kullanılması için temel bilimsel bilgilerin oluşturulmasına imkan verebileceği düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Avirüent, Domates, *Meloidogyne incognita*, *Mi-1.2* geni, qRT-PCR, Transkripsiyon, Virüent

JÜRİ: Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN

Prof. Dr. İbrahim Halil ELEKCİOĞLU

Prof. Dr. Uğur GÖZEL

Doç. Dr. Engin YOL

Doç. Dr. Cengiz İKTEN

ABSTRACT

qRT-PCR INVESTIGATION OF TRANSCRIPTION LEVELS OF GENES INVOLVED IN THE RESISTANCE PROVIDED BY Mi-1.2 GENE AGAINST *Meloidogyne incognita*

Tevfik ÖZALP

PhD Thesis in Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN

July 2021; 97 pages

Root-knot nematodes are one of the pests that cause yield and quality loss in tomatoes. In tomato, *Mi-1.2* gene confers resistance against the most common root-knot nematode species, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria*. However, the increasing prevalence of *Mi-1.2* virulent populations severely limits the effectiveness of this gene.

In the site where the nematode begins to feed, changes are observed in the expression of many genes in compatible and incompatible relationship between the nematode and the plant. Many genes are effective in the resistance provided by the *Mi-1.2* gene. Knowing the expression levels of these genes in the nematode infection process might be important in the development of management strategies. In this thesis, beside *Mi-1.2* gene, *PR-1a*, *PR-2*, *PR-5*, *WRKY72a*, *WRKY72b*, *WRKY45*, *WRKY3*, glycogenin glucosyltransferase, *HsfA1a*, *Hsp90* and peroxidase genes, which are thought to be related to resistance, were studied. Changes in gene expressions as a result of the response of resistant and susceptible tomato plants carrying these genes to *Mi-1.2*-virulent (V30) and avirulent (S6) isolates of *Meloidogyne incognita* were investigated with qRT-PCR. A difference was found between the control group and inoculated plants on the 2nd day after inoculation with the FjMi-1.2 primer sets used to determine the expression level of the *Mi-1.2* gene, and on the 5th day with the ToMi-1.2 primer sets. There was no statistically significant difference between the ΔCT values obtained for *Mi-1.2* of plants versus *Mi-1.2* virulent and avirulent isolates. The ΔCT values of the *PR-1a* gene in resistant and susceptible tomato plants did not change compared to the *Mi-1.2* virulent and avirulent isolate of *M. incognita*. The expression of the *PR-2* gene in the susceptible plant decreased until the 3rd day after nematode inoculation and then started to increase, however, in the resistant plant, it did not change according to the days and the isolate. The expression of the *PR-5* gene increased up to 5 days after nematode inoculation in susceptible plant, whereas it increased 3 days after inoculation of *Mi-1.2* virulent isolate in resistant plant. There was no difference between the ΔCT values of *SIWRKY72a*, *SIWRKY72b*, *SIWRKY45* and *SIWRKY3* genes obtained in the same day from resistant plants inoculated with *Mi-1.2*-virulent and avirulent isolates of *M. incognita* and control plants without nematode inoculation. The ΔCT values of the *SIWRKY72a* gene in the first 5 days after

nematode inoculation in susceptible tomato cultivars did not differ statistically from the control plant. In susceptible plants inoculated with avirulent and *Mi-1.2* virulent isolates of *M. incognita*, a significant difference was observed between the ΔCT values obtained 2 days after inoculation for *SIWRKY72b* and *SIWRKY3* genes and 4 days for *SIWRKY45*. It was observed that glycogenin glucosyltransferase and *HsfA1a* genes were not stimulated after inoculation with avirulent and *Mi-1.2* virulent isolates of *M. incognita* in susceptible and resistant plants. Expression of the *Hsp90* gene increased on days 4 and 5 after inoculation in resistant plant inoculated with *Mi-1.2* virulent isolate of *M. incognita*, but this was not observed in susceptible plants. Expression of peroxidase gene in susceptible plant was determined at the highest level 2 days after inoculation of avirulent and *Mi-1.2* virulent isolates of *M. incognita*. In the resistant plant, the expression level in the plants infected with avirulent isolate was lower than the plants inoculated with *Mi-1.2* virulent isolate.

The results show that PR genes may be involved in basal defense against nematodes in susceptible tomato plants. It is thought that this thesis study will enable the establishment of basic scientific information for the successful use of the *Mi-1.2* gene against virulent populations for a longer period.

KEYWORDS: Avirulent, *Meloidogyne incognita*, *Mi-1.2*, qRT-PCR, Tomato, Transcription, Virulent

COMMITTEE: Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN

Prof. Dr. İbrahim Halil ELEKCİOĞLU

Prof. Dr. Uğur GÖZEL

Assoc. Prof. Dr. Engin YOL

Assoc. Prof. Dr. Cengiz İKTEN

ÖNSÖZ

Domates (*Solanum lycopersicum* L.), kökeni Güney Amerika olan 3000'den fazla türü içeren Solanaceae familyasına ait en önemli sebzelerden biridir. Domateste verim ve kalitede düşüşe neden zararlılardan biri olan kök ur nematodları, döl süresinin kısa olması, üreme potansiyelinin yüksek olması ve mücadelesinin zor ve pahalı olması nedeniyle ekonomik öneme sahiptir. *Mi-1.2* geni domateste kök -ur nematodlarına karşı dayanıklılık sağlayan dominant bir gendir. Bu tez kapsamında *Meloidogyne incognita*'nın *Mi-1.2* virü lent ve avirü lent izolatlarına karşı, *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılıkta etkili olduğu düşünölen genlerin transkripsiyon miktarları SYBR Green I kullanılarak qRT-PCR tekniğıyle araştırılmıştır.

Doktora öğrenimim boyunca ilgisini ve desteğini esirgemeyen, tez çalışmam için gerekli ortamı ve olanakları sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Zübeyir DEVRAN'a

Doktora tez sürecim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaştıkları, önerileriyle tezimin zengileşmesine katkı sağladıkları için Tez İzleme Komitesi Üyeleri Sayın Doç. Dr. Engin YOL ve Sayın Doç. Dr. Cengiz İKTEN'e

Doktora sürecim boyunca yanımda olan ve her zaman yardımlarını esirgemeyen Dr. İbrahim MISTANOĞLU'na, Dr. Elvan Sert ÇELİK'e, Zir. Müh. Gonca Könöl'e, Zir. Yük. Müh. Gülsüm UYSAL'a, Ziraat Müh. Ahmet Kaan AKSAN'a, Zir. Yük. Müh. Mustafa ÇATALKAYA'ya ve Ziraat Yük. Müh. Seren SARGIN'a

Tez çalışmalarında kullanılan fidelerin temin edilmesine sağladıkları katkılardan dolayı Multi Tohum Tar. San. Tic. A.Ş.'ne ve Yüksel Tohum Tar. San. ve Tic. A. Ş.'ne,

qRT-PCR çalışmaları için gerekli altyapı olanığını sağlayan M.Y. Genetik Genetik Tarım Teknoloji Laboratuvar Tic. Ltd. Şti.'ne ve aynı laboratuvarda yürütölen çalışmalardaki desteklerinden dolayı sayın Fatmana DOĞAN'a

Real-time PCR çalışmalarında vermiş olduğı teknik destekten dolayı Bahtiyar YILMAZ'a

Öğrenim hayatımca boyunca her zaman yanımda olan annem Fatma ÖZALP'e, babam Halil ÖZALP'e ve kardeşim Tezcan ÖZALP'e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	4
2.1. Domates Bitkisinin Orijini ve Önemi	4
2.2. Bitki Paraziti Nematodlar.....	5
2.2.1. Kök-ur nematodları	5
2.2.1.1. Kök-ur nematodlarının biyolojisi, beslenme ve zarar şekli	5
2.2.1.2. Kök-ur nematodları ile mücadele.....	6
2.2.1.3. <i>Mi-1.2</i> geni	8
2.2.1.4. PR Proteinleri	10
2.2.1.5. WRKY Transkripsiyon Faktörleri.....	14
2.2.1.6. <i>Hsp90</i> şaperonu ve RAR1 ile SGT1 koşaperonları.....	16
2.2.1.7. Reaktif oksijen türleri.....	17
2.2.1.8. Glycogenin glucosyltransferase	19
2.3. qRT-PCR.....	20
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Materyal	21
3.1.1 Bitki materyali.....	21
3.1.2. Nematod materyali	21
3.2. Metot	21
3.2.1. Bitki materyalinde <i>Mi-1.2</i> geninin patolojik olarak doğrulanması	21
3.2.2. Bitki materyalinde <i>Mi-1.2</i> geninin moleküler olarak doğrulanması	22
3.2.2.1. DNA izolasyonu.....	22
3.2.2.2. PCR çalışması	22
3.2.3 Kök-ur nematodu izolatlarının saf kültür popülasyonlarının oluşturulması ..	23

3.2.4. <i>Meloidogyne incognita</i> popülasyonlarının moleküler olarak doğrulanması	23
3.2.4.1. DNA izolasyonu	23
3.2.4.2. PCR çalışması	23
3.2.5. Nematod izolatlarının çoğaltılması	24
3.2.6. Denemelerin dizaynı	25
3.2.7. Bitkilerin inokulasyonu	27
3.2.8. RNA izolasyonu	28
3.2.9. RNA miktarının ölçülmesi ve sabitlenmesi	28
3.2.10. RNA'lerden cDNA sentezi	28
3.2.11. qRT-PCR Çalışmaları	29
3.2.11.2. qRT-PCR çalışması	31
3.2.5. Sonuçların analizi	32
3.2.6. qRT-PCR ürünlerinin kontrolü	32
4. BULGULAR	33
4.1. <i>Mi-1.2</i> Geni Tarafından Sağlanan Dayanıklılığın Patolojik Olarak Doğrulanması	33
4.2. <i>Mi-1.2</i> Geninin Moleküler Analizi	33
4.3. <i>Meloidogyne incognita</i> İzolatlarının Moleküler Tanımlanması	34
4.4. Nematod İnokulasyonlarının Kontrolü	34
4.5. İzole Edilen RNA'ların Agoroz Jelde Görüntülenmesi	35
4.6. DNA Kontaminasyonunun Kontrolü	35
4.7. İzole Edilen RNA Miktarının Ölçümü	36
4.8.1. Erime eğrisi pikleri	38
4.8.2. qRT-PCR ürünlerinin kontrolü	40
4.8.3. Dayanıklı bitkilerdeki qRT-PCR analizleri	41
4.8.3.1. <i>Mi-1.2</i> geni	41
4.8.3.2. <i>PR-1a</i> geni	44
4.8.3.3. <i>PR-2</i> geni	45
4.8.3.4. <i>PR-5</i> geni	46
4.8.3.5. <i>SIWRKY72a</i> geni	47
4.8.3.6. <i>SIWRKY72b</i> geni	48
4.8.3.8. <i>SIWRKY3</i> geni	51

4.8.3.9. Glycogenin glucosyltransferase geni	52
4.8.3.10. <i>HsfA1a</i> geni	54
4.8.3.11. <i>Hsp90</i> geni	55
4.8.3.12. Peroxidase Geni	56
4.8.4. Hassas bitkilerdeki qRT-PCR	57
4.8.4.1. <i>Mi-1.2</i> geni	57
4.8.4.2. <i>PR-1a</i> geni.....	60
4.8.4.3. <i>PR-2</i> geni.....	61
4.8.4.4. <i>PR-5</i> geni.....	62
4.8.4.5. <i>SIWRKY72a</i> geni.....	63
4.8.4.6. <i>SIWRKY72b</i> geni.....	64
4.8.4.7. <i>SIWRKY45</i> geni.....	66
4.8.4.8. <i>SIWRKY3</i> geni.....	67
4.8.4.9. Glycogenin glucosyltransferase geni	68
4.8.4.10. <i>HsfA1a</i> geni.....	70
4.8.4.11. <i>Hsp90</i> geni	71
4.8.4.12. Peroxidase geni	72
5. TARTIŞMA	74
6. SONUÇLAR	78
7. KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “*Mi-1.2* Geninin Sağladığı Dayanıklılıkta Rol Alan Genlerin *Meloidogyne incognita*'ya Karşı Transkripsiyon Seviyelerinin qRT-PCR ile Araştırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

01/07/2021

Tevfik ÖZALP



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Santigrad derece
~	: Yaklaşık
dk	: Dakika
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
ng	: Nanogram
sn	: Saniye
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
µM	: Mikromolar

Kısaltmalar

APX	: Askorbat Peroksidaz
Bp	: Baz çifti
CAT	: Katalaz
cDNA	: Komplementer DNA
DHAR	: Dehidroaskorbat Redüktaz
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
dNTP	: Deoxynucleotide Triphosphate
ETI	: Effector-triggered immunity
GPX	: Guaiacol Peroksidaz

GR	: Glutatyon Redüktaz
HsfA	: A sınıfı ısı şok faktörü
HSP90	: Heat Shock Protein 90
IBA	: İndol-3-Bütirik Asit
ISR	: Induced Systemic Resistance
J1	: 1. dönem larva
J2	: 2. dönem larva
J3	: 3. dönem larva
J4	: 4. dönem larva
Kb	: Kilobaz
MDHAR	: Monodehidroaskorbat Redüktaz
mRNA	: Messenger RNA
NADPH	: Oksidaz: nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz
NO	: Nitrik Oksit
NOX	: NADPH Oksidaz
Örn	: Örnek
PAMP	: Pathogen-associated molecular patterns
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PR	: Pathogenesis-related
PTI	: PAMP-triggered immunity
qPCR	: Kantitatif PCR
qRT-PCR	: Kantitatif RT-PCR
RAR1	: Require for <i>Mla12</i> resistance
RBOH	: Respiratory Burst Oxidase h Homolog
RNA	: Ribonucleic Acid

ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RT-PCR	: Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction
SAR	: Systemic Acquired Resistance
SGT1	: Suppressor of G2 allele of <i>skp1</i>
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TMV	: Tobacco Mosaic Virus



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. a) Mikroskop altında J2'lerin sayımı, b) Bitkilere nematod inokulasyonunun yapılması.....	28
Şekil 4.1. Mi23F ve Mi23R primerleriyle elde edilen PCR ürünleri.....	34
Şekil 4.2. MincF ve MincR primerleriyle elde edilen PCR ürünleri	34
Şekil 4.3. RNA'ların agaroz jeldeki görüntüsü.....	35
Şekil 4.4. Mi23 primeri ile elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüsü.	36
Şekil 4.5. SIWRKY3 geni için erime pikleri a) 58°C ve b) 60°C	38
Şekil 4.6. Referans genlerin erime pikleri a) GAPDH ve b) Ef-1a.....	40
Şekil 4.7. qRT-PCR ürünlerinin agaroz jelde görüntüsü	40
Şekil 4.8. Dayanıklı domates bitkisinde FjMi-1.2 primeriyle <i>Mi-1.2</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	42
Şekil 4.9. Dayanıklı domates bitkisinde ToMi-1.2 primeriyle <i>Mi-1.2</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	44
Şekil 4.10. Dayanıklı domates bitkisinde PR1 primeriyle <i>PR-1a</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	45
Şekil 4.11. Dayanıklı domates bitkisinde PR2 primeriyle <i>PR-2</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	46
Şekil 4.12. Dayanıklı domates bitkisinde PR5 primeriyle <i>PR-5</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	47
Şekil 4.13. Dayanıklı domates bitkisinde SIW72a primeriyle <i>SIWRKY72a</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	48
Şekil 4.14. Dayanıklı domates bitkisinde SIW72b primeriyle <i>SIWRKY72b</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	49
Şekil 4.15. Dayanıklı domates bitkisinde SIW45 primeriyle <i>SIWRKY45</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	51
Şekil 4.16. Dayanıklı domates bitkisinde SIW3 primeriyle <i>SIWRKY3</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	52
Şekil 4.17. Dayanıklı domates bitkisinde Gly primeriyle Glycogenin glucosyltransferase geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi.....	53
Şekil 4.18. Dayanıklı domates bitkisinde HsfA primeriyle <i>HsfA1a</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	54

Şekil 4.19. Dayanıklı domates bitkisinde Hsp90 primeriyle <i>Hsp90</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	56
Şekil 4.20. Dayanıklı domates bitkisinde Pex primeriyle peroxidase geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	57
Şekil 4.21. Hassas domates bitkisinde FjMi-1.2 primeriyle <i>Mi-1.2</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	58
Şekil 4.22. Hassas domates bitkisinde ToMi-1.2 primeriyle <i>Mi-1.2</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	59
Şekil 4.23. Hassas domates bitkisinde PR1 primeriyle <i>PR-1a</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	60
Şekil 4.24. Hassas domates bitkisinde PR2 primeriyle <i>PR-2</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	62
Şekil 4.25. Hassas domates bitkisinde PR5 primeriyle <i>PR-5</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	63
Şekil 4.26. Hassas domates bitkisinde SIW72a primeriyle <i>SIWRKY72a</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	64
Şekil 4.27. Hassas domates bitkisinde SIW72b primeriyle <i>SIWRKY72b</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	65
Şekil 4.28. Hassas domates bitkisinde SIW45 primeriyle <i>SIWRKY45</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	67
Şekil 4.29. Hassas domates bitkisinde SIW3 primeriyle <i>SIWRKY3</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	68
Şekil 4.30. Hassas domates bitkisinde Gly primeriyle glycogenin glucosyltransferase geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	69
Şekil 4.31. Hassas domates bitkisinde HsfA primeriyle <i>HsfA1a</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	70
Şekil 4.32. Hassas domates bitkisinde Hsp90 primeriyle <i>Hsp90</i> geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	71
Şekil 4.33. Hassas domates bitkisinde Pex primeriyle peroxidase geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi	73

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Günümüze kadar tanımlanmış PR proteinleri aileleri, özellikleri ve sembolleri (Van Loon vd. 2006).	12
Çizelge 3.1. Mi23F ve Mi23R primerleriyle yapılan PCR içeriği ve miktarları.....	22
Çizelge 3.2. Mi23F ve Mi23R primelerinde kullanılan PCR programı.....	23
Çizelge 3.3. MincF ve MincR primerleriyle yapılan PCR içeriği ve miktarları.....	24
Çizelge 3.4. MincF ve MincR için kullanılan PCR programı.....	24
Çizelge 3.5. qRT-PCR çalışmasında RNA izolasyonu yapılan bitkilerin adlandırılması.....	26
Çizelge 3.6. Bitkilerin dayanıklılığı ve nematod izolatlarının virulensliği için deneme planı	27
Çizelge 3.7. EvoScript Universal cDNA Master Kit (Roche) kiti kullanılarak cDNA sentezi için bileşenler ve miktarları	29
Çizelge 3.8. cDNA sentezi için kullanılan PCR programı.....	29
Çizelge 3.9. qRT-PCR çalışmalarında kullanılan genler ve primer dizileri	30
Çizelge 3.10. SYBR Green I ile yapılan qPCR reaksiyonu bileşenleri ve miktarları.....	31
Çizelge 3.11. Primerlerin optimizasyonu için kullanılan qRT-PCR programı.....	31
Çizelge 4. 1. S6 izolatu ile inokulasyon yapılmış domateslerde oluşan yumurta kümesi ve ur sayıları.....	33
Çizelge 4.2. S6 ve V30 ile inokulasyon yapılmış domates bitkilerinin ur ve yumurta kümesi sayıları	35
Çizelge 4. 3. İzole edilen RNA'ların konsantrasyonları ve absorbans değerleri	36
Çizelge 4. 4. qRT-PCR kullanılan primerlerin bağlanma sıcaklıkları	39
Çizelge 4. 5. Primerlerin çoğalttığı bölgelerin DNA uzunluğu	41
Çizelge 4.6. Dayanıklı domates bitkisinde FjMi-1.2F/FjMi-1.2R primeriyle <i>Mi-1.2</i> geninin ifadesinde elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	42
Çizelge 4.7. Dayanıklı domates bitkisinde ToMi-1.2F/ ToMi-1.2R primeriyle <i>Mi-1.2</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	43
Çizelge 4.8. Dayanıklı domates bitkisinde PR1F/PR1R primeriyle <i>PR-1a</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	44
Çizelge 4.9. Dayanıklı domates bitkisinde PR2F/PR2R primeriyle <i>PR-2</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	45
Çizelge 4.10. Dayanıklı domates bitkisinde PR5F/PR5R primeriyle <i>PR-5</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	46
Çizelge 4.11. Dayanıklı domates bitkisinde SIW72aF/SIW72aR primeriyle <i>SIWRKY72a</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	48
Çizelge 4.12. Dayanıklı domates bitkisinde SIW72bF/SIW72bR primeriyle <i>SIWRKY72b</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	49

Çizelge 4.13. Dayanıklı domates bitkisinde SIW45F/SIW45R primeriyle <i>SIWRKY45</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	50
Çizelge 4.14. Dayanıklı domates bitkisinde SIW3F/SIW3R primeriyle <i>SIWRKY3</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	51
Çizelge 4.15. Dayanıklı domates bitkisinde GlyF/GlyR primeriyle glycogenin glucosyltransferase geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	53
Çizelge 4.16. Dayanıklı domates bitkisinde HsfAF/HsfAR primeriyle <i>HsfAla</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	54
Çizelge 4.17. Dayanıklı domates bitkisinde Hsp90F/ Hsp90R primeriyle <i>Hsp90</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	55
Çizelge 4.18. Dayanıklı domates bitkisinde PexF/PexR primeriyle peroxidase geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	56
Çizelge 4.19. Hassas domates bitkisinde FjMi-1.2F/ FjMi-1.2R primeriyle <i>Mi-1.2</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	58
Çizelge 4.20. Hassas domates bitkisinde ToMi-1.2F/ ToMi-1.2R primeriyle <i>Mi-1.2</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	59
Çizelge 4.21. Hassas domates bitkisinde PR1F/ PR1R primeriyle <i>PR-1a</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	60
Çizelge 4.22. Hassas domates bitkisinde PR2F/ PR2R primeriyle <i>PR-2</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	61
Çizelge 4. 23. Hassas domates bitkisinde PR5F/ PR5R primeriyle <i>PR-5</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	62
Çizelge 4. 24. Hassas domates bitkisinde SIW72aF/ SIW72aR primeriyle <i>SIWRKY72a</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	63
Çizelge 4.25. Hassas domates bitkisinde SIW72bF/ SIW72bR primeriyle <i>SIWRKY72b</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	65
Çizelge 4.26. Hassas domates bitkisinde SIW45F/ SIW45R primeriyle <i>SIWRKY45</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	66
Çizelge 4.27. Hassas domates bitkisinde SIW3F/ SIW3R primeriyle <i>SIWRKY3</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	67
Çizelge 4.28. Hassas domates bitkisinde GlyF/ GlyR primeriyle glycogenin glucosyltransferase geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	69
Çizelge 4.29. Hassas domates bitkisinde HsfAF/ HsfAR primeriyle <i>HsfAla</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	70

Çizelge 4.30. Hassas domates bitkisinde Hsp90F/ Hsp90R primeriyle <i>Hsp90</i> geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	71
Çizelge 4.31. Hassas domates bitkisinde PexF/ PexR primeriyle peroxidase geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri.....	72



1. GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicum* L.), kökeni Güney Amerika olan çok fazla türü kapsayan Solanaceae familyasına ait en önemli sebze türlerinden biridir (Knapp 2002). Domates patatesten sonra en çok üretilen sebzedir. 2019 yılında dünya çapında yaklaşık 5 milyon ha üretim alanında 180 milyon ton domates üretimi gerçekleştirilmiştir (Anonim 1). Domates üretim miktarlarına göre Türkiye, Çin ve Hindistan'dan sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Anonim 1).

Domates, taze meyvelerinin tüketiminin yanı sıra, salça, çorba, meyve suyu, kurutulmuş ve sos gibi işlenmiş ürün olarak da yaygın olarak kullanılmaktadır (Krauss vd. 2006; Seybold vd. 2004). İçeriğindeki vitaminler, karotenoidler ve fenolik bileşikler dahil olmak üzere sağlığa faydalı çeşitli bileşikler ile insan beslenmesinde önemli bir yeri vardır (Tonucci vd. 1995; Liu vd. 2016; Wang ve Seymour 2017). Domates tüketimi, enflamatuvar süreçler, kanser, hipertansiyon, diyabet obezite ve koroner kalp hastalığına yakalanma riskinde azalma ile ilişkilendirilmiştir (Canene-Adams vd. 2005).

Domateste verim kaybına ve kalitede düşüşe neden olan birçok zararlı ve hastalık bulunmaktadır. Obligat endoparazit olan kök-ur nematodları [*Meloidogyne* spp. Goeldi, 1887 (Tylenchida: Meloidogynidae)] domateste ciddi zarara neden olmaktadır (Bleve-Zacheo vd. 2007). Kök-ur nematodları geniş bir konukçu dizisine sahiptir (Sasser 1980; Karssen ve Moens 2006). Ayrıca dünya üzerinde çok geniş bir yayılım alanı bulunan bu zararlılar, döl süresinin kısa olması, üreme potansiyelinin yüksek olması ve mücadelesinin zor ve pahalı olması nedeniyle ekonomik öneme sahiptir (Karssen ve Moens 2006; Nyczepir ve Thomas 2009; Abad ve Williamson 2010).

Kök-ur nematodlarının ikinci dönem larvaları (J2), konukçusunun kök ucuna yakın bölgeden giriş yaparak hücreler arasında hareket edip floemden yukarıya doğru ilerlerler ve beslenme yerine ulaşırlar (Wyss vd 1992; Karssen ve Moens 2006). Beslenmeye başlayan J2'ler kendilerini sabitler ve stiletlerini yardımıyla yaklaşık 5-7 hücrede beslenirler (Williamson ve Hussey 1996; Williamson 1998; Abad vd. 2003, Caillaud vd. 2008; Abad ve Williamson 2010). Kök-ur nematodlarının beslendikleri hücrelerde sitoplazma daha yoğun hale gelmekte, metabolik aktivite ve mitokondri sayısı artmaktadır (Jones 1981; Karssen ve Moens 2006). Dev hücreler adı verilen bu özelleşmiş hücreler 100 kata kadar genişleyebilmekte, 100 çekirdekli hale gelebilmekte ve içerdiği DNA miktarı 14-16 kat artabilmektedir (Williamson ve Hussey 1996; Abad vd. 2003). Hücrelerde meydana gelen bu büyüme sonucu kök yüzeyinde çıplak gözle tespit edilebilen şişlikler oluşmakta ve bunlar gal ya da ur olarak adlandırılmaktadır (Williamson ve Hussey 1996). Oluşan urlar nedeniyle su ve besin maddelerinin alınımı azalmakta, bitki üst aksamında sararma, solma, bodurlaşma ve bunların sonucunda verimde azalma gözlenmektedir (Williamson 1998; Schomaker ve Been 2006; Abad ve Williamson 2010). Kök-ur nematodları, kendi beslenmeleri sonucu verdikleri zararın yanı sıra kökte açtıkları yaralardan toprak kökenli patojenlerin enfeksiyonunu arttırarak ve bitkilerin kısa sürede ölümüne neden olmaktadır (Atkinson 1892; Lambert ve Bekal 2002; Chawla vd. 2012).

Türkiye’de günümüze kadar *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949, *M. hapla* Chitwood 1949, *M. chitwoodi* Golden, O'Bannon, Santo & Finley 1980, *M. luci* Carneiro et al., 2014, *M. artiellia* Franklin 1961, *M. exigua* Goeldi 1892, *M. thamesi* Chitwood 1952 olmak üzere 9 kök-ur nematodu türü tanımlanmıştır (Ertürk ve Özkut 1973; Yüksel 1974; Kepenekçi vd. 2002; Özarslandan vd. 2009; İmren vd. 2014; Aydın ve Mennan 2016).

Kök-ur nematodlarının sebzelerde %50-80 oranında ürün kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Siddiqi 1986). Kaşkavalı ve Öncüer (1999), Batı Anadolu’da kök-ur nematodlarının bulaşıklık yoğunluğuna bağlı olarak domateste %9.86 ile %80.59 oranında verim kaybına neden olduğunu gözlemlemiştir.

Kök-ur nematodları ile mücadele, kültürel, fiziksel, biyolojik ve kimyasal yöntemlerle yapılmaktadır (Gheysen vd. 1996; Nyczepir ve Thomas 2009). Dayanıklı çeşit kullanımı ise nematodlarla mücadelede etkin, iş gücü gerektirmeyen, çevre dostu bir mücadele yöntemi olması nedeniyle öne çıkmaktadır (Boerma ve Hussey 1992; Williamson 1998). Domateste kök-ur nematodlarına dayanıklılık sağlayan birçok gen (*Mi-1*, *Mi-2*, *Mi-3*, *Mi-4*, *Mi-5*, *Mi-6*, *Mi-7*, *Mi-8* ve *Mi-9*) tanımlanmış olsa da kök-ur nematoduna dayanıklı ticari çeşitler *Mi-1.2* genini taşımaktadır (Ammati vd. 1986; Cap vd. 1993, Yaghoobi vd. 1995, Veremis ve Roberts 1996a, Veremis ve Roberts 1996b, Milligan vd. 1998; Ammiraju vd. 2003; Seid vd. 2015). *Mi-1* geninin kullanımı kök-ur nematodlarıyla mücadelede en yaygın ve etkin yöntemlerden birisi olsa da dayanıklı bitki üzerinde beslenebilme ve üreyebilme yeteneği gösteren *Mi-1* virulent popülasyonlar giderek artmaktadır (Tzortzakakis ve Gowen 1996; Roberts 2002; Devran ve Söğüt 2010).

Dayanıklılık mekanizmasının çalışabilmesi için bitkide bulunan dayanıklılık geni (*R*) ile patojenin avirulenslik geni (*Avr*) proteinlerinin birbirine uyum sağlaması gerekmektedir (Flor 1955). Ancak bitkideki farklı genlerin de hem bazal savunma hem de gene bağlı dayanıklılığın ortaya çıkmasında etkili veya gerekli olduğu görülmüş ve buna bağlı olarak “guard hipotezi” ortaya atılmıştır (Dangl ve Jones 2001; Kaloshian 2004).

Son yıllarda birçok araştırmacı nematodlara karşı bitki savunmasında görev alan genleri araştırmış ve PR genleri ile WRKY transkripsiyon faktörlerinin bitki bağışıklığı üzerinde etkisi olabileceğini göstermiştir (Bhattaria vd. 2010; Seiml-Buchinger vd. 2018; Chinnapandi vd. 2019). Ayrıca bazı WRKY transkripsiyon faktörlerinin, HSP90, HsfA1a ve Glycosyltransferase genlerinin *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılık için gerekli olabileceği gösterilmiştir (Bhattaria vd. 2010; Atamian vd. 2012; Bhattarai vd. 2007; Zhou vd. 2018). Ancak bu genlerin *Mi-1.2* virulent popülasyonların enfeksiyonunda ne şekilde rol oynadığına dair bilgi bulunmamaktadır.

Bu tezin amacı; *Mi-1.2* geni taşıyan dayanıklı domates çeşidinde dayanıklılık üzerinde rol oynadığı düşünülen genlerin *M. incognita*’nın *Mi-1.2* virulent ve avirulent izolatlarına karşı ne şekilde tepki verdiği araştırmaktır. Bu kapsamda a) *Mi-1.2* geni

taşıyan dayanıklı ve hassas domates çeşitlerinin avirü lent ve *Mi. I.2* virü lent *M. incognita* izolatlarına verdiği tepkiler karşılaştırılmış ve *Mi-I.2* geninin ifadesi incelenmiş, b) *Mi-I.2* geninin sağladığı dayanıklılıkta rol aldığı düşünölen glycogenin glucosyltransferase, peroksidase, *SIWRKY72a*, *SIWRKY72b*, *SIWRKY45*, *PR-1a*, *PR-2*, *PR-5* *Hsp90-1* ve *HsfA1a* genlerinin ifadesi mRNA düzeyinde incelenmiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Domates Bitkisinin Orijini ve Önemi

Domates (*Solanum lycopersicum* L.) Solanaceae familyasına aittir. Solanaceae familyası; biber, patlıcan, patates, biber gibi ekonomik önemi yüksek sebze türlerini içermektedir. *Solanum* spp. Solanaceae familyasının en büyük cinsini oluşturmaktadır (Bergougnoux 2014).

1753'te Linnaeus, ilk kez *Solanum* cinsindeki domatesleri *S. lycopersicum* adı altında sınıflandırmıştır. Domatesin cinsi ve tanımı uzun bir süre tartışma konusu olmuştur (Peralta ve Spooner 2007). Moleküler bilgilerin kullanımı, Solanaceae familyasının filogenetik sınıflandırmasının revizyonunu sağlamış ve *Lycopersicon* cinsi, *Solanum* cinsine yeniden dahil edilmiş ve 200 yıl önce Linnaeus'un isimlendirmesine dönmüştür (Bergougnoux 2014).

Domatesin anavatanı, Güney Amerika'nın batı kısmında bulunan Şili, Peru, Ekvador ve Galapagos adasıdır (Darwin vd 2003; Peralta vd. 2005). And dağlarının deniz seviyesinden 3300 m yüksekliğe kadarki bölgelerinde ve farklı iklim koşullarında yabani domates türleri yetişebilmektedir (Peralta ve Spooner 2007).

Domatesin Avrupa'ya gelişi 16 yüzyılda gerçekleşmiştir (Peralta ve Spooner 2007). Domatesin Avrupa'da yemeklerde yaygın olarak kullanılması 18. yüzyılda İtalya'da başlamıştır (Boswell 1937). Yüksek adaptasyon yeteneğine sahip olması, tarla ve örtü altında yetiştirilebilmesi, meyvelerinin endüstri tarafından salça, ketçap, konserve, püre, domates suyu gibi çeşitli şekillerde işlenebilmesi, domatesi neredeyse her yerde üretilen ve tüketilen bir meyve haline gelmesine sebep olmuştur (Abak 2016). Kuzey Avrupa ülkeleri, Kanada, Yeni Zelanda gibi ülkelerde bile örtü altında domates üretimi gerçekleştirilmektedir (Peralta ve Spooner 2007).

Türkiye önemli bir sebze üreticisi ülke konumundadır. 2020 yılında 805.159 dekarlık örtü altı üretim alanında 8.519.754 ton ürün alınmıştır. Bu örtü altı üretiminin 7.771.766 tonunu sebze üretimi oluşturmaktadır. Örtü altı sebze üretiminde en büyük pay ise 4.099.129 ton ile domates üretimine aittir. 2020 yılında toplam 13.204.015 ton domates üretimi ile şimdiye kadarki en yüksek domates üretim verisi elde edilmiştir. Domates üretiminde en büyük miktar 8.656.435 ton ile sofralık domates üretimindeyken, salçalık domates üretimi 4.547.580 ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK 2021).

Domateste verim düşüşüne ve ekonomik kayıplara neden olan birçok biyotik ve abiyotik faktörler bulunmaktadır. Birçok bakteriyel, fungal, viral etmen, böcekler ve akarların yanı sıra bitki paraziti nematodlar da domateste verimin düşmesine neden olan etmenler arasındadır (Bergougnoux 2014).

2.2. Bitki Paraziti Nematodlar

Nematoda şubesi yaklaşık 25.000 tür içeren ve yeni türlerin bulunmaya devam edildiği geniş bir gruptur (Abad ve Williamson 2010). Dünyadaki popülasyon olarak en çok bulunan Metazoa nematodlardır (Decraemer ve Hunt 2006; Anonymous 1). Nematodların, hareketleri ve aktif ömürleri neme bağlıdır ve bu nedenle toprak nemi, bağıl nem ve diğer çevresel faktörler nematodun hayatta kalmasını doğrudan etkilemektedir (Decraemer ve Hunt 2006).

Nematoda şubesinin büyük kısmını oluşturan serbest yaşayan türler, bakteri ve funguslarla beslenir ve toprakta, denizde ve tatlı sularda bulunurlar (Perry ve Moens 2011). Topraktaki serbest yaşayan nematodlar, besin dönüşümüne dahil oldukları için faydalıdır; ayrıca kirliliğin izlenmesi için gösterge türler olarak kullanılabilirler (Höss ve Williams 2009). Serbest yaşayan bu türlerin dışında, predatör nematodlar ve hayvanlarda veya bitkilerde parazit olan nematod türleri de bulunmaktadır (Abad ve Williamson 2010).

Günümüze kadar 4.100 bitki paraziti nematod türü tanımlanmıştır (Decraemer ve Hunt 2006). Bitki paraziti nematodların dünya çapında yapmış oldukları ekonomik zararın yıllık 100 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir (Anonymous 1).

Bitki paraziti nematodlar, beslenme şekillerine göre ektoparazitik, endoparazitik, yarı endoparazitik ve gezici ekto-endoparazitik olmak üzere dört farklı grup altında değerlendirilmektedir (Hunt vd. 2005). Dünyada ekonomik olarak en çok ekonomik olarak zarar yapanlar ise sabit endoparazitik olarak beslenen gruptur. Bu beslenme davranışına sahip nematodlar, beslenme yerine kendini sabitletler ve bir daha hareketli döneme geçmezler. En önemli nematod cinsleri olan kist nematodları ve kök-ur nematodları sabit endoparazitik olarak beslenen nematodlardır (Lambert ve Bekal 2002). Kök-ur nematodları, tek başlarına dünyadaki tüm ürünlerden elde edilen toplam mahsülün %5'nin kaybindan sorumludurlar (Anonymous 1).

2.2.1. Kök-ur nematodları

Kök-ur nematodları, Nematoda şubesinin, Secernentea sınıfındaki, Tylenchia alt sınıfında yer alan Tylenchida takımındaki Meloidogynidae familyasında yer almaktadır (Hunt 1993; Siddiqi 2000).

Kök-ur nematodları *Meloidogyne* cinsi içerisinde yer alan obligat bitki parazitleridirler. *Meloidogyne* kelimesi köken olarak yunancadan gelmekte olup, elmaya benzeyen dişi anlamındadır (Moens vd. 2009). *Meloidogyne* türleri dünyaya yayılmış olup neredeyse tüm bitki türlerinde beslenebilmektedirler (Karssen ve Moens 2006).

2.2.1.1. Kök-ur nematodlarının biyolojisi, beslenme ve zarar şekli

Kök-ur nematodlarının ikinci dönem larvaları (J2) ve erkek bireyleri ince uzun ipliksi yapıda, dişi bireyleri ise limon şeklindedir (Jepson 1987). *Meloidogyne* ismi dişilerin bu şekilden gelmektedir (Karssen ve Moens 2006).

Kök-ur nematodları birinci larva dönemlerini (J1) yumurta içinde geçirmekte, yumurtadan J2 döneminde çıkmaktadırlar (Siddiqi 2000; Abad ve Williamson 2010). Yumurta içinde J2 geliştiğinde enzim aktivitesi nedeniyle yumurta kabuğu esnekleşerek nematodların yumurtadan çıkabilmesine uygun hale gelmektedir (Karssen ve Moens, 2006). Bitkiye giriş yapıp enfeksiyona neden olabilme yeteneği yalnızca J2’lerde bulunmaktadır (Abad ve Williamson 2010). Yumurtadan çıkan J2’ler genellikle kök ucuna yakın bölgeden bitkiye giriş yaparlar (Karssen ve Moens 2006). Bitki köküne giriş yapan larvalar daha sonra hücreler arası boşluklarda hareket ederek kök ucuna yönelirler ve daha sonra meristem dokuya giriş yapıp floemden yukarıya doğru ilerleyerek beslenme bölgesine ulaşırlar (Wyss vd. 1992). Beslenmeye başlayan J2’ler kendilerini sabitlemler ve beslenmeleri sonucunda dev hücreler meydana gelir (Williamson 1998, Abad ve Williamson 2010). Dev hücrelerde meydana gelen hiperplasma sonucu kök yüzeylerinde meydana gelen şişkinlikler, gal ya da ur olarak isimlendirilmektedir. (Williamson ve Hussey 1996). J3 ve J4 dönemlerinde iplik formunu kaybedip şişmeye başlayan kök-ur nematodlarında sitilet fonksiyonunu kaybeder ve beslenme görülmez (Siddiqi 2000; Karssen 2002; Jones vd 2013). J4’den sonra ergin bireyler meydana gelir. Limon ya da armut şeklindeki dişiler kökte sabittirler ve beslenmeye devam ederler (Siddiqi 2000; Miyashita vd. 2014).

