

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sclerotium rolfsii İZOLATLARI ARASINDA MİSELYAL UYUM GRUPLARININ VE PATOJENİTE FARKLILIKLARININ SAPTANMASI

İpek YAŞAR

Bitki Koruma Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sclerotium rolfsii İZOLATLARI ARASINDA MİSELYAL UYUM GRUPLARININ VE PATOJENİTE FARKLILIKLARININ SAPTANMASI

İpek YAŞAR

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: **14/07/2016**

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Figen MERT TÜRK

ÇANAKKALE

İpek YAŞAR tarafından Prof. Dr. Figen MERT TÜRK yönetiminde hazırlanan ve **14/07/2016** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan "***Sclerotium rolfsii* İzolatları Arasında Miselyal Uyum Gruplarının ve Patojenite Farklılıklarının Saptanması**" başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Bitki Koruma Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Prof. Dr. Figen MERT TÜRK ……

Başkan

Prof. Dr. Savaş KORKMAZ ……

Üye

Prof. Dr. Bayram ÇEVİK ……

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ
Müdür
Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:……

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

İpek YAŞAR

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Figen MERT TÜRK'e ve çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimleri ile bana her zaman yol gösteren değerli hocam Uludağ Üniversitesi Arş. Gör. Sercan ŞEHİRLİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez savunma jürimde bulunan değerli jüri üyesi hocalarım Prof. Dr. Savaş KORKMAZ ve Prof. Dr. Bayram ÇEVİK'e katkılarından dolayı teşekkür ederim. İzolat toplama esnasında bana yardımcı olan ÇOMÜ Arş. Gör. Ali KARANFİL'e, istatistiksel analizlerde yardımlarından dolayı Arş. Gör. Dr. Fatih KAHRIMAN'a ve tez çalışmam boyunca yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen arkadaşlarım Ziraat Mühendisi Büşra SADIÇ, Ziraat Mühendisi Neşe YILDIZ, Ziraat Yüksek Mühendisi Ramazan KARATEKİN, Ziraat Mühendisi Şadiye ZAMBAK ve Ziraat Mühendisi Serap ÖÇAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca hayatımın her evresinde bana destek olan değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İpek YAŞAR

Çanakkale, Temmuz, 2016

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
°C	Santigrad derece
g	Gram
%	Yüzde oranı
cm	Santimetre
DNA	Deoksiribonükleikasit
g	Gram
LSD	Least Significant Differences
da	Dekar
het	Heterokaryon Incompatibility
ITS	Internal Transcribed Spacer
FAO	Food and Agriculture Organization
MUG	Miselyal Uyum Gruplarının
ml	Mililitre
NaOCI	Sodyum Hipoklorit
PDA	Patates Dekstroz Agar
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
rRNA	Ribosomal Ribonükleik Asit
VCG	Vegetative Compatibility Groups
vic	Vegetatif Incompatibility

ÖZET

Sclerotium rolfsii İZOLATLARI ARASINDA MİSELYAL UYUM GRUPLARININ VE PATOJENİTE FARKLILIKLARININ SAPTANMASI

İpek YAŞAR
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Prof. Dr. Figen MERT TÜRK
14/07/2016, 41