Dişi bireyler 6 büyük rektal bezlerinden salgıladıkları koruyucu özellikteki jelatin matriks içine yumurtalarını bırakırlar (Williamson 1998; Siddiqi 2000; Curtis 2007; Abad ve Williamson 2010). Bir *Meloidogyne* dişisi, konukçusuna ve çevre koşullarına göre günde 30-80 yumurta bırakabilmektedir (Karssen ve Moens 2006). İpliksi formdaki erkek bireyler kökten ayrılıp toprağa geçerler, toprakta serbest yaşarlar ve beslenmezler (Siddiqi 2000). *Meloidogyne* spp., 26-27°C toprak sıcaklığında, yaşam döngüsünü yaklaşık 28 günde tamamlamaktadır (Bleve-Zacheo vd. 2007).

2.2.1.2. Kök-ur nematodları ile mücadele

Kök-ur nematodlarının dünya çapında yayılış göstermesi, birçok türünün bir yetiştirme sezonunda fazla döl vermesi, yüksek doğurganlığa sahip olması, bitkilerin iletim demetlerinde beslenmeleri ve geniş konukçu dizisine sahip olmaları onların en zararlı bitki paraziti nematod olmasına neden olmaktadır. Bulaşık bir arazide kök-ur nematodlarıyla mücadele edilmemesi durumunda nematod yoğunluğu verimin düşmesine neden olan ekonomik zarar düzeyine ulaşabilir. Ayrıca nematod enfeksiyonu ikincil patojenlerin enfeksiyonuna neden olarak bitkinin kısa sürede ölmesine yol açabilmektedir (Nyczepir ve Thomas 2009).

Kimyasal nematisitlerin keşfi, nematod kontrolü için uygun maliyetli ve genellikle etkili bir araç sağlamıştır (Boerma ve Hussey 1992). Kimyasal nematisitler, çevresel ve ekolojik olarak tehlikeli olmalarına rağmen geçtiğimiz yüzyılda nematod kontrolüne hâkim olmuştur (Chen ve Dickson 2004; Halbrendt ve LaMondia 2004). Artan çevresel farkındalık ve nematisitler konusundaki diğer endişeler, çeşitli nematisitlerin askıya alınmasına ve yasaklanmasına neden olmuştur (Chen ve Dickson 2004). Bu nedenle yeni nesil nematisitlerin geliştirilmesi konusunda çalışmalar yapılmaktadır.

Nematodlarla mücadelede, kimyasal mücadele yanında, dayanıklı çeşitlerin kullanılması, biyolojik kontrol ajanları, ürün rotasyonu, tuzak bitkilerin kullanımı, toprak işleme ve solarizasyon uygulamaları yapılmaktadır (Nyczepir ve Thomas 2009).

Solarizasyon, şeffaf plastik naylon kullanılarak toprak sıcaklığının artırılması ile toprak kökenli patojenlerin, yabancı otların ve nematodların kontrol altına alınmasını amaçlayan bir yöntemdir (Katan 1980; 1981). Solarizasyon yaz aylarında uygulanmakta ve genellikle güz ekimlerinde oldukça başarılı sonuçlar vermektedir (Çatalkaya ve Devran 2019). Ancak, ilkbahar dikimlerinde veya yılda iki ürün yetiştirilen seralarda uygulanamaması olumsuz bir özelliğidir (Devran 2006). Nematodlara karşı biyolojik mücadele, parazitlik, avcılık, rekabet ve antibiyoz yollarıyla sağlanır. Örneğin, *Pasteuria penetrans* kök nematodlarına karşı baskılayıcı potansiyeli yüksek bir biyolojik kontrol ajanıdır (Chen ve Dickson 2004). Nematodları en yüksek baskılama potansiyeline sahip mikrobiyal gruplar; nematod yumurtalarını enfekte eden patojenik funguslar (örn. *Paecilomyces lilacinus*), rizobakteriler (örn. *Pseudomonas fluorescens*), antagonist etkiye sahip funguslar, endofitik funguslar (örn. *Glomus mosseae*) ve obligat parazitik (örn. *Pasteuria penetrans*) bakterilerdir (Whipps ve Davies 2000). *Pasteuria penetrans*'ın bitki paraziti nematodlarını baskılamadaki rolü, birçok ürün üzerinde test edilmiştir (Chen ve Dickson 1998). *Pasteuria penetrans*'ın, *Meloidogyne* spp.'nin patlıcan, domates, buğday, tütün, soya fasulyesi, fasulye, biber, fiğ, salatalık, yer fıstığı, çavdar, nohut, kivi, üzüm ve bamya üzerindeki zararını baskıladığı bildirilmiştir. Ancak tüm bu olumlu özelliklerinin yanında biyolojik mücadelenin uygulanmasında bazı sınırlayıcı faktörlerde bulunmaktadır (Lamovšek vd. 2013). Ayrıca biyolojik ajanların etkinliğinin artırılması için mikroorganizmaların farklı çevresel koşullardaki aktivitesi ve uygulama yöntemleri konusunda daha detaylı çalışmaların yapılmasına gereksinim duyulmaktadır (Whipps ve Davies 2000; Chen ve Dickson 2004).

Dayanıklı çeşit kullanımı, *Meloidogyne* türlerini kontrol etmek için ekonomik ve çevre açısından güvenli bir yöntemdir. Nematod popülasyon seviyelerini düşürmesi ve nematodlar tarafından ürün zararını önlemesi dayanıklı çeşitlerin temel özellikleridir (Seid vd. 2015). Nematodlar, bitki savunma tepkilerini bastırmak, bir beslenme bölgesi oluşturmak ve konukçu metabolizmasını kontrol etmek için bitki hücre dışı boşluğa ve hedeflenen hücrelerine bir protein kokteyli ve efektörler olarak bilinen diğer metabolitleri enjekte ederler. Konukçu bitki olmak için gerekli özelliklere sahip bitkiler, hücrelerine verilen efektörleri tanıyabildiklerinde kaynaklarının nematodlar tarafından manipülasyonunu önlemek için etkili bir şekilde yanıt verdiklerinde uyumsuz ilişki meydana gelir (Kaloshian vd. 2011).

Kök-ur nematodlarına karşı dayanıklılık birçok farklı bitki türünde rapor edilmiştir ancak ticari çeşitlerde kullanımı sınırlı kalabilmektedir (Cook 2004). *Mi-1.2* geni, en sık görülen üç kök-ur nematod türüne (*M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria*) karşı etkili dayanıklılık sağladığı için şu anda en iyi karakterize edilmiş ve en yaygın kullanılan dayanıklılık genidir (Williamson 1998).

2.2.1.3. *Mi-1.2* geni

Mi-1.2 geni, ilk olarak yabancı domates türü olan *Solanum peruvianum*'da tespit edilmiştir (Bailey 1941). *Solanum peruvianum*, klasik ıslah yöntemleri kullanılarak *S. lycopersicum* ile melezlenemediğinden dolayı, embriyo kurtarma tekniği kullanılarak hibrit bitki elde edilmiştir (Smith 1944). *Mi-1.2* geni taşıyan dayanıklı domates bitkisinin köklerine giriş yapan kök-ur nematodları, beslenme bölgesi oluşturamamaktadır (Milligan vd 1998). Beslenme bölgesi oluşturmak için sitiletini soktuğu hücrelerin hemen yanında aşırı duyarlılık reaksiyonu (hipersensitif reaksiyon) gerçekleşmektedir. Uyumsuz ilişkinin sonucu meydana gelen hipersensitif reaksiyonun ilk belirtileri, nematodun bitkiyi inokulasyonundan yaklaşık olarak 12 saat sonra görülebilmektedir (Dropkin vd. 1969b; Milligan vd. 1998; Bird ve Kaloshian 2003). Hipersensitif reaksiyon sayesinde nematodlar beslenme bölgesi oluşturmadan ölmektedir (Verdejo-Lucas vd. 2012).

Mi-1.2 geni domatesin 6. kromozomunun kısa kolunda haritalanmıştır (Medina-Filho 1980; Milligan vd. 1998). 650 kb'lık bölgede 7 homolog gen olarak bulunmaktadır. Homolog genlerin (pseudogenler hariç) dizileri arasında %94.7-%96.7 oranında benzerlik bulunmaktadır (Seah vd 2007a). Homolog genlerle yapılan çalışmalar sonucunda, dayanıklılığın yalnızca *Mi-1.2* tarafından sağlandığı gösterilmiştir (Milligan vd. 1998). *Mi-1.2*'in kodladığı sitoplazmik protein 1257 amino asitten oluşmaktadır. *Mi-1.2*'in dayanıklılık gen motifi NBS-LRR olarak tanımlanmıştır (Milligan vd. 1998; Hwang ve Williamson 2003).

Mi-1.2 geni, dünyada ve ülkemizde en yaygın görülen *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria*'ya karşı dayanıklılık sağladığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Türkiye'de son yıllarda tespit edilen ve özellikle sebze üretim alanlarındaki yaygınlığı artmakta olan *M. luci*'ye karşı da *Mi-1.2*'nin dayanıklılığı sağladığı bildirilmiştir (Aydınlı 2018; Aydınlı ve Mennan 2019). Gabriel vd. (2020), Brezilya popülasyonları üzerinde yaptığı testleme çalışmaları sonucunda *Mi-1.2* geninin *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria*'nın yanı sıra *M. ethiopica*, *M. exigua*, *M. hispanica*, *M. inornata*, *M. izalcoensis*, *M. konaensis*, *M. luci*, *M. moroccensis*, *M. paranaensis* ve *M. petuniae*'ye karşı da dayanıklılık sağladığını bildirmiştir.

Mi-1.2 geni kök-ur nematodları dışında pamuk beyazsineğinin [*Bemisia tabaci* (Gennadius); (Hemiptera: Aleyrodidae)] B ve Q biyotiplerine (Nombela vd. 2003) (Nombela vd. 2003), patates afidine [*Macrosiphum euphorbiae* (Thomas); (Hemiptera; Aphididae)] (Rossi vd. 1998; Vos vd. 1998) domates psillidine [*Bactericerca cockerelli* (Sulc); (Hemiptera: Triozidae)] (Casteel vd. 2006) dayanıklılık sağlamaktadır.

Avantajlarının yanı sıra *Mi-1.2* geninin etkinliğini sınırlayan 3 faktör bulunmaktadır. Bunlar; yoğun nematod popülasyonu, yüksek toprak sıcaklığı ve *Mi-1.2* virulent popülasyonlardır. Özalp vd. (2018), *M. incognita*'nın yoğun popülasyonlarının *Mi-1.2* geninin performansı üzerinde baskılayıcı etkisi olduğunu göstermiştir. Dropkin (1969a), *Mi-1.2* geninin 28°C'nin üstündeki toprak sıcaklığında etkisini kaybettiğini bildirmiştir. Özalp ve Devran (2018), 32°C toprak sıcaklığına 48 saat ve daha uzun süre maruz kalan bitkilerde *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılığın kırıldığını gözlemlemiştir.

Mi-1.2 geni taşıyan domates bitkilerinde hassas bitkilerde olduğu gibi beslenip çoğalabilen ve zarar yapabilen popülasyonlar *Mi-1.2* virulent olarak adlandırılmaktadır. *Mi-1.2* geni taşıyan domates bitkisinde beslenip çoğalamayan popülasyonlar ise *Mi-1.2* avirulent olarak tanımlanmaktadır. *Mi-1.2* virulent popülasyonlar ilk kez 1952’de Kaliforniya’da tespit edilmiştir (Allen 1952). Daha sonra dünyanın farklı yerlerinde *Mi-1.2* virulent popülasyonların varlığı rapor edilmiştir (Roberts ve Thomason 1986; Berthou vd. 1989; Tzortzakakis ve Goven 1996; Eddaoudi vd. 1997; Ornat vd. 2001; Iberkleid vd. 2014). *Mi-1.2* virulent popülasyonların Türkiye’de de bulunduğunu ilk kez Devran ve Söğüt (2010) tespit etmişlerdir. Aydın ve Mennan (2019), yapmış oldukları sorveyde 37 *M. luci* popülasyonundan 4’ünün *Mi-1.2* virulent özellik gösterdiğini bildirmiştir. Bu çalışmayla *M. luci*’nin *Mi-1.2* virulent popülasyonunun varlığı dünyada ilk kez ülkemizde tespit edilmiştir.

Konukçu bitkilerde kök–ur nematodlarına dayanıklılığı sağlayan genlere karşı (*R* geni) nematodda avirulenslik geninin (*Avr* geni) bulunduğu bildirilmiştir (Williamson 1999). Gen-için-gen teorisine göre dayanıklılık durumunun (konukçu-patojen arasındaki uyumsuz ilişki) ortaya çıkabilmesi için konukçu bitkide bulunan dayanıklılık geni ile patojende bulunan avirulenslik geni ürünlerinin birbirlerine uyum sağlaması gereklidir (Flor 1955). *Avr* gen ürününün spesifik olarak tanınması, bitki dayanıklılık geni ürünü, bitki savunmasını harekete geçiren bir sinyal iletim zincirini tetikler. Gen-için-gen teorisi dayanıklılığın başlangıç mekanizmasının aşırı basitleştirilmiş halidir ve konukçu patojen etkileşiminin açıklanması için bir basamak oluşturmıştır (Dangl ve Jones 2001). Bu teorinin yetersiz kalması nedeniyle “guard hipotezi” ortaya atılmıştır. Bu hipoteze göre yalnızca *R* ve *avr* genlerinin etkileşimi bitki patojen arasındaki uyumsuz ilişkinin ortaya çıkması için yeterli olmayıp patojenin efektörleri ile etkileşime girecek bitki hedef proteinlerine (target protein) de ihtiyaç duyulmaktadır (Dangl ve Jones 2001). Dayanıklılığın ortaya çıkabilmesi için konukçuda bulunan hedef gen(ler) *avr* geni ile etkileşime girerek *R* proteininin bağlanmasını sağlayacak konformasyonel değişikliğe yol açar. *R* proteininin bu hedef proteine veya komplekse bağlanması, dayanıklılık yanıtını tetiklemektedir (Kaloshian 2004). Martinez de Ilarduya vd. (2001), *Mi-1.2* geninin dayanıklılık sağlayabilmesi için *Rme-1* lokusunun gerekli olduğunu bulmuştur. *Rme-1*’in nematod ve domatesin efektör moleküllerinin tanışmasında hedef protein olarak rol oynadığı düşünülmektedir (Martinez de Ilarduya vd. 2004). *Rme-1* geninin susturulması durumunda domates bitkisi kök-ur-nematodunu tanıyamamakta ve böylece nematod beslenmeye devam etmektedir (Kaloshian 2004).

Nematod enfeksiyonları hem duyarlı hem de dayanıklı domates köklerinde büyük transkripsiyonel değişikliklere neden olur. Uyumlu etkileşimler (compatible interaction) sırasındaki transkripsiyonel değişiklikler hakkında zengin bilgi bulunmasına rağmen, uyumsuz konukçu-nematod etkileşimleri (incompatible interaction) sırasında işleyen transkripsiyonel değişiklikler ve savunma sinyal yolları tam olarak anlaşılamamıştır (Kaloshian vd. 2011). Guard hipotezinin kabul görmesiyle bitkilerdeki farklı proteinlerin dayanıklılık üzerindeki etkisi araştırılmaya başlanmıştır.

2.2.1.4. PR Proteinleri

Mikroorganizmalara karşı genel dayanıklılık yapısal ve kimyasal bariyerler ile indüklenebilir savunma mekanizmaları tarafından sağlanır. Önceden oluşturulmuş yapısal bariyerler arasında kütin içeren kutikula tabakası, mumlarla kaplanmış esterleştirilmiş yağ asitlerinin kompleks bir polimeri ve hücre duvarındaki lignin depoları bulunur. Kimyasal bariyerler ise fitoantisipinler olarak adlandırılan antimikrobiyal bileşenlerden oluşur (Ferreira vd. 2007). Bu bariyerler birçok mikroorganizmanın enfeksiyonunu engellemede ilk etkindir. Bu bariyerler, bir ilk savunma hattı oluşturur ve çoğu mikroorganizmanın enfeksiyonunu önleyebilir. Ancak bu durum tüm patojenlere karşı yeterli değildir. Bu nedenle bitkiler fiziksel ve kimyasal bariyerlere ek olarak, patojen saldırısı üzerine aktive olan indüklenebilir savunma mekanizmalarına sahiptir. İndüklenebilir savunma mekanizmaları arasında hücre duvarı çapraz bağlanması, hipersensitif yanıt ve eşzamanlı reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu, fitoaleksinler, tanenler ve fenolik bileşikler gibi ikincil metabolitlerin birikimi ve PR proteinlerinin (Pathogenesis-Related proteins) üretimini içermektedir (Van Loon vd. 1994; Hammond-Kosack ve Jones 1996).

PR proteinleri terimi, en az iki bitki patojen kombinasyonu sonucu oluşan patolojik durumda ya da ilişkili durumda konukçu tarafından kodlanan proteinleri tanımlamak için kullanılır. İlişkili durumlar ise; patojen saldırısının etkisini taklit eden kimyasalların uygulanması (örnek: bitki hormonları etilen, jasmonik asit ve salisilik asit) ve bitki dokusundaki yaralanmalardır. Çünkü enfeksiyon esnasında biriken bazı proteinler yaralanma sonrasında da artış göstermektedir. PR proteinlerinin sağlıklı bitki dokularında bulunmadığı yahut bazal konsantrasyonda tespit edilebildiği düşünülmekteydi (Van Loon ve Van Strien 1999) ancak daha sonra spesifik PR genlerinin bazen patojen saldırısına maruz kalmamış, sağlıklı bitkilerde de bulunabildiği tespit edilmiştir (Van Loon vd. 2006). Konukçu tarafından kodlanan PR genleri yalnızca enfekteli dokuda bulunmakla kalmaz, enfeksiyona bağlı olarak SAR mekanizmasının gelişmesiyle ilişkili olarak sistemik olarak indüklenir ve bitkinin sağlıklı dokularında da bulunur (Van Loon ve Van Strien 1999).

PR proteinleri ilk kez 1970 yılında TMV'ye (Tobacco Mosaic Virus) karşı hipersensitif reaksiyon yanıtı veren tütün yapraklarında tespit edilmiştir ve başlangıçta “b proteinleri” olarak adlandırılmıştır (Van Loon ve Van Kammen 1970; Gianinazzi vd. 1970). PR proteini kavramı ilk kez 1980 yılında kullanılmıştır ve b proteinleri terimi yerine PR proteinleri terimi kullanılmaya başlanmıştır (Antoniw vd. 1980). Daha sonra bu kavram, konukçu bitki tarafından kodlanan ve viral, fungal, bakteriyel enfeksiyonlar, bitki paraziti nematodlar veya herbivor böceklerin saldırısı sonucu veya ilişkili durumlarda indüklenen proteinler için kullanılmaya başlanmıştır (Ferreira vd. 2007). Daha sonra enfeksiyonla ilişkili durumlarda kodlanan proteinler için “PR-benzeri” proteinler (PR-like proteins, PRLs) kavramı kullanılmıştır. Ancak PRL terimi, bilim çevreleri tarafından benimsenmemiştir, çünkü PR'lerin bazen sağlıklı dokularda mevcut olduğu ve var olan PRL seviyelerinin patojen enfeksiyondan sonra arttığı tespit edildiğinde PR'ler ve PRL'ler arasındaki ayrım belirsizleşmiştir (Van Loon vd. 2006).

SAR mekanizması, salisilik asit birikmesine bağlıdır, ancak jasmonik asit veya etilene bağlı değildir. ISR ise jasmonik asit ve etilenin algılanmasını gerektirir, ancak bu düzenleyici bileşiklerin seviyelerinde artışla ilişkili değildir. Bu sinyallerden herhangi birinin seviyelerinde artış meydana geldiğinde, PR'ler enfekte bitkilerde tespit edilebilir hale gelir. PR'lerin bu farklı sinyaller tarafından çeşitli düzeylerde indüklendiği gösterilmiştir. Sonuç olarak, mikrobiyal uyarım üzerine üretilen sinyallerin karışımının bitkinin tepkisinin büyüklüğünü ve enfeksiyonu önleme etkinliğini belirlediği görülmektedir (Van Loon ve Van Strien 1999). ISR tarafından sağlanan korumanın seviyesi genellikle SAR esnasında sağlanan korumadan genellikle daha düşüktür (Van Loon 1997). PR'lerin SAR ile ilişkisi, PR birikiminin dayanıklılığın uyarılması için bir ön koşul olmadığı, ancak PR'lerin enfeksiyona karşı gelişen koruyucu duruma katkıda bulunduğu hipotezine yol açmıştır (Van Loon ve Van Strien 1999).

Günümüze kadar 17 adet PR proteini ailesi tanımlanmıştır (Çizelge 2.1). Aileler, keşfedildikleri sıraya göre numaralandırılmıştır. Özellikle fungal hastalıkların sınırlandırılmasında etkili olabileceği düşünülen PR-2 ailesi β -1,3-endoglukanazlar olarak ve PR-3, -4, -8 -11'in endokitinazlar olarak tanımlanmıştır. Kitinazlar ve proteinaz inhibitörleri (PR-6), nematodları ve zararlı böcekleri de etkili olabileceği düşünülmektedir. PR-8 ailesinin üyeleri lizozim aktivitesine sahiptir ve bakterilere karşı yönlendirilebilirler, defensinler (PR-12) ve tiyoninler (PR-13) geniş antibakteriyel ve antifungal aktivitelere sahiptir. Bazı lipid transfer proteinleri (PR-14), antifungal ve antibakteriyel aktiviteler göstermektedir. PR-1 üyeleri ve thaumatin benzeri PR-5 aileleri, oomisetlere karşı aktivite ile ilişkilendirilmiştir. Özellikle, öne çıkan PR-1 proteinleri genellikle patojen kaynaklı sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR) tarafından sağlanan gelişmiş savunma durumunun belirteçleri olarak kullanılır, ancak biyolojik aktiviteleri belirsiz kalmıştır (Van Loon vd. 2006).

Çizelge 2.1. Günümüze kadar tanımlanmış PR proteinleri aileleri, özellikleri ve sembolleri (Van Loon vd. 2006)

Aile	Tipi	Özellik	Gen Sembolleri
PR-1	Tütün PR-1a	Bilinmiyor	<i>Ypr1</i>
PR-2	Tütün PR-2	β -1,3-glukanaz	<i>Ypr2</i> , [<i>Gns2</i> (' <i>Glb</i> ')]
PR-3	Tütün P, Q	Kitinaz tip I, II, IV, V, VI, VII	<i>Ypr3</i> , <i>Chia</i>
PR-4	Tütün 'R'	Kitinaz tip I, II	<i>Ypr4</i> , <i>Chid</i>
PR-5	TütünS	Thaumatın-benzeri	<i>Ypr5</i>
PR-6	Domates İnhibitör I	Proteinaz-inhibitörü	<i>Ypr6</i> , <i>Pis</i> (' <i>Pin</i> ')
PR-7	Domates P69	Endoproteinaz	<i>Ypr7</i>
PR-8	Hıyar kitinaz	Kitinaz tip III	<i>Ypr8</i> , <i>Chib</i>
PR-9	Tütün "lignin-forming peroxidase"	Peroksidaz	<i>Ypr9</i> , <i>Prx</i>
PR-10	Maydanoz "PR1"	Ribonucleaz-benzeri	<i>Ypr10</i>
PR-11	Tütün "class V" kitinaz	Kitinaz tip I	<i>Ypr11</i> , <i>Chic</i>
PR-12	Turp Rs-AFP3	Defensin	<i>Ypr12</i>
PR-13	Arabidopsis THI2.1	Thionin	<i>Ypr13</i> , <i>Thi</i>
PR-14	Arpa LTP4	Lipid-transfer protein	<i>Ypr14</i> , <i>Ltp</i>
PR-15	Arpa OxOa (germin)	Oksalat oksidaz	<i>Ypr15</i>
PR-16	Arpa OxOLP	Oksalat oksidaz-benzeri	<i>Ypr16</i>
PR-17	Tütün PRp27	Bilinmiyor	<i>Ypr17</i>

PR genlerinin, bitkinin nematodlara karşı savunma mekanizmasındaki rolünü araştıran çalışmalar bulunmaktadır.

Sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR) salisilik asit birikimi ve bazı PR genlerinin ifadesiyle ilişkilidir. Sanz-Alferez vd. (2008), hassas domates çeşidinde salisilik asit analogları olan INA ve BTH uygulamalarının bitki gelişimine ve nematod enfeksiyonuna etkisini üzerine yaptıkları çalışmada INA ve BTH uygulanmış hassas domates çeşidine (*L. esculentum* cv. Marmande) ait bitkilere 100 adet *M. javanica* larvası inokule etmiş ve *PR-1a*, *PR-1b*, *PR-2*, *PR-3* ve *PR-5* genlerinin ifadesindeki değişiklikleri incelemişlerdir. *PR-1b* ve *PR-2* genlerinin ifadesi elisitör uygulamasından sonra

uyarılmış ancak nematod enfeksiyonundan sonra bu genlerin ifadesi baskılanmıştır. Salisilik asit analogları uygulamasının urlanmayı %25 azalttığı gözlemlenmiştir.

Hamamouch vd. (2011); şeker pancarı kist nematodu (*Heterodera schachtii*) ve *M. incognita*'nın *Arabidopsis thaliana* bitkisini enfeksiyonunun *PR-1*, *PR-2*, *PR-3*, *PR-4* ve *PR-5* genlerinin kök ve yaprak dokularındaki ifade düzeyine etkisini araştırmışlardır. *H. schachtii*'nin enfeksiyonu sırasında, salisilik aside (SA) bağlı sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR) için belirteç olarak kabul edilen *PR-1*, *PR-2* ve *PR-5* genlerinin ekspresyonu kökte ve yaprakta indüklenmiştir. Jasmonik asite bağımlı SAR mekanizması için markör olarak kullanılan *PR-3* ve *PR-4* genlerinin ifadesinin durumuna baktıklarında ise, *H. schachtii* ile enfekteli bitkilerin yapraklarında *PR-3* geninin uyarıldığını *PR-4* geninin ise ifadesinin azaldığını gözlemlemişlerdir. *M. incognita* enfeksiyonu süresince köklerde *PR-1*, *PR-2*, *PR-3* ve *PR-5* genlerinin ifadesi artmış ancak *PR-4* geninin ifadesi ise aynı düzeyde kalmıştır. Bu genlerin tamamının yapraktaki ifadelerinin azaldığı gösterilmiştir.

Molinari vd. (2014), SA ön uygulaması yapılmış ve nematod inokulasyonu (*M. incognita*) gerçekleştirilmiş domates bitkilerinde SA-ilişkili SAR'ın işaretçisi olan *PR-1*, *PR-2* ve *PR-5* genlerinin ifadesini araştırmak üzere yapmış oldukları çalışmada SA uygulanmış bitkilerin hem köklerinde hem filizlerinde *PR-1* ifadesinin arttığını *PR-5*'in ifadesi ise yalnızca köklerde artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Nematod enfeksiyonu, SA uygulanmış ve uygulanmamış bitkilerin hem köklerinde hem de sürgünlerinde ve *Mi-1.2* taşıyan dayanıklı bitkilerin köklerinde PR genlerinde aşağı yönde regülasyon gözlemlemiştir. Ayrıca, enfekte edilmiş dayanıklı bitkilerde, PR gen ekspresyonu (özellikle *PR-1*) sürgünlerde yüksek oranda indüklenmiştir. Bu nedenle, nematod enfeksiyonunun dayanıklı bitkilerin sürgünlerinde SAR'ı ortaya çıkardığını belirlemişlerdir.

Lavrova vd. (2017); duyarlı ve *Mi-1.2* geni taşıyan dayanıklı domates çeşitlerinde *Mi-1.2* avirulent *M. incognita* enfeksiyonu ile birlikte *PR-1* ve *PR-6* genlerinin ekspresyon düzeylerini araştırmışlardır. Enfekte olmamış dayanıklı ve hassas bitkilerde *PR-1* ve *PR-6* genlerinin düşük seviyede ifade edildiğini göstermişlerdir. Dayanıklı bitkilerin enfeksiyonu, incelenen genlerin aktivitesinde, 18. günde maksimuma ulaşan bir artışa neden olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, duyarlı bitkilerin enfeksiyonunun *PR-1* gen aktivitesi üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır, *PR-1* geninin transkriptlerinin birikiminin, kontrol (enfekte edilmemiş) bitkileriyle aynı seviyesinde kaldığı gösterilmiştir. Larvaların beslenme döneminde *PR-6* geninin ekspresyonunun baskılandığı gözlemlenmiştir.

Seiml-Buchinger vd. (2018), *Mi-1.2* geni taşıyan dayanıklı ve hassas domates çeşitlerinde *Mi-1.2*, *PR-1* ve *PR-6* genlerinin *M. incognita* enfeksiyonu sırasındaki ifadelerini ve jasmonik asit uygulamasının bu genlere ve nematodun üreme kapasitesine etkisini araştırmışlardır. Nematod inokulasyonu yapılmamış dayanıklı ve hassas domateslerde, *Mi-1.2*, *PR-1* ve *PR-6* genlerinin ekspresyonunun aynı düzeyde olduğunu tespit etmişlerdir. Dayanıklı bitkilerde nematod enfeksiyonu sırasında *Mi-1.2*, *PR-1* ve *PR-6* genlerinin ifadesinin arttığı ve *M. incognita*'nın üremediği gözlemlenmiştir. Hassas

domates bitkilerinde ise enfeksiyon sırasında bu genlerin ifadesinde bir değişiklik görülmemiş ve nematodlar yüksek düzeyde üremişlerdir. Hassas domates bitkilerine jasmonik asit uygulamasının *Mi-1.2* ve *PR-6* genlerini uyardığı ve *M. incognita*'nın üremesini baskıladığı sonucuna ulaşmışlardır.

Ghahremani vd. (2019), kök-ur nematodlarının yumurtalarını parazitleyen bir fungus türü olan *Pochonia chlamydosporia*'nın M10.43.21 izolatını bulaştırdığı domates bitkilerine bir hafta sonra *M. incognita* J2 inokulasyonu yapmışlar ve nematod inokulasyonundan 0, 7 ve 42 gün sonra *PR-1* geninin, kontrol grubuna göre istatistiki düzeyde daha fazla ifade edildiğini tespit etmişlerdir.

Bozbuga (2020a), *M. incognita* ile bulaştırılmış 25 günlük hassas domates bitkilerine SA uygulamış ve enfeksiyondan 1, 3, 7, 14 ve 21 gün sonra yapraktaki *PR-1* geni ekspresyonunu takip etmiştir. İnokulasyondan 1 gün ve 21 gün sonra SA uygulanmış bitkilerde *PR-1* geninin ifadesi artmıştır. SA uygulaması ve nematod enfeksiyonu bitki yaş ve kuru ağırlığı parametrelerini değiştirmiştir.

Bozbuga (2020b), *M. incognita* ile inokulasyon yapılmış hassas domates bitkilerine SA uygulaması yapmış ve enfeksiyondan 1, 3, 7, 14 ve 21 gün sonra yapraktaki *PR-5* geni ekspresyonunu takip etmiştir. *PR-5* geninin en yüksek ifadesi, SA uygulanmış bitkide inokulasyondan 1 gün sonra gözlemlenmiştir. SA uygulanmamış bitkilerde *PR-5* ifadesi sadece 14. günde yukarı yönde regülasyon göstermiş diğer günlerde ise aşağı yönde regülasyon olduğunu bildirilmiştir.

2.2.1.5. WRKY Transkripsiyon Faktörleri

Bitkiler sıklıkla, optimum gelişime ulaşmalarını ciddi şekilde sınırlandıran ve verim üzerinde büyük bir etkisi olabilecek birçok farklı türde stresle karşılaşır. Bu streslerden bazıları sıcaklık, kuraklık, tuz ve ağır metal stresi gibi abiyotik stres faktörleridir (Bai vd. 2018; Boyer 1982). Buna karşılık, biyotik stres faktörleri, bitkileri besin kaynağı olarak kullanan böcek, nematod, viral, bakteriyel ve fungal etmenlerle etkileşimini içermektedir (Wang vd. 2016). Şimdiye kadar, abiyotik streslere karşı bitki toleransında yer alan çok sayıda transkripsiyon faktörü incelenmiştir (Wang vd. 2016). Çevresel uyaranların algılanması üzerine, sinyalleşme ağının başlatılması, nihayetinde, farklı tipte transkripsiyon faktörleri tarafından düzenlenen geniş bir gen kümesinin aktivasyonuna yol açar. Bu nedenle, transkripsiyon faktörleri, savunma yanıtında yer alan genlerin zamana ve konuma bağlı ifadesini modüle etmede kritik düzenleyici faktörlerlere sahiptir (Liu vd. 2014). Son yıllarda, NAC (NAM, ATAF ve CUC), ERF (Ethylene response factor), MYB, WRKY ve bZIP (Basic leucine zipper domain) aileleri gibi farklı ailelere ait çok sayıda transkripsiyon faktörünün, biyotik ve abiyotik streslere karşı bitki tepkilerini düzenlemede önemli roller oynadığı tespit edilmiştir (Eulgem ve Somssich 2007; Gutterson ve Reuber 2004; Licausi vd. 2013; Nuruzzaman vd. 2013; Alves vd. 2013).

WRKY gen ailesi, yüksek bitkilerde en büyük ve en kapsamlı çalışılan TF ailelerinden biridir (Chen vd. 2020). WRKY transkripsiyon faktörleri ilk olarak patates bitkisinde tanımlanmış ve o zaman SWEET POTATO FACTOR1 (SPF1) olarak

adlandırılmıştır (Ishiguro ve Nakamura 1994). WRKY transkripsiyon faktörleri, yüksek oranda korunmuş bir WRKYGQK heptapeptidi ve ardından bir C2H2- veya C2HC tipi çinko parmak motifi içeren korunmuş bir DNA bağlanma alanından oluşmaktadır (Rinerson vd. 2015). WRKY transkripsiyon faktörleri, hedef genlerin W-box cis-elemanlarını (C/T)TGAC(T/C) tanıyarak ve bağlanarak işlev görmekte bu yüksek bağlanma aktivitesi için hem heptapeptid dizisi hem de çinko parmak motifi gereklidir (de Pater vd. 1996; Ishiguro ve Nakamura 1994).

WRKY alanlarının sayısına ve çinko parmak tipine bağlı olarak, WRKY transkripsiyon faktörleri filogenetik olarak üç farklı gruba ayrılmaktadırlar. İki WRKY alanına sahip WRKY'ler Grup I; bir WRKY alanına sahip olan Grup II olarak sınıflandırılır. Grup I ve II WRKY'ler bir C2H2 tipi çinko parmak motifi içerir. Bir WRKY alanı içermesine rağmen ve bir C2HC tipi çinko parmak motifi içeren WRKY'ler ise Grup III olarak adlandırılır. Ayrıca, Grup II, filogenetik analizlere dayalı olarak beş alt gruba (IIa, IIb, IIc, IId, IIe) ayrılmıştır (Eulgem vd. 2000).

WRKY genlerinin büyük bir kısmının patojenlere, uyarıcılara ve salisilik asit veya jasmonik asit gibi savunmayla ilişkili fitohormonlara yanıt verdiğini ve bitki bağışıklığında WRKY gen ailesinin önemli bir rol oynadığını gösterilmiştir. WRKY transkripsiyon faktörleri, patojenle ilişkili moleküler motifler (PAMP), PAMP-tetiklenmiş bağışıklık (PTI) ve efektör ile tetiklenen bağışıklık (ETI) içeren bitkinin doğal olarak bulunan bağışıklığın çeşitli yönlerini olumlu veya olumsuz olarak düzenlediği bildirilmiştir (Ülker ve Somssich 2004; Jones ve Dangl 2006).

Atamian vd. (2012), domatesteki *SIWRKY70* geninin olası rollerini belirlemek ve *Mi-1.2* geniyle ilişkisini ortaya koymak için Tobacco Rattle Virus (TRV) kullanarak *SIWRKY70* genini susturmuş ve transkripsiyonunu baskılamışlardır. *SIWRKY70* geninin susturulması, *Mi-1.2* geninin patates yaprak biti (*Macrosiphum euphorbiae*) ve kök-ur nematodu (*Meloidogyne javanica*)'na karşı sağladığı dayanıklılığın seviyesinin azalmasına neden olmuştur. *SIWRKY70* transkriptlerinin patates yaprak biti ve kök-ur nematodu enfeksiyonuna yanıt olarak uyarılabildiğini gözlemlemişlerdir.

Bhattaria vd. (2010), mikroyarray analizlerini kullanarak paralog WRKY genleri olan *SIWRKY72a* ve *SIWRKY72b* genlerinin *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılık ile birlikte yukarı yönde uyarıldığını gözlemlemişlerdir. *SIWRKY72a* ve *SIWRKY72b* genlerinin susturulması, patates yaprak biti ve kök-ur nematoduna karşı *Mi-1.2* genine bağlı dayanıklılığın ve bazal savunma mekanizmasının ciddi düzeyde azalmasına neden olmuştur. Arabidopsis bitkisinde T-DNA insersiyon mutantlarını kullanarak *SIWRKY72*'nin ortoloğu olan *AtWRKY72*'nin kök-ur nematodlarına ve oomycete (*Hyaloperonospora arabidopsidis*)'e karşı bazal savunma için gerekli olduğunu belirlemişlerdir.

Chinnapandi vd. (2017), hassas domates bitkisinde *Mi-1.2* avirülent *M. javanica* enfeksiyonu süresince *SIWRKY45* transkripsiyon faktörünün ekspresyonunu araştırmışlar ve *WRKY45*'in ekspresyonunun, enfeksiyondan sonra 5 gün içinde önemli ölçüde arttığını ve beslenme bölgesi gelişimi ve ürün olgunlaşması boyunca devam ettiğini tespit

etmişlerdir. Nematod besleme alanlarının histolojik analizi, *WRKY45*'in besleme hücreleri ve ilişkili vasküler parankima hücreleri içinde yüksek oranda eksprese edildiği gözlemlenmiştir. *SIWRKY45*'in sitokinin, oksin ve salisilik asit uygulamasıyla yüksek düzeyde uyarıldığını ancak jasmonatlar tarafından uyarılmadığını tespit etmişlerdir. *SIWRKY45* transkripsiyon faktörünün ifadesinin arttırıldığı domates bitkilerinin köklerindeki dişi kök-ur nematodu sayısının önemli düzeyde arttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, *SIWRKY45*'in aşırı ekspresyonunun daha hızlı nematod gelişimini desteklediğini göstermişlerdir.

Chinnapandi vd. (2019), *SIWRKY3* ve *SIWRKY35*'in *M. javanica*'nın hassas domates çeşidinin enfeksiyonu üzerindeki rolünü araştırmışlardır. *SIWRKY3* ve *SIWRKY35*'in enfeksiyondan sonraki 5 gün içinde beslenme bölgesi gelişimi süresince uyarıldığını tespit etmişlerdir. Nematod besleme bölgelerinin histolojik analizi sonucu, gelişmekte olan ve olgun besleme hücrelerinde ve ilişkili dokularda yüksek bir *SIWRKY3* ekspresyonu tespit etmişlerdir. Ancak, *SIWRKY35* ekspresyonu yalnızca olgun beslenme bölgelerinde gözlemlenmiştir. *SIWRKY3* ve *SIWRKY35* genlerinin ifadesi salisilik asit ve indole-3-butyric acid (IBA) uygulaması ile uyarılmış ancak jasmonik asit ve metil jasmonata karşı yanıt oluşturmamıştır. *SIWRKY3*'ün overekspresyonu, *M. javanica* enfeksiyonunun daha düşük olmasına neden olurken, *SIWRKY3*'ün ifadesinin azaltılması enfeksiyonun artmasına neden olduğunu gözlemlenmiştir.

Kök-ur nematodlarına dayanıklılık sağlayan genlerden biri olan ve *Mi-1.2* geninin aksine yüksek sıcaklıklardan (>32°C) olumsuz etkilenmediği bilinen *Mi-3* geninin dayanıklılık kaynağı olan *S. peruvianum* LA3858 hattının *M. incognita* inokulasyonundan sonra, *WRKY13*, *WRKY20*, *WRKY30*, *WRKY40*, *WRKY41* ve *WRKY70* genlerinin 25°C'de 34°C'ye kıyasla daha fazla kodlandığı tesit edilmiştir (Du vd. 2020).

2.2.1.6. Hsp90 şaperonu ve RAR1 ile SGT1 koşaperonları

Dayanıklılık geni proteinleri ile etkileşen veya dayanıklılık geninin fonksiyonu için gerekli olan bazı proteinler bulunmaktadır (Schulze-Lefert, 2004). Bunlardan biri olan Hsp90 (Heat shock protein-90) şaperonu, poliproteinlerin uygun şekilde katlanmasına yardımcı olur ve proteinlerin prematüre fonksiyonlarını önler. Hsp90 bitki gelişimi, çevresel stres tepkisi, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılıkta önemli bir yere sahiptir (Xu vd. 2012). RAR1 ve SGT1'in, bitki hastalık direnci için esas olan süreçlerde Hsp90 koşaperonları olarak işlev gördüğü düşünülmektedir (Takahashi vd. 2003).

Mutasyon analizi kullanılarak, Rar1 (Required for *Mla12* resistance 1) başlangıçta arpadan (*Hordeum vulgare* L.) izole edilmiş ve *Mla12*'nin sağladığı külleme (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) dayanıklılığı için bir gereklilik olduğu bulunmuştur (Torp ve Jorgensen, 1986). Daha sonra yapılan çalışmalar Rar1'in, monokotiledon ve dikotiledon bitki türlerinde bazı NBS-LRR (Nucleotide Binding Site-Leucine Rich Repeats) motifine sahip R-gen aracılı dayanıklılıklar için gerekliliği tespit edilmiştir (Shirasu vd. 1999; Liu vd. 2002b; Muskett vd. 2002; Scofield vd. 2005). Benzer şekilde *SGT1* (Suppressor-of-G2-allele-of-skp1)'in de çeşitli dayanıklılıklar için gerekli olabileceği gösterilmiştir (Peart vd. 2002; Tör vd. 2002). *Ralstonia solanacearum*'un tütününü enfekte ettiğinde

Hsp90 ve *SGT1*'in enfeksiyonu baskılayıcı bir rolü olduğu, *RAR1*'in susturulmasının ise enfeksiyonu arttırdığı gözlemlenmiştir (Ito vd. 2015).

Bhattarai vd. (2007); *Mi-1.2* geni taşıyan domates bitkisi ve avirulent izolatların arasındaki uyumsuz etkileşimde (incompatible interaction) *Hsp90*'nın ne şekilde rol oynadığını araştırmış ve uyumsuz ilişkide *Hsp90*'nın ekspresyonunda değişiklikler gözlemlemişlerdir. *SlHsp90-1*'in susturulması hem yaprak bitlerine hem de nematodlara karşı *Mi-1.2*'nin sağladığı dayanıklılığı zayıflatırken, *SlSgt1-1*'in susturulması sadece yaprak bitine karşı olan dayanıklılığı olumsuz etkilediği *Rar1*'in susturulması ise *Mi-1.2*'in kök-ur nematodu ve yaprak bitine karşı sağladığı dayanıklılığı etkilememiş ve *Mi-1.2* dayanıklılığı için *Rar1*'in gerekli olmadığını göstermişlerdir.

Bitkiye penetre olmuş kök-ur nematodu (*M. incognita*) ve kist nematodlarının (*Heterodera glycines*) J2, J3 ve J4 dönemleri ve dişi bireyler tarafından üretilen *Hsp90* transkriptlerinin miktarı, yumurta içerisindeki J1 ve henüz bitkiyi enfekte etmemiş J2'lere göre oldukça yüksek düzeyde bulunmuştur (Elling vd. 2007; Lourenço-Tessutti vd. 2015). Nematod tarafından ifade edilen *Hsp90*'nın, nematodları oksidatif stres gibi bitkinin savunma mekanizmasının sebep olduğu koşullardan korumada rol oynadığı düşünülmektedir. *Hsp90*'u susturmak için dsRNA ekspres eden transgenik tütün hatları üzerinde yapılan çalışmalar, *Hsp90*'nın susturulmasının kök-ur nematodlarının neden olduğu gal sayısının kontrol bitkilerin yarısı düzeyine inmesine neden olduğunu göstermiştir (Lourenço-Tessutti vd. 2015).

Du vd. (2020); *Mi-3* geni taşıyan yabani domates çeşidi olan *Solanum peruvianum*'un LA3858 hattında 25°C'de *M. incognita* inokulasyonundan yaklaşık 3 ve 6 gün sonra *Hsp90* geninin inokulasyon yapılan güne göre yaklaşık 5 kat daha fazla transkript ürettiğini buna karşın 34°C'de ise *Hsp90* ifadesinin azaldığını gözlemlemişlerdir. *Hsp90* geninin nematoddaki transkripsiyonu sıcaklık stresi, domates köklerindeki transkripsiyonu ise nematod enfeksiyonu ile arttığını bildirmişlerdir.

Mi-3 geni taşıyan *Solanum peruvianum* PI 126443 hattında SA ve JA biyosentezinde yer alan DEG'lerin (LOX'ler ve PAL'ler) seviyeleri, 25°C de artmaktadır. 25°C'de nematod inokulasyonundan sonra, aktif oksijen sentez genleri (RBOHs) yüksek düzeyde ekspresyon olmakta ve antioksidan enzimlerin [süperoksit dismutaz (SOD), POD ve katalaz (CAT)] aktivitesinin belirlenmesi ve ROS'ların anlık birikimin olduğu görülmüştür. Reaktif oksijen türlerinin (ROS), *Mi-3* aracılı dayanıklılıkta olumlu bir rol oynadığı tespit edilmiştir (Du vd. 2021).

2.2.1.7. Reaktif oksijen türleri

Bitkiler, patojenlerin penetrasyonunu ve enfeksiyonunu önlemek, hipersensitif reaksiyonu (HR) tetikleyen spesifik proteinleri ve savunma ile ilgili bileşiklerin sentezini indüklemek için çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Jones ve Dangl 2006).

HR, süperoksit anyon (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) olmak üzere reaktif oksijen türlerinin (ROS) hızlı ve geçici birikimi ile karakterize edilen oksidatif yanmadan (oxidative burst) dolayı gerçekleşir. Enfeksiyon bölgelerinde meydana gelen aşırı duyarlı

hücre ölümü, apoptoz benzeri özelliklere sahip bir tür programlanmış hücre ölümü olarak kabul edilir. ROS sinyallenmesi, patojen ve elisitör tanımadan sonra üretilen oldukça reaktif bir nitrojen türü olan nitrik oksit (NO) ile ilişkilendirilmiştir (Wendehenne vd. 2004).

Uyumlu ve uyumsuz domates-nematod etkileşimlerinde enfeksiyondan 12 saat sonra hızlı bir nitrik oksit (NO) birikimi ve ROS üretimi gerçekleşmektedir. NO ve ROS miktarı, uyumlu ve uyumsuz etkileşimde enfeksiyondan 24 ve 48 saat sonra farklılık göstermektedir (Melillo vd. 2011).

Elisitör-reseptör uyumu ve H_2O_2 birikimi bitki hücrelerindeki ilk savunma tepkisini temsil etmektedir (Sutherland 1991). Hücre zarıyla bağlı olan NADPH oksidazın (NOX) uyarılması H_2O_2 ve ROS sentezine yol açar (Doke 1983; Sagi ve Fluhr 2001; Sagi ve Fluhr 2006). NADPH elektron vericisi olarak oksijenin tek elektron indirgenmesiyle süperoksit (O_2^-) üretimini katalizler. Süperoksit anyonu çok çeşitli reaktif oksidanların üretimi için bir başlangıç malzemesidir (Apel ve Hirt 2004).

Uyumsuz etkileşimde, ilk 12 saatte hızla bir şekilde hem H_2O_2 hem de O_2^- 'nin birikimi başlamakta ve ardından konakçı hücrelerde uzun süreli oksidatif stres gözlenebilmektedir. Nematod inokulasyonundan 12 saat sonra başlayan O_2^- üretiminde, nematodların kendilerini beslenme bölgesine sabitleyip hareketsiz hale gelmekte ve HR başladığı ilk 24 saatte önemli bir artış oluşmaktadır. İlk 24-48 saatte ise konukçu hücrelerde oksidatif patlama (oxidative burst) gözlenmektedir. Uyumsuz etkileşimde HR sırasında üretilen yüksek H_2O_2 seviyesi, H_2O_2 'nin bir antimikrobiyal ajan olarak doğrudan rol oynadığını göstermektedir (Melillo vd. 2011).

Kök-ur nematodları, dayanıklı domates bitkilerinde çok sayıda A sınıfı ısı şok faktörü (*HsfA*) genlerinin ekspresyonunu indüklemektedir. *HsfA1a*'nın susturulması, *Mi-1.2*'in sağladığı dayanıklılığı, apoplastik H_2O_2 birikimini ve RBOH (Respiratory Burst Oxidase Homolog) kodlayan *Wf1* (Whitefly induced 1) geninin transkripsiyonunu sınırlandırmaktadır. *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılık sonucu H_2O_2 üretimi için *HsfA1a* geni gereklidir (Zhou vd. 2018). *HsfA1a* geni, *Wf1* promotörüne bağlanarak *Wf1* transkripsiyonunu düzenler. *Wf1*'in susturulması, *Mi-1.2*'in sağladığı dayanıklılığı tehlikeye atmaktadır. *HsfA1a* ve *Wf1*, dayanıklı bitkide Hsp90 birikiminde, hassas domateste ise bazal savunmada rol oynamaktadır. *HsfA1a* ve *Wf1*'e bağlı ROS sinyalizasyonu, bitki savunma yanıtlarının önemli bir düzenleyicisi olarak işlev görmektedir (Zhou vd. 2018). Hem hassas hem de *Mi-1.2* geni taşıyan dayanıklı domates köklerinin kök-ur nematodu enfeksiyonu sırasında geçici ROS üretimi gözlenmektedir. Sürekli ROS birikimi yalnızca hipersensitif reaksiyonunun gözlemlendiği nematodun beslenme bölgesini oluşturduğu hücrelerin çevresinde *Mi-1.2* geni taşıyan domates bitkilerinde tespit edilebilmektedir (Melillo vd. 2006).

ROS üretimi hem uyumlu hem de uyumsuz domates kök-ur nematodu etkileşimleri sırasında köklerde iyi karakterize edilmiştir ve her iki etkileşim türü arasında birikimlerinin zamanlaması ve lokalizasyonunda büyük farklılıklar gözlenmiştir (Melillo vd. 2006). Uygun koşullar altında ROS, kloroplast, mitokondri, peroksizom, hücre zarı,

endoplazmik retikulum ve hücre duvarında bazal seviyelerde üretilmektedir. Ancak farklı antioksidan mekanizmalarla temizlendikleri için zarar veremezler (Foyer ve Noctor 2005; Das ve Roychoudhury 2014). ROS üretimi ve parçalanması arasındaki hassas denge, tuzluluk, kuraklık, aşırı sıcaklıklar, ağır metaller, kirlilik, yüksek ışıyım, patojen enfeksiyonu gibi farklı stres faktörleri tarafından bozulmaktadır (Das ve Roychoudhury 2014). ROS ve antioksidan etkileşiminin farklılaşması, birçok stresin yanı sıra çevre koşullarına verilen diğer tepkilerde ve bitki gelişiminin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Hücrel redoks dengesini bozan herhangi bir uyarı PR genleri gibi savunma ile ilgili genler için de bir indükleyici görev görebilir (Foyer ve Noctor 2005). Uyumlu etkileşimde, ROSlar sadece HR tetikleyici olarak görev yapmakla kalmayıp, aynı zamanda hücreleri oksidatif hasardan koruyan enzimleri kodlayan genleri de aktive etmektedir (Apel ve Hirt 2004).

ROS'lara karşı savunma mekanizması, oksidatif stres kaynaklı hasarları hafifletmeye yardımcı olan antioksidan mekanizmadan oluşur. Antioksidan mekanizma enzimatik bileşenler ve enzimatik olmayan antioksidanlardan meydana gelmektedir. Antioksidan mekanizmayı içeren enzimler arasında Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Askorbat peroksidaz (APX), Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), Glutasyon Redüktaz (GR), Guaiacol Peroksidaz (GPX) bulunmaktadır (Das ve Roychoudhury 2014). Enzimatik olmayan antioksidanlar, askorbik asit, azaltılmış glutasyon (reduced glutathione (GSH)), a-tokoferol, karotenoidler, fenolikler, flavonoidler ve amino asit ve osmolit prolinden oluşmaktadır (Das ve Roychoudhury 2014). Askorbat peroksidaz, katalaz, peroksidaz ve süperoksit dismutaz, en etkili antioksidan enzimlerdir. Bu enzimlerin birlikte aktivitesi, süperoksit radikallerini ve hidrojen peroksidi suya ve moleküler oksijene dönüştürerek hücrel hasarı önler (Sutherland 1991). Peroksidaz, hücrenin hem yapısal hem de fizyolojik korunmasında iki role sahiptir. Antioksidan olarak ROSları parçalamasının yanı sıra hücre duvarının içeriğinde bulunan ligninin biyosentezine de katılarak hücre duvarlarının güçlendirilmesi ve hücrelerin korunmasında görev almaktadır (Sutherland 1991). Zacheo vd. (1995), dayanıklı domates bitkisinde, 34°C de 27°C ye göre lignin ve peroksidaz seviyesinin azaldığını tespit etmiştir. Hipersensitif reaksiyonun gerçekleştiği hücrelerde peroksidaz aktivesi artmaktadır. Guan vd. (2017), *Mi-1.2* geni taşıyan domateste *Mi-1.2* virulent ve avirulent *M. incognita* enfeksiyonu sonucu ekspresyon seviyesi farklılaşan genlerin (DEGs) durumunu araştırmışlardır. *Mi-1.2* taşıyan domateste *Mi-1.2* virulent popülasyon, avirulent popülasyonun enfeksiyonuna göre çok daha yüksek peroksidaz geni ekspresyonunu indüklediğini ve peroksidaz geninin susturulmuş dayanıklı domates bitkisinde ROS birikiminin artırarak *Mi-1.2* virulent popülasyonların enfeksiyonunu azalttığını tespit etmişlerdir.

2.2.1.8. Glycogenin glucosyltransferase

Bitkinin sekonder metabolitlerinden olan Glikosiltransferaz'lar, nükleotid-difosfat ile aktive edilmiş şekerleri düşük moleküler ağırlıklı substratlara aktarmakla görevlidir. Glikosiltransferazlar bitkinin temel fizyolojisi üzerinde etkisinin yanı sıra bitki savunması ve stres toleransında da önemli bir role sahiptir (Vogt ve Jones 2000; Dixon 2001; Qi vd. 2005).

Schaff vd. (2007), yapmış oldukları transkriptom analizinde glycogenin glucosyltransferase geninin nematod-bitki arasındaki uyumlu ve uyumsuz ilişkide farklı şekilde ifade edildiğini gözlemlemişlerdir. *Mi-1.2* geni taşıyan dayanıklı domates bitkisinde glycogenin glucosyltransferase geninin susturulması sonucu bitki nematoda karşı hassas hale getirilmiş ve *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılık için glycogenin glucosyltransferase geninin gerekli olduğunu bildirmişlerdir.

2.3. qRT-PCR

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), hücrede gerçekleşen DNA replikasyonunun laboratuvar ortamında bir tüp içinde taklit edilmesi sonucu hedef DNA bölgesinin çoğaltılması işlemidir (Okutucu ve Pehlivan 2003). Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-time PCR, qPCR), klasik PCR'ın modifiye edilmesiyle ortaya çıkmış ve başlangıç materyalindeki nükleik asit miktarını çok düşük bir konsantrasyonda olsa bile, spesifik olarak ölçülmesine izin veren bir teknolojidir (Higuchi vd. 1992, 1993; Fraga vd. 2008). Hedef dizinin amplifikasyonunun floresan teknolojisi kullanılarak gerçek zamanlı olarak izlenmesiyle, amplifiye edilmiş hedefin bir eşik algılama seviyesine ne kadar hızlı ulaştığı izlenir ve başlangıç materyali ile ilişkilendirilir (Fraga vd. 2008).

Gen ekspresyon seviyelerinin ölçülmesi, gen fonksiyonu hakkında değerli ipuçları verebilir. Gerçek zamanlı ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) gen ifadesinin ölçümü için güçlü bir araçtır (Schmittgen ve Livak 2008). qRT-PCR gen ifadesi ölçümünde kullanılan diğer yöntemlerden olan dot blot analizine göre 1000 kat, RNase protection analizine göre ise 10.000 ila 100.000 kat daha hassas sonuç vermektedir (Wang ve Brown 1999; Malinen vd. 2003). qRT-PCR, analiz için gereken az miktarda materyale gerek duyması, hızlı ve doğru veri üretme yeteneği ve aynı anda birden fazla geni analiz etme kapasitesi ile diğer yöntemlere göre daha avantajlıdır (Fraga vd. 2008).

Bağıl niceleme sırasında (relative quantitation), hedef gen ekspresyonundaki değişiklikler, bir referans örneğe dayalı olarak ölçülür (Livak ve Schmittgen 2001). Göreceli niceleme deneylerinden ortalama normalleştirilmiş gen ekspresyonunu hesaplamak için çok sayıda matematiksel model mevcuttur (Pfaffl 2001; Livak ve Schmittgen 2001; Liu ve Saint 2002). Kullanılan yönteme bağlı olarak, bunlar farklı sonuçlar verebilmektedir (Wong ve Medrano 2005). En yaygın kullanılan yöntem olan $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi, uygulama yapılmış ve yapılmamış örneğin bağıl analizini referans gene göre normalleştirerek yapmaktadır (Livak ve Schmittgen 2001).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1 Bitki materyali

Çalışmada bitki materyali olarak dayanıklı Multy RN (*Mi-1.2* geni taşıyan) ve duyarlı Multy F1 (*Mi-1.2* taşımayan) olmak üzere iki farklı domates çeşidi kullanılmıştır.

Gen ifadesi çalışmalarında olası genetik arka plana (background) bağlı başka parametreleri azaltmak için domates çeşitleri *Mi-1.2* geni hariç genetik olarak birbirlerine oldukça yakın olarak seçilmiştir. Domates çeşitleri Multi Tohum Tar. San. Tic. A.Ş.firmasından sağlanmıştır. Çeşitlere ait tohumlar firmaya ait modern fidelikte viyollere ekilmiş ve fideler elde edilmiştir. Bitkideki genlerin tepkisinin farklılaşmaması ve nematodlara karşı olası olumsuz etkilerini göz ardı etmek için fidelere yetiştirme süresince hiçbir pestisit uygulaması yapılmamıştır.

3.1.2. Nematod materyali

Bu çalışmada *Meloidogyne incognita*'nın avirulent S6 izolatu ile virulent V30 izolatu kullanılmıştır. S6 izolatu, Devran ve Söğüt (2009) tarafından Antalya'nın Serik ilçesinden biber bitkisi köklerinden alınan yumurta kümelerinde toplanıp kültüre alınmıştır. V30 izolatu, S6 popülasyonunun laboratuvar koşullarında dayanıklı domates çeşidi üzerinde seleksiyonu sonucu *Mi-1* virulent özellik kazandırılmıştır. Böylece aynı popülasyondan sadece *Mi-1.2* geni taşıyan bitkide beslenme bölgesi oluşturabilen ve oluşturamayan olarak iki farklı izolat kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Bitki materyalinde *Mi-1.2* geninin patolojik olarak doğrulanması

Denemede kullanılan bitkilerin kök-ur nematoduna dayanıklılık durumunun patolojik olarak kontrol edilmesi için bitkilere *M. incognita*'nın S6 izolatu inokulasyonu yapılarak enfeksiyon durumlarına bakılmıştır. Bunun için 4 yapraklı dönemdeki Multy F1 ve Multy RN domates çeşitlerine ait fideler 250 cc'lik saksılara dikilmiştir. Saksılarda kullanılan kumlu-tınlı toprak karışımı dikimden önce otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

Bitkiler şaşırtıldıktan 1 hafta sonra *Mi-1.2* avirulent özellikte *M. incognita* S6 izolatinın yumurtadan yeni çıkmış larvaları sayılarak bitkilere bulaştırılmıştır. Domates fidelerinin kök boğazı yakınına açılan delikten 1000 adet J2 verilerek inokulasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Deneme 5 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Domates fideleri, 25°C ortam sıcaklığı, 16:8 (gündüz: gece) ve 60±5% nem koşullarında sahip iklim odasında yetiştirilmişlerdir.

İnokulasyondan 60 gün sonra bitkiler sökülmüş, kökler çeşme suyu altında nazikçe topraklarından temizlenmiştir. Kökler 0.15 g/l phloxine B solüsyonunda 10

dakika bekletilip daha sonra normal su içerisinde fazla boyasından arındırılmıştır (Öçal vd. 2018). Köklerde oluşan yumurta kümeleri ve urlar sayılmış ve kayıt altına alınmıştır.

3.2.2. Bitki materyalinde *Mi-1.2* geninin moleküler olarak doğrulanması

3.2.2.1. DNA izolasyonu

Denemede bitki materyali olarak kullanılan Multy F₁ ve Multy RN F₁ domates materyallerinin taze yapraklarından alınan doku örneklerinden DNA izolasyonu Wizard Magnetic Kit (Promega, ABD) kullanılarak firmanın önerdiği protokole göre yapılmıştır.

3.2.2.2. PCR çalışması

Denemede kullanılacak domates materyalleri olan Multy F₁ ve Multy RN'deki *Mi-1* geninin durumu Mi23F/Mi23R primerleri (Seah vd 2007b kullanılarak moleküler olarak doğrulanmıştır (Çizelge 3.1). Pozitif kontrol olarak Tueza F₁ (mimi), Seval F₁ (*Mimi*) ve Brown F₁ (*MiMi*) domates çeşitlerinden izole edilen DNA'lar kullanılmıştır. PCR döngüsü SimpliAmp™ Thermal Cycler (Applied Biosystems, CA, USA) cihazında gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.2). Elde edilen PCR ürünleri Xpert Green DNA Stain ile boyanan %1.5'lik agaroz jelde TAE buffer içerisinde 150 voltta 40 dk yürütülmüş ve UV ışığı altında İntas Gel IX Imager cihazı kullanılarak görüntülenmiştir.

Çizelge 3.1. Mi23F ve Mi23R primerleriyle yapılan PCR içeriği ve miktarları

Bileşenleri	Miktar
DNA	2,5 µL
10X PCR Buffer	2,5 µL
MgCl ₂	2 µL
Forwar Primer-MincF	1 µL
Reverse Primer-MincR	1 µL
dNTP	1 µL
Taq Polymerase	0,25 µL
Saf Su	14,75 µL
Toplam	25 µL

Çizelge 3.2. Mi23F ve Mi23R primelerinde kullanılan PCR programı

Sıcaklık	Süre	Döngü
94°C	3 dk	1 döngü
94°C	30 sn	
56°C	30 sn	35 döngü
72°C	60 sn	
72°C	7 dk	1 döngü
4°C	∞	

3.2.3 Kök-ur nematodu izolatlarının saf kültür popülasyonlarının oluşturulması

Nematoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan *M. incognita* S6 ve V30 izolatlarının iklim odasında sürdürülmesi boyunca diğer *M. incognita* izolatlarıyla bulaşmış olma olasılığını ortadan kaldırmak için tekrar saf kültürleri yapılmıştır. Bu amaçla Stereo mikroskop altında toplanan yumurta kümelerinden biri seçilip 3 ayrı su dolu petri kabında yüzeysel olarak temizlenmiş ve 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne alınmıştır. Avirülent S6 izolatının hassas Tueza F₁ fidesine, *Mi-1.2* virülent izolatının ise *Mi-1* geni taşıyan dayanıklı Seval F₁ domates fidesine kök boğazı yanında açılan deliğe yumurta kümesi bırakılarak inokulasyonu yapılmıştır. Domates fideleri, 25°C ortam sıcaklığı, 16:8 fotoperiyot ve 60±5% nem koşullarında sahip iklim odasında 2 ay boyunca yetiştirilmişlerdir. İnokulasyondan 8 hafta sonra söküm işlemi gerçekleştirilmiş ve domates kökleri, su altında yıkanarak kök üzerinde gelişen yumurta kümeleri toplanmıştır.

3.2.4. *Meloidogyne incognita* popülasyonlarının moleküler olarak doğrulanması

3.2.4.1. DNA izolasyonu

Saf kültürleri elde edilen *M. incognita* S6 ve V30 izolatlarının ikinci dönem larvalarından DNAeasy Tissue and Blood Kit (Qiagen, Hilden, Germany) kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır.

3.2.4.2. PCR çalışması

S6 ve V30 izolatlarının *M. incognita* olduğunu doğrulamak için bu türe özgü MincF/MincR primeri ile PCR işlemi gerçekleştirilmiştir (Devran vd. 2017) (Çizelge 3.3; 3.4). Elde edilen PCR ürünleri Xpert Green DNA Stain ile boyanan %1.5'lik agaroz jelde TAE buffer içerisinde 150 voltta 40 dk yürütülmüş ve UV ışığı altında İntas Gel IX Imager cihazı kullanılarak görüntülenmiştir.

Çizelge 3.3. MincF ve MincR primerleriyle yapılan PCR içeriği ve miktarları

Bileşenleri	Miktar
DNA	2,5 µL
10X PCR Buffer	2,5 µL
MgCl ₂	2 µL
Forward Primer-MincF	1 µL
Reverse Primer-MincR	1 µL
dNTP	1 µL
Taq Polymerase	0,25 µL
Saf Su	14,75 µL
Toplam	25 µL

Çizelge 3.4. MincF ve MincR için kullanılan PCR programı

Sıcaklık	Süre	Döngü
94°C	3 dk	1 döngü
94°C	30 sn	
56°C*	30 sn	35 döngü
72°C	60 sn	
72°C	7 dk	1 döngü
4°C	∞	

3.2.5. Nematod izolatlarının çoğaltılması

Avirü lent S6 izolatı hassas Tueza F₁ domates fidesi üzerinde, *Mi-1.2* virü lent V30 izolatı ise *Mi-1.2* geni taşıyan dayanıklı Seval F₁ domates fidesi üzerinde çoğaltılmıştır. 3-4 gerçek yapraklı dönemdeki fideler otoklav edilmiş steril kumlu-tınlı toprak kullanılarak 250 cc'lik saksılara şaşırtılmıştır. 1 hafta sonra her bitkinin kök boğazına açılan deliklere 5-10 adet yumurta kümesi verilerek nematod inokulasyonu yapılmıştır. İnokulasyondan 60 gün sonra bitkiler sökülüş ve çeşme suyu altında kökler topraktan arındırılmıştır. Yumurta kümeleri kökler üzerinden toplanmış ve 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine alınmıştır. Yumurta kümeleri +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.6. Denemelerin dizaynı

Denemede *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılık üzerinde etkisi olduğu düşünülen genlerin avirulent izolata (S6) ve *Mi-1.2* virulent izolata (V30) verdiklerin tepkilerin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu tepkiyi araştırmak için duyarlı Multy F₁ ve dayanıklı Multy RN F₁ domates çeşitleri kullanılmıştır.

Nematodların bitkiye girişi, beslenmeye başlaması, dayanıklı bitkide hipersensitif reaksiyonun gerçekleşmesi, hassas bitkide ise beslenme bölgesinin oluşması süreçlerinde hedef genlerin ifadesindeki değişimin takip edilebilmesi için inokulasyonun yapıldığı günden 1, 2, 3, 4 ve 5 gün sonra bitkiler sökülüp RNA izolasyonu yapılacak şekilde deneme dizayn edilmiştir. Sökümler inokulasyon yapılan saatten tam 24 saat sonra başlamış ve tam 24 saat aralıklarla devam etmiştir (inokulasyondan 24, 48, 72, 96 ve 120 saat sonra). Nematod inokulasyonu yapılan bitkilerdeki hedef genlerin ifadesi nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkilerine bağlı olarak (relative gene expression) analiz edileceğinden dolayı her gün için nematod inokulasyonu yapılmayan kontrol grubu oluşturulmuştur. Deneme her grup için 3 biyolojik tekerrürlü olarak kurulmuştur (Çizelge 3.5). Ayrıca denemede kullanılan domates çeşitlerinin dayanıklı ve hassas olduklarının patolojik olarak doğrulanması, nematod popülasyonlarının *Mi-1.2* virulent ve avirulent durumunun kanıtlanması amacıyla 6 tekerrürlü bir deneme kurulmuştur (Çizelge 3.6). Bu bitkiler inokulasyondan 8 hafta sonra sökülerek, kök ağırlıkları, ur ve yumurta kümesi sayıları kayıt altına alınmıştır. Ur ve yumurta kümesi sayılarına log₁₀(x+1) transformasyonu uygulanmış ve ANOVA testi yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar SAS (versiyon 9.00) programı kullanılarak TUKEY testine (P≤0,05) göre karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.5. qRT-PCR çalışmasında RNA izolasyonu yapılan bitkilerin adlandırılması

Söküm Zamanı	Dayanıklı Domates						Hassas Domates					
	Kontrol**		Avirülebent nematod		Virülebent nematod		Kontrol		Avirülebent nematod		Virülebent nematod	
0 gün*	A-1	DK0	B-1	DA0	C-1	DV0	X-1	HK0	Y-1	HA0	Z-1	HV0
	A-2		B-2		C-2		X-2		Y-2		Z-2	
	A-3		B-3		C-3		X-3		Y-3		Z-3	
1 gün	A-4	DK1	B-4	DA1	C-4	DV1	X-4	HK1	Y-4	HA1	Z-4	HV1
	A-5		B-5		C-5		X-5		Y-5		Z-5	
	A-6		B-6		C-6		X-6		Y-6		Z-6	
2 gün	A-7	DK2	B-7	DA2	C-7	DV2	X-7	HK2	Y-7	HA2	Z-7	HV2
	A-8		B-8		C-8		X-8		Y-8		Z-8	
	A-9		B-9		C-9		X-9		Y-9		Z-9	
3 gün	A-10	DK3	B-10	DA3	C-10	DV3	X-10	HK3	Y-10	HA3	Z-10	HV3
	A-11		B-11		C-11		X-11		Y-11		Z-11	
	A-12		B-12		C-12		X-12		Y-12		Z-12	
4 gün	A-13	DK4	B-13	DA4	C-13	DV4	X-13	HK4	Y-13	HA4	Z-13	HV4
	A-14		B-14		C-14		X-14		Y-14		Z-14	
	A-15		B-15		C-15		X-15		Y-15		Z-15	
5 gün	A-16	DK5	B-16	DA5	C-16	DV5	X-16	HK5	Y-16	HA5	Z-16	HV5
	A-17		B-17		C-17		X-17		Y-17		Z-17	
	A-18		B-18		C-18		X-18		Y-18		Z-18	

* İnokulasyondan sonra bitkilerin sökölüp köklerden RNA izolasyonu yapılacak günler

** $\Delta\Delta CT$ hesaplanmasında kullanılacak untreated örnekler

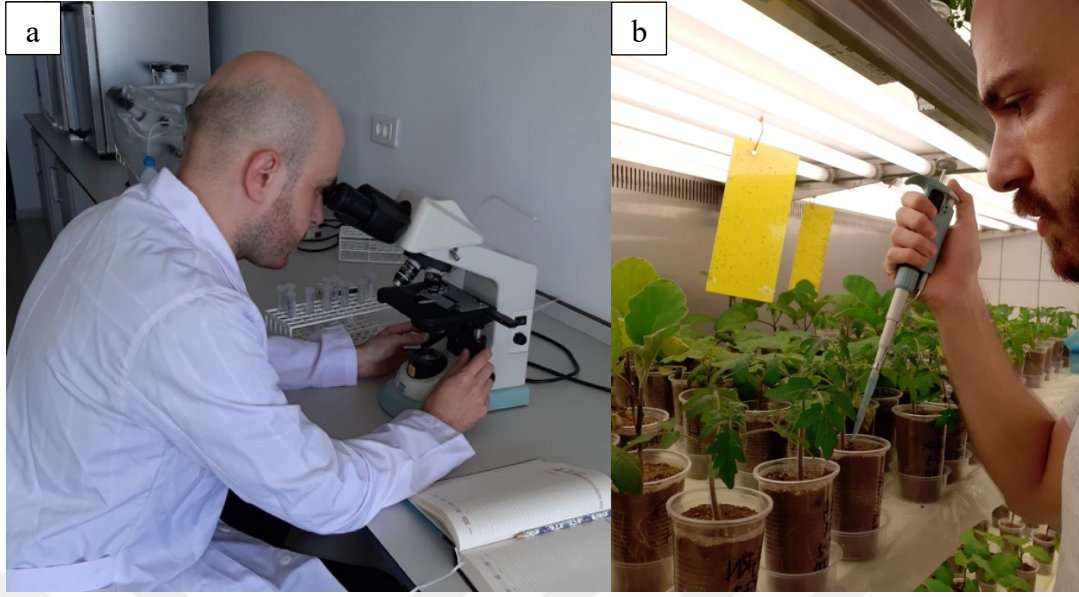
Çizelge 3.6. Bitkilerin dayanıklılığı ve nematod izolatlarının virulensliği için deneme planı

Söküm Zamanı	Dayanıklı Domates			Hassas Domates		
	Kontrol	Avirü lent nematod	Virü lent nematod	Kontrol	Avirü lent nematod	Virü lent nematod
8 hafta	D-1	DS6-1	DV30-1	H-1	HS6-1	HV30-1
	D-2	DS6-2	DV30-2	H-2	HS6-2	HV30-2
	D-3	DS6-3	DV30-3	H-3	HS6-3	HV30-3
	D-4	DS6-4	DV30-4	H-4	HS6-4	HV30-4
	D-5	DS6-5	DV30-5	H-5	HS6-5	HV30-5
	D-6	DS6-6	DV30-6	H-6	HS6-6	HV30-6

3.2.7. Bitkilerin inokulasyonu

Mi-1.2 geni taşıyan ve *Mi-1.2* geni taşımayan domates çeşitlerine ait fideler 2-3 gerçek yapraklı dönemlerinde 250 cc'lik saksılara şaşırtılmıştır. Bitkiler şaşırtıldıktan 1 hafta sonra Çizelge 3.1'de planlanan bitkilere S6 ve V30 izolatlarına ait J2'ler inokule edilmiştir.

Nematod inokulasyon işlemi için *M. incognita*'ya ait S6 ve V30 izolatlarının yumurta kümeleri Modifiye Edilmiş Baerman-Funnel (Hooper, 1986) eleklerine konulmuştur. Yumurtadan çıkış yapıp suya geçen J2'ler 15 ml'lik tüplere alınmıştır. J2 ler ışık mikroskobu altında sayılmış (Şekil 3.1.a) ve 1 ml'de 1000 adet J2 olacak şekilde gerekli ayarlama yapılmıştır. Bitki kök boğazına açılan iki deliğe 1000 adet J2 içeren 1ml'lik solüsyon dağıtılmıştır. (Şekil 3.1.b). Nematod inokulasyonu gerçekleştirilen bitkiler 25±1°C, 16:8 fotoperiyot ve 60±5% nem koşullarındaki iklim odasında tutulmuştur. İnokulasyon yapılan domates fideleri planlanan şekilde inokulasyondan 1, 2, 3, 4 ve 5 gün sonra sökülüş ve kökleri çeşme suyu altında topraktan arındırılıp, kökler RNA izolasyonu aşamasına hazır hale getirilmiştir.



Şekil 3.1. a) Mikroskop altında J2'lerin sayımı, **b)** Bitkilere nematod inokulasyonunun yapılması

3.2.8. RNA izolasyonu

Sökümü yapılan bitkilerin köklerinin 1 cm'lik uç kısımları kesilerek alınmıştır. Kök parçaları hassas terazide tartılarak 50 mg'ı collection tüplerine alınmıştır. Daha sonra kök parçaları TissueLyser II (Qiagen) cihazı kullanılarak buffer ortamında parçalanmıştır. RNA izolasyonu Plant/Fungi Total RNA Purification Kit (Norgen Biotech Corp.) kullanılarak belirtilen protokole uygun olarak gerçekleştirilmiştir. RNA izolasyonunda ilk Wash Buffer kullanımından sonra DNase enzimi (RNase-Free DNase Set, Qiagen) kullanılarak izole edilen RNA'da kalabilecek DNA'nın parçalanması sağlanmıştır. RNA'lar agaroz jele yüklenip görüntülenerek kontrol edilmiştir. İzole edilen RNA'larda DNA'nın olup olmadığı Mi23 primeri kullanılarak klasik PCR'da kontrol edilmiştir. RNA'lar cDNA sentezi işlemine kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.9. RNA miktarının ölçülmesi ve sabitlenmesi

RNA izolasyonu gerçekleştirilen örneklerin konsantrasyonları NanoDrop™ 2000/2000c Spectrophotometers (Thermo Scientific™) cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen RNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflıkları 260 ve 280 nm dalga boylarındaki absorbanslarının ölçümüyle belirlenmiştir. Tüm RNA örneklerinin RNA konsantrasyonu 100 ng'a seyreltilmiştir.

3.2.10. RNA'lardan cDNA sentezi

Domates bitkilerinin köklerinden izolasyonu gerçekleştirilmiş olan RNA'lar, EvoScript Universal cDNA Master Kit (Roche) kullanılarak cDNA'ya çevrilmiştir.

100 ng konsantrasyonundaki 5 µL RNA, 4 µL Reaction Buffer ve 9 µL saf su olmak üzere toplam 18µL'den oluşan karışımlar buz üzerinde 10 dakika bekletilmiştir

(Çizelge 3.7). Daha sonra bu reaksiyon karışımı örnek sayısı kadar hazırlanmış ve her biri üzerine 2 µL enzim eklenmiş ve toplam 20 µL olan karışım vortekslenmeden pipetle iyice karıştırılmıştır. Karışım, Çizelge 3.8’de belirtilen şekilde ayarlanmış thermocycler cihazına (SimpliAmp™ Thermal Cycler (Applied Biosystems)) yerleştirilmiştir. Reaksiyon sonucunda 20 µL cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. EvoScript Universal cDNA Master Kiti protokolünde belirtildiği şekilde 20 µL cDNA’ların üzerine 40 µL saf su eklenerek cDNA seyreltilmiş ve 60 µL (20 µL+40 µL) cDNA elde edilmiştir.

Çizelge 3.7. EvoScript Universal cDNA Master Kit (Roche) kiti kullanılarak cDNA sentezi için bileşenler ve miktarları

Bileşenler	Miktar
Su, PCR-grade	9 µL
Reaction Buffer	4 µL
Enzim	2 µL
RNA	5 µL
Toplam	20 µL

Çizelge 3.8. cDNA sentezi için kullanılan PCR programı

Sıcaklık	Süre	Döngü
42°C	15 dk	1 döngü
85°C	5 dk	1 döngü
65°C	15 dk	1 döngü
4°C	∞	

cDNA’ya çevrilmeyen RNA’lar ise denature olmadan muhafaza edilebilmeleri için -80°C’ye kaldırılmıştır. Elde edilen cDNA’lar qRT-PCR işleminde kullanılmak üzere -20°C’ye yerleştirilmiştir.

3.2.11. qRT-PCR Çalışmaları

Çalışma kapsamında 2 adet *Mi-1.2* geni, 11 adet diğer genler ve 2 adet referans gen için primerler kullanılarak qRT-PCR gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.9).