Sclerotium rolfsii Sacc. (Telemorf: *Athelia rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbrough) toprak kökenli polifag fungal bir etmendir. Bu çalışmanın amacı Çanakkale İli Ayvacık ve Ezine ilçelerinden toplanan enfekteli fasulye bitkisinden izole edilen *S. rolfsii* izolatlarını miselyal uyum gruplarına (MUG) ayırmak, patojeniteleri arasında farklılıklar olup olmadığını saptamak ve izolatların sklerot sayıları ile sklerot çaplarını karşılaştırmaktır. Miselyal uyum gruplarının (MUG) saptanabilmesi için 27 izolatın kırmızı gıda boyası eklenmiş patates dekstroz agar (PDA) ortamında ikili eşleştirilmesi yapılmıştır. Kolonilerin birleştikleri bölgede bariyer ve kırmızı bir bant oluşmuşsa iki koloninin uyumsuz olduğu, eğer birleşme noktasında bir bant oluşmamış fakat sklerot oluşumu varsa uyumlu olduğu kaydedilmiştir. Yapılan eşleştirme sonucunda 27 izolat arasından 3 ayrı MUG tespit edilmiş olup; MUG1'de 15 izolat, MUG2'de 11 izolat, MUG3'te ise 1 izolat bulunmuştur. İzolatların koloni çaplarının 31,6-64,7 mm arasında değiştiği görülmüştür. Sklerot sayısı ortalamaları genellikle 26,7-479,7 arasında olup, sklerot çapı ortalamaları ise 0,8-1,9 mm arasında olduğu tespit edilmiştir. Yapılan korelasyon analizine göre sklerot sayısı ve koloni çapı ile sklerot sayısı ve sklerot çapı arasında negatif, koloni çapı ile sklerot çapı arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Her bir MUG içinde yer alan rastgele seçilmiş üçer izolat patojenite yönünden test edilmiş ve izolatların fasulye fidelerinde yüksek oranda virülens olduğu saptanmıştır. Bu çalışma aynı bölgeden toplanan *S. rolfsii* izolatları arasında miselyal uyum, koloni çapı, sklerot sayısı ve oluşturulan sklerot çapı arasında fark olduğunu, bu farklılıkların aynı MUG içerisinde bile görüldüğünü göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Fasulye, Miselyal Uyum Grupları, Sklerot, *Sclerotium rolfsii*

ABSTRACT

MYCELIAL COMPATIBLE GROUPS OF THE *Sclerotium rolfsii* ISOLATES AND COMPARISON OF VIRULENCE

İpek YAŞAR

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Plant Protection

Advisor: Prof. Dr. Figen MERT TÜRK

14/07/2016, 41

Sclerotium rolfsii Sacc. (Telemorf: *Athelia rolfsii* (Curzi) Tu & Kimbrough) is a polifag soil-borne fungal pathogen. The research aims to collect isolates of *S. rolfsii* in the bean growing areas in Ezine and Ayvacık, Çanakkale and find out the mycelial compatible groups (MCG), the differences in pathogenicity and morphological characters. All isolates were paired with all combinations in potato dextrose agar (PDA) amended with red food colouring dye to determine mycelial compatible groups (MCG). Pairings were scored as mycelial compatible if sclerotia formed in the interaction zone; however, pairings were scored as mycelial incompatible if a red line and a barrier occurred in the interaction zone. As a result of pairing experiments, three MCG were determined; MCG1 was consisted of 15, MCG2 contained 11 and MCG3 was consisted of only one isolates. The colony diameters ranged between 31,6-64,7 mm at 2 days on PDA. The number of sclerotia per petri dishes varied between 26,7-479,7 and the diameter of sclerotia was between 0,8-1,9 mm. The correlation analysis exhibited that there was a negative correlation between sclerotia number-mycelial growth and sclerotium number and sclerotium diameter; however, a positive correlation was observed between mycelial growth and sclerotium diameters. Randomly selected isolates from each MCG were employed for pathogenicity tests. All isolates were found to be highly virulent on bean seedlings. This research shows that there is a variation among isolates of *S. rolfsii* isolated from green beans in the restricted area in means of mycelial compatibility, sclerotium number and the diameters of sclerotia, these differences were also observed among the isolates share the same MCG.

Key words: Beans, Mycelial Compatible Groups, Sclerotium, *Sclerotium rolfsii*

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAV SONUÇ FORMU ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI iii
TEŞEKKÜR iv
SİMGELER VE KISALTMALAR v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
ŞEKİLLER DİZİNİ x
ÇİZELGELER DİZİNİ xi
BÖLÜM 1
GİRİŞ 1
BÖLÜM 2
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 7
2.1. Dünyada MUG İle İlgili Yapılmış Çalışmalar 7
2.2. Ülkemizde MUG İle İlgili Yapılmış Çalışmalar 10
BÖLÜM 3
MATERYAL VE METOT 12
3.1. Materyal 12
3.2. Yöntem 12
3.2.1. Sürvey Çalışması 12
3.2.2. Patojenin Hastalıklı Dokulardan İzolasyonu 12
3.2.3. İzolatlar Arasında Miselyal Uyum Gruplarının (MUG) Saptanması 14
3.2.4. İzolatların Koloni Çaplarının Karşılaştırılması 15
3.2.5. İzolatların Sklerot Sayısı ve Sklerot Çaplarının Karşılaştırılması 15
3.2.6. Patojenite Testi ve İzolatların Virülenslik Oranlarının Belirlenmesi 16
3.2.6.1. Fungal İnokulumun Hazırlanması 16
3.2.6.2. Fasulye Tohumlarının Yüzeysel Sterilizasyonu 17
3.2.6.3. Saksı Denemesi 17
3.2.7. İstatistiksel Analizler 18
BÖLÜM 4
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 19
4.1. Bulgular 19