Çizelge 3.9. qRT-PCR çalışmalarında kullanılan genler ve primer dizileri

Genin Adı	Primer adı	Primer Dizisi (3'-5')	Referans
<i>Mi-1.2</i>	FjMi-1.2F	CCCGAAATTGGATTGCCTAA	Fujimoto vd. (2011)
	FjMi-1.2R	ACGGCCGATTTGTCACAAC	
	ToMi-1.2F1	GGTTCTCTAGCTAAACTTCAGCCAG	Bu çalışma
	ToMi-1.2R1	ACACCAATGAGTTGTTTGCTTCT	
<i>PR-1a</i>	PR1F	TGATGCTCAAAATTCACCCC	Sanz-Alferez vd. (2008)
	PR1R	TTCCGACACCCACAATTCC	
<i>PR-2</i>	PR2F	AAGTATATAGCTGTTGGTAATGAA	Sanz-Alferez vd. (2008)
	PR2R	ATTCTCATCAAACATGGCGAA	
<i>PR-5</i>	PR5F	CGACTCCCGTAGGAGGT	Bu çalışma
	PR5R	CCTCTACCAGCACCATCAAA	
<i>SIWRKY72a</i>	SIW72aF	TTCAATCTGCATTGGCTGTT	Bhattarai vd. (2010)
	SIW72aR	TTCTGCCCAGATTTTTCGTC	
<i>SIWRKY72b</i>	SIW72bF	TCCAGTCTCCCTTCAAGCTC	Bhattarai vd. (2010)
	SIW72bR	ATTATTGCGGAAGCAGAAA	
<i>SIWRKY45</i>	SIW45F	CCAACATGCCAGTCAAGAA	Chinnapandi vd. (2017)
	SIW45R	GAGGATGGTTGTGTTCCCCTT	
<i>SIWRKY3</i>	SIW3F	CAGCCCAGGTCCAATGTCT	Chinnapandi vd. (2019)
	SIW3R	CATATCCGGCGAGAAGCTGGGA	
Glycogenin glucosyltransferase	GlyF	GAAGATGCAGGGATTGATGAAGAC	Schaff vd. (2007)
	GlyR	CGTGGAGCCTCGTGGATTAT	
<i>HsfA1a</i>	HsfAF	CTGCCTCATTTATCCCAGGT	Zhou vd. (2018)
	HsfAR	CTGCCTCATTTATCCCAGGT	
<i>Hsp90-1</i>	Hsp90F	CAAGCTTGGTATCCATGAGG	Zhou vd. (2018)
	Hsp90R	ATTCTGGCCTTCTTTCATCC	
Peroxidase	PexF	ATTCATGATGGGTTGCCCA	Bar-Or vd. (2005)
	PexR	CATCCTGACAAGGGCAGCA	
GAPDH	GAPF	CTGCTCTCTCAGTAGCCAACAC	Løvdal ve Lillo (2009)
	GAPR	CTTCCTCCAATAGCAGAGGTTT	
EF-1 α	EF1aF	GGTGGTTTTGAAGCTGGTATCTCC	Cohn ve Martin (2005)
	EF1aR	CCAGTAGGGCCAAAGGTCACA	

*Primerlerin ismi tarafımızdan verilmiştir.

3.2.11.2. qRT-PCR çalışması

Çalışmada kullanılacak olan primer için öncelikle 58°C ve 60°C annealing sıcaklıklarında qRT-PCR kurulmuştur. Her gen için uygun annealing sıcaklığına erime pikleri (melting peakleri) incelenerek karar verilmiştir.

Reaksiyonlar LightCycler SYBR Green I Master (Roche) karışımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.10). Hazırlanan plateler, 60 saniye 2000 rpm’de santrifüj yapıp daha sonra LightCycler® 480 II (Roche) cihazına yerleştirilmiş ve qRT-PCR işlemi aşağıdaki program kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.11).

Çizelge 3.10. SYBR Green I ile yapılan qPCR reaksiyonu bileşenleri ve miktarları

Bileşenler	Miktar
Su, PCR-grade	1.7 µL
Forward Primer-F (10 µM)	0,4 µL
Reverse Primer- R (10 µM)	0,4 µL
Enzim Karışımı (2x) (Roche)	5 µL
DNA	2.5 µL
Toplam	10 µL

Çizelge 3.11. Primerlerin optimizasyonu için kullanılan qRT-PCR programı

Sıcaklık	Süre	Döngü	Program
95°C	600 sn	1 döngü	Denaturasyon
95°C	10 sn		
58/60°C*	20 sn	40 döngü	Quantification
72°C	20 sn (okuma)		
95°C	1 sn		
60°C	1 dk	1 döngü	Melting
95°C	∞		

*Primerlere bağlı olarak değiştirilmiştir.

3.2.5. Sonuçların analizi

Bitkilerin köklerinden elde edilen RNA'lar, *M. incognita*'nın avirülent S6 ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatlarına karşı inokulasyondan belirli süreler sonrasında oluşan tepkiler arasındaki farklılıklar $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri hesaplanarak incelenmiştir (Livak ve Schmittgen 2001; Schmittgen ve Livak 2008). Sonuçların analizinde kullanılan formüller aşağıda belirtilmiştir.

$$\begin{aligned}\Delta C_T &= (C_{T, hedef\ gen} - C_{T, referans\ gen}) \\ \Delta\Delta C_T &= (\Delta C_{T, hedef\ gen} - \Delta C_{T, referans\ gen})_{T_x} - (\Delta C_{T, hedef\ gen} - \Delta C_{T, referans\ gen})_{T_0} \\ T_x &= \text{İnokulasyondan izolasyona kadar geçen süre (gün)} \\ T_0 &= \text{İnokulasyon yapılmamış örnek} \\ 2^{-\Delta\Delta CT} \text{ değeri,} &\begin{aligned} &\geq 1 \text{ ise; Değişim katsayısı} = 2^{-\Delta\Delta CT} \\ &< 1 \text{ ise; Değişim katsayısı} = -\frac{1}{2^{-\Delta\Delta CT}} \end{aligned}\end{aligned}$$

ΔC_T değerleri arasındaki farklılığın değerlendirilmesi için ANOVA testi yapılmıştır. ΔC_T değerleri SAS (versiyon 9.00) istatistik programı kullanılarak, Tukey testine ($P \leq 0,05$) göre karşılaştırılmıştır.

3.2.6. qRT-PCR ürünlerinin kontrolü

qRT-PCR çalışmalarında SYBR Green kullanıldığı için bazı durumlarda hedeflenen bölgenin çoğaltılmaması sonuçlarda yanlışlıklara neden olabilmektedir. Bu durumun önüne geçmek için hedef primerlerin istenen bölgeyi çoğaltıp çoğaltmadığı kontrol edilmiştir. Bunun için her primerin qRT-PCR ürünleri %1,5'lik agaroz jelde koşturularak bant uzunluklarının beklenen uzunluklarda olup olmadığı incelenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. *Mi-1.2* Geni Tarafından Sağlanan Dayanıklılığın Patolojik Olarak Doğrulanması

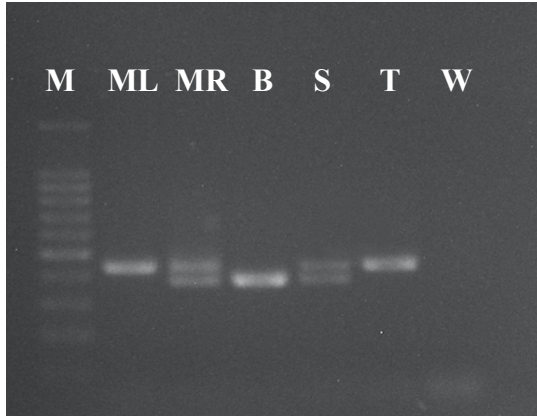
Multy F1 ve Multy RN domates çeşitleri, *Mi-1* avirulent *Meloidogyne incognita* S6 izolatu ile inokulasyon yapıldıktan sonra 8 hafta iklim odasında tutulmuş ve daha sonra bitkiler sökülüştür. Sökülen bitkilerin köklerinde oluşan ur ve yumurta kümeleri sayılmıştır. Beklendiği gibi hassas domates çeşidi olan Multy F1’de avirulent S6 izolatu çok sayıda (>90) ur ve yumurta kümeleri oluşturmuş fakat dayanıklı Multy RN domates çeşidinde yumurta kümesi oluşturmamış, ur sayısı ise Hartman ve Sasser (1985)’in 0-5 dayanıklılık skalasına göre dayanıklı olarak (<10) bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4. 1. S6 izolatu ile inokulasyonu yapılan domateslerde oluşan yumurta kümesi ve ur sayıları

Domates Çeşidi	İzolat Adı	Yumurta Kümesi Sayısı	Ur Sayısı
Multy RN	S6	0,0	1,8
Multy F1	S6	97,4	143,8

4.2. *Mi-1.2* Geninin Moleküler Analizi

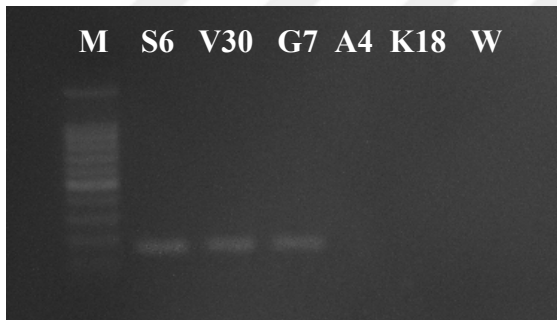
Denemede kullanılan Multy RN ve Multy F1 domates çeşitlerinin *Mi-1.2* geni taşıyıp-taşımadığı Mi23F/Mi23R primerleri kullanılarak kontrol edilmiştir (Seah vd. 2007b). Genç yapraklardan izole edilen DNA’lar kullanılarak PCR yapılmış ve PCR ürünleri %1.5’lik agaroz jelde yürütüldükten sonra fotoğraflanmıştır. Beklendiği gibi duyarlı domates çeşidi Multy F1’de 430 bp, dayanıklı domates çeşidi Multy RN’de ise 380 ve 430 bp uzunluğunda DNA bantları elde edilmiştir. Ayrıca kontrol olarak kullanılan homozigot ve heterozigot dayanıklı örneklerde de beklenen DNA bantları elde edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Mi23F ve Mi23R primerleriyle elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), ML: Multy F1, MR: Multy RN, B: Browny F1 (Homozigot dayanıklı), S: Seval F1 (Heterozigot dayanıklı), T: Tueza F1 (Hassas), W: su

4.3. *Meloidogyne incognita* İzolatlarının Moleküler Tanımlanması

Çalışmada kullanılan *Mi-1.2* virü lent V30 ve avirü lent S6 kök-ur nematod izolatlarına ait DNA'lar kullanılarak *M. incognita*'ya özgü MincF/MincR primer setleri (Devran vd. 2017) ile PCR yapılmış ve PCR ürünleri %1,5'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Her iki izolata ait 150 bp uzunluğunda *M. incognita*'ya ait beklenen DNA bantları elde edilmiş ve izolatlar *M. incognita* olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. MincF ve MincR primerleriyle elde edilen PCR ürünleri. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), S6: *M. incognita*, V30: *M. incognita*, G7: *M. incognita*, A4: *M. javanica*, K18: *M. arenaria*, W: su

4.4. Nematod İnokulasyonlarının Kontrolü

Bitkilere nematod penetrasyonunun başarıyla gerçekleştiğini ve nematod izolatının *Mi-1.2* virü lent ve avirü lent özelliğinin doğrulanması için inokulasyonlar yapılmıştır. Bunun için RNA izolasyonu yapılan bitkilere inokulasyon yapılırken aynı zamanda her gruptan (Dayanıklı bitki-avirü lent nematod izolatı, Dayanıklı bitki-virü lent nematod izolatı, Hassas bitki-avirü lent nematod izolatı, Hassas bitki-virü lent nematod izolatı) 6'şar bitkiye de nematod inokulasyonu yapılmış ve 8 hafta boyunca iklim odasında yetiştirildikten sonra sökülmüştür. Deneme sonucunda *Mi-1.2* virü lent izolat ile

inokulasyon yapılmış Multy RN ve *Mi-1.2* virulent ve avirulent izolat ile inokulasyon yapılmış Multy F1 bitkilerinde ur ve yumurta kümeleri, avirulent S6 izolatı inokulasyonu yapılmış olan Multy RN'deki ur ve yumurta kümesi sayılarına göre istatistiki olarak farklı bulunmuştur. Dayanıklı bitkiye *Mi-1.2* virulent izolat inokulasyonu sonucunda oluşan ur ve yumurta kümesi sayılarının hassas bitkide oluşan ur ve yumurta kümesi sayılarından istatistiki önemde farklı olmadığı görülmüştür. Ayrıca V30 izolatının beklendiği gibi *Mi-1.2* virulent olduğu doğrulanmıştır (Çizelge 4.2).

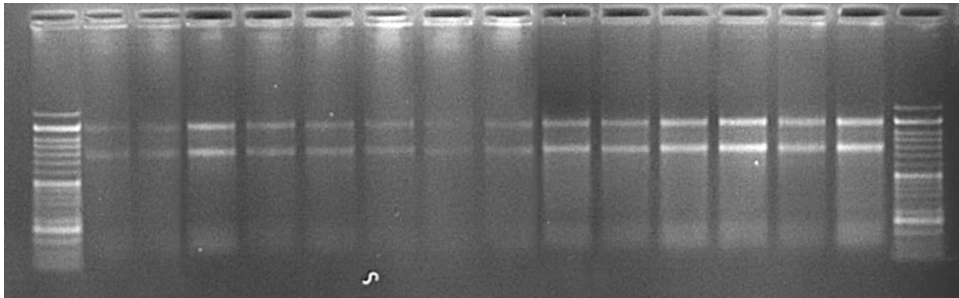
Çizelge 4.2. *Meloidogyne incognita*'nın S6 ve V30 ile inokulasyon yapılan domates bitkilerinin ur ve yumurta kümesi sayıları

Domates Çeşidi	İzolat Adı	Yumurta Kümesi Sayısı	Ur Sayısı
Multy RN	S6	0,00 b*	2,17 b
	V30	97,67 a	164,50 a
Multy F1	S6	96,33 a	133,17 a
	V30	75,33 a	169,67 a

* Aynı sütun içerisinde aynı harf ile gösterilen değerler arasında istatistiki farklılık bulunmamaktadır (Tukey Testi, $P \leq 0,05$).

4.5. İzole Edilen RNA'ların Agoroz Jelde Görüntülenmesi

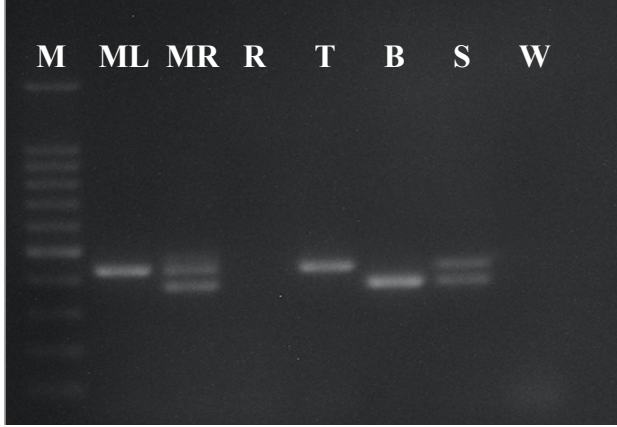
Bitki köklerinden RNA izolasyonu Plant/Fungi Total RNA Purification Kit (Norgen Biotech Corp.) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. RNA izolasyonun başarılı olup olmadığını anlamak için RNA'lar %1,5'luk agoroz jelde yürütülmüş ve görüntülenmiştir (Şekil 4.3). Sonuçlar, RNA izolasyonunun başarılı olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.3. RNA'ların agoroz jeldeki görüntüsü

4.6. DNA Kontaminasyonunun Kontrolü

İzole edilen RNA'larda DNA'nın kalıp kalmadığını belirlemek için RNA'lar Mi23 moleküler markörü (Seah vd. 2007b) kullanılarak klasik PCR yapılmıştır. Beklendiği gibi kontrol örnekleri hariç, RNA örneklerinin hiçbirinde PCR ürünü elde edilmemiştir (Şekil 4.4). PCR sonuçları, RNA örneklerinde DNA kontaminasyonunun olmadığını göstermiştir.



Şekil 4.4. Mi23F ve Mi23R primerleriyle elde edilen PCR ürünlerinin jel görüntüsü. M: Moleküler markör (100 bp DNA ladder, Hibrigen), ML: Multy F1 (DNA), MR: Multy RN (DNA), R: Örnek (RNA), T: Tueza F1 (DNA), B: Browny F1 (DNA), S: Seval F1 (DNA), W: su.

4.7. İzole Edilen RNA Miktarının Ölçümü

İzolasyonu gerçekleştirilen RNA'ların konsantrasyonu belirlenmesi ve saflıklarının 260 ve 280 nm dalga boylarında absorbanlarının ölçülmesi için NanoDrop™ 2000/2000c Spectrophotometers (Thermo Scientific™) cihazı kullanılmıştır (Çizelge 4.3). Saf DNA'nın 260/280 nm oranının ~1,8, saf RNA'nın ise ~2,0 olması beklenmektedir (Desjardins ve Conklin 2010). Ölçümü yapılan tüm RNA'ların 260/280 nm oranı, ~2,0 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4. 3. İzole edilen RNA'ların konsantrasyonları ve absorban değerleri

No	Örnek Kodu	Nükleik Asit Konsantrasyonu (ng/μL)	260/280	No	Örnek Kodu	Nükleik Asit Konsantrasyonu (ng/μL)	260/280
1	A1	68,3	2,07	55	X1	139,5	2,08
2	A2	150,3	2,10	56	X2	85,1	2,08
3	A3	144,6	2,12	57	X3	61,5	2,09
4	A4	161,0	2,11	58	X4	272,7	2,14
5	A5	268,9	2,13	59	X5	146,0	2,11
6	A6	173,2	2,11	60	X6	229,8	2,13
7	A7	163,5	2,13	61	X7	230,6	2,12
8	A8	183,1	2,11	62	X8	159,0	2,12
9	A9	172,9	2,06	63	X9	206,1	2,10
10	A10	182,5	2,12	64	X10	137,9	2,12
11	A11	110,5	2,09	65	X11	93,8	2,07
12	A12	121,4	2,05	66	X12	187,3	2,13
13	A13	146,0	2,11	67	X13	129,1	2,08
14	A14	148,5	2,10	68	X14	204,6	2,13

Devamı Arkada

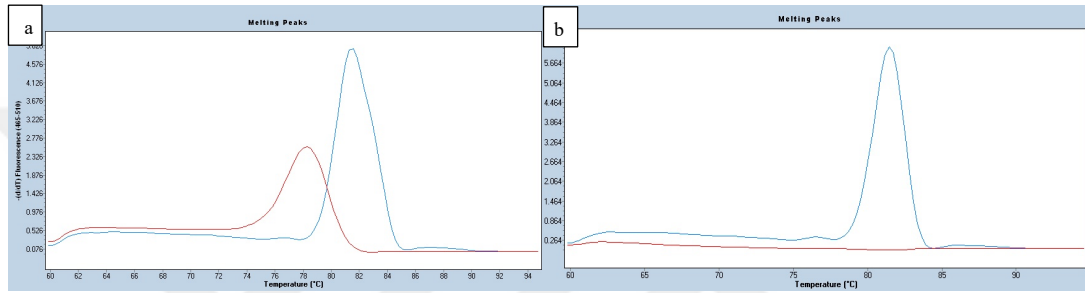
Çizelge 4.3'ün devamı

15	A15	184,9	2,10	69	X15	97,0	2,10
16	A16	178,9	2,11	70	X16	250,3	2,12
17	A17	186,8	2,10	71	X17	377,8	2,11
18	A18	178,6	2,09	72	X18	105,5	2,10
19	B1	117,7	2,11	73	Y1	152,2	2,12
20	B2	81,8	2,03	74	Y2	115,2	2,08
21	B3	86,1	2,12	75	Y3	126,3	2,11
22	B4	244,0	2,09	76	Y4	159,3	2,09
23	B5	178,4	2,11	77	Y5	175,7	2,12
24	B6	238,8	2,14	78	Y6	178,1	2,13
25	B7	156,9	2,13	79	Y7	246,5	2,11
26	B8	189,3	2,11	80	Y8	143,1	2,09
27	B9	216,7	2,13	81	Y9	203,9	2,09
28	B10	125,9	2,10	82	Y10	93,9	2,07
29	B11	166,3	2,12	83	Y11	119,3	2,08
30	B12	176,8	2,13	84	Y12	109,5	2,08
31	B13	176,5	2,13	85	Y13	251,7	2,10
32	B14	142,1	2,11	86	Y14	124,0	2,12
33	B15	217,0	2,11	87	Y15	141,0	2,08
34	B16	296,4	2,11	88	Y16	288,5	2,09
35	B17	236,2	2,11	89	Y17	97,9	2,06
36	B18	188,8	2,06	90	Y18	282,2	2,14
37	C1	90,9	2,10	91	Z1	242,9	2,13
38	C2	106,5	2,11	92	Z2	154,6	2,08
39	C3	113,4	2,09	93	Z3	137,9	2,11
40	C4	204,7	2,11	94	Z4	187,6	2,09
41	C5	209,2	2,12	95	Z5	215,6	2,11
42	C6	161,8	2,13	96	Z6	211,1	2,13
43	C7	117,9	2,10	97	Z7	217,7	2,14
44	C8	109,1	2,05	98	Z8	132,7	2,10
45	C9	106,5	2,11	99	Z9	201,8	2,13
46	C10	189,5	2,11	100	Z10	200,7	2,12
47	C11	227,1	2,14	101	Z11	163,7	2,12
48	C12	124,1	2,09	102	Z12	198,8	2,12
49	C13	160,8	2,11	103	Z13	176,9	2,10
50	C14	153,1	2,11	104	Z14	357,1	2,10
51	C15	173,6	2,12	105	Z15	178,7	2,12
52	C16	178,6	2,10	106	Z16	236,3	2,11
53	C17	54,4	1,98	107	Z17	189,5	2,10
54	C18	278,6	2,11	108	Z18	288,1	2,12

4.8. qRT-PCR Çalışmaları

4.8.1. Erime eğrisi pikleri

Çalışmada kullanılacak her primer için uygun annealing sıcaklığını belirlemek için 58°C ve 60°C’de qRT-PCR’lar kurulmuş ve erime pikleri (melting peak) incelenmiştir. Uygun annealing sıcaklığı belirlenirken RNA’larda stabil ve tek bir pik oluşturan ve suda pik görülmeyen sıcaklık değerleri seçilmiştir. Örnek olarak *SIWRKY3* geni için 58°C ve 60°C’de birleştirme (annealing) sıcaklıklarında yapılan qRT-PCR sonuçları verilmiştir. 58°C’de suda pik olduğu buna karşın qRT-PCR 60°C’de ise suda pik oluşmadığı görülmüştür (Şekil 4.5.a, b). Kullanılacak tüm primerlerin çalışma sıcaklıkları bu yaklaşıma göre belirlenmiş ve uygulamaya aktarılmıştır.

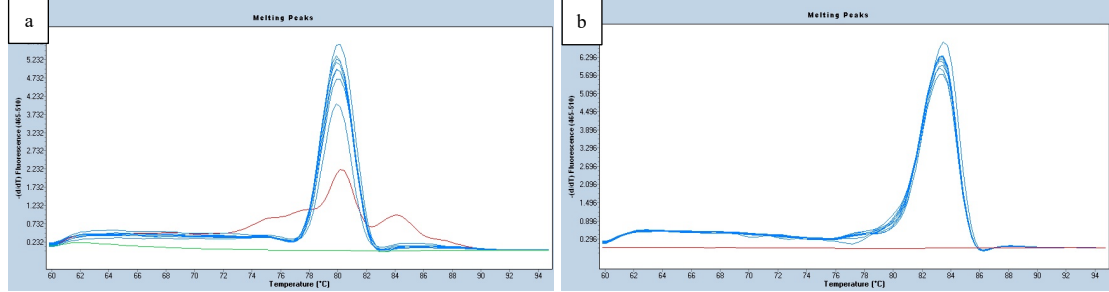


Şekil 4.5. *SIWRKY3* geni için erime pikleri a) 58°C ve b) 60°C

Çizelge 4. 4. qRT-PCR kullanılan genlere ait primerlerin adları ve bağlanma sıcaklıkları

Genin Adı	Primer Adı	Bağlanma Sıcaklığı
<i>Mi-1.2</i>	FjMi-1.2F FjMi-1.2R	60°C
<i>Mi-1.2</i>	ToMi-1.2F ToMi-1.2R	60°C
<i>PR-1a</i>	PR1F PR1R	58°C
<i>PR-2</i>	PR2F PR2R	58°C
<i>PR-5</i>	PR5F PR5R	60°C
<i>SIWRKY72a</i>	SIW72aF SIW72aR	58°C
<i>SIWRKY72b</i>	SIW72bF SIW72bR	58°C
<i>SIWRKY45</i>	SIW45F SIW45R	58°C
<i>SIWRKY3</i>	SIW3F SIW3R	60°C
Glycogenin glucosyltransferase	GlyF GlyR	58°C
<i>HsfA1a</i>	HsfAF HsfAR	60°C
<i>Hsp90-1</i>	Hsp90F Hsp90R	60°C
Peroxidase	PexF PexR	60°C
GAPDH	GAPF GAPR	58/60°C
EF-1 α	Ef1aF Ef1aR	58/60°C

Referans gen olarak GAPDH ve Ef-1a kullanılması planlanmıştır. GAPDH'ın erime pikleri her iki sıcaklık değerinde (58°C ve 60°C) beklendiği gibi elde edilmemiş buna karşın Ef-1a ise 58°C ve 60°C'de net erime piki vermiştir. Bu nedenle analizlerde referans gen olarak Ef-1a kullanılmıştır (Şekil 4.6.a, b).

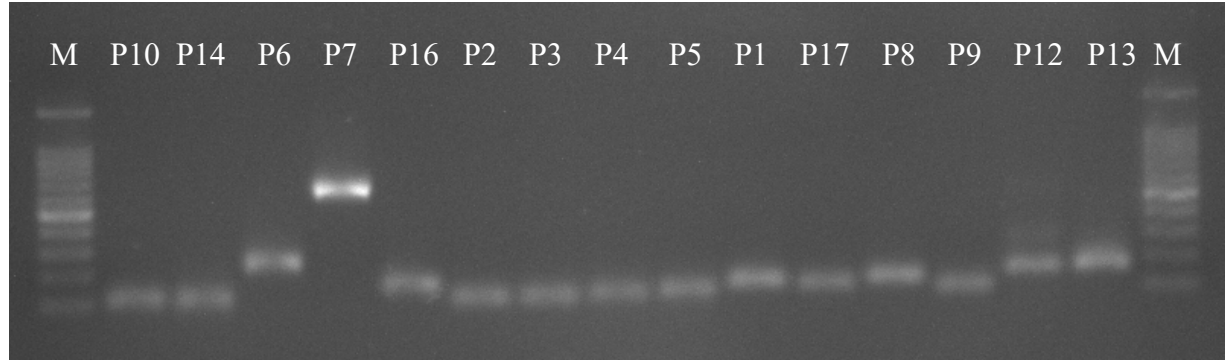


Şekil 4.6. Referans genlerin erime pikleri **a)** GAPDH ve **b)** Ef-1a

qRT-PCR çalışmalarında kullanılan primerlerin optimize edilen bağlanma sıcaklık değerleri Çizelge 4.4'de belirtilmiştir.

4.8.2. qRT-PCR ürünlerinin kontrolü

Primerlerle yapılan qRT-PCR ile çoğaltılan bölgenin doğru olup olmadığı belirlenmiştir. PCR ürünleri, %2,5'luk agaroz jelde 100 volta 1 saat yürütülmüştür. Primerlerin hedeflenen bölgeleri çoğalttığı elde edilen bant uzunlukları ile doğrulanmıştır. Referans gen olarak kullanılması planlanan GAPDH'a ait PCR ürününün (P12), 157 bp uzunluğundaki banda ek olarak bazı RNA'larda farklı uzunluklarda ilave zayıf bantlar oluşturduğu görülmüştür. Bu nedenle GAPDH analizlere dahil edilmemiş ve referans gen olarak Ef-1a kullanılmıştır (Şekil 4.7., Çizelge 4.5).



Şekil 4.7. Primerlere ait qRT-PCR ürünlerinin agaroz jelde görüntüsü

Çizelge 4. 5. Primerlerin çoğalttığı bölgelerin PCR ürünlerinin uzunluğu

Primer Kodu	Primerler	PCR Ürününün Uzunluğu (bp)
P10	ToMi-1.2	99
P14	FjMi-1.2	101
P6	PR1a	229
P7	PR2	606
P16	PR5	127
P2	SIW72a	85
P3	SIW72b	84
P4	SIW45	91
P5	SIW3	101
P1	Gly	125
P17	HsfA	114
P8	Hsp90	133
P9	Pex	101
P17	HsfA	114
P12	GAP (Referans gen)	157
P13	EF1 α (Referans gen)	158

4.8.3. Dayanıklı bitkilerdeki qRT-PCR analizleri

Dayanıklı domates bitkilerdeki qRT-PCR çalışması kapsamında 1199 adet PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

4.8.3.1. *Mi-1.2* geni

Bu çalışmada *Mi-1.2* geninin ekspresyon seviyesinin incelenmesi 2 farklı primer seti ile qRT-PCR gerçekleştirilmiştir. Fujimoto vd. (2011)'in geliştirmiş olduğu FjMi-1.2 primeri ile bu çalışma kapsamında dizayn edilen ToMi-1.2 primer setleri kullanılmıştır. Dayanıklı domates çeşidinde *M. incognita*'nın avirü lent S6 izolatu ile inokulasyonu yapılan bitkilerdeki *Mi-1.2* geninin FjMi-1.2F/R primeriyle Δ CT değeri 2. günde kontrol grubundan istatistiki önemde farklılık göstermiştir. Diğer günlerde ise avirü lent veya *Mi-1.2* virü lent V30 *M. incognita* izolatu ile inokulasyonu yapılan bitkilerdeki Δ CT değeri, kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.6).

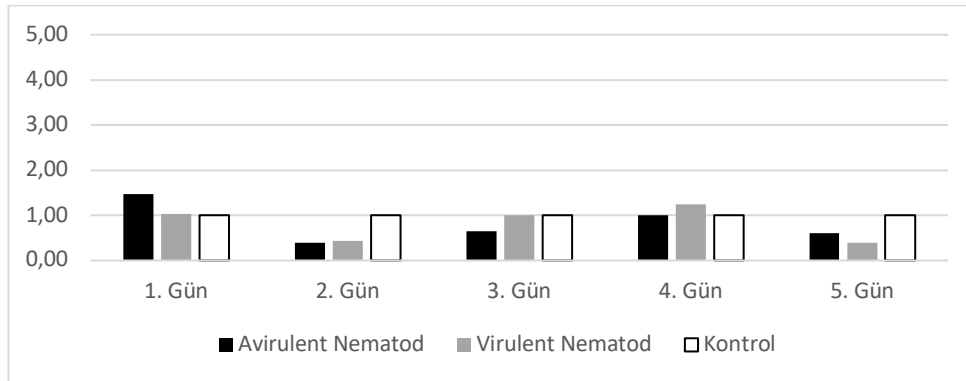
Çizelge 4.6. Dayanıklı domates bitkisinde FjMi-1.2F/FjMi-1.2R primeriyle *Mi-1.2* geninin ifadesinde elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	Δ CT**	$\Delta\Delta$ CT	$2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	DA1	23,18 ± 0,28	16,74 ± 0,24	6,44 a	-0,55	1,47	1,47
	Virulent V30	DV1	23,81 ± 0,11	16,85 ± 0,08	6,96 a	-0,03	1,02	1,02
	Kontrol	DK1	23,55 ± 0,35	16,55 ± 0,28	6,99 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	DA2	24,52 ± 0,30	16,69 ± 0,17	7,83 a	1,38	0,39	-2,59
	Virulent V30	DV2	24,65 ± 0,23	17,01 ± 0,34	7,64 ab	1,19	0,44	-2,28
	Kontrol	DK2	23,64 ± 0,30	17,19 ± 0,18	6,45 b		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	DA3	23,90 ± 0,16	17,45 ± 0,15	6,44 a	0,63	0,64	-1,55
	Virulent V30	DV3	23,71 ± 0,51	17,90 ± 0,67	5,81 a	0,00	1,00	1,00
	Kontrol	DK3	23,80 ± 0,49	17,99 ± 0,45	5,81 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	DA4	24,81 ± 0,11	16,82 ± 0,10	8,00 a	-0,01	1,01	1,01
	Virulent V30	DV4	25,03 ± 0,37	17,34 ± 0,26	7,70 a	-0,32	1,24	1,24
	Kontrol	DK4	24,71 ± 0,12	16,70 ± 0,09	8,01 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	DA5	24,21 ± 0,28	17,43 ± 0,44	6,78 a	0,72	0,61	-1,65
	Virulent V30	DV5	26,26 ± 2,05	18,86 ± 2,19	7,40 a	1,35	0,39	-2,54
	Kontrol	DK5	23,91 ± 0,49	17,86 ± 0,28	6,06 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen Δ CT'leri arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, FjMi-1.2F/ FjMi-1.2R primerleriyle *Mi-1.2* geninin ifadesine ait elde edilen $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. Dayanıklı domates bitkisinde FjMi-1.2F/FjMi-1.2R primerleriyle *Mi-1.2* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

Dayanıklı domates çeşidinin *M. incognita*'nın *Mi-1.2* virulent V30 ile inokulasyonundan sonraki günlerde *Mi-1.2* geninin ToMi-1.2 primeriyle yapılan analizinde 5. gün elde edilen Δ CT değerleri kontrol grubundan istatistiki önemde farklılık

göstermiştir. Diğer günlerde ise *M. incognita*'nın avirülen S6 ve *Mi-1.2* virülen V30 izolatlarıyla inokulasyon yapılan bitkilerdeki ΔCT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.7).

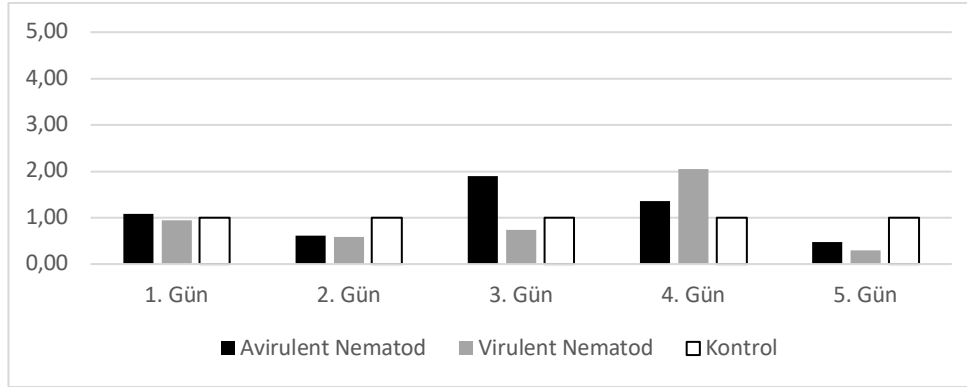
Çizelge 4.7. Dayanıklı domates bitkisinde ToMi-1.2F/ ToMi-1.2R primerleriyle *Mi-1.2* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirülen S6	DA1	26,08 ± 0,28	16,74 ± 0,24	9,34 a	-0,11	1,08	1,08
	Virülen V30	DV1	26,39 ± 0,21	16,85 ± 0,08	9,54 a	0,09	0,94	-1,06
	Kontrol	DK1	26,01 ± 0,12	16,55 ± 0,28	9,45 a		1,00	
2. Gün	Avirülen S6	DA2	26,37 ± 0,30	16,69 ± 0,17	9,68 a	0,72	0,61	-1,64
	Virülen V30	DV2	26,75 ± 0,25	17,01 ± 0,34	9,74 a	0,78	0,58	-1,71
	Kontrol	DK2	26,15 ± 0,21	17,19 ± 0,18	8,96 a		1,00	
3. Gün	Avirülen S6	DA3	25,49 ± 0,31	17,45 ± 0,15	8,04 a	-0,93	1,90	1,90
	Virülen V30	DV3	27,32 ± 1,09	17,90 ± 0,67	9,42 a	0,45	0,73	-1,37
	Kontrol	DK3	26,96 ± 1,01	17,99 ± 0,45	8,96 a		1,00	
4. Gün	Avirülen S6	DA4	27,31 ± 0,36	16,82 ± 0,10	10,49 a	-0,45	1,36	1,36
	Virülen V30	DV4	27,23 ± 0,42	17,34 ± 0,26	9,90 a	-1,04	2,05	2,05
	Kontrol	DK4	27,63 ± 0,31	16,70 ± 0,09	10,94 a		1,00	
5. Gün	Avirülen S6	DA5	26,86 ± 0,48	17,83 ± 0,21	9,03 ab	1,07	0,48	-2,10
	Virülen V30	DV5	26,84 ± 0,37	17,1 ± 0,53	9,74 a	1,78	0,29	-3,43
	Kontrol	DK5	26,52 ± 0,14	18,56 ± 0,05	7,96 b		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirülen, virülen nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirülen S6 izolatı ve *Mi-1.2* virülen V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, ToMi-1.2F/ ToMi-1.2R primerleriyle *Mi-1.2* geninin ifadesine ait elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.9'de gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Dayanıklı domates bitkisinde ToMi-1.2F/ ToMi-1.2R primerleriyle *Mi-1.2* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.3.2. *PR-1a* geni

Dayanıklı domates çeşidinin *M. incognita*'nın avirulent S6 ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonundan sonra ilk 5 gün içerisinde *PR-1a* geninin ΔCT değerleri kontrol bitkisiyle istatistiki önemde farklılık göstermemiştir. Kontrole göre en yüksek gen ifadesi *Mi-1.2* virulent V30 izolatı ile inokulasyondan üç gün sonra, en düşük gen ifadesi ise avirulent S6 izolatı inokulasyonundan 5 gün sonra tespit edilmiştir (Çizelge 4.8).

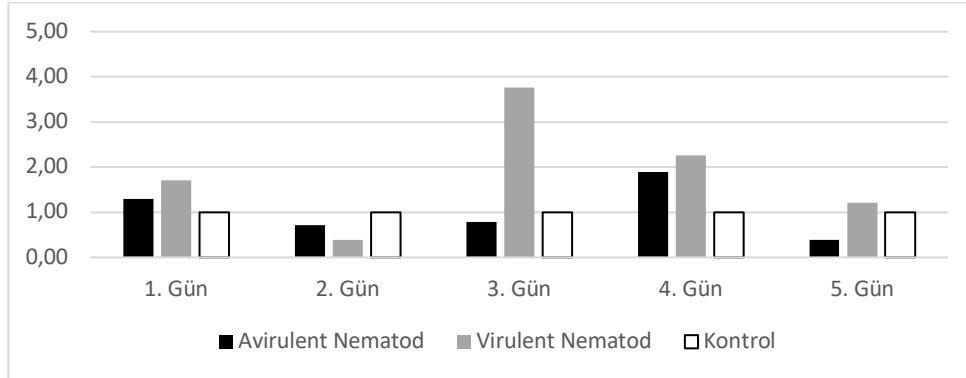
Çizelge 4.8. Dayanıklı domates bitkisinde PR1F/PR1R primerleriyle *PR-1a* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	DA1	30,62 ± 0,41	16,74 ± 0,17	13,88 a	-0,37	1,29	1,29
	Virulent V30	DV1	30,32 ± 0,90	16,84 ± 0,37	13,48 a	-0,77	1,71	1,71
	Kontrol	DK1	30,64 ± 0,23	16,39 ± 0,14	14,25 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	DA2	30,71 ± 0,47	16,15 ± 0,15	14,56 a	0,48	0,72	-1,40
	Virulent V30	DV2	31,81 ± 0,09	16,34 ± 0,31	15,47 a	1,39	0,38	-2,62
	Kontrol	DK2	30,62 ± 0,29	16,54 ± 0,25	14,08 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	DA3	31,11 ± 0,65	16,44 ± 0,13	14,68 a	0,36	0,78	-1,28
	Virulent V30	DV3	29,44 ± 1,59	17,03 ± 0,52	12,41 a	-1,91	3,76	3,76
	Kontrol	DK3	31,50 ± 0,04	17,18 ± 0,50	14,32 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	DA4	30,23 ± 0,50	16,08 ± 0,17	14,15 a	-0,91	1,89	1,89
	Virulent V30	DV4	30,52 ± 0,37	16,63 ± 0,31	13,89 a	-1,18	2,26	2,26
	Kontrol	DK4	31,29 ± 0,44	16,22 ± 0,20	15,07 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	DA5	32,17 ± 0,16	17,13 ± 0,43	15,03 a	1,39	0,38	-2,63
	Virulent V30	DV5	31,79 ± 0,59	18,42 ± 2,16	13,37 a	-0,27	1,21	1,21
	Kontrol	DK5	31,13 ± 0,30	17,49 ± 0,36	13,64 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirüent S6 izolatu ve *Mi-1.2* virüent V30 ile inokulasyonu sonucu günlere göre, PR1F/PR1R primeriyle *PR-1a* geninin ifadesi için elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 10 Dayanıklı domates bitkisinde PR1F/PR1R primerleriyle *PR-1a* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.3.3. *PR-2* geni

Dayanıklı domates çeşidinde deneme sürecinde 5 gün boyunca *M. incognita*'nın avirüent S6 ve *Mi-1.2* virüent V30 izolatları ile inokulasyon yapılan bitkilerden *PR-2* geninin PR2 primeriyle elde edilen ΔCT değerlerinin kontrol bitkisinden istatistiki düzeyde farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.9).

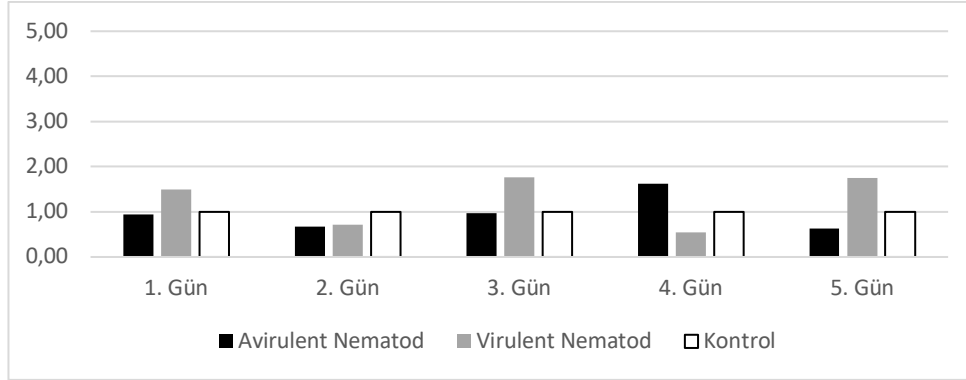
Çizelge 4.9. Dayanıklı domates bitkisinde PR2F/PR2R primerleriyle *PR-2* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirüent S6	DA1	20,60 ± 0,54	15,97 ± 0,13	4,63 a	0,09	0,94	-1,06
	Virüent V30	DV1	19,77 ± 0,26	15,81 ± 0,10	3,97 a	-0,57	1,49	1,49
	Kontrol	DK1	20,19 ± 0,15	15,65 ± 0,08	4,54 a		1,00	
2. Gün	Avirüent S6	DA2	23,47 ± 0,50	16,15 ± 0,15	7,32 a	0,58	0,67	-1,49
	Virüent V30	DV2	23,55 ± 0,03	16,34 ± 0,31	7,21 a	0,47	0,72	-1,39
	Kontrol	DK2	23,28 ± 0,31	16,54 ± 0,25	6,74 a		1,00	
3. Gün	Avirüent S6	DA3	22,47 ± 0,15	16,44 ± 0,13	6,03 a	0,04	0,97	-1,03
	Virüent V30	DV3	22,21 ± 3,06	17,03 ± 0,52	5,19 a	-0,82	1,77	1,77
	Kontrol	DK3	23,18 ± 1,60	17,18 ± 0,50	5,99 a		1,00	
4. Gün	Avirüent S6	DA4	21,30 ± 0,26	16,08 ± 0,17	5,21 a	-0,69	1,62	0,33
	Virüent V30	DV4	23,42 ± 0,87	16,63 ± 0,31	6,79 a	0,88	0,54	-1,84
	Kontrol	DK4	22,13 ± 0,43	16,22 ± 0,20	5,91 a		1,00	
5. Gün	Avirüent S6	DA5	25,00 ± 0,68	17,13 ± 0,43	7,87 a	0,67	0,63	-1,59
	Virüent V30	DV5	24,82 ± 0,99	18,42 ± 2,16	6,39 a	-0,81	1,75	1,75
	Kontrol	DK5	24,69 ± 0,33	17,49 ± 0,36	7,20 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirüent, virüent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın *Mi-1.2* virulent V30 izolatu ve avirulent S6 izolatu ile inokulasyonu sonucu günlere göre, PR2F/PR2R primerleriyle, *PR-2* geni ifadesi için elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. Dayanıklı domates bitkisinde PR2F/PR2R primerleriyle *PR-2* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.3.4. *PR-5* geni

Dayanıklı domates çeşidinde deneme sürecinde 5 gün boyunca *M. incognita*'nın avirulent S6 ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu yapılan bitkilerden *PR-5* geninin ΔCT değerlerinin kontrol bitkisinden istatistiki düzeyde farklılık göstermediği görülmüştür.

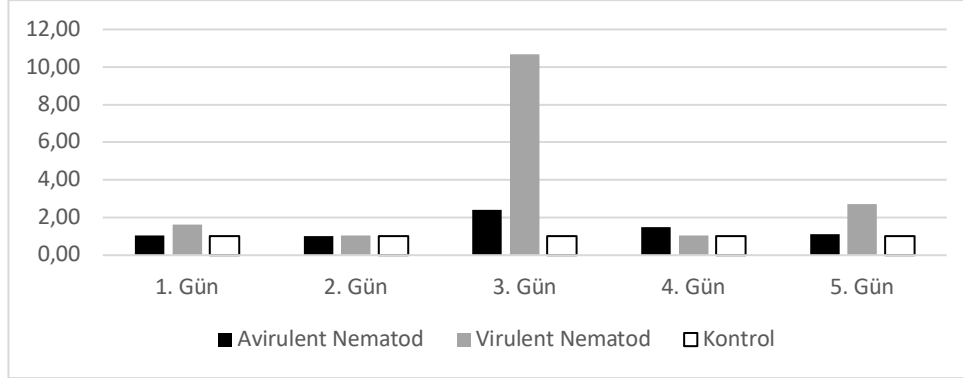
Çizelge 4.10. Dayanıklı domates bitkisinde PR5F/PR5R primerleriyle *PR-5* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	DA1	24,93 ± 0,36	16,69 ± 0,22	8,24 a	-0,06	1,04	1,04
	Virulent V30	DV1	24,23 ± 0,01	16,65 ± 0,25	7,58 a	-0,72	1,64	1,64
	Kontrol	DK1	25,00 ± 0,40	16,70 ± 0,09	8,30 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	DA2	26,36 ± 0,29	17,01 ± 0,25	9,35 a	-0,01	1,00	-1,00
	Virulent V30	DV2	27,08 ± 1,36	17,81 ± 0,90	9,26 a	-0,09	1,06	-0,94
	Kontrol	DK2	26,85 ± 0,64	17,49 ± 0,28	9,35 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	DA3	26,53 ± 0,63	17,28 ± 0,23	9,24 a	-1,26	2,40	2,40
	Virulent V30	DV3	24,30 ± 2,00	17,22 ± 0,36	7,09 a	-3,42	10,69	10,69
	Kontrol	DK3	28,10 ± 1,06	17,59 ± 0,41	10,51 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	DA4	25,72 ± 0,44	17,07 ± 0,27	8,66 a	-0,57	1,48	1,48
	Virulent V30	DV4	26,27 ± 0,32	17,14 ± 0,36	9,13 a	-0,09	1,06	1,06
	Kontrol	DK4	26,29 ± 0,58	17,06 ± 0,12	9,22 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	DA5	28,56 ± 0,47	17,62 ± 0,36	10,94 a	-0,16	1,12	1,12
	Virulent V30	DV5	27,01 ± 0,49	17,36 ± 0,57	9,65 a	-1,45	2,73	2,73
	Kontrol	DK5	29,87 ± 0,28	18,77 ± 0,14	11,10 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın *Mi-1.2* virü lent V30 izolatı ve avirü lent S6 izolatı ile inokulasyonu sonucu günlere göre, PR5F/PR5R primerleriyle, *PR-5* geni ifadesi için ait elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.12'de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Dayanıklı domates bitkisinde PR5F/PR5R primerleriyle *PR-5* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.3.5. *SIWRKY72a* geni

Dayanıklı domates çeşidinde deneme sürecinde 5 gün boyunca *M. incognita*'nın avirü lent S6 ve *Mi-1.2* virü lent V30 izolatları ile inokulasyonu yapılan bitkilerden *SIWRKY72a* geninin ΔCT değerlerinin kontrol bitkisinden istatistiki düzeyde farklılık göstermediği görülmüştür. İnokulasyon yapılan 2. günde gen ifadesi değişim katsayısı azalmıştır. Diğer günlerde ise kontrol bitkisine göre artış göstermiştir (Çizelge 4.11).

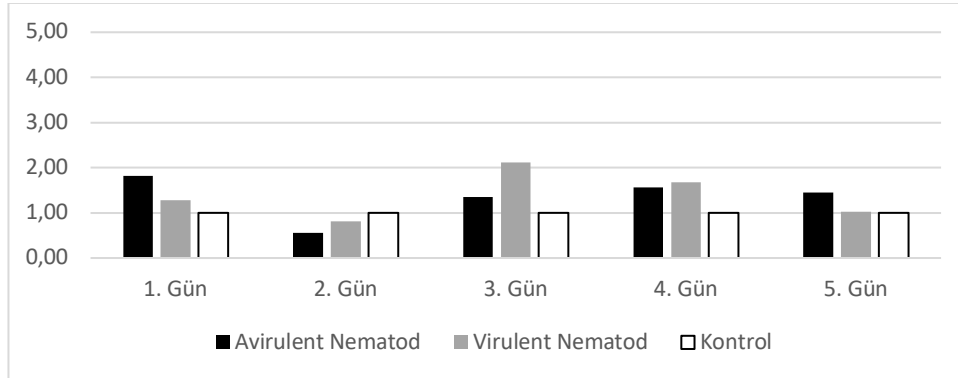
Çizelge 4.11. Dayanıklı domates bitkisinde SIW72aF/SIW72aR primerleriyle *SIWRKY72a* geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	Δ CT**	$\Delta\Delta$ CT	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	DA1	22,01 ± 0,49	15,97 ± 0,13	6,04 a	-0,86	1,82	1,82
	Virulent V30	DV1	22,35 ± 0,27	15,81 ± 0,10	6,54 a	-0,36	1,29	1,29
	Kontrol	DK1	22,56 ± 0,17	15,65 ± 0,08	6,91 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	DA2	22,82 ± 0,16	16,15 ± 0,15	6,68 a	0,86	0,55	-1,81
	Virulent V30	DV2	22,47 ± 0,38	16,34 ± 0,31	6,13 a	0,31	0,81	-1,24
	Kontrol	DK2	22,36 ± 0,32	16,54 ± 0,25	5,82 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	DA3	22,53 ± 0,37	16,44 ± 0,13	6,09 a	-0,44	1,36	1,36
	Virulent V30	DV3	22,48 ± 0,59	17,03 ± 0,52	5,44 a	-1,09	2,12	2,12
	Kontrol	DK3	23,71 ± 0,40	17,18 ± 0,50	6,53 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	DA4	21,95 ± 0,48	16,08 ± 0,17	5,87 a	-0,65	1,57	1,57
	Virulent V30	DV4	22,40 ± 0,39	16,63 ± 0,31	5,77 a	-0,75	1,68	1,68
	Kontrol	DK4	22,74 ± 0,54	16,22 ± 0,20	6,52 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	DA5	23,86 ± 0,40	17,13 ± 0,43	6,73 a	-0,54	1,45	1,45
	Virulent V30	DV5	25,65 ± 2,03	18,42 ± 2,16	7,22 a	-0,04	1,03	1,03
	Kontrol	DK5	24,76 ± 0,09	17,49 ± 0,36	7,27 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen Δ CT'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *SIWRKY72a* geni ifadesi için SIW72aF/SIW72aR primeriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.13'de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Dayanıklı domates bitkisinde SIW72aF/SIW72aR primerleriyle *SIWRKY72a* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.3.6. *SIWRKY72b* geni

Dayanıklı domates çeşidinde 5 gün boyunca avirulent S6 ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonları yapılan bitkilerdeki *SIWRKY72b* geninin Δ CT değerlerinin kontrol bitkisinden istatistiki düzeyde farklılık göstermediği görülmüştür. Avirulent S6

ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatlarının inokulasyonundan iki gün sonra ile bitkilerde *SIWRKY72b* geninin ifadesi kontrole göre azalmıştır. Diğer günlerde ise artış göstermiştir (Çizelge 4.12).

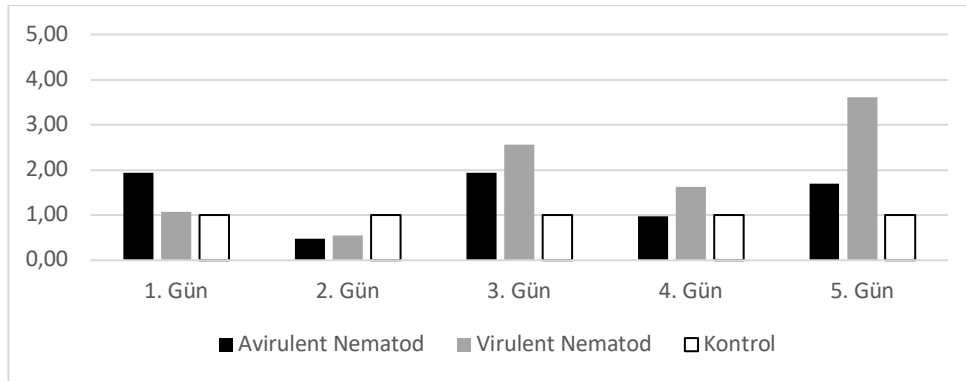
Çizelge 4.12. Dayanıklı domates bitkisinde SIW72bF/SIW72bR primerleriyle *SIWRKY72b* geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	Δ CT**	$\Delta\Delta$ CT	$2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	DA1	25,94 ± 0,19	15,97 ± 0,13	9,97 a	-0,96	1,94	1,94
	Virulent V30	DV1	26,63 ± 0,37	15,81 ± 0,10	10,82 a	-0,11	1,08	1,08
	Kontrol	DK1	26,57 ± 0,13	15,65 ± 0,08	10,92 a			
2. Gün	Avirulent S6	DA2	26,83 ± 0,21	16,15 ± 0,15	10,68 a	1,06	0,48	-2,08
	Virulent V30	DV2	26,83 ± 0,10	16,34 ± 0,31	10,49 a	0,87	0,55	-1,83
	Kontrol	DK2	26,16 ± 0,52	16,54 ± 0,25	9,62 a			
3. Gün	Avirulent S6	DA3	26,45 ± 0,36	16,44 ± 0,13	10,02 a	-0,95	1,93	1,93
	Virulent V30	DV3	26,64 ± 0,62	17,03 ± 0,52	9,61 a	-1,36	2,56	2,56
	Kontrol	DK3	28,15 ± 0,35	17,18 ± 0,50	10,97 a			
4. Gün	Avirulent S6	DA4	27,06 ± 0,55	16,08 ± 0,17	10,97 a	0,05	0,97	-1,03
	Virulent V30	DV4	27,56 ± 0,51	16,63 ± 0,31	10,93 a	-0,71	1,63	1,63
	Kontrol	DK4	27,86 ± 0,30	16,22 ± 0,20	11,63 a			
5. Gün	Avirulent S6	DA5	29,55 ± 0,28	17,13 ± 0,43	12,42 a	-0,76	1,69	1,69
	Virulent V30	DV5	29,75 ± 1,22	18,42 ± 2,16	11,33 a	-1,85	3,61	3,61
	Kontrol	DK5	30,67 ± 0,53	17,49 ± 0,36	13,18 a			

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen Δ CT'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *SIWRKY72b* geni ifadesi için SIW72bF/SIW72bR primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.14'de gösterilmiştir.



Şekil 4.14. Dayanıklı domates bitkisinde SIW72b/SIW72bR primerleriyle *SIWRKY72b* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.3.7. *SIWRKY45* geni

Dayanıklı Multy RN domates çeşidinde avirüent S6 ve virüent V30 izolatları ile inokulasyondan sonra ilk 5 gün içerisinde *SIWRKY45* geninin ΔCT değerleri kontrol bitkisiyle önemli derecede farklılık göstermemiştir. *SIWRKY45* geninin ifadesi inokulasyondan sonra 4. günde en yüksek değere ulaşmıştır (Çizelge 4.13).

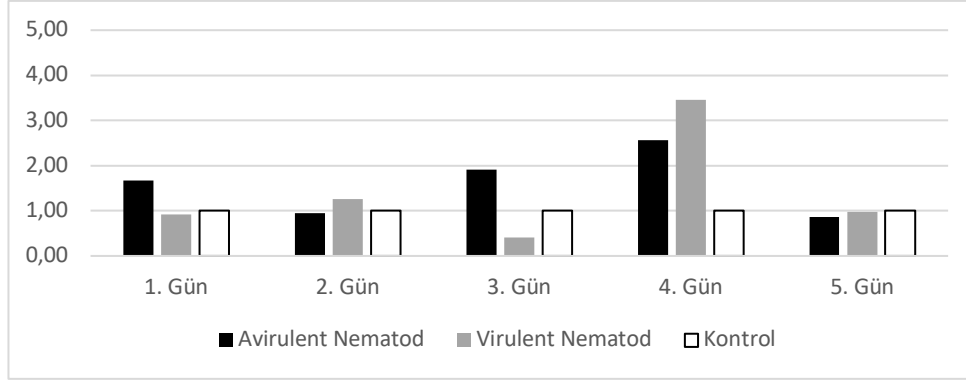
Çizelge 4.13. Dayanıklı domates bitkisinde SIW45F/SIW45R primerleriyle *SIWRKY45* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirüent S6	DA1	26,08 ± 0,43	15,97 ± 0,13	10,11 a	-0,74	1,67	1,67
	Virüent V30	DV1	26,77 ± 0,85	15,81 ± 0,10	10,96 a	0,11	0,92	-1,08
	Kontrol	DK1	26,50 ± 0,62	15,65 ± 0,08	10,85 a		1,00	
2. Gün	Avirüent S6	DA2	25,78 ± 0,55	16,15 ± 0,15	9,63 a	0,08	0,95	-1,05
	Virüent V30	DV2	25,57 ± 0,67	16,34 ± 0,31	9,23 a	-0,33	1,25	1,25
	Kontrol	DK2	26,10 ± 0,26	16,54 ± 0,25	9,56 a		1,00	
3. Gün	Avirüent S6	DA3	24,26 ± 0,34	16,44 ± 0,13	7,82 a	-0,93	1,91	1,91
	Virüent V30	DV3	27,10 ± 0,76	17,03 ± 0,52	10,07 a	1,31	0,40	-2,48
	Kontrol	DK3	25,94 ± 0,58	17,18 ± 0,50	8,76 a		1,00	
4. Gün	Avirüent S6	DA4	23,16 ± 0,47	16,08 ± 0,17	7,07 a	-1,36	2,56	2,56
	Virüent V30	DV4	23,27 ± 0,35	16,63 ± 0,31	6,64 a	-1,79	3,46	3,46
	Kontrol	DK4	24,66 ± 0,08	16,22 ± 0,20	8,43 a		1,00	
5. Gün	Avirüent S6	DA5	24,11 ± 0,49	17,13 ± 0,43	6,98 a	0,21	0,87	-1,16
	Virüent V30	DV5	25,24 ± 0,78	18,42 ± 2,16	6,81 a	0,05	0,97	-1,03
	Kontrol	DK5	24,26 ± 0,13	17,49 ± 0,36	6,77 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirüent, virüent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirüent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virüent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *SIWRKY45* geni ifadesi için SIW45F/SIW45R primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.15'de gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Dayanıklı domates bitkisinde SIW45F/SIW45R primerleriyle *SIWRKY45* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.3.8. *SIWRKY3* geni

Dayanıklı domates çeşidinde nematod inokulasyonundan sonra ilk 5 gün içerisinde *SIWRKY3* geninin ΔCT değerleri kontrol bitkisiyle istatistiki önemde farklılık göstermemiştir. Kontrole göre en yüksek gen ifadesi virülene V30 inokulasyonundan 5 gün sonra, en düşük gen ifadesi ise avirülene S6 inokulasyonundan 5 gün sonra tespit edilmiştir (Çizelge 4.14).

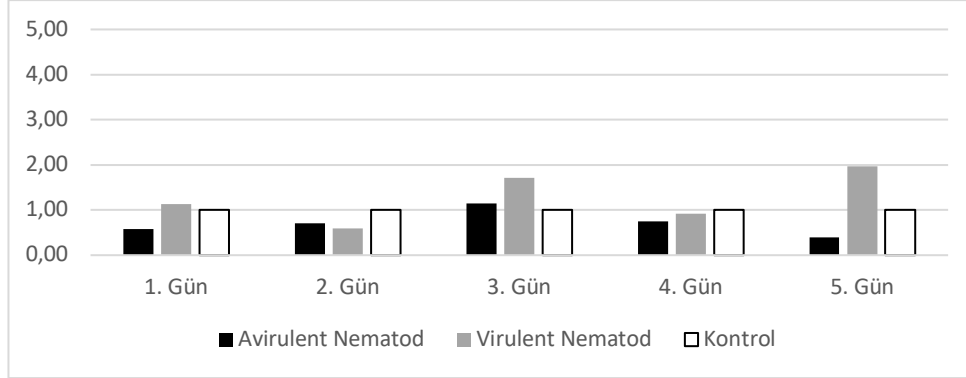
Çizelge 4.14. Dayanıklı domates bitkisinde SIW3F/SIW3R primerleriyle *SIWRKY3* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirülene S6	DA1	22,56 ± 0,54	16,74 ± 0,24	5,82 a	0,77	0,58	-1,71
	Virülene V30	DV1	21,73 ± 0,18	16,85 ± 0,08	4,87 a	-0,17	1,12	1,12
	Kontrol	DK1	21,60 ± 0,36	16,55 ± 0,28	5,04 a		1,00	
2. Gün	Avirülene S6	DA2	22,65 ± 0,55	16,69 ± 0,17	5,96 a	0,50	0,71	-1,42
	Virülene V30	DV2	23,23 ± 0,24	17,01 ± 0,34	6,22 a	0,76	0,59	-1,69
	Kontrol	DK2	22,65 ± 0,56	17,19 ± 0,18	5,46 a		1,00	
3. Gün	Avirülene S6	DA3	23,11 ± 0,20	17,45 ± 0,15	5,66 a	-0,20	1,15	1,15
	Virülene V30	DV3	22,98 ± 1,57	17,90 ± 0,67	5,08 a	-0,78	1,72	1,72
	Kontrol	DK3	23,85 ± 0,64	17,99 ± 0,45	5,86 a		1,00	
4. Gün	Avirülene S6	DA4	23,44 ± 0,46	16,82 ± 0,10	6,62 a	0,43	0,74	-1,35
	Virülene V30	DV4	23,66 ± 0,65	17,34 ± 0,26	6,33 a	0,13	0,91	-1,10
	Kontrol	DK4	22,89 ± 0,15	16,70 ± 0,09	6,20 a		1,00	
5. Gün	Avirülene S6	DA5	24,33 ± 0,57	17,43 ± 0,44	6,90 a	1,33	0,40	-2,51
	Virülene V30	DV5	23,46 ± 1,82	18,86 ± 2,19	4,59 a	-0,98	1,97	1,97
	Kontrol	DK5	23,42 ± 0,48	17,86 ± 0,28	5,57 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirülene, virülene nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirüent S6 izolatu ve *Mi-1.2* virüent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *SIWRKY3* geni ifadesi için SIW3F/SIW3R primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.16'de gösterilmiştir.



Şekil 4.16. Dayanıklı domates bitkisinde SIW3F/SIW3R primerleriyle *SIWRKY3* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.3.9. Glycogenin glucosyltransferase geni

Meloidogyne incognita'nın *Mi-1.2* virüent V30 izolatu ile inokulasyonu yapıldıktan 4 gün sonra dayanıklı bitkilerin glycogenin glucosyltransferase geninin ΔCT değerleri avirüent S6 izolatu inokulasyon yapılmış bitkilerden istatistiki önemde farklılık göstermiştir. Diğer günlerde ise *Mi-1.2* virüent V30 veya avirüent S6 izolatlarıyla inokulasyon yapılan bitkilerdeki ΔCT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.15).

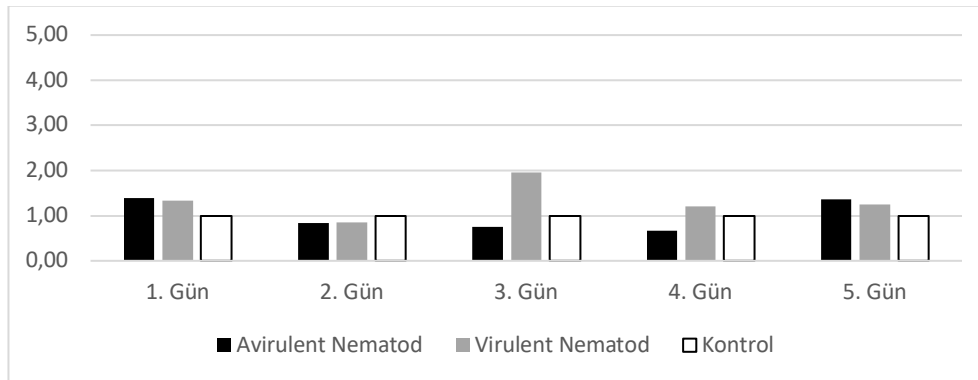
Çizelge 4.15. Dayanıklı domates bitkisinde GlyF/GlyR primerleriyle glycogenin glucosyltransferase geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	Δ CT**	$\Delta\Delta$ CT	$2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	DA1	24,48 ± 0,75	15,97 ± 0,13	8,51 a	-0,47	1,38	1,38
	Virulent V30	DV1	24,37 ± 0,25	15,81 ± 0,10	8,56 a	-0,42	1,34	1,34
	Kontrol	DK1	24,63 ± 0,10	15,65 ± 0,08	8,98 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	DA2	25,01 ± 0,06	16,15 ± 0,15	8,86 a	0,25	0,84	-1,19
	Virulent V30	DV2	25,18 ± 0,45	16,34 ± 0,31	8,84 a	0,22	0,86	-1,17
	Kontrol	DK2	25,15 ± 0,76	16,54 ± 0,25	8,62 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	DA3	25,45 ± 0,27	16,44 ± 0,13	9,02 a	0,42	0,75	-1,33
	Virulent V30	DV3	24,67 ± 0,66	17,03 ± 0,52	7,63 a	-0,97	1,96	1,96
	Kontrol	DK3	25,78 ± 0,51	17,18 ± 0,50	8,60 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	DA4	25,40 ± 0,14	16,08 ± 0,17	9,31 a	0,59	0,66	-1,51
	Virulent V30	DV4	25,08 ± 0,24	16,63 ± 0,31	8,46 b	-0,27	1,20	1,20
	Kontrol	DK4	24,95 ± 0,07	16,22 ± 0,20	8,72 ab		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	DA5	25,34 ± 0,44	17,13 ± 0,43	8,21 a	-0,44	1,36	1,36
	Virulent V30	DV5	26,76 ± 2,36	18,42 ± 2,16	8,34 a	-0,32	1,24	1,24
	Kontrol	DK5	26,15 ± 0,34	17,49 ± 0,36	8,66 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen Δ CT'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, glycogenin glucosyltransferase geni ifadesi için GlyF/GlyR primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.17'de gösterilmiştir.



Şekil 4.17. Dayanıklı domates bitkisinde GlyF/GlyR primerleriyle glycogenin glucosyltransferase geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.3.10. *HsfA1a* geni

Dayanıklı domates çeşidinde nematod inokulasyonundan sonra ilk 5 gün içerisinde *HsfA1a* geninin ΔCT değerleri kontrol bitkisiyle istatistiki önemde farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.16).

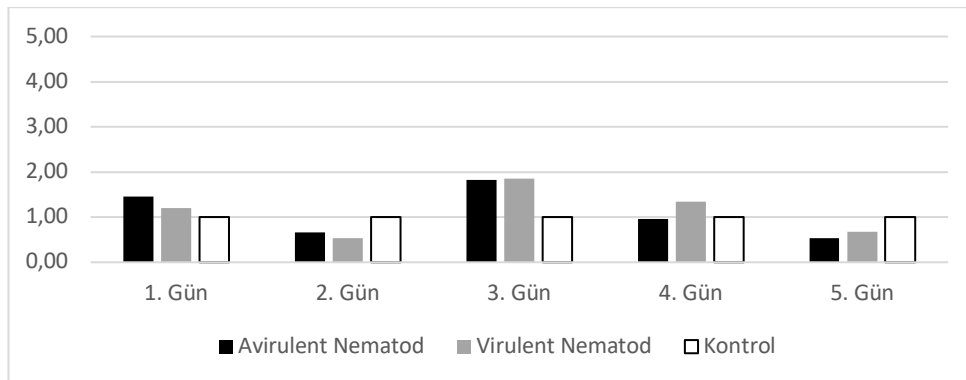
Çizelge 4.16. Dayanıklı domates bitkisinde HsfAF/HsfAR primerleriyle *HsfA1a* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	DA1	26,02 ± 0,21	16,69 ± 0,22	9,33 a	-0,53	1,45	1,45
	Virulent V30	DV1	26,26 ± 0,15	16,65 ± 0,25	9,60 a	-0,26	1,20	1,20
	Kontrol	DK1	26,57 ± 0,13	16,70 ± 0,09	9,86 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	DA2	26,78 ± 0,15	17,01 ± 0,25	9,76 a	0,59	0,67	-1,50
	Virulent V30	DV2	27,88 ± 0,87	17,81 ± 0,90	10,07 a	0,89	0,54	-1,86
	Kontrol	DK2	26,67 ± 0,36	17,49 ± 0,28	9,18 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	DA3	26,91 ± 0,10	17,28 ± 0,23	9,63 a	-0,86	1,82	1,82
	Virulent V30	DV3	26,82 ± 0,56	17,22 ± 0,36	9,60 a	-0,89	1,85	1,85
	Kontrol	DK3	28,09 ± 0,40	17,59 ± 0,41	10,49 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	DA4	27,22 ± 0,36	17,07 ± 0,27	10,15 a	0,06	0,96	-1,05
	Virulent V30	DV4	26,80 ± 0,48	17,14 ± 0,36	9,66 a	-0,43	1,35	1,35
	Kontrol	DK4	27,15 ± 0,02	17,06 ± 0,12	10,09 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	DA5	28,30 ± 0,24	17,62 ± 0,36	10,68 a	0,89	0,54	-1,85
	Virulent V30	DV5	27,71 ± 0,55	17,36 ± 0,57	10,35 a	0,55	0,68	-1,47
	Kontrol	DK5	28,57 ± 0,36	18,77 ± 0,14	9,80 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatu ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *HsfA1a* geni ifadesi için HsfAF/HsfAR primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.18'de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. Dayanıklı domates bitkisinde HsfAF/HsfAR primerleriyle *HsfA1a* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatu ve günlere göre değişimi

4.8.3.11. *Hsp90* geni

Meloidogyne incognita'nın *Mi-1.2* virulent V30 izolatu ile inokulasyonu yapıldıktan 4 gün sonra dayanıklı bitkilerin *Hsp90* geninin ΔCT değerleri avirulent S6 izolatu ile inokulasyon yapılan bitkilerden ve kontrol grubundan istatistiki önemde farklılık göstermiştir. Diğer günlerde ise *Mi-1.2* virulent V30 veya avirulent S6 izolatlarıyla inokulasyon yapılan bitkilerdeki ΔCT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.17).

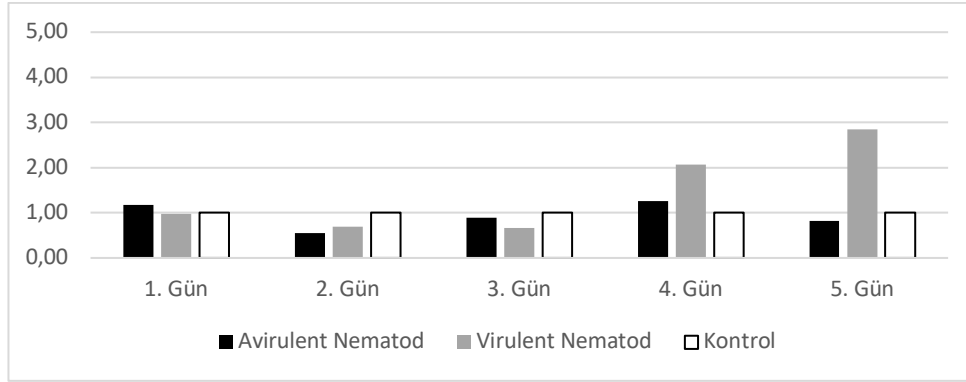
Çizelge 4.17. Dayanıklı domates bitkisinde *Hsp90F*/ *Hsp90R* primerleriyle *Hsp90* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	DA1	19,92 ± 0,18	16,74 ± 0,24	3,18 a	-0,23	1,17	1,17
	Virulent V30	DV1	20,3 ± 0,14	16,85 ± 0,08	3,45 a	0,04	0,97	-1,03
	Kontrol	DK1	19,96 ± 0,38	16,55 ± 0,28	3,41 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	DA2	20,67 ± 0,10	16,69 ± 0,17	3,98 a	0,87	0,55	-1,83
	Virulent V30	DV2	20,66 ± 0,25	17,01 ± 0,34	3,65 a	0,54	0,69	-1,45
	Kontrol	DK2	20,30 ± 0,28	17,19 ± 0,18	3,11 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	DA3	20,74 ± 0,24	17,45 ± 0,15	3,28 a	0,16	0,90	-1,12
	Virulent V30	DV3	21,60 ± 0,31	17,90 ± 0,67	3,70 a	0,58	0,67	-1,49
	Kontrol	DK3	21,11 ± 0,23	17,99 ± 0,45	3,12 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	DA4	20,78 ± 0,24	16,82 ± 0,10	3,97 a	-0,32	1,25	1,25
	Virulent V30	DV4	20,58 ± 0,07	17,34 ± 0,26	3,25 b	-1,05	2,07	2,07
	Kontrol	DK4	20,99 ± 0,01	16,70 ± 0,09	4,29 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	DA5	20,96 ± 0,50	17,43 ± 0,44	3,53 a	0,30	0,81	-1,23
	Virulent V30	DV5	20,59 ± 0,47	18,86 ± 2,19	1,73 a	-1,51	2,84	2,84
	Kontrol	DK5	21,09 ± 0,28	17,86 ± 0,28	3,24 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatu ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *Hsp90* geni ifadesi için *Hsp90F*/*Hsp90R* primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.19'de gösterilmiştir.



Şekil 4.19. Dayanıklı domates bitkisinde Hsp90F/ Hsp90R primerleriyle *Hsp90* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.3.12. Peroxidase geni

Meloidogyne incognita'nın avirulent S6 izolatı ile inokulasyonu yapılan dayanıklı domates bitkilerinde 4. günde peroxidase geninin ΔCT değerleri *Mi-1.2* virulent V30 izolatı ile inokulasyon yapılan bitkilerden ve kontrol ve kontrol grubundan istatistiki önemde farklılık göstermiştir. Diğer günlerde ise *Mi-1.2* virulent V30 veya avirulent S6 izolatlarıyla inokulasyon yapılan bitkilerdeki ΔCT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.18).

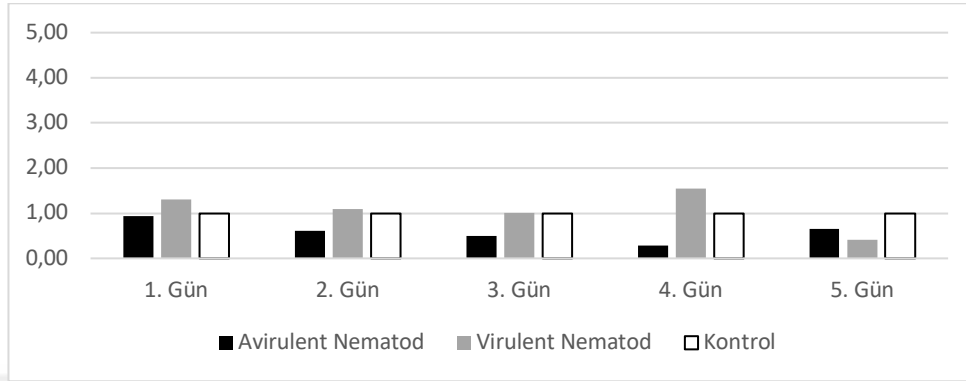
Çizelge 4.18. Dayanıklı domates bitkisinde PexF/PexR primerleriyle peroxidase geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	DA1	22,42 ± 0,33	16,74 ± 0,24	5,68 a	0,09	0,94	-1,06
	Virulent V30	DV1	22,06 ± 0,17	16,85 ± 0,08	5,21 a	-0,38	1,31	1,31
	Kontrol	DK1	22,14 ± 0,49	16,55 ± 0,28	5,59 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	DA2	22,85 ± 0,30	16,69 ± 0,17	6,16 a	0,72	0,61	-1,65
	Virulent V30	DV2	22,32 ± 0,62	17,01 ± 0,34	5,31 a	-0,13	1,09	1,09
	Kontrol	DK2	22,63 ± 0,38	17,19 ± 0,18	5,44 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	DA3	23,18 ± 0,34	17,45 ± 0,15	5,72 a	1,03	0,49	-2,04
	Virulent V30	DV3	22,59 ± 0,38	17,90 ± 0,67	4,69 a	-0,01	1,00	1,00
	Kontrol	DK3	22,69 ± 0,27	17,99 ± 0,45	4,70 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	DA4	24,40 ± 0,24	16,82 ± 0,10	7,58 a	1,78	0,29	-3,44
	Virulent V30	DV4	22,51 ± 0,15	17,34 ± 0,26	5,18 b	-0,63	1,54	1,54
	Kontrol	DK4	22,50 ± 0,22	16,70 ± 0,09	5,80 b		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	DA5	22,42 ± 0,13	17,43 ± 0,44	4,99 a	0,62	0,65	-1,54
	Virulent V30	DV5	24,49 ± 1,69	18,86 ± 2,19	5,63 a	1,26	0,42	-2,40
	Kontrol	DK5	22,22 ± 0,39	17,86 ± 0,28	4,36 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Dayanıklı domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirüent S6 izolatu ve *Mi-1.2* virüent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, peroxidase geni ifadesi için PexF/PexR primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.20'de gösterilmiştir.



Şekil 4.20. Dayanıklı domates bitkisinde PexF/PexR primerleriyle peroxidase geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.4. Hassas bitkilerdeki qRT-PCR

Hassas domates bitkilerdeki qRT-PCR çalışma kapsamında 1199 adet qRT-PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

4.8.4.1. *Mi-1.2* geni

Meloidogyne incognita'nın avirüent S6 izolatu ile inokulasyonu yapıldıktan 1 gün sonra hassas bitkilerin *Mi-1.2* geni FjMi-1.2F/R primeriyle ΔCT değerleri *Mi-1.2* virüent V30 izolatu ile inokulasyonu yapılan bitkilerden istatistiki önemde farklılık göstermiştir. Avirüent S6 izolatu inokulasyonu yapılmış bitkilerin 2 gün sonra ΔCT değeri kontrol grubundan farklı bulunmuştur. Diğer günlerde ise virüent V30 veya avirüent S6 izolatları ile inokulasyonu yapılan bitkilerdeki ΔCT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.19).