4.1.1. Fasulyede *S. rolfsii* Simptomları 19
4.1.2. İzolatlar Arasında Miselyal Uyum Gruplarının Saptanması 20
4.1.3. Koloni Çapı, Sklerot Sayısı ve Sklerot Çapının Saptanması 23
4.1.3.1. Koloni Çapı 23
4.1.3.2. Sklerot Sayısı 23
4.1.3.3. Sklerot Çapı 24
4.1.4. Korelasyon Analizi 24
4.1.5. İzolatların Virülensliklerinin Saptanması 25
4.2. Tartışma 29
BÖLÜM 5
SONUÇ VE ÖNERİLER 33
KAYNAKLAR 37
ÖZGEÇMİŞ I

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. *S. rolfsii* etmeninin yaşam döngüsü 5
Şekil 3.1. Yüzey sterilizasyonu yapılan hastalıklı bitki dokularından *S. rolfsii* izolasyonu ... 13
Şekil 3.2. İzolasyon sonucunda elde edilen *S. rolfsii*'ye ait saf kültürün PDA ortamındaki gelişimi 13
Şekil 3.3. Eppendorf tüplerde muhafaza edilen farklı *S. rolfsii* izolatlarına ait sklerotlar 14
Şekil 3.4. Miselyal uyumun ya da uyumsuzluğun gözlenebilmesi için izolatlar arasında yapılan ikili eşleştirme 15
Şekil 3.5. Ekimden 15 gün sonra kurumaya bırakılan *S. rolfsii* izolatları 16
Şekil 3.6. Yulaf tohumlarına fungal inokulumun inokulasyonu 17
Şekil 3.7. Enfekteli yulaf tohumlarının fasulye fidelerinin iki yapraklı döneminde kök boğazı kısmına verilmesi 18
Şekil 4.1. Fasulye bitkisinde *S. rolfsii* etmeninin gövde üzerindeki belirtileri 19
Şekil 4.2. *S. rolfsii* etmeninin fasulye tarlasındaki görüntüsü 20
Şekil 4.3. *S. rolfsii*'ye ait farklı izolatların meydana getirdiği hif interaksiyonu 21
Şekil 4.4. *S. rolfsii* izolatlarının bitkiye inokulasyonu 26
Şekil 4.5. İnokulasyon işleminden bir hafta sonra izolatların fasulye bitkisinde oluşturduğu simptomlar ve izolatların karşılaştırılması 26
Şekil 4.6. İnokulasyondan bir hafta sonra fasulye fidelerinde meydana gelen kök boğazı enfeksiyonları ve toprakta oluşan misel ve sklerotlar 27
Şekil 4.7. Fasulye fidelerinde bir hafta sonunda meydana gelen kök boğazı enfeksiyonu ve izolatların karşılaştırılması 29
Şekil 4.8. Bir hafta sonunda denemede ele alınan tüm izolatların fasulye fidelerinde meydana getirmiş oldukları lezyonlar 29

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.1. Türkiye'nin taze fasulye üretiminin yıllara göre dağılımı 2
Çizelge 1.2. İllere göre taze fasulye üretimi 2
Çizelge 1.3. Yıllara göre Çanakkale taze fasulye üretimi ve ekim alanı miktarları 2
Çizelge 1.4. Çanakkale ilçeler bazında fasulye üretim miktarı ve ekim alanı miktarları 3
Çizelge 4.1. Denemede ele alınan özellikler ile ilgili ortalamalar ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları 22
Çizelge 4.2. Denemede ele alınan özellikler ile ilgili kareler ortalamaları ve önem düzeyleri 24
Çizelge 4.3. Denemede ele alınan özellikler ile ilgili korelasyon katsayısı ve önem düzeyleri 25
Çizelge 4.4. Patojenite testi sonucu izolatların karşılaştırılması 28

BÖLÜM 1
GİRİŞ

Fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*), Fabales takımının Fabaceae (Leguminoseae) familyasının *Phaseolus* cinsine bağlı tek yıllık otsu bir bitkidir. Fasulye insanların temel besin kaynaklarından biridir. Ayrıca hayvan yemi olarak kullanılması ve gelişmiş köklerindeki *Rhizobium phaseoli* bakterisinin azot biriktirme özelliğine sahip olmasından dolayı toprağın yapısını düzeltmekte ve bir sonraki bitki için toprağın azot içeriğini arttıracağı için ekim nöbetinde kullanılmaktadır (Direk ve ark, 2002; Ülker ve Ceyhan, 2006).