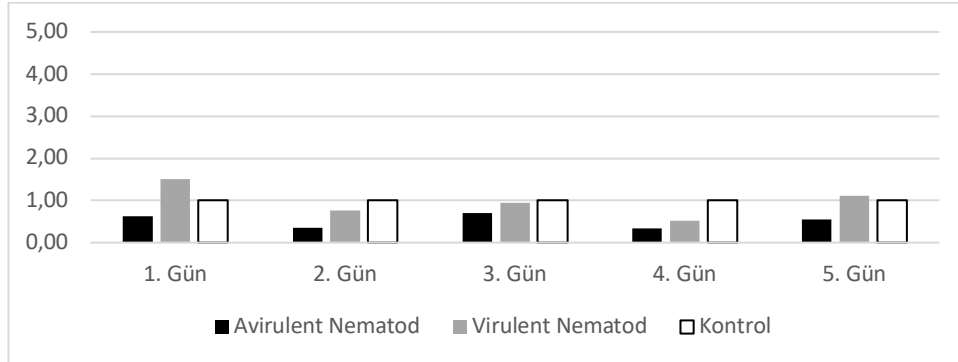
Çizelge 4.19. Hassas domates bitkisinde FjMi-1.2F/ FjMi-1.2R primerleriyle *Mi-1.2* geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	Δ CT**	$\Delta\Delta$ CT	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirürent S6	HA1	29,56 ± 0,20	16,73 ± 0,38	12,83 a	0,69	0,62	-1,61
	Virürent V30	HV1	28,24 ± 0,22	16,68 ± 0,04	11,56 b	-0,59	1,50	1,50
	Kontrol	HK1	28,97 ± 0,19	16,83 ± 0,27	12,14 ab		1,00	
2. Gün	Avirürent S6	HA2	29,85 ± 0,28	17,27 ± 0,45	12,58 a	1,52	0,35	-2,87
	Virürent V30	HV2	28,80 ± 0,30	17,34 ± 0,20	11,46 ab	0,40	0,76	-1,32
	Kontrol	HK2	28,47 ± 0,38	17,41 ± 0,28	11,06 b		1,00	
3. Gün	Avirürent S6	HA3	30,42 ± 0,89	17,81 ± 0,13	12,60 a	0,52	0,70	-1,44
	Virürent V30	HV3	29,73 ± 0,94	17,58 ± 0,12	12,15 a	0,07	0,95	-1,05
	Kontrol	HK3	28,63 ± 0,12	16,55 ± 0,09	12,08 a		1,00	
4. Gün	Avirürent S6	HA4	29,92 ± 0,68	17,28 ± 0,32	12,63 a	0,16	0,90	-1,12
	Virürent V30	HV4	29,86 ± 0,14	17,90 ± 0,48	11,97 a	-0,51	1,42	1,42
	Kontrol	HK4	29,91 ± 0,44	17,43 ± 0,16	12,48 a		1,00	
5. Gün	Avirürent S6	HA5	31,41 ± 0,82	17,19 ± 0,37	14,22 a	0,87	0,55	-1,83
	Virürent V30	HV5	29,77 ± 0,54	16,58 ± 0,18	13,19 a	-0,16	1,12	1,12
	Kontrol	HK5	30,54 ± 0,33	17,19 ± 0,57	13,35 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirürent, virürent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen Δ CT'leri arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirürent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virürent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *Mi-1.2* geni ifadesi için FjMi-1.2F/FjMi-1.2R primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.21'de gösterilmiştir.



Şekil 4.21. Hassas domates bitkisinde FjMi-1.2F/FjMi-1.2R primerleriyle *Mi-1.2* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

Hassas bitkilerdeki *Mi-1.2* geni ifadesi ToMi-1.2F/ToMi-1.2R primerleriyle de analiz edilmiştir. Avirürent S6 izolatı ile inokulasyonu yapıldıktan 2 gün sonra hassas bitkiler *Mi-1.2* geninin Δ CT değerleri kontrol grubu bitkilerinden istatistiki önemde farklılık göstermiştir. Diğer günlerde ise *Mi-1.2* virürent V30 veya avirürent S6 izolatlarıyla inokulasyon yapılan bitkilerdeki Δ CT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.20).

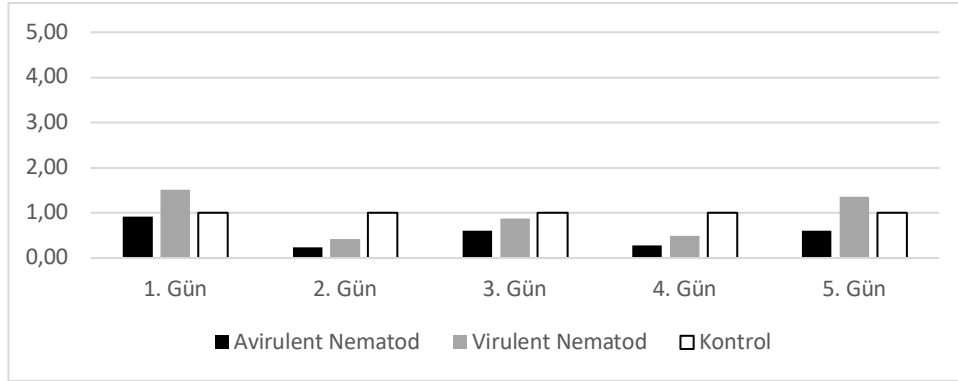
Çizelge 4.20. Hassas domates bitkisinde ToMi-1.2F/ToMi-1.2R primerleriyle *Mi-1.2* geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	Δ CT**	$\Delta\Delta$ CT	$2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	HA1	27,96 ± 0,08	16,73 ± 0,38	11,23 a	0,12	0,92	-1,09
	Virulent V30	HV1	27,19 ± 0,08	16,68 ± 0,04	10,51 b	-0,60	1,51	1,51
	Kontrol	HK1	27,94 ± 0,09	16,83 ± 0,27	11,11 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	HA2	27,82 ± 0,67	17,27 ± 0,45	10,55 a	2,10	0,23	-4,29
	Virulent V30	HV2	27,02 ± 0,23	17,34 ± 0,20	9,68 ab	1,23	0,43	-2,35
	Kontrol	HK2	25,86 ± 0,20	17,41 ± 0,28	8,45 b		1,00	-
3. Gün	Avirulent S6	HA3	28,82 ± 0,97	17,81 ± 0,13	11,01 a	0,72	0,61	-1,65
	Virulent V30	HV3	28,05 ± 1,26	17,58 ± 0,12	10,48 a	0,19	0,88	-1,14
	Kontrol	HK3	26,84 ± 0,15	16,55 ± 0,09	10,29 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	HA4	28,30 ± 0,27	17,28 ± 0,32	11,02 a	0,41	0,75	-1,33
	Virulent V30	HV4	28,10 ± 0,22	17,90 ± 0,48	10,20 a	-0,41	1,32	1,32
	Kontrol	HK4	28,04 ± 0,20	17,43 ± 0,16	10,61 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	HA5	29,55 ± 0,72	17,19 ± 0,37	12,37 a	0,73	0,60	-1,66
	Virulent V30	HV5	27,77 ± 0,39	16,58 ± 0,18	11,19 a	-0,44	1,36	1,36
	Kontrol	HK5	28,82 ± 0,59	17,19 ± 0,57	11,64 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen Δ CT'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *Mi-1.2* geni ifadesi için ToMi-1.2F/ToMi-1.2R primeriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.22'de gösterilmiştir.



Şekil 4.22. Hassas domates bitkisinde ToMi-1.2F/ToMi-1.2R primerleriyle *Mi-1.2* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.4.2. *PR-1a* geni

Hassas domates çeşidinde nematod inokulasyonundan sonra ilk 5 gün içerisinde *PR-1a* geninin ΔCT değerleri kontrol bitkisiyle istatistiki önemde farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.21).

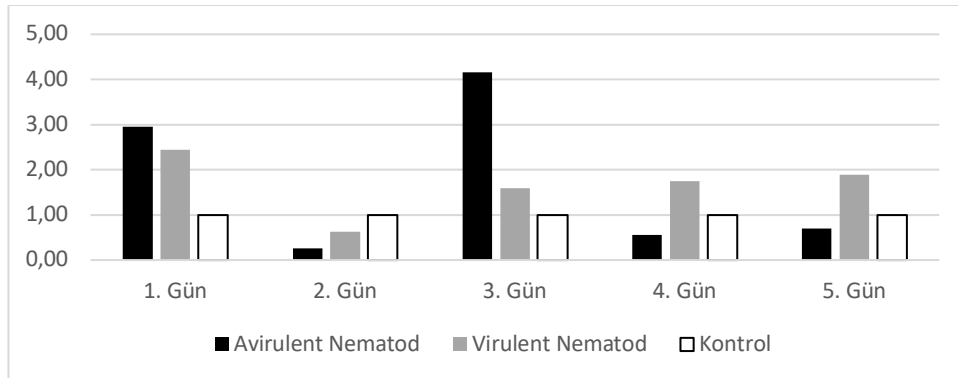
Çizelge 4.21. Hassas domates bitkisinde PR1F/PR1R primerleriyle *PR-1a* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	HA1	29,66 ± 0,41	16,15 ± 0,27	13,51 a	-1,56	2,95	2,95
	Virulent V30	HV1	29,52 ± 0,50	15,73 ± 0,14	13,79 a	-1,29	2,44	2,44
	Kontrol	HK1	31,20 ± 1,70	16,13 ± 0,34	15,07 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	HA2	32,23 ± 0,43	16,78 ± 0,34	15,44 a	1,98	0,25	-3,95
	Virulent V30	HV2	31,24 ± 0,34	17,11 ± 0,19	14,13 a	0,67	0,63	-1,59
	Kontrol	HK2	29,57 ± 1,45	16,12 ± 0,26	13,46 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	HA3	31,40 ± 0,65	16,91 ± 0,12	14,49 a	-2,05	4,16	4,16
	Virulent V30	HV3	32,74 ± 0,74	16,87 ± 0,20	15,87 a	-0,67	1,59	1,59
	Kontrol	HK3	32,65 ± 0,35	16,10 ± 0,11	16,54 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	HA4	32,36 ± 0,50	16,81 ± 0,26	15,55 a	0,83	0,56	-1,78
	Virulent V30	HV4	30,70 ± 1,16	16,78 ± 0,54	13,92 a	-0,80	1,74	1,74
	Kontrol	HK4	32,22 ± 0,77	17,50 ± 0,31	14,72 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	HA5	33,32 ± 0,84	16,93 ± 0,36	16,39 a	0,53	0,69	-1,44
	Virulent V30	HV5	31,09 ± 0,22	16,15 ± 0,05	14,94 a	-0,92	1,89	1,89
	Kontrol	HK5	32,98 ± 0,15	17,12 ± 0,45	15,86 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *PR-1a* geni ifadesi için PR1F/PR1R primeriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.23'de gösterilmiştir.



Şekil 4.23. Hassas domates bitkisinde PR1F/PR1R primeriyle *PR-1a* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.4.3. PR-2 geni

Meloidogyne incognita'nın avirürent S6 izolatı ile inokulasyonu yapıldıktan 2 gün sonra hassas bitkilerdeki PR-2 geninin ΔCT değerleri *Mi-1.2* virürent V30 izolatı inokulasyon yapılan bitkilerden istatistiki önemde farklılık göstermiştir. 3 gün sonra ise avirürent S6 izolatı ile inokulasyon yapılmış bitkilerin ΔCT değeri *Mi-1.2* virürent V30 izolatı ile inokulasyon yapılan bitkilerden ve kontrol grubundan farklı bulunmuştur. Diğer günlerde ise *Mi-1.2* virürent V30 veya avirürent S6 izolatı inokulasyonu yapılan bitkilerdeki ΔCT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.22).

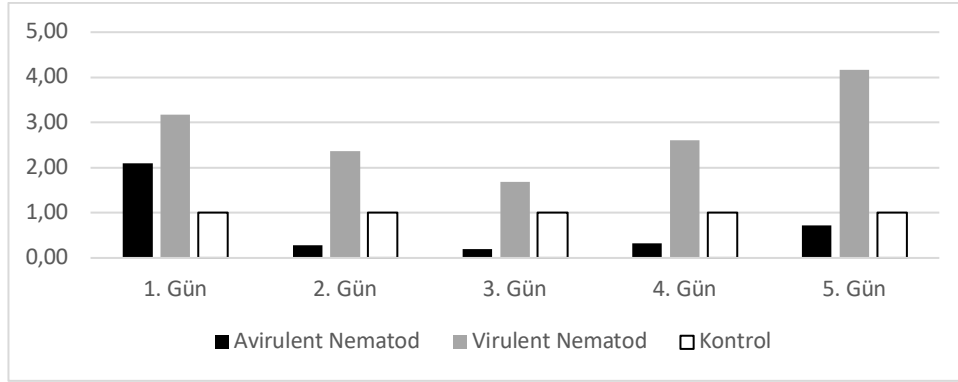
Çizelge 4.22. Hassas domates bitkisinde PR2F/PR2R primeriyle PR-2 geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirürent S6	HA1	19,84 ± 0,70	16,15 ± 0,27	3,69 a	-1,07	2,10	2,10
	Virürent V30	HV1	18,83 ± 0,52	15,73 ± 0,14	3,10 a	-1,66	3,17	3,17
	Kontrol	HK1	20,89 ± 0,49	16,13 ± 0,34	4,76 a		1,00	
2. Gün	Avirürent S6	HA2	23,74 ± 0,97	16,78 ± 0,34	6,95 a	1,82	0,28	-3,53
	Virürent V30	HV2	21,00 ± 0,36	17,11 ± 0,19	3,89 b	-1,24	2,36	2,36
	Kontrol	HK2	21,25 ± 0,37	16,12 ± 0,26	5,13 ab		1,00	
3. Gün	Avirürent S6	HA3	23,19 ± 0,36	16,91 ± 0,12	6,28 a	2,30	0,20	-4,94
	Virürent V30	HV3	20,09 ± 0,58	16,87 ± 0,20	3,22 b	-0,76	1,69	1,69
	Kontrol	HK3	20,08 ± 0,16	16,10 ± 0,11	3,98 b		1,00	
4. Gün	Avirürent S6	HA4	28,97 ± 1,06	16,81 ± 0,26	12,16 a	1,63	0,32	-3,10
	Virürent V30	HV4	25,93 ± 2,31	16,78 ± 0,54	9,15 a	-1,38	2,60	2,60
	Kontrol	HK4	28,03 ± 1,23	17,50 ± 0,31	10,53 a		1,00	
5. Gün	Avirürent S6	HA5	28,23 ± 0,85	16,93 ± 0,36	11,30 a	0,46	0,73	-1,38
	Virürent V30	HV5	24,93 ± 1,68	16,15 ± 0,05	8,78 a	-2,06	4,17	4,17
	Kontrol	HK5	27,96 ± 1,33	17,12 ± 0,45	10,84 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirürent, virürent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirürent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virürent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, PR-2 geni ifadesi için PR2F/PR2R primeriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.24'de gösterilmiştir.



Şekil 4.24. Hassas domates bitkisinde PR2F/PR2R primerleriyle *PR-2* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod popülasyonu ve günlere göre değişimi

4.8.4.4. *PR-5* geni

Hassas domates çeşidinde nematod inokulasyonundan sonra ilk 5 gün içerisinde *PR-5* geninin ΔCT değerleri kontrol bitkisiyle istatistiki önemde farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.23).

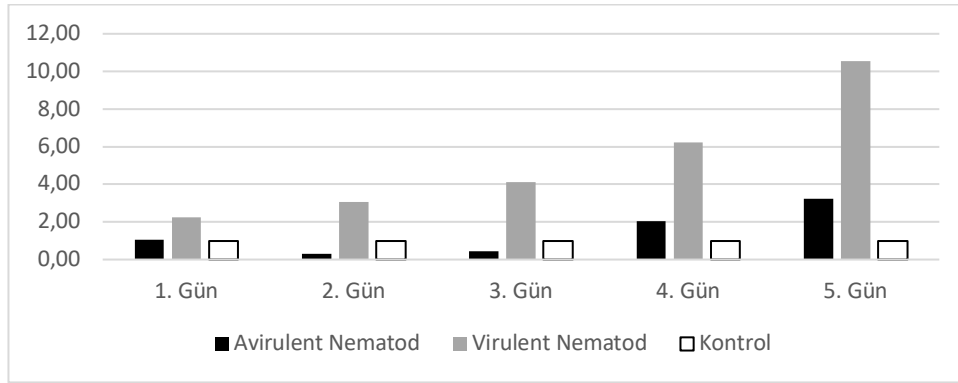
Çizelge 4. 23. Hassas domates bitkisinde PR5F/PR5R primerleriyle *PR-5* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	HA1	21,41 ± 0,53	16,15 ± 0,33	5,26 a	-0,07	1,05	1,05
	Virulent V30	HV1	20,73 ± 0,32	16,56 ± 0,37	4,17 a	-1,17	2,26	2,26
	Kontrol	HK1	21,98 ± 0,50	16,64 ± 0,29	5,34 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	HA2	27,17 ± 1,20	17,16 ± 0,43	10,01 a	1,66	0,32	-3,16
	Virulent V30	HV2	23,91 ± 0,38	17,17 ± 0,16	6,74 a	-1,61	3,05	3,05
	Kontrol	HK2	24,76 ± 0,80	16,41 ± 0,24	8,35 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	HA3	26,90 ± 0,55	17,72 ± 0,11	9,18 a	1,22	0,43	-2,32
	Virulent V30	HV3	23,27 ± 0,76	17,34 ± 0,54	5,92 a	-2,04	4,11	4,11
	Kontrol	HK3	24,37 ± 0,94	16,41 ± 0,14	7,96 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	HA4	24,62 ± 1,43	16,55 ± 0,23	8,07 a	-1,04	2,06	2,06
	Virulent V30	HV4	23,44 ± 0,76	16,97 ± 0,69	6,47 a	-2,64	6,22	6,22
	Kontrol	HK4	26,14 ± 1,22	17,03 ± 0,27	9,11 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	HA5	26,46 ± 1,03	16,67 ± 0,27	9,79 a	-1,69	3,22	3,22
	Virulent V30	HV5	24,18 ± 1,05	16,10 ± 0,03	8,08 a	-3,40	10,55	10,55
	Kontrol	HK5	28,74 ± 0,68	17,26 ± 0,58	11,48 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *PR-5* geni ifadesi için PR5F/PR5R primeriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.25'te gösterilmiştir.



Şekil 4.25. Hassas domates bitkisinde PR5F/PR5R primerleriyle *PR-5* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.4.5. *SIWRKY72a* geni

Hassas domates çeşidinde nematod inokulasyonundan sonra ilk 5 gün içerisinde *SIWRKY72a* geninin ΔCT değerleri kontrol bitkisiyle istatistiki önemde farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.24).

Çizelge 4. 24. Hassas domates bitkisinde SIW72aF/SIW72aR primerleriyle *SIWRKY72a* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

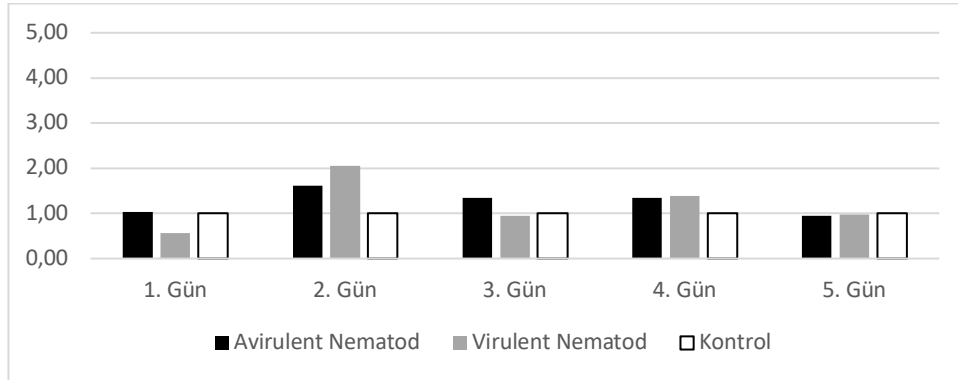
Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	HA1	22,17 ± 0,22	16,15 ± 0,27	6,01 a	-0,06	1,04	1,04
	Virulent V30	HV1	22,63 ± 0,27	15,73 ± 0,14	6,89 a	0,82	0,57	-1,76
	Kontrol	HK1	22,20 ± 0,33	16,13 ± 0,34	6,07 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	HA2	22,76 ± 0,26	16,78 ± 0,34	5,97 a	-0,69	1,61	1,61
	Virulent V30	HV2	22,74 ± 0,42	17,11 ± 0,19	5,63 a	-1,04	2,05	2,05
	Kontrol	HK2	22,78 ± 0,65	16,12 ± 0,26	6,66 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	HA3	22,86 ± 0,17	16,91 ± 0,12	5,95 a	-0,42	1,34	1,34
	Virulent V30	HV3	23,33 ± 0,40	16,87 ± 0,20	6,46 a	0,09	0,94	-1,06
	Kontrol	HK3	22,48 ± 0,19	16,10 ± 0,11	6,38 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	HA4	23,90 ± 0,13	16,81 ± 0,40	7,09 a	-0,43	1,35	1,35
	Virulent V30	HV4	24,09 ± 0,20	17,03 ± 0,50	7,05 a	-0,47	1,38	1,38
	Kontrol	HK4	24,33 ± 0,42	16,81 ± 0,19	7,52 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	HA5	23,94 ± 0,14	17,12 ± 0,44	6,82 a	0,08	0,95	-1,05
	Virulent V30	HV5	23,22 ± 0,37	16,44 ± 0,14	6,78 a	0,03	0,98	-1,02
	Kontrol	HK5	23,43 ± 0,45	16,69 ± 0,63	6,75 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *SIWRKY72a* geni ifadesi için

SIW72aF/SIW72aR primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.26’de gösterilmiştir.



Şekil 4.26. Hassas domates bitkisinde SIW72aF/SIW72aR primeriyle *SIWRKY72a* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.4.6. *SIWRKY72b* geni

Meloidogyne incognita'nın *Mi-1.2* virulent V30 izolatı ile inokulasyonu yapıldıktan 2 gün sonra hassas bitkilerin *SIWRKY72b* geninin ΔCT değerleri avirulent S6 izolatı ile inokulasyon yapılan bitkilerden ve kontrol grubundan istatistiki önemde farklılık göstermiştir. Diğer günlerde ise *Mi-1.2* virulent V30 veya avirulent S6 izolatları ile inokulasyon yapılan bitkilerdeki ΔCT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.25).

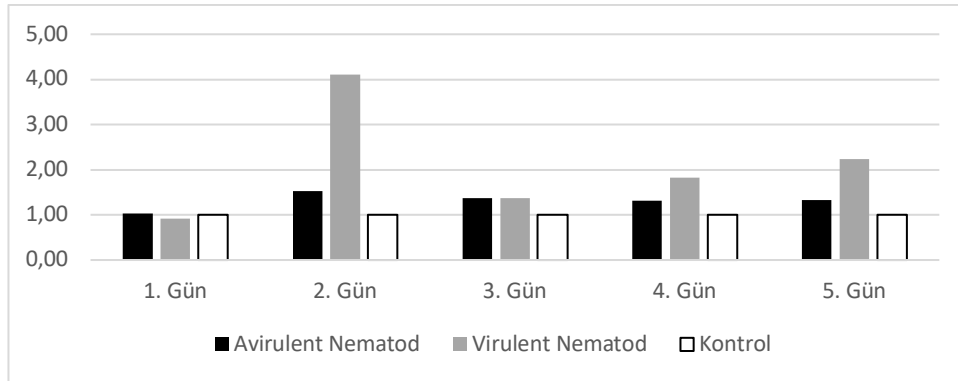
Çizelge 4.25. Hassas domates bitkisinde SIW72bF/ SIW72bR primerleriyle *SIWRKY72b* geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	Δ CT**	$\Delta\Delta$ CT	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	HA1	27,46 ± 0,28	16,15 ± 0,27	11,31 a	-0,03	1,02	1,02
	Virulent V30	HV1	27,20 ± 0,49	15,73 ± 0,14	11,46 a	0,12	0,92	-1,09
	Kontrol	HK1	27,47 ± 0,65	16,13 ± 0,34	11,34 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	HA2	27,75 ± 0,29	16,78 ± 0,34	10,97 a	-0,62	1,53	1,53
	Virulent V30	HV2	26,65 ± 0,24	17,11 ± 0,19	9,54 b	-2,04	4,11	4,11
	Kontrol	HK2	27,70 ± 0,22	16,12 ± 0,26	11,58 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	HA3	27,78 ± 0,12	16,91 ± 0,12	10,87 a	-0,45	1,36	1,36
	Virulent V30	HV3	27,72 ± 0,54	16,87 ± 0,20	10,86 a	-0,46	1,37	1,37
	Kontrol	HK3	27,42 ± 0,11	16,10 ± 0,11	11,32 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	HA4	29,53 ± 0,70	16,81 ± 0,40	12,72 a	-0,39	1,31	1,31
	Virulent V30	HV4	29,28 ± 0,37	17,03 ± 0,50	12,25 a	-0,86	1,82	1,82
	Kontrol	HK4	29,92 ± 0,45	16,81 ± 0,19	13,11 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	HA5	30,68 ± 0,11	17,12 ± 0,44	13,57 a	-0,41	1,33	1,33
	Virulent V30	HV5	29,25 ± 0,69	16,44 ± 0,14	12,81 a	-1,16	2,24	2,24
	Kontrol	HK5	30,66 ± 0,92	16,69 ± 0,63	13,98 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen Δ CT'leri arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *SIWRKY72b* geni ifadesi için SIW72bF/ SIW72bR primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.27'de gösterilmiştir.



Şekil 4.27. Hassas domates bitkisinde SIW72bF/SIW72bR primerleriyle *SIWRKY72b* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.4.7. *SIWRKY45* geni

Meloidogyne incognita'nın avirürent S6 izolatu ile inokulasyonu yapıldıktan 4 gün sonra hassas bitkilerin *SIWRKY45* geninin ΔCT değerleri *Mi-1.2* virürent V30 izolatu ile inokulasyon yapılmış bitkilerden istatistiki önemde farklılık göstermiştir. Diğer günlerde ise *Mi-1.2* virürent V30 veya avirürent S6 izolatlarıyla inokulasyon yapılan bitkilerdeki ΔCT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.26).

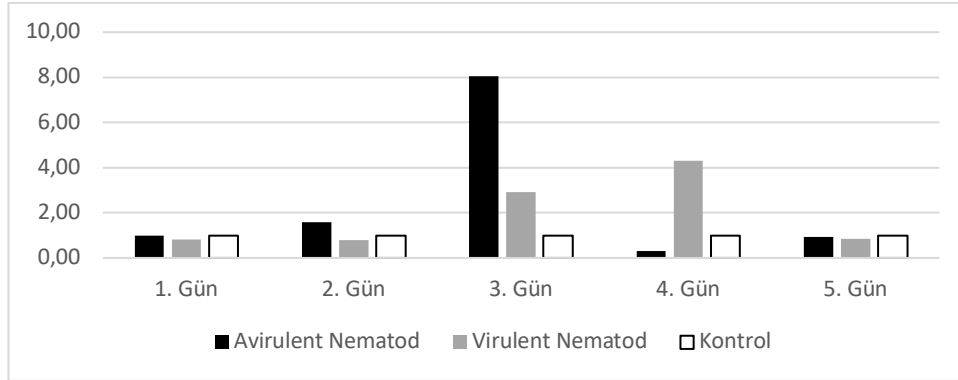
Çizelge 4.26. Hassas domates bitkisinde SIW45F/SIW45R primerleriyle *SIWRKY45* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirürent S6	HA1	26,36 ± 1,28	16,15 ± 0,27	10,21 a	0,01	1,00	1,00
	Virürent V30	HV1	26,23 ± 0,60	15,73 ± 0,14	10,49 a	0,29	0,82	-1,22
	Kontrol	HK1	26,33 ± 0,34	16,13 ± 0,34	10,20 a		1,00	
2. Gün	Avirürent S6	HA2	24,78 ± 0,12	16,78 ± 0,34	7,99 a	-0,65	1,57	1,57
	Virürent V30	HV2	26,11 ± 0,88	17,11 ± 0,19	9,00 a	0,36	0,78	-1,28
	Kontrol	HK2	24,76 ± 0,82	16,12 ± 0,26	8,64 a		1,00	
3. Gün	Avirürent S6	HA3	25,01 ± 0,61	16,91 ± 0,12	8,10 a	-3,01	8,04	8,04
	Virürent V30	HV3	26,43 ± 1,07	16,87 ± 0,20	9,56 a	-1,55	2,92	2,92
	Kontrol	HK3	27,22 ± 0,15	16,10 ± 0,11	11,11 a		1,00	
4. Gün	Avirürent S6	HA4	28,59 ± 0,60	16,81 ± 0,40	11,77 a	1,67	0,31	-3,18
	Virürent V30	HV4	25,03 ± 0,78	17,03 ± 0,50	8,00 b	-2,11	4,31	4,31
	Kontrol	HK4	26,91 ± 0,81	16,81 ± 0,19	10,10 ab		1,00	
5. Gün	Avirürent S6	HA5	24,72 ± 1,04	17,12 ± 0,44	7,60 a	0,08	0,94	-1,06
	Virürent V30	HV5	24,21 ± 0,47	16,44 ± 0,14	7,77 a	0,25	0,84	-1,19
	Kontrol	HK5	24,21 ± 0,70	16,69 ± 0,63	7,52 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirürent, virürent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirürent S6 izolatu ve *Mi-1.2* virürent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *SIWRKY45* geni ifadesi için SIW45F/SIW45R primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.28'de gösterilmiştir.



Şekil 4.28. Hassas domates bitkisinde SIW45F/SIW45R primerleriyle *SIWRKY45* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.4.8. *SIWRKY3* geni

Meloidogyne incognita'nın avirulent S6 izolatı ile inokulasyonu yapıldıktan 2 gün sonra hassas bitkilerin *SIWRKY3* geninin ΔCT değerleri *Mi-1.2* virulent V30 izolatı ile inokulasyon yapılmış bitkilerden istatistiki önemde farklılık göstermiştir. Diğer günlerde ise *Mi-1.2* virulent V30 veya avirulent S6 izolatlarıyla inokulasyon yapılan bitkilerdeki ΔCT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.27).

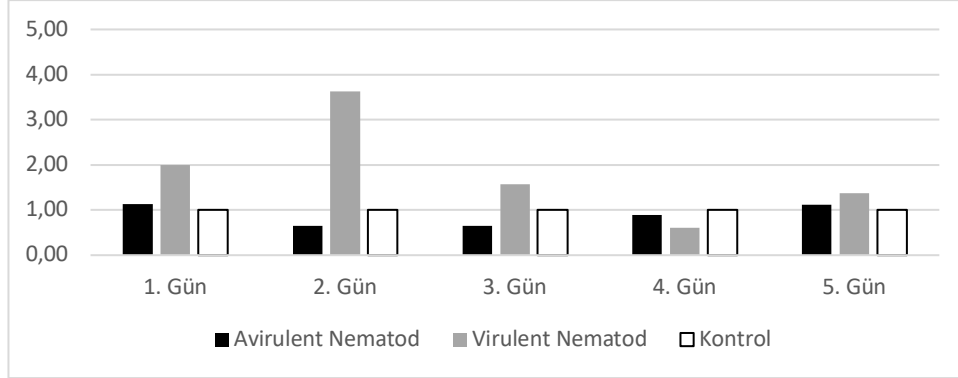
Çizelge 4.27. Hassas domates bitkisinde SIW3F/SIW3R primerleriyle *SIWRKY3* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	HA1	21,41 ± 0,20	16,73 ± 0,38	4,68 a	-0,19	1,14	1,14
	Virulent V30	HV1	20,55 ± 0,33	16,68 ± 0,04	3,87 a	-1,00	2,00	2,00
	Kontrol	HK1	21,67 ± 0,13	16,83 ± 0,27	4,87 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	HA2	22,88 ± 0,82	17,35 ± 0,35	5,53 a	0,61	0,66	-1,52
	Virulent V30	HV2	20,85 ± 0,31	17,79 ± 0,18	3,06 b	-1,86	3,63	3,63
	Kontrol	HK2	21,68 ± 0,38	16,76 ± 0,19	4,92 ab		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	HA3	22,69 ± 0,44	17,81 ± 0,13	4,87 a	0,63	0,65	-1,54
	Virulent V30	HV3	21,17 ± 0,72	17,58 ± 0,12	3,59 a	-0,66	1,57	1,57
	Kontrol	HK3	20,80 ± 0,46	16,55 ± 0,09	4,25 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	HA4	20,61 ± 0,45	17,28 ± 0,32	3,32 a	-1,28	2,43	2,43
	Virulent V30	HV4	21,77 ± 0,26	17,90 ± 0,48	3,88 a	-0,72	1,65	1,65
	Kontrol	HK4	22,03 ± 0,63	17,43 ± 0,16	4,60 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	HA5	22,65 ± 0,93	17,19 ± 0,37	5,46 a	-0,15	1,11	1,11
	Virulent V30	HV5	21,75 ± 0,60	16,58 ± 0,18	5,17 a	-0,45	1,37	1,37
	Kontrol	HK5	22,80 ± 0,53	17,19 ± 0,57	5,62 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirüent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virüent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *SIWRKY3* geni ifadesi için SIW3F/SIW3R primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.29'de gösterilmiştir.



Şekil 4.29. Hassas domates bitkisinde SIW3F/SIW3R primerleriyle *SIWRKY3* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.4.9. Glycogenin glucosyltransferase geni

Hassas domates çeşidinde *M. incognita*'nın avirüent S6 izolatı ile inokulasyonu yapılan bitkilerin glycogenin glucosyltransferase geninin ΔCT değerleri 1. günde *Mi-1.2* virüent V30 izolatı ile inokulasyon yapılan bitkiler istatistiki önemde farklılık göstermiştir. Diğer günlerde ise *Mi-1.2* V30 veya avirüent S6 izolatlarıyla inokulasyon yapılan bitkilerdeki ΔCT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.28).

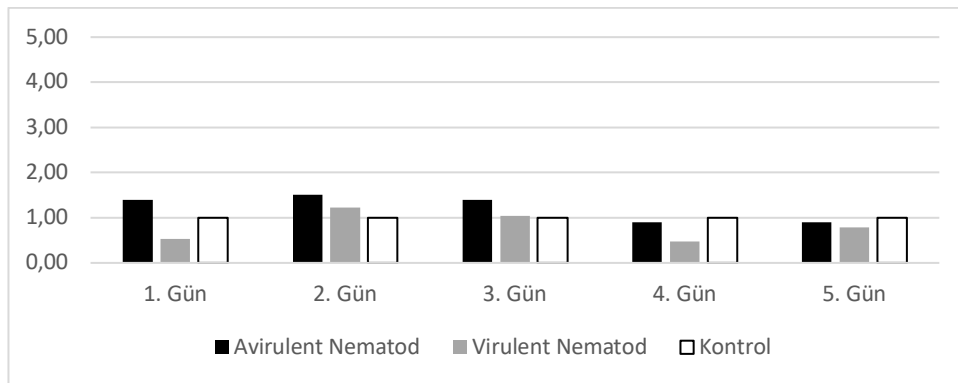
Çizelge 4.28. Hassas domates bitkisinde GlyF/GlyR primerleriyle glycogenin glucosyltransferase geni için elde edilen ortalama CT, Δ CT, $\Delta\Delta$ CT, $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	Δ CT**	$\Delta\Delta$ CT	$2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	HA1	19,84 ± 0,18	16,15 ± 0,27	3,69 b	-0,48	1,40	1,40
	Virulent V30	HV1	20,83 ± 0,28	15,73 ± 0,14	5,09 a	0,92	0,53	-1,89
	Kontrol	HK1	20,31 ± 0,30	16,13 ± 0,34	4,17 ab		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	HA2	20,01 ± 0,09	16,78 ± 0,34	3,22 a	-0,60	1,51	1,51
	Virulent V30	HV2	20,64 ± 0,58	17,11 ± 0,19	3,53 a	-0,29	1,22	1,22
	Kontrol	HK2	19,94 ± 0,18	16,12 ± 0,26	3,82 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	HA3	20,01 ± 0,15	16,91 ± 0,12	3,10 a	-0,48	1,39	-0,72
	Virulent V30	HV3	20,39 ± 0,39	16,87 ± 0,20	3,53 a	-0,05	1,04	-0,96
	Kontrol	HK3	19,69 ± 0,12	16,10 ± 0,11	3,58 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	HA4	21,51 ± 0,09	16,81 ± 0,40	4,69 a	0,15	0,90	-1,11
	Virulent V30	HV4	22,65 ± 0,85	17,03 ± 0,50	5,61 a	1,07	0,48	-2,09
	Kontrol	HK4	21,36 ± 0,23	16,81 ± 0,19	4,55 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	HA5	20,07 ± 0,14	17,12 ± 0,44	2,95 a	0,16	0,89	-1,12
	Virulent V30	HV5	19,57 ± 0,17	16,44 ± 0,14	3,13 a	0,34	0,79	-1,26
	Kontrol	HK5	19,48 ± 0,20	16,69 ± 0,63	2,79 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen Δ CT'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, glycogenin glucosyltransferase geni ifadesi için GlyF/GlyR primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.30'de gösterilmiştir.



Şekil 4.30. Hassas domates bitkisinde GlyF/GlyR primerleriyle glycogenin glucosyltransferase geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta\text{CT})}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.4.10. *HsfA1a* geni

Hassas domates çeşidinde nematod inokulasyonundan sonra ilk 5 gün içerisinde *HsfA1a* geninin ΔCT değerleri kontrol bitkisiyle istatistiki önemde farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.29).

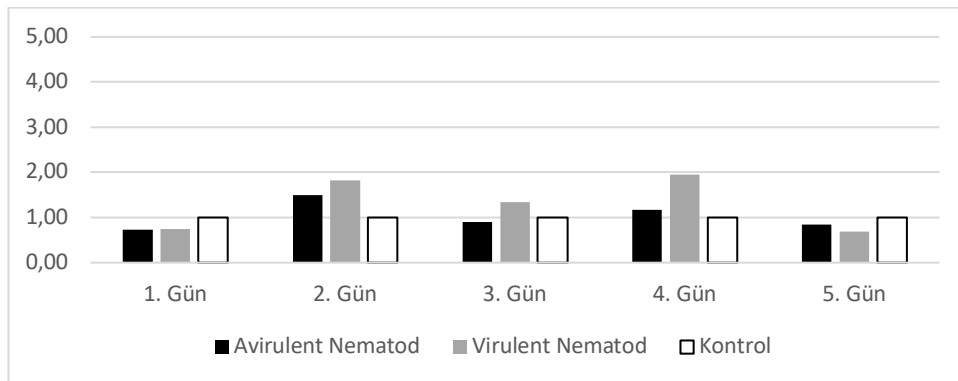
Çizelge 4.29. Hassas domates bitkisinde HsfAF/HsfAR primerleriyle *HsfA1a* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	HA1	26,24 ± 0,33	16,15 ± 0,33	10,09 a	0,45	0,73	-1,36
	Virulent V30	HV1	26,63 ± 0,57	16,56 ± 0,37	10,07 a	0,42	0,75	-1,34
	Kontrol	HK1	26,29 ± 0,29	16,64 ± 0,29	9,65 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	HA2	26,65 ± 0,26	17,16 ± 0,43	9,49 a	-0,59	1,50	1,50
	Virulent V30	HV2	26,38 ± 0,14	17,17 ± 0,16	9,21 a	-0,86	1,82	1,82
	Kontrol	HK2	26,49 ± 0,33	16,41 ± 0,24	10,07 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	HA3	27,59 ± 0,34	17,72 ± 0,11	9,87 a	0,15	0,90	-1,11
	Virulent V30	HV3	26,64 ± 0,62	17,34 ± 0,54	9,30 a	-0,42	1,33	1,33
	Kontrol	HK3	26,12 ± 0,17	16,41 ± 0,14	9,72 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	HA4	25,76 ± 0,11	16,55 ± 0,23	9,21 a	-0,22	1,16	1,16
	Virulent V30	HV4	25,43 ± 0,48	16,97 ± 0,69	8,47 a	-0,96	1,95	1,95
	Kontrol	HK4	26,46 ± 0,28	17,03 ± 0,27	9,43 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	HA5	26,11 ± 0,34	16,67 ± 0,27	9,44 a	0,26	0,84	-1,19
	Virulent V30	HV5	25,83 ± 0,08	16,10 ± 0,03	9,73 a	0,54	0,69	-1,46
	Kontrol	HK5	26,45 ± 0,35	17,26 ± 0,58	9,19 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *HsfA1a* geni ifadesi için HsfAF/HsfAR primeriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.31'de gösterilmiştir.



Şekil 4. 31. Hassas domates bitkisinde HsfAF/HsfAR primerleriyle *HsfA1a* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.4.11. *Hsp90* geni

Hassas domates çeşidinde nematod inokulasyonundan sonra ilk 5 gün içerisinde *Hsp90* geninin ΔCT değerleri kontrol bitkisiyle istatistiki önemde farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.30).