Ülkemizde olduğu gibi birçok ülkede de önemli bir yere sahip olan fasulye bitkisi tane bakımından; mineraller ve vitaminlerce, kuru tane içeriği bakımından ise proteince zengin bir üründür (Balkaya, 1999). Fasulye bitkisi tohumlarında %19-31 protein içerir ve ayrıca %61 karbonhidrat, %1-2 yağ ve vitamin olarak ise A, B ve D vitaminleri bakımından oldukça zengin bir üründür (Şehirali, 1988).

Fasulye ılıman iklim bitkisi olması nedeniyle çevre koşullarından çok çabuk etkilenir. Genel olarak fasulye bitkisi için 20-25°C arasındaki sıcaklıklar gelişmesi için en uygun sıcaklıklardır; 0°C'nin altındaki sıcaklıklarda zarar görmeye başlar. Başarılı bir çimlenme, eş zamanlı çıkış için toprak sıcaklığının optimum 15°C olması gerekmektedir. Çiçeklenme döneminde ise serin koşulları tercih eder (Akçin, 1988).

Dünya'nın farklı bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan fasulye bitkisinin 2014 (FAO) verilerine göre en fazla üretimi yapılan ülke Çin'dir (16.661.400 ton). Daha sonra Endonezya (881.613 ton) ve Türkiye (632. 301 ton) 4. sırada ise Hindistan (620.000 ton) yer almaktadır (Anonim, 2014). Taze fasulye üretimine Dünya çapında bakıldığında ise Türkiye 3. sırada yer almaktadır. Ayrıca yıllara göre fasulye üretim miktarına bakıldığında, her yıl üretim miktarında artış gözlenmektedir (Çizelge 1.1). Türkiye'de en fazla fasulye üretimi ise Batı Karadeniz (207.927 ton), Akdeniz (134.330 ton) ve Ege Bölgesinde (96.732 ton) yapılmaktadır. İl düzeyinde ise Samsun, Antalya, Bursa ve İzmir taze fasulye üretimi en fazla yapılan illerin başında gelmektedir (Çizelge 1.2) (Anonim, 2015).

2015 yılı Çanakkale İlinde ise 5.403 da fasulye ekimi yapılarak toplamda 6.364 ton üretim yapılmıştır (Çizelge 1.3). İlçeler bazında ise Ayvacık ilçesi fasulye ekim alanı bakımından 2.201 da alan ile ilk sırada yer almaktadır. Toplam üretim miktarı ise 2.862 ton dur (Çizelge 1.4) (Anonim, 2015).

Çizelge 1.1. Türkiye'nin taze fasulye üretiminin yıllara göre dağılımı (Anonim, 2015)

Yıllar	Üretim Miktarı (Ton)
2011	614.948
2012	621.036
2013	632.301
2014	638.439
2015	640.086

Çizelge 1.2. İllere göre taze fasulye üretimi (Anonim, 2015)

İl	Üretim Miktarı (Ton)
Samsun	118.673
Antalya	50.582
Bursa	53.890
İzmir	42.586
Mersin	31.771
Burdur	20.199
Muğla	18.910
Hatay	17.839
Karaman	17.731
Balıkesir	17.326
Konya	14.379
Afyon	11.473
Bilecik	7.221
Iğdır	7.036
Çanakkale	6.364

Çizelge 1.3. Yıllara göre Çanakkale taze fasulye üretimi ve ekim alanı miktarları (Anonim, 2015)

Yıllar	Ekilen Alan (dekar)	Üretim (ton)
2011	5.559	6.342
2012	5.468	6.091
2013	5.143	5.725
2014	5.298	6.110
2015	5.403	6.364

Çizelge 1.4. Çanakkale ilçeler bazında fasulye üretim miktarı ve ekim alanı miktarları (Anonim, 2015)

İlçeler	Ekilen Alan (dekar)	Üretim (ton)
Merkez	140	182
Ayvacık	2.201	2.862
Bayramiç	118	118
Biga	620	620
Gelibolu	302	303
Çan	652	392
Eceabat	100	125
Ezine	530	630
Gökçeada	10	7
Lapseki	150	188
Yenice	580	957

Sclerotium rolfsii Sacc. (Telemorf: *Athelia rolfsii* (Curzi) C.C. Tu & Kimbr.) güney yanıklığı hastalığı olarak da bilinen toprak kökenli, fungal bir hastalık etmenidir. Fungus tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olarak görülen 500'den fazla dikotiledon ve bazen monokotiledon bitki türlerinde hastalık oluşturabilen yıkıcı bir etmendir (Aycock, 1966; Domsch ve ark., 1980; Punja, 1985; Farr ve ark., 1989). Şimdiye kadar bilinen 40'dan fazla bitki patojeni *Sclerotium* türü vardır. Bu türler koloni özellikleri, sklerot boyutları ve sklerot oluşumları bakımından farklılık göstermektedir. Örneğin *S. rolfsii, S. coffeicola* ve *S. delphinii* izolatları morfolojileri, büyüme tepkileri ve enzim üretimleri bakımından farklılık göstermektedirler (Punja ve Damiani, 1996).

S. rolfsii'nin telemorf (perfect) dönemi Basidiomycotina alt şubesinde yer alan Agaricomycetes sınıfında bulunan Atheliales takımı ve Atheliaceae familyasında yer alan *Athelia rolfsii'*dir (Anonim, 2016). Etmenin tanılanması; bitki materyali veya kültürdeki morfolojik özelliklerine göre kolay bir şekilde yapılmaktadır. Hızlı bir misel gelişimi gösteren etmenin kültür ortamında, bitkide veya toprakta yelpaze şeklindeki miselyal gelişmesi tipik özelliğidir. Miselyum, 1 hafta içerisinde sklerot oluşturmaya başlar. Sklerotlar önce beyaz, daha sonra hızla koyu kahverengi rengini alırlar (Aycock, 1966).

Hastalık etmeninin neden olduğu zararlar önemli düzeydedir. Örneğin, Güneydoğu Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) fıstık üretiminde *S. rolfsii*'nin neden olduğu verim kayıpları genellikle %25 ve yıllık ortalama %7-10 civarındadır. Bazı yıllarda ise ciddi

hastalık şiddetinden dolayı yıl içinde kayıplar %80'e ulaşabilmektedir. Gürcistan'da 1988-1994 yılları arasında yer fıstığında *S. rolfsii*'nin neden olduğu yıllık ekonomik kayıp 36,8 milyon dolar civarında olduğu tahmin edilmektedir (Franke ve ark, 1998).

Bitkilerde taç, kök ve gövde çürüklüğü gibi hastalıklara da neden olan *S. rolfsii* oldukça geniş bir konukçu dizisine sahiptir (Alexopoulos, 1966). Konukçuları arasında, süs bitkileri, buğdaygiller, meyve ağaçları, sebzeler ve yabancı otlar bulunmaktadır. Bunlardan bazıları ise; yerfıstığı, fasulye, lahana, havuç, hıyar, patlıcan, domates, patates, biber, kavun gibi daha birçok konukçuya sahiptir (Aycock, 1966). Bu etmen otsu ve odunsu bitkilerde, meyvelerde, etli kök ve yumrularda hastalık oluşturabilmektedir. Hastalığın ilk belirtileri solgunluk şeklinde kendini göstermekte ve daha sonra gövdenin enfeksiyonundan dolayı tüm bitkinin ölümüyle son bulmaktadır. *S. rolfsii* genellikle gövdenin toprak yüzeyine yakın kısımlarında enfeksiyonu başlatmaktadır. Ancak uygun çevre koşullarında bitkinin herhangi bir yerinden de enfeksiyonu başlatabilir (Farr ve ark., 1989).