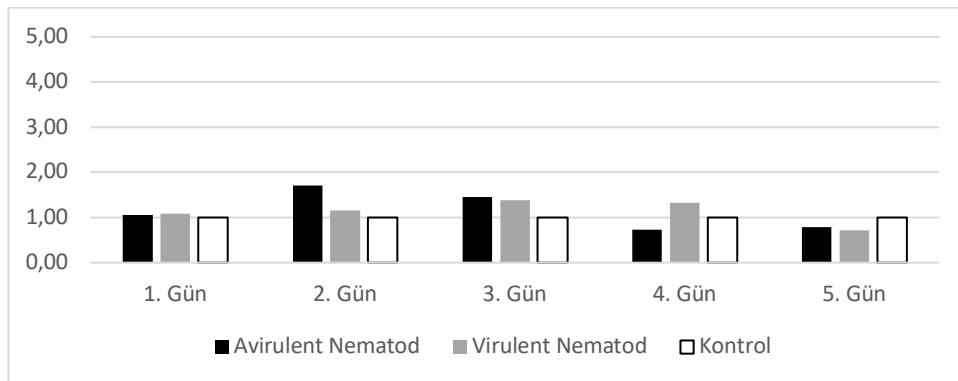
Çizelge 4.30. Hassas domates bitkisinde *Hsp90F/Hsp90R* primerleriyle *Hsp90* geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirulent S6	HA1	20,36 ± 0,30	16,73 ± 0,38	3,63 a	-0,07	1,05	1,05
	Virulent V30	HV1	20,27 ± 0,12	16,68 ± 0,04	3,59 a	-0,12	1,08	1,08
	Kontrol	HK1	20,53 ± 0,21	16,83 ± 0,27	3,71 a		1,00	
2. Gün	Avirulent S6	HA2	20,34 ± 0,30	17,35 ± 0,35	2,99 a	-0,78	1,71	0,31
	Virulent V30	HV2	21,35 ± 0,09	17,79 ± 0,18	3,56 a	-0,21	1,16	0,45
	Kontrol	HK2	20,53 ± 0,18	16,76 ± 0,19	3,77 a		1,00	
3. Gün	Avirulent S6	HA3	21,66 ± 0,24	17,81 ± 0,13	3,85 a	-0,54	1,46	1,46
	Virulent V30	HV3	21,50 ± 0,21	17,58 ± 0,12	3,92 a	-0,47	1,39	1,39
	Kontrol	HK3	20,94 ± 0,03	16,55 ± 0,09	4,39 a		1,00	
4. Gün	Avirulent S6	HA4	20,96 ± 0,27	17,28 ± 0,32	3,67 a	0,45	0,73	-1,37
	Virulent V30	HV4	20,70 ± 0,54	17,90 ± 0,48	2,81 a	-0,41	1,33	1,33
	Kontrol	HK4	20,65 ± 0,34	17,43 ± 0,16	3,22 a		1,00	
5. Gün	Avirulent S6	HA5	20,76 ± 0,21	17,19 ± 0,37	3,58 a	0,34	0,79	-1,26
	Virulent V30	HV5	20,29 ± 0,26	16,58 ± 0,18	3,71 a	0,47	0,72	-1,39
	Kontrol	HK5	20,42 ± 0,57	17,19 ± 0,57	3,24 a		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde Avirulent, virulent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, *Hsp90* geni ifadesi için *Hsp90F/Hsp90R* primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.32'de gösterilmiştir.



Şekil 4.32. Hassas domates bitkisinde *Hsp90F/Hsp90R* primerleriyle *Hsp90* geninin ifadesinden elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

4.8.4.12. Peroxidase geni

Meloidogyne incognita'nın avirürent S6 ve *Mi-1.2* virürent V30 izolatları ile inokulasyonu yapıldıktan 2 gün sonra hassas bitkilerin peroxidase geninin ΔCT değerleri kontrol grubu bitkilerinden istatistiki önemde farklılık göstermiştir. 5 gün sonra ise *Mi-1.2* virürent V30 izolatu ile inokulasyon yapılan bitkilerin ΔCT değeri kontrol grubundan farklı bulunmuştur. Diğer günlerde ise *Mi-1.2* virürent V30 veya avirürent S6 izolatıyla inokulasyon yapılan bitkilerdeki ΔCT değerleri kontrol grubuyla önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.31).

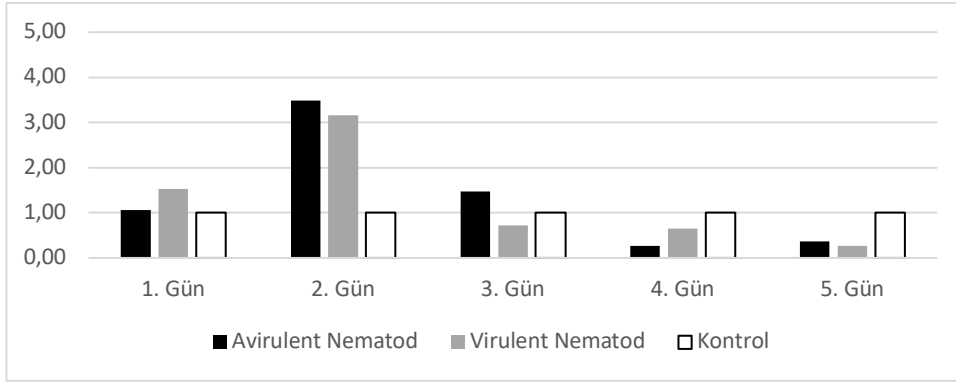
Çizelge 4.31. Hassas domates bitkisinde PexF/PexR primerleriyle peroxidase geni için elde edilen ortalama CT, ΔCT , $\Delta\Delta CT$, $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ ve değişim katsayısı değerleri

Gün*	Nematod İzolatı	Örnek Kodu	Ortalama CT Hedef Gen	Ortalama CT Referans Gen	ΔCT^{**}	$\Delta\Delta CT$	$2^{(-\Delta\Delta CT)}$	Değişim Katsayısı
1. Gün	Avirürent S6	HA1	23,20 $\pm$ 0,21	16,73 $\pm$ 0,38	6,48 a	-0,09	1,06	1,06
	Virürent V30	HV1	22,63 $\pm$ 0,23	16,68 $\pm$ 0,04	5,95 a	-0,62	1,54	1,54
	Kontrol	HK1	23,39 $\pm$ 0,23	16,83 $\pm$ 0,27	6,57 a		1,00	
2. Gün	Avirürent S6	HA2	21,19 $\pm$ 0,06	17,35 $\pm$ 0,35	3,84 b	-1,80	3,49	3,49
	Virürent V30	HV2	21,78 $\pm$ 0,25	17,79 $\pm$ 0,18	3,98 b	-1,66	3,16	3,16
	Kontrol	HK2	22,40 $\pm$ 0,18	16,76 $\pm$ 0,19	5,64 a		1,00	
3. Gün	Avirürent S6	HA3	22,61 $\pm$ 0,45	17,81 $\pm$ 0,13	4,80 a	-0,56	1,48	1,48
	Virürent V30	HV3	23,41 $\pm$ 0,61	17,58 $\pm$ 0,12	5,83 a	0,47	0,72	-1,38
	Kontrol	HK3	21,91 $\pm$ 0,19	16,55 $\pm$ 0,09	5,36 a		1,00	
4. Gün	Avirürent S6	HA4	23,23 $\pm$ 0,61	17,28 $\pm$ 0,32	5,95 a	0,47	0,72	-1,39
	Virürent V30	HV4	22,58 $\pm$ 0,23	17,90 $\pm$ 0,48	4,68 a	-0,80	1,74	1,74
	Kontrol	HK4	22,91 $\pm$ 0,19	17,43 $\pm$ 0,16	5,48 a		1,00	
5. Gün	Avirürent S6	HA5	22,63 $\pm$ 0,30	17,19 $\pm$ 0,37	5,45 ab	1,46	0,36	-2,75
	Virürent V30	HV5	22,51 $\pm$ 0,52	16,58 $\pm$ 0,18	5,93 a	1,94	0,26	-3,83
	Kontrol	HK5	21,17 $\pm$ 0,06	17,19 $\pm$ 0,57	3,99 b		1,00	

* Nematod inokulasyonu yapıldıktan kaç gün sonra gen ifadesinin incelendiğini belirtmektedir.

** Aynı gün içerisinde avirürent, virürent nematod inokulasyonu yapılmış bitkiler ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol bitkisinden hesaplanan hedef gen ΔCT 'leri arasında arasındaki farklılık Tukey Testi yapılarak karşılaştırılmıştır ($P \leq 0,05$). Farklı bulunmayan değerler aynı harf ile gösterilmiştir.

Hassas domates bitkisinin *M. incognita*'nın avirürent S6 izolatu ve *Mi-1.2* virürent V30 izolatları ile inokulasyonu sonucu günlere göre, peroxidase geni ifadesi için PexF/PexR primerleriyle elde edilen $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ değerlerinin değişimi Şekil 4.33'de gösterilmiştir.



Şekil 4.33. Hassas domates bitkisinde PexF/PexR primerleriyle peroxidase geninin ifadesinden elde edilen $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerlerinin nematod izolatına ve günlere göre değişimi

5. TARTIŞMA

Kök-ur nematodları sabit endoparazit olarak kök içinde beslenmeleri, döl süresinin kısa olması, üreme potansiyellerinin yüksek olması ve konukçu dizisinin oldukça geniş olması gibi nedenlerden dolayı ekonomik önemi yüksek birçok tarım ürünü için önemli bir zararlı olarak öne çıkmaktadır (Karssen ve Moens 2006). Kök-ur nematodları iletim demetlerinde beslenerek su ve besin maddelerinin taşınımını sınırlandırır (Abad ve Williamson 2010). Ayrıca köklerde açmış oldukları yaralar nedeniyle toprak kökenli fungal ve bakteriyel etmenlerin enfeksiyonunun artmasına neden olurlar (Lambert ve Bekal 2002; Chawla vd. 2012).

Kök içerisine giriş yapıp beslenme yerine ulaşan kök-ur nematodları beslenecekleri hücrelere stileti yardımıyla salgılarını bırakırlar ve bu hücrelerde morfolojik ve fizyolojik değişimlere neden olurlar (Abad vd. 2009). Bu hücrelerde sitoplazma bölünmesi gerçekleşmeden çekirdek bölünmesi gerçekleşir ve normal hücrelerden 400 kat büyük, çok çekirdekli hücreler meydana gelir (Abad vd. 2009). Bu hücrelerde birçok genin ekspresyon seviyesinin değiştiği, hücre döngüsü ve hücre iskeleti organizasyonu gibi bazı önemli bitki gelişim süreçlerinde değişiklikler olduğu bilinmektedir (Caillaud vd. 2008).

Köke giriş yapan *Meloidogyne* spp. J2'si, hücreler arasında ilerken köklere çok az zarar verir (Wyss vd. 1992; Abad vd. 2009). Ancak, savunma tepkileri, ilk J2 penetrasyonundan itibaren tespit edilir. Uyumlu domates ve kök-ur nematodu etkileşiminde, nematod istilası sırasında inokulasyondan 12 saat sonra reaktif oksijen türlerinin oluşumu gözlemlenmektedir (Mellilo vd. 2006). *Meloidogyne* larvasının beslenmeye başlayabilmesi bitki savunma yanıtlarının baskılanmasıyla ilişkilidir (Xie vd. 2016; Gleason vd. 2017; Naalden vd. 2018; Zhuo vd. 2019).

Bu çalışmada domatesta kök-ur nematodlarına karşı dayanıklılık sağlayan *Mi-1.2* ve nematod enfeksiyonunda rol oynadığı düşünülen bitki genleri olan *PR-1a*, *PR-2*, *PR-5*, *WRKY72a*, *WRKY72b*, *WRKY45*, *WRKY3*, Glycogenin glucosyltransferase, *HsfA1a*, *Hsp90* ve Peroksidaz'ın ifadesi SYBR Green I kullanılarak qRT-PCR ile araştırılmıştır. Nematodun bitkiye giriş yaptığı, beslenme bölgesi oluşturmaya başladığı ve dev hücrelerin olduğu dönemdeki gen ekspresyonlarının incelenmesi için nematod inokulasyonundan 1, 2, 3, 4 ve 5 gün sonra RNA izolasyonları yapılmıştır. Aynı zamanda bitki ve nematod arasında uyumlu ve uyumsuz ilişkide bu genlerin ifadesindeki farklılıkların gözlemlenebilmesi için *Mi-1.2* virulent ve avirulent olmak üzere iki farklı *M. incognita* izolatu kullanılmıştır. Çalışma kapsamında toplam 2398 reaksiyonluk qRT-PCR gerçekleştirilmiştir.

Mi-1.2 geni, yaygın görülen *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria*'ya karşı dayanıklılık sağlayan dominant bir genidir (Milligan vd. 1998). Yüksek toprak sıcaklığı ve *Mi-1.2* virulent popülasyonlar bu genin kullanımını sınırlandıran en önemli iki faktördür (Devran ve Söğüt 2010; Özalp ve Devran 2018). Bu çalışmada *Mi-1.2* geninin transkripsiyon seviyesini belirlemek için iki farklı primer seti (FjMi-1.2 ve ToMi-1.2) kullanılmıştır. Dayanıklı bitkide FjMi-1.2 primeriyle gerçekleştirilen qRT-PCR

çalışmasında *M. incognita*'nın avirulent S6 izolatı inokulasyonu yapılmış ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol grubu bitkilerinin inokulasyondan sonra 2. günde Δ CT'leri arasında farklılık görülmüş fakat 1., 3., 4. ve 5. günlerde ise Δ CT değerleri arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. ToMi-1.2 primeriyle ise 5. güne kadar inokulasyon yapılmış bitkiler ve inokulasyon yapılmamış bitkiler arasında bir farklılık görülmezken, 5. günde *Mi-1.2* virulent *M. incognita*'nın V30 izolatı ile inokulasyonu yapılmış bitkilerin Δ CT değeri kontrol grubundan farklı bulunmuştur. Martinez de Ilarduya ve Kaloshian (2001), dayanıklı domates bitkisindeki *Mi-1.2* geni transkriptlerinin nematod enfeksiyonundan önce birikmeye başladığını ve nematod enfeksiyonuyla transkript seviyesinin değişmediğini gözlemlemişlerdir. Fujimoto vd. (2011), *Mi-1.2* geni taşıyan dayanıklı domates bitkisinde nematod enfeksiyonunun *Mi-1.2* geninin ifadesini değiştirmedığını belirtmiştir. Carvelho vd. (2015), yüksek sıcaklık uygulanan bitkilerde *M. incognita*'ya karşı dayanıklılık seviyesinin düştüğünü ancak yüksek sıcaklık uygulanan bitkilerde *Mi-1.2* geninin ifadesinde değişikliğe neden olmadığını gözlemlemiş ve ayrıca nematod enfeksiyonunun da *Mi-1.2* geninin ifadesinde değişikliğe neden olmadığı sonucuna ulaşmışlardır.

Dayanıklı ve hassas bitkilerdeki *PR-1a* geninin aynı gün içerisindeki Δ CT değerleri *M. incognita*'nın avirulent S6 ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatlarının kontrol grubu arasında farklılık göstermemiştir. Her iki izolatla inokulasyonu yapılan hassas bitkilerdeki *PR-2* geninin ifadesi 3. güne kadar azalmış daha sonra artmaya başlamıştır. Dayanıklı bitkide ise *PR-2* geninin ifadesinde günlere ve izolata göre değişiklik gözlemlenmemiştir. Hassas bitkide *PR-5* geni ifadesi nematod inokulasyondan sonra artış göstermiş ve 5. günde (virulent izolat inokulasyonu yapılmış bitkilerde kontrole göre 10,55 kat, avirulent izolat inokulasyonu yapılmış bitkilerde ise 3,22 kat artış) en yüksek değere ulaşmıştır. *PR-1* geni SA-ilişkili SAR'ın işaretçisi olarak değerlendirilmektedir. Molinari vd. (2014), nematod inokulasyonu yapılmış *Mi-1.2* geni taşıyan dayanıklı domates bitkisindeki *PR-1* geninin inokulasyondan 5 gün sonraki transkript miktarının nematod inokulasyonu yapılmamış bitkidekine göre 25 kat fazla olduğunu ve ayrıca, hassas ve dayanıklı bitkilerin köklerindeki *PR-2* ve *PR-5* genlerinin ifadesi nematod enfeksiyonundan sonra baskılandığını tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada Fujimoto vd. (2011), *PR-1a* geninin ifadesinin nematod enfeksiyonu ile değişmediğini bildirmiştir. Lavrova vd. (2016), enfekte olmamış dayanıklı ve hassas bitkilerde *PR-1* geninin düşük seviyede ifade edildiğini ve hassas bitkide nematod enfeksiyonunun *PR-1* geni ifadesini değiştirmedığını bulmuşlardır. Bir diğer çalışmada ise Seiml-Buchinger vd. (2018), dayanıklı bitkilerde nematod enfeksiyonu sırasında *PR-1* genlerinin ifadesinin arttığını ve nematod enfeksiyonu yapılmamış dayanıklı ve hassas bitkilerin *PR-1* geni ifadesinde farklılık olmadığı sonucuna ulaşmışlardır. Farklı PR genleri üzerine yürütülen çalışmalarda genlerin ifadeleri üzerinde farklı sonuçlar elde edilmektedir.

WRKY transkripsiyon faktörleri patojen saldırılarına ve uyarıcıları yanıt veren bitkinin bağışıklığında rol oynayan bir gen ailesidir (Ülker ve Somssich 2004; Jones ve Dangl 2006). Yapılan qRT-PCR çalışmaları sonucu, dayanıklı bitkilerde *SIWRKY72a*, *SIWRKY72b*, *SIWRKY45* ve *SIWRKY3* genlerinin avirulent/virulent izolat inokulasyonu yapılmış ve nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol grubu bitkilerinden aynı gün içerisinde elde edilen Δ CT değerleri arasında farklılık bulunmamıştır. Bhattaria vd.

(2010), *SIWRKY72a* ve *SIWRKY72b* genlerinin *Mi-1.2* avirulent nematod inokulasyonu ile dayanıklı bitkide transkripsiyonunun yukarı yönde arttığını, ancak hassas bitkide herhangi bir değişim oluşturmadığını gözlemişlerdir. Chinnapandi vd. (2017), *SIWRKY45* transkripsiyon faktörünün ifadesinin arttırıldığı domates bitkilerinin köklerindeki dişi kök-ur nematodu sayısının önemli düzeyde arttığını tespit etmişlerdir. Chinnapandi vd. (2019), *SIWRKY3*'ün over ekspresyonunun, hassas bitkide *M. javanica* enfeksiyonunun azalmasına neden olduğunu, *SIWRKY3*'ün ifadesinin azaltılmasının ise enfeksiyonun artmasına neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

Glycogenin glucosyltransferase geninin bitki savunması ve stres toleransında önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir (Vogt ve Jones 2000; Dixon 2001; Qi vd. 2005). Bu çalışmada glycogenin glucosyltransferase geninin ifadesini belirlemek üzere *M. incognita*'nın avirulent S6 ve *Mi-1.2* virulent V30 izolatları ile inokulasyon yapılan bitkilerde gen ifadesinde farklılık görülmemiştir. Buna karşın Schaff vd. (2007) bu geninin nematod-bitki arasındaki uyumlu ve uyumsuz ilişkide farklı şekilde ifade edildiğini bildirmişlerdir.

Mi-1.2 geninin sağladığı dayanıklılık sonucu H_2O_2 üretimi için *HsfA1a* geninin gerekli olduğu bilinmektedir (Zhou vd. 2018). Bu çalışmada hassas ve dayanıklı bitkilerde *M. incognita*'nın avirulent veya virulent nematod inokulasyonunun *HsfA1a* geninin ekspresyonunu uyarmadığı görülmüştür.

Hsp90, dayanıklılık geni proteinleri ile etkileşen veya dayanıklılık geninin fonksiyonu için gerekli olan bazı proteinlerden biridir. *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılıkta *Hsp90*'nın da rol oynadığı tespit edilmiştir (Bhattarai vd. 2007). Bu çalışmada, *Mi-1.2* virulent V30 izolatı ile inokulasyon yapılmış dayanıklı bitkide *Hsp90* geninin ifadesi inokulasyondan sonra 4. ve 5. günlerde artış göstermiştir ancak hassas bitkilerde bu durum gözlemlenmemiştir.

Antioksidanlar, ROS'ların neden olduğu oksidatif stres kaynaklı hasarları hafifletmeye yardımcı olurlar (Das ve Roychoudhury 2014). Peroksidaz, ROSları parçalamasının yanı sıra hücre duvarının içeriğinde bulunan ligninin biyosentezine de katılarak hücre duvarlarının güçlendirilmesi ve hücrelerin korunmasında görev almaktadır (Sutherland 1991). Çalışma kapsamında hassas bitkide en yüksek peroksidaz ifadesi avirulent ve virulent izolatların inokulasyonu yapıldıktan 2 gün sonra görülmüştür. Dayanıklı bitkide ise avirulent izolat inokulasyonu yapılan bitkilerdeki ekspresyon seviyesi daha düşük bulunmuştur. Guan vd. (2017), *Mi-1.2* geni taşıyan domateste *Mi-1.2* virulent popülasyonun enfeksiyonu, avirulent popülasyonun enfeksiyonuna göre peroksidaz genini daha fazla uyarılmasına neden olduğunu bildirmiştir.

Bitkilerde mRNA transkriptleri; bitki besin durumu, fizikokimyasal koşullar, gelişim dönemi ve bir dizi çevresel parametre dahil olmak üzere karmaşık, gene özgü faktör kombinasyonları tarafından düzenlenir (Wissel vd. 2003). Tez çalışması sonucu elde edilen bulgular ile daha önce yapılan çalışmalar arasındaki farklılıklara bitkinin genetik özelliği, kullanılan izolatın genetik yapısı, izolatın enfeksiyon kapasitesi, bitkilerin inokulasyonunda kullanılan nematod sayısı, RNA'nın elde edildiği bitki dokusu

ve dönemi, RNA izolasyonu için kullanılan kitin özelliği ve izolasyon süreçleri gibi birçok etkenin neden olabileceği düşünülmektedir. Örneğin, Bhattaria vd. (2010) *SIWRKY72a* ve *SWRKY72b*'nin ekspresyon miktarını nematod inokulasyondan 12, 24 ve 36 saat sonra araştırmışlar ve *SIWRKY72b* transkriptlerinin inokulasyondan 12 saat sonra en yüksek seviyeye ulaştığı inokulasyondan 24 saat sonra ise inokulasyon esnasındaki seviyesine indiğini belirtmişlerdir. Bizim  alışmamızda ise inokulasyondan 24, 48, 72, 96 ve 120 saat sonraki durumlar araştırılmış ve *SIWRKY72b*'nin ifadesinin dayanıklı bitkide 5. günde, hassas bitkide ise 2. günde en yüksek seviyeye ulaştığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu durum çalışmada kullanılan zaman aralıkların elde edilen sonuçlar üzerinde oldukça etkili olabileceğini göstermektedir.



6. SONUÇLAR

Meloidogyne spp., domateste verim kaybına ve kalitede düşüşe neden olan en önemli zararlılardan biridir. Obligat endoparazit olarak beslenen bitki paraziti nematodu olan kök-ur nematodları, döl süresinin kısa olması, üreme potansiyelinin yüksek olması ve mücadelesinin zor ve pahalı olması nedeniyle ekonomik öneme sahiptir (Karsen ve Moens 2006; Nyczepir ve Thomas 2009; Abad ve Williamson 2010).

Mi-1.2 geni, en yaygın görülen kök-ur nematodu türleri olan *M. incognita*, *M. javanica* ve *M. arenaria*'ya karşı dayanıklılık sağlayan ve ticari çeşitlerin geliştirildiği ıslah programlarında da yaygın olarak kullanılan dominant bir gendir (Milligan vd. 1998). Bu genin sağladığı dayanıklılığı kıran *Mi-1.2* virulent popülasyonlarının giderek yaygınlaşması ise bu genin etkinliğini ciddi ölçüde sınırlandırmaktadır.

Nematodun beslenmeye başladığı bölgede nematod ve bitki arasında uyumlu ve uyumsuz ilişkisinde çok sayıda genin ifadesinde değişimler gözlenmektedir (Fuller vd. 2007; Guan vd. 2017). *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılığın oluşmasında birçok genin etkili olduğu gösterilmiştir (Bhattarai vd. 2007; Bhattaria vd. 2010; Zhou vd. 2018).

Bu tez kapsamında *Mi-1.2*, *PR-1a*, *PR-2*, *PR-5*, *WRKY72a*, *WRKY72b*, *WRKY45*, *WRKY3*, glycogenin glucosyltransferase, *HsfA1a*, *Hsp90* ve peroksidaz'ın ifadesi SYBR Green I kullanılarak qRT-PCR ile araştırılmıştır.

Mi-1.2 geninin ekspresyon miktarını belirlemek için kullanılan FjMi-1.2 primeriyle inokulasyondan sonra 2. günde, ToMi-1.2 primeriyle ise 5. günde inokulasyon yapılmış bitkiler ve kontrol grubu arasında farklılık bulunmuştur. *Mi-1.2* virulent ve avirulent izolatlarla inokulasyonu yapılan bitkilerin *Mi-1.2* için elde edilen ΔCT değerleri arasında istatistiki önemde farklılık görülmemiştir.

Dayanıklı ve hassas bitkilerdeki *PR-1a* geninin ΔCT değerleri *M. incognita* izolatının *Mi-1.2* virulent olup olmamasına göre değişim göstermemiştir. Hassas bitkide *PR-2* geninin ifadesi nematod inokulasyonundan sonra 3. güne kadar azalmış daha sonra artmaya başlamıştır. Dayanıklı bitkide ise *PR-2* geninin ifadesi günlere ve izolata göre değişiklik göstermemiştir. Hassas bitkide *PR-5* geni ifadesi nematod inokulasyonundan sonra 5. güne kadar artış göstermiştir.

SIWRKY72a, *SIWRKY72b*, *SIWRKY45* ve *SIWRKY3* genlerinin avirulent/virulent izolat inokulasyonu yapılmış dayanıklı bitkiler ile nematod inokulasyonu yapılmamış kontrol grubu bitkilerinden aynı gün içerisinde elde edilen ΔCT değerleri arasında farklılık bulunmamıştır. Hassas bitkilerde *SIWRKY45*'in en yüksek transkript miktarı avirulent izolat inokulasyonu yapılmış bitkilerde 3. günde (kontrole göre 8,04 kat fazla), virulent izolat inokulasyonu yapılmış bitkilerde ise 4. günde (kontrole göre 4,31 kat fazla) gözlemlenmiştir. *Mi-1.2* virulent izolat inokulasyonu yapılmış bitkilerdeki *SIWRKY3* geninin ifadesi 2. günde kontrole göre 3,63 kat artış gösterip en yüksek değerine ulaşmış daha sonra azalmıştır, avirulent izolat inokulasyonu yapılmış bitkilerdeki ekspresyon seviyesinde 5 günlük süre içerisinde önemli bir değişim gözlemlenmemiştir.

Glycogenin glucosyltransferase ve *HsfA1a* geninin, hassas ve dayanıklı bitkilerde *M. incognita*'nın avirü lent veya virü lent izolatının inokulasyonundan sonra uyarılmadığı görülmüştür.

Hsp90 geninin ifadesi *Mi-1.2* virü lent V30 izolatı ile inokulasyon yapılmış dayanıklı bitkide inokulasyondan sonra 4. ve 5. günlerde artış göstermiştir ancak hassas bitkilerde bu durum gözlemlenmemiştir.

Hassas bitkide en yüksek peroksidaz ifadesi avirü lent ve virü lent izolatların inokulasyonu yapıldıktan 2 gün sonra tespit edilmiştir. Dayanıklı bitkide ise avirü lent S6 izolatı ile inokulasyonu yapılan bitkilerdeki ekspresyon seviyesi virü lent izolat inokulasyonu yapılan bitkilerdeki peroksidaz ifadesinden daha düşük bulunmuştur.

Mi-1.2 geninin domates yetiştiriciliğinde kök-ur nematodlarına karşı ticari çeşitlerde kullanılan tek gen olma özelliğine sahiptir. Bu nedenle bu gen üzerinde farklı alanlarda çalışmaların yürütüldüğü görülmektedir. Genin sağladığı dayanıklılık düzeyini anlamak için nematodlara tepkisi (Roberts vd. 1990), sıcaklıkla olan ilişkisi (Dropkin 1969; Carvelho vd. 2015; Özalp ve Devran 2018), virü lent popülasyonlara karşı tepkisi (Castagnone-Sereno vd. 1994; Devran ve Söğüt 2010) araştırılmıştır. Son yıllarda *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılıkta başka genlerinde rol alabildiği ve özellikle *Hsp90*, *SIWRKY72*, *HsfA1a* vb. etkili olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca bu genlerin nematod inokulasyonu sonucu bitkilerin vermiş olduğu tepkiler sonucu oluşan ifade düzeyleri araştırılmıştır (Bhattarai vd. 2007; Bhattaria vd. 2010; Zhou vd. 2018). Bu tez kapsamında *Mi-1.2* geninin yanı sıra ve nematod enfeksiyonunda rol oynadığı düşünölen 11 adet genin (*PR-1a*, *PR-2*, *PR-5*, *WRKY72a*, *WRKY72b*, *WRKY45*, *WRKY3*, Glycogenin glucosyltransferase, *HsfA1a*, *Hsp90* ve Peroksidaz) ifadesi qRT-PCR ile araştırılmıştır. Bu genlerin ifadesinin, bitkinin *Mi-1.2* geni taşıma durumuna, zamana, nematod izolatının *Mi-1.2* avirü lent ve virü lent olmasına göre değişim gösterebildiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar bu alanda yapılacak çalışmalar için temel bilgiler oluşturabilmiştir. Daha sonra yapılacak çalışmalarda bu genlerin farklı domates genotiplerindeki tepkisinin araştırılması, aynı kök-ur nematod türü içindeki farklı izolatlar ile farklı türlere tepkisinin karşılaştırılması ve gen ifadesinin daha sık aralıklarla ölçölmesi daha detaylı bilgi elde edilmesine imkân verebilecektir. Ayrıca *Mi-1.2* geninin sağladığı dayanıklılığa pozitif katkısı olan genlerin, gen editing çalışmalarda kullanılması ile performansı uzaltılabilecektir.

7. KAYNAKLAR

- Abad, P. and Williamson, V.M. 2010. Plant nematode interaction: a sophisticated dialogue. *Advances in Botanical Research*, 53: 147-192.
- Abad, P., Castagnone-Sereno, P., Rosso, M.N., de Almeida Engler, J. and Favory, B. 2009. Invasion, feeding and development. In: Perry, R.N., Moens, M. and Starr, J.L. (Eds.), *Root-knot Nematodes*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 163–181.
- Abad, P., Favory, B., Rosso, M.N. and Castagnone-Sereno, P. 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: Molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology*, 4 (4): 217–224.
- Abak, K. 2016. Türkiye’de domatesin dünü, bugünü ve yarını. *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 17: 8-13.
- Allen, M.W. 1952. Observations on the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 19: 44-51.
- Alves, M.S., Dadalto, S.P., Gonçalves, A.B., De Souza, G.B., Barros, V.A. and Fietto, L.G. 2013. Plant bZIP transcription factors responsive to pathogens: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4): 7815-7828.
- Ammati, M., Thomason, I.J. and MckineY, H.E. 1986. Retention of resistance to *Meloidogyne incognita* in *Lycopersicon* genotypes at high soil temperature. *Journal of Nematology*, 18: 491–495.
- Ammiraju, J.S., Veremis, J.C., Huang, X. Roberts, P.A. and Kaloshian, I. 2003. The heat-stable root-knot nematode resistance gene *Mi-9* from *Lycopersicon peruvianum* localized on the short arm of chromosome 6. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 478–484.
- Anonim 1 : Crops <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [Son erişim tarihi: 05.04.2021].
- Anonymous 1: The USDA Nematode Collection. <https://agresearchmag.ars.usda.gov/2016/may/nematode/>. [Son erişim tarihi: 05.04.2021].
- Antoniw, J.F., Ritter, C.E., Pierpoint, W.S. and Van Loon, L.C. 1980. Comparison of three pathogenesis-related proteins from plants of two cultivars of tobacco infected with TMV. *Journal of General Virology*, 47(1): 79-87.
- Apel, K. and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55: 373–399.

- Atamian, H.S., Eulgem, T., Kaloshian, I. 2012. SIWRKY70 is required for Mi-1-mediated resistance to aphids and nematodes in tomato. *Planta*, 235: 299–309.
- Atkinson, G.F. 1892. Some diseases of cotton. III, *Frenching*. *Alabama Agricultural Experiment Station Bulletin*, 41: 19-29.
- Aydınlı, G. 2018. Detection of the root-knot nematode *Meloidogyne luci* Carneiro et al., 2014 (Tylenchida: Meloidogynidae) in vegetable fields of Samsun Province, Turkey. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 42(3): 229-237.
- Aydınlı, G. and Mennan, S. 2019. Reproduction of root-knot nematode isolates from the middle Black Sea Region of Turkey on tomato with *Mi-1.2* resistance gene. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 43(4): 417-427.
- Aydınlı, G. and Mennan, S. 2016. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) from greenhouses in the Middle Black Sea Region of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 40 (5): 675-685.
- Bai, Y., Kissoudis, C., Yan, Z., Visser, R.G.F. and van der Linden, G. 2018. Plant behaviour under combined stress: tomato responses to combined salinity and pathogen stress. *The Plant Journal*, 93(4): 781–93.
- Bailey, D.M. 1941. The seedling test method for root-knot-nematode resistance. *Proceedings of the American Society of Horticultural Science*, 38: 573-575.
- Bar-Or, C., Kapulnik, Y. and Koltai, H. 2005. A broad characterization of the transcriptional profile of the compatible tomato response to the plant parasitic root knot nematode *Meloidogyne javanica*. *European Journal of Plant Pathology*, 111(2), 181-192.
- Bergougnot, V. 2014. The history of tomato: from domestication to biopharming. *Biotechnology Advances*, 32(1): 170-189.
- Berthou, F., Ba-Diallo, A., De Maeyer, L. and De Guiran, G. 1989. Caractérisation chez les nematodes *Meloidogyne Goeldi* (Tylenchida) de types virulents vis-à-vis du gène Mi de la tomate dans deux zones maraichères au Sénégal. *Agronomie*, 9: 877-884.
- Bhattacharai, K.K., Li, Q., Liu, Y., Dinesh-Kumar, S.P. and Kaloshian, I. 2007. The *Mi-1*-mediated pest resistance requires Hsp90 and Sgt1. *Plant Physiology*, 144(1): 312-323.
- Bhattacharai, K.K., Atamian, H.S., Kaloshian, I. and Eulgem, T. 2010. WRKY72-type transcription factors contribute to basal immunity in tomato and Arabidopsis as well as gene-for-gene resistance mediated by the tomato R gene *Mi-1*. *The Plant Journal*, 63: 229–240.

- Bird, D.M. and Kaloshian, I. 2003. Are roots special? Nematodes have their say. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 62: 115-123.
- Bleve-Zacheo, T., Melillo, M.T. and Castagnone-Sereno, P. 2007. The contribution of biotechnology to Root-knot Nematode control in tomato plants. *Pest Technology*, 1(1): 1-16.
- Boerma, H.R. and Hussey, R.S. 1992. Breeding plants for resistance to nematodes. *Journal of Nematology*, 24 (2): 242–252.
- Boswell, V.R. 1937. Improvement and genetics of tomatoes, peppers and eggplant. *Yearbook of the United States Department of Agriculture*, 177-206.
- Boyer, J.S. 1982. Plant productivity and environment. *Science*. 218(4571): 443–8.
- Bozbuga, R. 2020a. Expressions of *pathogenesis related 1 (PR1)* gene in *Solanum lycopersicum* and Influence of salicylic acid exposures on host-*Meloidogyne incognita* interactions. In *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 494 (1): 266-269.
- Bozbuga, R. 2020b. Effect of Submerging *Solanum lycopersicum* Roots in Salicylic Acid (SA) Solution for Different Durations on Nematode Infection and Expressions of *SlPR5* Gene. *Horticultural Studies*, 37(2): 144-149.
- Caillaud, M.C., Lecomte, P., Jammes, F., Quentin, M., Pagnotta, S., Andrio, E., de Almeida-Engler, J., Marfaing, N., Gounon, P., Abad, P. and Favery, B. 2008. MAP65-3 microtubule-associated protein is essential for nematode-induced giant cell ontogenesis in Arabidopsis. *Plant Cell*, 20: 423–437.
- Canene-Adams, K., Campbell, J.K., Zaripheh, S., Jeffery, E.H. and Erdman, Jr, J.W. 2005. The tomato as a functional food. *The Journal of nutrition*, 135(5): 1226-1230.
- Cap, G.B., Roberts, P.A. and Thomason, I.J. 1993. Inheritance of heat-stable resistance to *Meloidogyne incognita* in *Lycopersicon peruvianum* and its relationship to the *Mi* gene. *Theoretical and Applied Genetics*, 85: 777-783.
- Carvalho, L.M., Benda, N.D., Vaughan, M.M., Cabrera, A.R., Hung, K., Cox, T., Abdo, Z., Allen, L.H., Teal, P.E. 2015. *Mi-1*-mediated nematode resistance in tomatoes is broken by short-term heat stress but recovers over time. *Journal of Nematology*, 47:133–140
- Castagnone-Sereno, P., Bongiovanni, M. and Dalmasso, A. 1994. Reproduction of virulent isolates of *Meloidogyne incognita* on susceptible and *Mi*-resistant tomato. *Journal of Nematology*, 26(3): 324.

- Casteel, C.L., Walling, L.L. and Paine, T.D. 2006. Behavior and biology of the tomato psyllid, *Bactericera cockerelli*, in response to the *Mi-1.2* gene. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 121(1): 67-72.
- Chawla, S., Woodward, J.E., Wheeler, T.A. and Wright, R.J. 2012. Effect of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* inoculum density, *Meloidogyne incognita* and cotton cultivar on fusarium wilt development. *The Texas Journal of Agriculture and Natural Resources*, 25: 46-56.
- Chen, C., Chen, X., Han, J., Lu, W. and Ren, Z. 2020. Genome-wide analysis of the WRKY gene family in the cucumber genome and transcriptome-wide identification of WRKY transcription factors that respond to biotic and abiotic stresses. *BMC Plant Biology*, 20(1): 1-19.
- Chen, S.Y. and Dickson, D.W. 2004. Biological control of nematodes by fungal antagonists. In: Chen, X., Chen, Y. and Dickson, D.W. (Eds.), *Nematology Advance and Perspectives*, vol 2. CAB International, UK, pp. 979–1039.
- Chen, Z. X., and D. W. Dickson. 1998. A review of *Pasteuria penetrans*: Biology, ecology, and biological control potential. *Journal of Nematology*, 30: 313 -340
- Chinnapandi, B., Bucki, P., Braun Miyara, S. 2017. *SlWRKY45*, nematode-responsive tomato WRKY gene, enhances susceptibility to the root knot nematode; *M. javanica* infect. *Plant Signaling Behavior*, doi:10.1080/15592324.2017.1356530
- Chinnapandi, B., Bucki, P., Fitoussi, N., Kolomiets, M., Borrego, E. and Braun Miyara, S. 2019. Tomato *SlWRKY3* acts as a positive regulator for resistance against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by activating lipids and hormone-mediated defense-signaling pathways *Plant Signaling & Behavior*, 14:1601951-1-16.
- Cohn, J.R. and Martin, G.B. 2005. *Pseudomonas syringae* pv. tomato type III effectors AvrPto and AvrPtoB promote ethylene-dependent cell death in tomato. *The Plant Journal*, 44(1): 139-154.
- Cook, R. 2004. Genetic resistance to nematodes: where is it useful? *Australasian Plant Pathology*, 33(2): 139-150.
- Curtis, R.H.C. 2007. Plant parasitic nematode proteins and host-parasite interaction. *Briefings in Functional Genomics and Proteomics*, 6 (1): 50-58.
- Çatalkaya, M. and Devran, Z. 2019. Integrated management of *Mi-1* virulent *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 (Tylenchida: Meloidogynidae) in greenhouse tomatoes. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 43(2): 157-169.

- Dangl, J.L. and Jones, J.D. 2001. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*, 411(6839): 826-833.
- Darwin, S.C., Knapp, S. and Peralta, I.E. 2003. Taxonomy of tomatoes in the Galápagos Islands: native and introduced species of *Solanum* section *Lycopersicon* (Solanaceae). *Systematics and Biodiversity*, 1 (1): 29-53.
- Das, K., Roychoudhury, A. 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2: 53.
- De Pater, S. Greco, V., Pham, K., Memelink, J. and Kijne, J. 1996. Characterization of a zinc-dependent transcriptional activator from *Arabidopsis*. *Nucleic Acids Research*. 24: 4624–4631.
- Decraemer, W. and Hunt, D.J. 2006. Taxonomy and principal genera. In: R.N. Perry and M. Moens (Eds.), *Plant Nematology*. British Library, London, pp. 3-32.
- Desjardins, P. and Conklin, D. 2010. NanoDrop microvolume quantitation of nucleic acids. *Journal of Visualized Experiments*, 45, p. e2565,
- Devran, Z. 2006. Hıyarda kök-ur nematodlarına karşı moleküler markırların geliştirilmesi. Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 116 s.
- Devran, Z. and M. A. Söğüt, 2010. Occurrence of virulent root-knot nematode populations on tomatoes bearing the *Mi* gene in protected vegetable-growing areas of Turkey. *Phytoparasitica*, 38 (3): 245-251.
- Devran, Z. and Söğüt, M.A. 2009. Distribution and identification of root-knot nematodes from Turkey. *Journal of Nematology*, 41:128-133.
- Devran, Z., Mıstanoğlu, İ. and Özalp, T. 2017. Occurrence of mixed populations of root-knot nematodes in vegetable greenhouses in Turkey, as determined by PCR screening. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 1- 14.
- Dixon, R.A. 2001. Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411: 843–847.
- Doke, N. 1983. Involvement of superoxide anion generation in the hypersensitive response of potato tuber tissues to infection with an incompatible race of *Phytophthora infestans* and to the hyphal wall components. *Physiological Plant Pathology*, 23(3): 345-357.
- Dropkin, V.H. 1969a. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. *Phytopathology*, 59: 1632–1637.
- Dropkin, V.H. 1969b. Cellular responses of plants to nematode infections. *Annual Review Phytopathology*, 7: 101–122.

- Du, C., Jiang, J., Zhang, H., Zhao, T., Yang, H., Zhang, D., Zhao, Z., Xu, X. and Li, J. 2020. Transcriptomic profiling of *Solanum peruvianum* LA3858 revealed a *Mi-3*-mediated hypersensitive response to *Meloidogyne incognita*. *BMC Genomics*, 21(1): 1-20.
- Du, C., Shen, F., Li, Y., Zhao, Z., Xu, X., Jiang, J. and Li, J. 2021. Effects of salicylic acid, jasmonic acid and reactive oxygen species on the resistance of *Solanum peruvianum* to *Meloidogyne incognita*. *Scientia Horticulturae*, 275, 109649.
- Eddaoudi, M., Ammati, M. and Rammah, H. 1997. Identification of resistance breaking populations of *Meloidogyne* on tomatoes in Morocco and their effect on new sources of resistance. *Fundamental and Applied Nematology*, 20: 285-289.
- Elling, A.A., Mitreva, M., Recknor, J., Gai, X., Martin, J., Maier, T.R., McDermott, J.P., Hewezi, T., Mc, K. B. D., Davis, E. L., Hussey, R. S., Nettleton, D., McCarter, J.P. and Baum, T. J. 2007. Divergent evolution of arrested development in the dauer stage of *Caenorhabditis elegans* and the infective stage of *Heterodera glycines*. *Genome Biology*, 8:R211.
- Ertürk, H. ve Özkut, S. 1973. Ege Bölgesi Şartlarında Kök-Ur Nematodlarına Dayanıklı Asma Anacı Araştırılması. IV. Bilim Kongresi, 5–8 Kasım, Ankara.
- Eulgem, T. and Somssich, I.E. 2007. Networks of WRKY transcription factors in defense signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(4): 366-371.
- Eulgem, T., Rushton, P.J., Robatzek, S. and Somssich, I.E. 2000. The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends Plant Science*, 5(5):199–206.
- Ferreira, R.B., Monteiro, S.A.R.A., Freitas, R., Santos, C.N., Chen, Z., Batista, L.M., Duarte, J., Borges, A. and Teixeira, A.R. 2007. The role of plant defence proteins in fungal pathogenesis. *Molecular Plant Pathology*, 8(5): 677-700.
- Flor, H.H. 1955. Host–parasite interaction in flax rust—Its genetic and other implications. *Phytopathology*, 45: 680–685
- Foyer, C. H. and Noctor, G. 2005. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell*, 17: 1866–1875.
- Fraga, D., Meulia, T. and Fenster, S. 2008. Real-time PCR. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, (1): 10-3.
- Fujimoto, T., Tomitaka, Y., Abe, H., Tsuda, S., Futai, K. and Mizukubo, T. 2011. Expression profile of jasmonic acid-induced genes and the induced resistance against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato plants (*Solanum lycopersicum*) after foliar treatment with methyl jasmonate. *Journal of Plant Physiology*, 168(10): 1084-1097.

- Fuller, V.L., Lilley, C.J., Atkinson, H.J. and Urwin, P.E. 2007. Differential gene expression in Arabidopsis following infection by plant-parasitic nematodes *Meloidogyne incognita* and *Heterodera schachtii*. *Molecular Plant Pathology*, 8(5): 595-609.
- Gabriel, M., Kulczynski, S.M., Muniz, M.F., Boiteux, L.S. and Carneiro, R.M. 2020. Reaction of a heterozygous tomato hybrid bearing the *Mi-1.2* gene to 15 *Meloidogyne* species. *Plant Pathology*, 69(5): 944-952.
- Ghahremani, Z., Escudero, N., Saus, E., Gabaldón, T. and Sorribas, F.J. 2019. *Pochonia chlamydosporia* induces plant-dependent systemic resistance to *Meloidogyne incognita*. *Frontiers in Plant Science*, 10, 945.
- Gheysen, G., Van Der Eycken, W., Barthels, N., Karımı, M., and Van Montagu, M., 1996. The exploitation of nematode-responsive plant genes in novel nematode control methods. *Pesticide Science*, 47: 95-101.
- Gianinazzi, S., Martin, C. and Vallee, J. C. 1970. Hypersensibilite aux virus, temperature et proteines solubles chez le *Nicotiana Xanthi* nc Apparition de nouvelles macromolecules lors de la repression de la synthese virale. Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. Série D, *Sciences Naturelles*, 270: 2383-2386.
- Gleason, C., Polzin, F., Habash, S.S., Zhang, L., Utermark, J., Grundler, F.M. and Elashry, A. 2017. Identification of two *Meloidogyne* hapla genes and an investigation of their roles in the plant-nematode interaction. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 30(2): 101-112.
- Guan, T., Shen, J., Fa, Y., Su, Y., Wang, X. and Li, H. 2017. Resistance-breaking population of *Meloidogyne incognita* utilizes plant peroxidase to scavenge reactive oxygen species, thereby promoting parasitism on tomato carrying *Mi-1* gene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 482(1): 1-7.
- Gutterson, N. and Reuber, T.L. 2004. Regulation of disease resistance pathways by AP2/ERF transcription factors. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(4): 465-471.
- Halbrendt, J.M. and LaMondia, J.A. 2004. Crop rotation and other cultural practices. In: Chen, Z.X., Chen, S.Y. and Dickson, D.W. (Eds.), *Nematology Advances and Perspectives*, Vol. 2. CAB International, Wallingford, pp. 909–930.
- Hamamouch, N., Li, C., Seo, P.J., Park, C.M. and Davis, E.L. 2011. Expression of Arabidopsis pathogenesis-related genes during nematode infection, *Molecular Plant Pathology*, 12(4): 355-364.
- Hammond-Kosack, K.E. and Jones, J. D. 1996. Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell*, 8(10): 1773.

- Hartman, K.M. ve Sasser, J.N. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the Basis of Different Host Test and Perineal Pattern Morphology, In: Barker, K. R., Carter, C.C. ve Sasser, J.N. (Eds.), An Advanced treatise on *Meloidogyne*, Vol. 2. Methodology. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 69-77.
- Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S. and Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology*, 10: 413-417.
- Higuchi, R., Fockler, C., Dollinger, G. and Watson, R. 1993. Kinetic PCR: Real time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology*, 11: 1026-1030.
- Hooper, D. J., 1986, Handling, Fixing, Staining and Mounting Nematodes. In: J.F. Southey (Eds.), Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes. Her Majesty's Stationery Office, London, pp. 59-80.
- Höss S, Williams PL. 2009. Ecotoxicity testing with nematodes. In Wilson M, Kakouli-Duarte T, eds, Nematodes as Environmental Bioindicators. CABI, Wallingford, UK, pp 208–224.
- Hunt, D.J. 1993. Aphelenchida, longidoridae and trichodoridae: their systematics and bionomics. CAB International, Wallingford, UK., 368 p.
- Hunt, D.J., M. Luc and R.H. Manzanilla-López, 2005. “Identification, Morphology and Biology of Plant Parasitic Nematodes, 11-52”. In: Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J. (Eds.), Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CABI Bioscience, Egham, 871 pp.
- Hwang, C.F. and Williamson, V.M. 2003. Leucine-rich repeat-mediated intramolecular interactions in nematode recognition and cell death signaling by the tomato resistance protein Mi. *The Plant Journal*, 34: 585-593.
- Iberkleid, I., Ozalvo, R., Feldman, L., Elbaz, M., Patricia, B. and Horowitz, S.B. 2014. Responses of tomato genotypes to avirulent and Mi-virulent *Meloidogyne javanica* isolates occurring in Israel. *Nematology*, 104(5): 484-496.
- Ishiguro S and Nakamura K. 1994. Characterization of a cDNA encoding a novel DNAbinding protein, SPF1, that recognizes SP8 sequences in the 5' upstream regions of genes coding for sporamin and beta-amylase from sweet potato. *Molecular and General Genetics*, 244: 563–71.
- Ito, M., Ohnishi, K., Hikichi, Y. and Kiba, A. 2015. Molecular chaperons and co-chaperons, Hsp90, RAR1, and SGT1 negatively regulate bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Signaling & Behavior*, 10(6), e970410.
- İmren, M., Özarslandan, A., Kasapoğlu, E. B., Toktay, H. and Elekcioğlu, I.H. 2014. Morphological and molecular identification of a new species *Meloidogyne*

- artiellia* (Franklin) on wheat fauna in Turkey. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 38(2): 189-196.
- Jepson, S.B. 1987. Identification of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* species). CAB International: Wallingford, UK.
- Jones, J.D. and Dangl, J.L. 2006. The plant immune system. *Nature*, 444: 323–9.
- Jones, J.T., Haegeman, A., Danchin, E.G., Gaur, H.S., Helder, J., Jones, M.G., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J.E., Wesemael, W.M.L. and Perry, R.N. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 14(9): 946-961.
- Jones, M.G.K. 1981. The development and function of plant cells modified by endoparasitic nematodes. In: Zuckerman, B.M. Rhode, R.A. (Eds.), Plant Parasitic Nematodes, Academic Press, New York, pp. 225–279.
- Kaloshian, I. 2004. Gene-for-gene disease resistance: bridging insect pest and pathogen defense. *Journal of Chemical Ecology*, 30: 2419-2438.
- Kaloshian, I., Desmond, O. J., and Atamian, H. S. 2011. Disease resistance-genes and defense responses during incompatible interactions. In Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions. Springer, Dordrecht, pp. 309-324.
- Karssen, G. 2002. The plant parasitic nematode genus *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Tylenchida) in Europe. Brill. Leiden, 161 p.
- Karssen, G. and Moens, M. 2006. Root-knot nematodes. In: Perry, R.N. and Moens, M. (Eds.), Plant Nematology, CABI, pp: 59-90, London.
- Kaşkavalcı, G. ve C. Öncüler, 1999. Aydın ili'nin yazlık sebze yetiştirilen önemli bölgelerinde bulunan *Meloidogyne* Goeldi, 1887 (Tylenchida: Meloidogynidae) türlerinin yayılışları ve ekonomik önemleri üzerinde araştırmalar. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 23: 149-160.
- Katan, J. 1980. Solar pasteurization of soils for disease control: status and prospects. *Plant Disease*, 64(5): 450-454.
- Katan, J. 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. *Annual Review of Phytopathology*, 19(1): 211-236.
- Kepenekci, İ., Öztürk, G. ve Evlice, E. 2002. Ülkemiz örtü altı sebze üretiminde sorun olan yeni bir kök-ur nematodu türü (*Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887) ve diğer kök-ur nematodu türleri. IV. Sebze Tarımı Sempozyumu, 55s, Bursa.
- Knapp, S. 2002. Solanum Section Geminata (Solanaceae). *Flora Neotropica*, 1-404.

- Krauss, S., Schnitzler, W. H., Grassmann, J., Woiatke, M. 2006. The influence of different electrical conductivity values in a simplified recirculating soilless system on inner and outer fruit quality characteristics of tomato. *J. Agric. Food Chem.* 54: 441–448.
- Lambert, K. And Bekal, S. 2002. Introduction to plant-parasitic nematodes. *The plant Health instructor*, 10: 1094-1218.
- Lamovšek, J., Urek, G. and Trdan, S. 2013. Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.): microbes against the pests. *Acta Agriculturae Slovenica*, 101(2): 263-275.
- Lavrova, V. V., Zinovieva, S. V., Udalova, Z. V., Matveeva, E. M. 2017. Expression of PR genes in tomato tissues infected by nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White, 1919) Chitwood, 1949, *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 476: 306-309.
- Licausi, F., Ohme-Takagi, M. and Perata, P. 2013. APETALA 2/Ethylene Responsive Factor (AP 2/ERF) transcription factors: Mediators of stress responses and developmental programs. *New Phytologist*, 199(3): 639-649.
- Liu, B., Ouyang Z.G., Zhang, Y.F., Li, X.H., Hong, Y.B., Huang, L., Liu, S.X., Zhang, H.J., Li, D.Y. and Song, F.M. 2014. Tomato NAC transcription factor SlSRN1 positively regulates defense response against biotic stress but negatively regulates abiotic stress response. *PLoS One* 9: e102067.
- Liu, W. and Saint, D.A. 2002. A new quantitative method of real time reverse transcription polymerase chain reaction assay based on simulation of polymerase chain reaction kinetics. *Analytical biochemistry*, 302(1): 52-59.
- Liu, Y., Schiff, M., Marathe, R. and Dinesh-Kumar, S.P. 2002b. Tobacco Rar1, EDS1 and NPR1/NIM1 like genes are required for N-mediated resistance to tobacco mosaic virus. *Plant J* 30: 415–429
- Liu, Z., Alseekh, S., Brotman, Y., Zheng, Y., Fei, Z., Tieman, D.M., Giovannoni, J.J., Fernie, A.R., and Klee, H.J. 2016. Identification of a *Solanum pennellii* chromosome 4 fruit flavor and nutritional quality-associated metabolite QTL. *Frontiers in Plant Science*. 7:1671.
- Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2– $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*, 25(4): 402-408.2wsxc
- Lourenço-Tessutti, I.T., Souza Junior, J.D.A., Martins-de-Sa, D., Viana, A.A.B., Carneiro, R. M.D.G., Togawa, R.C., de Almeida-Engler, J., Batista, J.A.N., Silva, M.C.M., Fragoso, R.R. and Grossi-de-Sa, M.F. 2015. Knock-down of heat-shock

- protein 90 and isocitrate lyase gene expression reduced root-knot nematode reproduction. *Phytopathology*, 105(5): 628-637.
- Løvda, T. and Lillo, C. 2009. Reference gene selection for quantitative real-time PCR normalization in tomato subjected to nitrogen, cold, and light stress. *Analytical Biochemistry*, 387(2): 238-242.
- Malinen, E., Kassinen, A., Rinttila, T. and Palva, A. 2003. Comparison of real-time PCR with SYBR Green I or 5'-nuclease assays and dot-blot hybridization with rDNA-targeted oligonucleotide probes in quantification of selected faecal bacteria. *Microbiology*, 149: 269–277.
- Martinez De Ilarduya, O., Moore, A.E. and Kaloshian, I. 2001. The tomato *Rme1* locus is required for *Mi-1*-mediated resistance to root-knot nematodes and the potato aphid. *The Plant Journal*, 27: 417-425.
- Martinez De Ilarduya, O., Nombela, G., Hwang, C.F., Williamson, V.M., M. Muñiz, and Kaloshian, I., 2004. *Rme1* is necessary for *Mi-1* -mediated resistance and acts early in the resistance pathway. *Molecular Plant-microbe Interactions*, 17: 55-61.
- Martinez de Ilarduya, O. and Kaloshian, I. 2001. *Mi-1.2* transcripts accumulate ubiquitously in root-knot nematode resistant *Lycopersicon esculentum*. *Journal of Nematology* 33: 116–120.
- Medina Filho, H.P. 1980. Linkage of Aps-1, Mi and other markers on chromosome 6. *Tomato Genetics Cooperative*, 30:26-28.
- Melillo, M. T., Leonetti, P., Leone, A., Veronico, P. and Bleve-Zacheo, T. 2011. ROS and NO production in compatible and incompatible tomato-Meloidogyne incognita interactions. *European Journal of Plant Pathology*, 130(4): 489-502.
- Melillo, M.T., Leonetti, P., Bongiovanni, M., Castagnone-Sereno, P. and Bleve-Zacheo, T. 2006. Modulation of reactive oxygen species activities and H₂O₂ accumulation during compatible and incompatible tomato-root-knot nematode interactions. *New Phytology*, 170: 501–512
- Milligan, S.B., Bodeau, J., Yaghoobi, J., Kaloshian, I., Zabel, P. And Williamson, V.M. 1998. The root-knot resistance gene Mi from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine rich repeat family of plant genes. *Plant Cell*, 10: 1307-1319.
- Miyashita, N., Yabu, T., Kurihara, T. and Koga, H. 2014. The feeding behavior of adult root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*) in rose balsam and tomato. *Journal of Nematology*, 46(3): 296.

- Moens, M., Perry, R.N. and Starr, J.L. 2009. Meloidogyne species- a diverse group of novel and important plant parasites. In: Perry, R.N., Moens, M. and Starr, J.L. (Eds.), Root-Knot Nematodes. CAB International, UK, pp. 1-17.
- Molinari, S., Fanelli, E. and Leonetti, P. 2014. Expression of tomato salicylic acid (SA)-responsive pathogenesis-related genes in Mi-1-mediated and SA-induced resistance to root-knot nematodes. *Molecular Plant Pathology*, 15(3): 255-264.
- Muskett, P.R., Kahn, K., Austin, M.J., Moisan, L.J., Sadanandom, A., Shirasu, K., Jones, J.D. and Parker, J.E. 2002. Arabidopsis RAR1 exerts rate-limiting control of R gene-mediated defenses against multiple pathogens. *Plant Cell*, 14: 979-992
- Naalden, D., Haegeman, A., de Almeida-Engler, J., Birhane Eshetu, F., Bauters, L., & Gheysen, G. 2018. The Meloidogyne graminicola effector Mg16820 is secreted in the apoplast and cytoplasm to suppress plant host defense responses. *Molecular Plant Pathology*, 19(11): 2416-2430.
- Nombela, G., Williamson, V.M. and Muniz, M. 2003. The root-knot nematode resistance gene Mi.1.2 of tomato irresponsible for resistance against the whitefly *Bemisia tabaci*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 16: 645-649.
- Nuruzzaman, M., Shari, A.M. and Kikuchi, S. 2013. Roles of NAC transcription factors in the regulation of biotic and abiotic stress responses in plants. *Frontiers in Microbiology*, 4:1-116.
- Nyczepir A.P. and Thomas S.H. 2009. Current and future management strategies in intensive crop production systems. In: Pery R. N., Moens M. and Starr J. L. (Eds.), Root-knot nematodes, CAB International, Wallingford, pp. 412-443.
- Okutucu, B. ve Pehlivan, S. 2003. Reverz-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ve Uygulama Alanları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 12(2): 138-148.
- Ornat, C., Verdejo-Lucas, S. and Sorribas, F.J., 2001. A population of *Meloidogyne javanica* in Spain virulent to the Mi resistance gene in tomato. *Plant Disease*, 85: 271-276.
- Öçal, S., Özalp, T. and Devran, Z. (2018). Reaction of wild eggplant *Solanum torvum* to different species of root-knot nematodes from Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 125(6): 577-580.
- Özalp, T. and Devran, Z. 2018. Response of tomato plants carrying Mi-1 gene to *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 under high soil temperatures. *Turkish Journal of Entomology*, 42(4):313-322.
- Özalp, T., Mıstanoğlu, İ. and Devran, Z. 2018. The reaction of tomato plants carrying Mi-1 gene to different inoculation densities of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and

- White, 1919) Chitwood, 1949. *Journal of Plant Protection Research*, 58(2): 124-129.
- Özarslandan, A., Devran, Z., Mutlu, N. and Elekcioglu, I.H. 2009. First report of Columbia root-knot nematode (*Meloidogyne chitwoodi*) in potato in Turkey. *Plant Disease*, 93(3): 316.
- Peart, J.R., Lu, R., Sadanandom, A., Malcuit, I., Moffett, P., Brice, D.C., Schauser, L., Jaggard, D.A.W., Xiao, S., Coleman, M.J., Dow, M., Jones, J.D.G., Shirasu, K. and Baulcombe, D.C. 2002. Ubiquitin ligase-associated protein SGT1 is required for host and nonhost disease resistance in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(16): 10865-10869.
- Peralta, I., Knapp, S. and Spooner, D. 2005. New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from northern Peru. *Systematic Botany*, 30: 424–434.
- Peralta, I.E. and Spooner, D.M. 2007. History, origin and early cultivation of tomato (*Solanaceae*). In: Razdan MK, Matto AK, (Eds.), Genetic improvement of solanaceous crops, vol. 2. Tomato, Enfield, NH: Science Publishers, p. 1–27.
- Perry, R.N. and Moens, M. 2011. Introduction to plant-parasitic nematodes; modes of parasitism. In *Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions*. Springer, Dordrecht, pp. 3-20.
- Pfaffl, M.W. 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR. *Nucleic Acids Research*, 29(9): e45-e45.
- Qi, Y., Kawano, N., Yamauchi, Y., Ling, J., Li, D. and Tanaka, K. 2005. Identification and cloning of a submergence-induced gene OsGGT (glycogenin glucosyltransferase) from rice (*Oryza sativa* L.) by suppression subtractive hybridization. *Planta*, 221: 437–445.
- Rinerson, C.I., Rabara, R.C., Tripathi, i.P., Shen, Q.J. and Rushton, P.J. 2015. The evolution of WRKY transcription factors. *BMC Plant Biology*, 15:66.
- Roberts, P.A. 2002. Concepts and consequences of resistance. In: Starr, J.L., Cook, R., Bridge, J. (Eds.), *Plant Resistance to Parasitic Nematodes*. CAB International, Oxon, UK. pp. 23-41.
- Roberts, P.A. and Thomason, I.J. 1986. Variability in reproduction of isolates of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on resistant tomato genotypes. *Plant Disease*, 70: 547-551.
- Roberts, P. A., Dalmasso, A., Cap, G. B., & Castagnone-Sereno, P. (1990). Resistance in *Lycopersicon peruvianum* to isolates of Mi gene-compatible *Meloidogyne* populations. *Journal of Nematology*, 22(4): 585.

- Rossi, M., Goggin, F.L., Milligan, S.B., Kaloshian, I., Ullman, D.E. and Williamson, V.M. 1998. The nematode resistance gene Mi of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95: 9750-9754.
- Sagi, M. and Fluhr, R. 2006. Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases. *Plant Physiology*, 141: 336–340.
- Sagi, M., and Fluhr, R. 2001. Superoxide production by plant homologues of the gp91phox NADPH oxidase. Modulation of activity by calcium and by tobacco mosaic virus infection. *Plant Physiology*, 126: 1281–90.
- Sanz-Alf rez, S., Mateos, B., Alvarado, R. and Sánchez, M. 2008. SAR induction in tomato plants is not effective against root-knot nematode infection. *European Journal of Plant Pathology*, 120(4): 417-425.
- Sasser, J.N. 1980. Root-knot nematodes: a global menace to crop production. *Plant Disease*, 64: 36–41.
- Schaff, J.E., Nielsen, D.M., Smith, C.P., Scholl, E.H., and Bird, D.M. 2007. Comprehensive transcriptome profiling in tomato reveals a role for glycosyltransferase in Mi-mediated nematode resistance. *Plant Physiology*, 144(2): 1079-1092.
- Schmittgen, T.D. and Livak, K.J. 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature Protocols*, 3(6): 1101.
- Schomaker, C.H. and Been, T.H. 2006. Plant Growth and Population Dynamics, In: Perry, R.N., Moens, M. (Eds.), *Plant Nematology*, British Library, London, pp. 275- 301.
- Schulze-Lefert, P. 2004. Plant immunity: the origami of receptor activation. *Current Biology*, 14: R22–24.
- Scofield, S.R., Huang, L., Brandt, A.S. and Gill, B.S. 2005. Development of a virusinduced gene-silencing system for hexaploid wheat and its use in functional analysis of the Lr21-mediated leaf rust resistance pathway. *Plant Physiology*, 138: 2165–2173.
- Seah, S., Tellen, A.C. and Williamson, V.M. 2007a. Introgressed and endogenous *Mi-1* gene clusters in tomato differ by complex rearrangements in flanking sequences and show sequence exchange and diversifying selection among homologs. *Theoretical and Applied Genetics* 114: 1289-1302.
- Seah, S., Williamson, V.M., Garcia, B.E., Mejia, L. Salus, M.S. Martin, C.T. and Maxwell, D.P. 2007b. Evaluation of a codominant SCAR marker for detection of

- the *Mi-1* locus for resistance to root-knot nematode in tomato germplasm. *Tomato Genet. Coop. Rep.*, 57: 37-40.
- Seid, A., Fininsa, C., Mekete, T., Decraemer, W. and Wesemael, W. M. 2015. Tomato (*Solanum lycopersicum*) and root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.)—a century-old battle. *Nematology*, 17(9): 995-1009.
- Seiml-Buchinger, V.V., Zinovieva, S.V., Udalova, Z.V. and Matveeva, E.M. 2019. Jasmonic acid modulates *Meloidogyne incognita*–tomato plant interactions. *Nematology*, 21(2): 171-180.
- Seybold, C., Fröhlich, K., Bitsch, R., Otto, K. and Böhm, V. 2004. Changes in contents of carotenoids and vitamin E during tomato processing. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 52(23): 7005-7010.
- Shirasu, K., Lahaye, T., Tan, M.W., Zhou, F., Azevedo, C. and Schulze-Lefert, P. 1999. A novel class of eukaryotic zinc-binding proteins is required for disease resistance signaling in barley and development in *C. elegans*. *Cell*, 99: 355–366
- Siddiqi M.R. 1986: Tylenchida parasites of plants and insects. Farnham Royal, UK: Commonwealth Agricultural Bureaux, p. 645.
- Siddiqi, M.R. 2000. Tylenchida: parasites of plants and insects. CABI, St Albans, 833 s.
- Smith, P.G. 1944. Embryo culture of a tomato species hybrid. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 44: 413-416.
- Sutherland, M.W. 1991. The generation of oxygen radicals during host plant responses to infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 39: 79-93.
- Takahashi, A., Casais, C., Ichimura, K. and Shirasu, K. 2003. HSP90 interacts with RAR1 and SGT1 and is essential for RPS2-mediated disease resistance in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100: 11777–11782.
- Tonucci, L.H., Holden, J.M., Beecher, G.R., Khachik, F., Davis, C. S. and Mulokozi, G. 1995. Carotenoid content of thermally processed tomato-based food products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(3): 579-586.
- Torp, J. and Jorgensen, J.H. 1986. Modification of the powdery mildew resistance gene *Mla12* by induced mutation. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 28: 725–731.
- Tör, M., Gordon, P., Cuzick, A., Eulgem, T., Sinapidou, E., Mert-Türk, F., Can, C., Dangl, J.L. and Holub, E.B. 2002. Arabidopsis SGT1b is required for defense signaling conferred by several downy mildew resistance genes. *Plant Cell*, 2002; 14: 993-1003.

- TÜİK, 2021. Bitkisel Üretim İstatistikleri, <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1> [Son erişim tarihi: 01.04.2021].
- Tzortzakakis, E.A. and Gowen, S.R. 1996. Occurrence of a resistance-breaking pathotype of *Meloidogyne javanica* on tomatoes in Crete, Greece. *Fundamental & Applied Nematology*, 19: 283–288.
- Ülker, B. and Somssich, I.E. 2004. WRKY transcription factors: from DNA binding towards biological function. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(5): 491–8.
- Van Loon, L.C. 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. *European Journal of Plant Pathology*, 103(9): 753-765.
- Van Loon, L.C., Pierpoint, W.S., Boller, T.H. and Conejero, V. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology Reporter*, 12(3): 245-264.
- Van Loon, L. C., Rep, M. and Pieterse, C.M. 2006. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology*, 44: 135-162.
- Van Loon, L.C. and Van Kammen, A. 1970. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var. 'Samsun' and 'Samsun NN': II. Changes in protein constitution after infection with tobacco mosaic virus. *Virology*, 40(2): 199-211.
- Van Loon, L.C. and Van Strien, E.A. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of *PR-1* type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55(2): 85-97.
- Verdejo-Lucas, S., Talavera, M. and Andrés, M.F. 2012. Virulence response to the Mi. 1 gene of *Meloidogyne* populations from tomato in greenhouses. *Crop Protection*, 39: 97-105.
- Veremis J.C. and Roberts, P.A. 1996a. Differentiation of *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria* novel resistance phenotypes in *Lycopersicon peruvianum* and derived bridge-lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 93: 960-967.
- Veremis, J.C. and Roberts, P.A. 1996b. Relations hips between *Meloidogyne incognita* resistance genes in *Lycopersicon peruvianum* differentiated by heat sensitivity and nematode virulence. *Theoretical and Applied Genetics*, 93: 950-959.
- Vogt, T. and Jones, P. 2000. Glycosyltransferases in plant natural product synthesis: characterization of a supergene family. *Trends in Plant Science*, 5: 380–386.

- Vos, P., Simons, G., Jesse, T., Wijbrandi, J., Heinen, L., Hogers, R., Frijters, A., Groenendijk, J., Diergaarde, P., Reijans, M., Fierens-Onstenk, J., deBoth, M., Peleman, J., Liharska, T., Hontelez, J. and Zabeau, M. 1998. The tomato *Mi-1* gene confers resistance to both root-knot nematodes and potato aphids. *Nature Biotech*, 16: 1365–1369.
- Wang, D. and Seymour, G.B. 2017. Tomato flavor: lost and found? *Molecular Plant*, 10(6): 782–784.
- Wang, G., Zhang, S., Ma, X., Wang, Y., Kong, F. and Meng, Q. 2016. A stress-associated NAC transcription factor (SINAC35) from tomato plays a positive role in biotic and abiotic stresses. *Physiologia Plantarum*, 158(1):45–64.
- Wang, T. and Brown, M.J. 1999. mRNA quantification by real time TaqMan polymerase chain reaction: validation and comparison with RNase protection. *Analytical Biochemistry*, 269: 198–201.
- Wendehenne, D., Durner, J. and Klessig, D.F. 2004. Nitric oxide: a new player in plant signalling and defence. *Current Opinion in Plant Biology*, 7: 449–455.
- Whipps J.M. and Davies K.G. 2000. Success in biological control of plant pathogens and nematodes by microorganisms. In: Measures of success in biological control. Gurr G. and Wratten S.D. (Eds.). Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers: 231–269.
- Williamson, V.M. 1998. Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1): 277–293.
- Williamson, V.M. 1999. Plant nematode resistance genes. *Current Opinion in Plant Biology*, 2: 327–331.
- Williamson, V.M. and Hussey, R.S. 1996. Nematode pathogenesis and resistance in plants. *Plant Cell*, 8: 1735–45.
- Wissel, K., Pettersson, F., Berglund, A. and Jansson, S. 2003. What affects mRNA levels in leaves of field-grown aspen? A study of developmental and environmental influences. *Plant Physiology*, 133(3): 1190–1197.
- Wong, M.L. and Medrano, J.F. 2005. Real-time PCR for mRNA quantitation. *Biotechniques*, 39(1): 75–85.
- Wyss, U., Grundler, F.M. and Munch, A., 1992. The parasitic behaviour of second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita* in roots of *Arabidopsis thaliana*. *Nematologica*, 38(1): 98–111.

- Xie, J., Li, S., Mo, C., Wang, G., Xiao, X. and Xiao, Y. 2016. A novel *Meloidogyne incognita* effector Misp12 suppresses plant defense response at latter stages of nematode parasitism. *Frontiers in Plant Science*, 7: 964.
- Xu, Z. S., Li, Z.Y., Chen, Y., Chen, M., Li, L.C. and Ma, Y.Z. 2012. Heat shock protein 90 in plants: molecular mechanisms and roles in stress responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(12): 15706-15723.
- Yaghoobi, J., Kaloshian, I., Wen, Y. and V.M. Williamson, 1995. Mapping a new nematode resistance locus in *Lycopersicon peruvianum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 91: 457-464.
- Yüksel, H. 1974. Kök ur Nematodlarının (*Meloidogyne* spp.) Türkiyedeki Durumu ve Bunların Populasyon Problemleri Üzerine Düşünceler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5 (1): 83–105.
- Zacheo, G., Blevezacheo, T., Pacoda, D., Orlando, C. and Durbin, R. D. 1995. The association between heat-induced susceptibility of tomato to *Meloidogyne incognita* and peroxidase activity. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 46:491–507.
- Zhou, J., Xu, X.C., Cao, J.J., Yin, L.L., Xia, X.J., Shi, K., Zhou, Y. and Yu, J.Q. 2018. Heat Shock Factor HsfA1a Is Essential for R Gene-Mediated Nematode Resistance and Triggers H₂O₂ Production. *Plant Physiology*, 176(3), 2456-2471.
- Zhuo, K., Naalden, D., Nowak, S., Xuan Huy, N., Bauters, L. and Gheysen, G. 2019. A *Meloidogyne graminicola* C-type lectin, Mg01965, is secreted into the host apoplast to suppress plant defence and promote parasitism. *Molecular Plant Pathology*, 20(3), 346-355.

ÖZGEÇMİŞ

TEVFİK ÖZALP

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora	Akdeniz Üniversitesi
2017-2021	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Bölümü, Antalya
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2014-2017	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Bölümü, Antalya
Lisans	Ege Üniversitesi
2009-2013	Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, İzmir

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- Ataş, H., Uysal, G., Gözel, Ç., Özalp, T., Gözel, U. and Devran, Z. 2021. First report of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on calendula in Turkey. *Journal of Nematology*, 53: 1-5.
- 2- Mıstanoğlu, İ., Özalp, T. and Devran, Z. 2020. The efficacy of molecular markers associated with virulence in root-knot nematodes. *Nematology*, 22(2), 147-154.
- 3- Özalp, T., Könül, G., Ayyıldız, Ö., Tülek, A. and Devran, Z. 2020. First report of root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria*, on lavender in Turkey. *Journal of Nematology*, 52:1-3. DOI: 10.21307/jofnem-2020-008
- 4- Sert Çelik, E., Özalp, T. and Devran, Z. 2020. Comparison of promidium monoazide and Reagent D for discrimination of viable *Aphelenchoides besseyi* using real-time PCR. *European Journal of Plant Pathology*, DOI: 10.1007/s10658-020-02090-x

- 5- Sert Çelik, E., Özalp, T., Mıstanoğlu, İ. and Devran, Z. 2019. Identification of plant-parasitic nematodes associated with cut flowers. *Journal of Plant Diseases and Protection*. DOI: 10.1007/s41348-019-00235-7
- 6- Özalp, T., Mıstanoğlu, İ. and Devran, Z. 2018. The reaction of tomato plants carrying *Mi-1* gene to different inoculation densities of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919) Chitwood, 1949. *Journal of Plant Protection Research*, 58(2): 124-129.
- 7- Öçal, S., Özalp, T. and Devran, Z. 2018. Reaction of wild eggplant *Solanum torvum* to different species of root-knot nematodes from Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection*. DOI: 10.1007/s41348-018-0167-3.
- 8- Özalp, T. and Devran, Z. 2018. Response of tomato plants carrying *Mi-1* gene to *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 under high soil temperatures. *Turkish Journal of Entomology*. 42(4):313-322.
- 9- Devran, Z., Tülek, A., Mıstanoğlu, İ., Çiftçiğil, T.H. and Özalp, T. 2017. A rapid molecular detection method for *Aphelenchoides besseyi* from rice tissues. *Australasian Plant Pathology*, 46(1):43-48.
- 10- Devran, Z., Mıstanoğlu, İ. and Özalp, T. 2017. Occurrence of mixed populations of root-knot nematodes in vegetable greenhouses in Turkey, as determined by PCR screening. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 1- 14.
- 11- Mıstanoğlu, İ., Özalp, T. and Devran, Z. 2016. Response of tomato seedlings with different number of true leaves to *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949. *Turkish Journal of Entomology*, 40:377-383.

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- 1- Özalp, T. ve Devran, Z. 2015. Domateste kök-ur nematodlarına dayanıklılık genleri. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 5: 47-55.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- 1- Özalp, T., Sert Çelik, E. and Devran, Z. 2019. The efficiency of molecular markers linked to *N* and *Me* genes in peppers. 1st International Molecular Plant Protection Congress, 10-13 April, Adana, Turkey, p. 101.
- 2- Özalp, T., Sert Çelik, E., Özkaynak, E. and Devran, Z. 2019. Susceptibility of pepper genotypes to root-knot nematode populations virulent on *Mi-1* tomatoes. Proceedings of the 17th EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant, 11-13 September, Avignon, France, p.102.
- 3- Ergin, A.U., Aygün, M., Sak, R., Özalp, T., Sert Çelik, E. and Devran, Z. 2018. Effects of some pesticides to *Mi-1* virulent *Meloidogyne javanica*. 6th ASM International Congress of Agriculture and Environment, 11-13 October, Antalya, Turkey, p. 32.

4- Sert Çelik, E., Özalp, T., Mıstanoğlu, İ. and Devran, Z. 2018. Identification of plant parasitic nematodes in cut flower growing areas in Antalya. 6th ASM International Congress of Agriculture and Environment, 11-13 October, Antalya, Turkey, p. 31.

5- Özalp, T. and Devran, Z. 2017. Responses of tomato plants carrying *Mi-1* exposed to high soil temperatures for varied time periods to *Meloidogyne incognita*. International Workshop, Plant Health: Challenges and Solutions, 23-28 April, Antalya, Turkey, p. 49.

6- Devran, Z., Tülek, A., Mıstanoğlu, İ., Çiftçiğil, T.H and Özalp, T. 2017. Molecular Detection of *Aphelenchoides besseyi* from rice tissues. International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF), 15-17 May, Nevşehir, Turkey, p. 943.

7- Mıstanoğlu, İ., Özalp, T. and Devran, Z. 2017. Comparison of reactions of tomato seedlings with different true leaf stages to *M. incognita*. International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF), 15-17 May, Nevşehir, Turkey, p.1024.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Mıstanoğlu, İ., Özalp, T. ve Devran Z. 2018. Kök-ur nematodlarında virülenslikle ilgili moleküler markırların etkinliğinin belirlenmesi. Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi, 14-17 Kasım, Muğla, Türkiye, s. 46.

2- Aygün, M., Ergin, A.U., Sak, R., Özalp, T., Sert Çelik, E. ve Devran, Z. 2018. *Mi-1* virulent *Meloidogyne javanica*'ya bazı biyolojik preparatların nematisidal etkileri. Türkiye VII. Bitki Koruma Kongresi, 14-17 Kasım, Muğla, Türkiye, s 193.

3- Özalp, T., Mıstanoğlu, İ. ve Devran, Z. 2017. Farklı inokulum yoğunluklarındaki *Meloidogyne incognita*'ya *Mi-1* geni taşıyan domates bitkilerinin tepkileri. Uluslararası Katılımlı II. Ulusal Uygulamalı Biyolojik Bilimler Kongresi 9-12 Temmuz, Afyonkarahisar, s. 65.

4- Özalp, T., Öçal, S., Sert Çelik, E. ve Devran, Z. 2017. Kök-ur nematodlarına karşı bazı biber genotiplerinin tepkileri. XIII. Uluslararası Katılımlı Ekoloji ve Çevre Kongresi (UKECEK), 12-15 Eylül 2017, Edirne, Türkiye, s. 421.

5- Özalp, T. ve Devran, Z. 2016. *Mi-1* geninin yüksek toprak sıcaklığında ve farklı sürelerde *Meloidogyne incognita*'ya tepkisi. 2016. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi 5-8 Eylül 2016 Konya, Türkiye, s. 253.

6- Mıstanoğlu, İ., Özalp, T. ve Devran, Z. 2016. Moleküler teknikler kullanarak kök-ur nematodlarının birlikte bulunma durumlarının belirlenmesi. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi 5-8 Eylül 2016 Konya, Türkiye, s. 255.