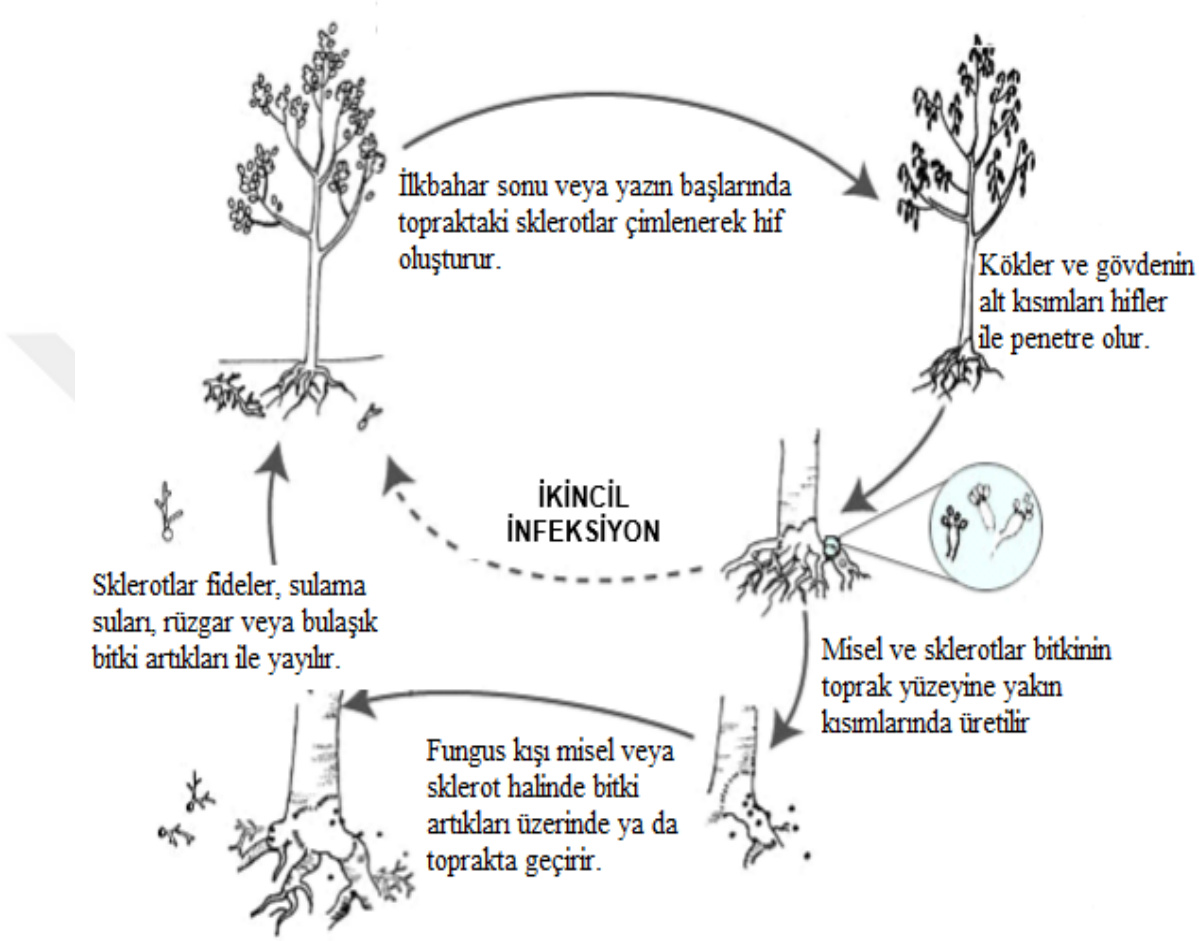
S. rolfsii eşeysiz sporlar üretmez. Ancak eşeyli üreme sonucu diğer Basidiomycetes üyelerinde olduğu gibi basidilerde basidiospor üretmektedir. Basidiosporların hastalık epidemiyolojisindeki rolü belirsizdir. Basidiospor oluşumu laboratuvar koşullarında gözlenebilmesine rağmen, tarla koşullarında nadiren görülmektedir (Punja ve Grogan, 1983; Punja, 1985).

Uygun çevre koşullarında *S. rolfsii*'nin vejetatif olarak büyümesi, enfeksiyondan sonraki 3-4 gün içinde gerçekleşmekte ve konukçu doku üzerinde beyaz kabarık miseller oluşturmaktadır. Enfeksiyondan yaklaşık 7 gün sonra miseller üzerinde bazı bölgeler sertleşmeye başlamakta ve bu hifsel yığın daha sonra 0,3 ile 2,0-3,0 mm ölçülerinde yuvarlak sklerotlar halini almaktadır. Sklerotlar önce beyazdır, daha sonra olgunlaşmasına göre sarı, kahverengi veya esmer olmaktadır (Punja ve Rahe, 1992).

S. rolfsii kışı sklerot olarak veya miseller halinde, bitki artıkları üzerinde ve enfekteli bitki dokusunda geçirmektedir. Sklerotların çimlenebilmeleri için oksijene ihtiyaçları vardır. Bu da etmenin toprağın üst bölgelerinde ve kumlu topraklarda neden çok daha fazla zarar verdiğini açıklamaktadır (Punja, 1985).

Sklerotlar başka yerlere fideler, sulama suları, rüzgar, kültürel uygulamalar veya bulaşık bitki artıkları ile yayılmaktadır. Kışı geçiren sklerotlar yeniden çimlenmeye başlayarak hifsel olarak büyümektedir. Uygun çevre koşullarında duyarlı bitki dokuları, alt saplar, kökler ve meyve direkt olarak hiflerle temas ettiğinde penetrasyon gerçekleşmektedir. Enfeksiyon süresince fungus oksalik asit ve endopolygalakturonaz

enzimleri salgılamaktadır. Bu enzimler bitki doku ve hücreleri parçalayarak doku ve hücrelerin çürümesine yol açmaktadır (Mullen, 2001; Punja, 1985). Sıcak ve nemli koşullarda sklerotlar ve hifler yeni duyarlı bitki dokularına geçerek hastalık yayılmaya devam etmektedir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. *S. rolfsii* etmeninin yaşam döngüsü (Mullen, 2001)

Güney yanıklığı etmeni sıcak ve nemli koşulları tercih etmektedir. İdeal misel büyüme sıcaklığı 8°C ile 40°C arasında değişmekte ve sklerot üretimi için optimum sıcaklık dereceleri ise 27°C ile 30°C arasındadır (Punja, 1985). Sklerot çimlenmesi ve miselyal büyüme suya doymuş topraklarda ve yüksek sıcaklıklarda daha iyi olmaktadır. Bu koşullar hastalığın gelişimi için ve patojenin bitkiden bitkiye yayılması için elverişli ortamı oluşturmaktadır.

Fungal türler içinde popülasyonlar çeşitlilik göstermektedirler. Tür içinde mevcut genetik çeşitlilik her ne kadar eşeyli üreme ile bağlantılı olsa da, eşeyli üreme formu bilinmeyen türlerde de popülasyonun heterojen olabildiği bilinmektedir. Bu heterojenliği

sağlayan fenomen heterokaryon oluşumudur. Heterokaryon oluşumu hem eşeyli hem de eşeysiz üreyen funguslarda görülebilmektedir.

İki fungal izolat arasındaki heterokaryon formasyonu Ascomycomycetes ve Basidiomycetes'te yaygın olup seksüel heterokaryon veya vejetatif heterokaryon olarak iki farklı tip olarak ortaya çıkmaktadır (Leslie, 1993). Heterokaryon oluşturan izolatlar 'seksüel' veya 'vejetatif' uyumlu diye tanımlanmaktadır. Her iki tip 'uyumluluk' birbirinden farklıdır. Vejetatif uyumluluk iki izolatın hiflerinin birleşip stabil heterokaryon oluşumunu sağlayan spesifik *vic* (vegetatif incompatibility) veya *het* (heterokaryon incompatibility) lokusları ile ilgilidir (Saupe, 2000). Vejetatif uyumsuzluk ise hifsel birleşme sonucunda, birleşen hücrelerin ve hemen birleştiğindeki hücrelerin hızlı bir şekilde ölümü ile sonuçlanır. Besin ortamında uyumsuz iki izolat arasında makroskobik olarak gözlemlenebilen bir bariyer oluşmaktadır.

Aynı VCG içinde yer alan izolatlar paraseksüel döngü esnasında genetik bilgilerin paylaşımını sağlamaktadır (Leslie, 1993). Miselyal uyum ise aynı tür içinde bulunan iki izolatın birleşip bir koloni oluşumunu ifade eder, uyumsuz izolatlar arasında bu fenomen gözlenmemektedir. Ayrıca miselyal uyum grupları *S. rolfsii* popülasyonlarında farklılığı saptamada sıklıkla kullanılmaktadır. Aynı MUG'da yer alan izolatların benzer genetik geçmişe sahip olduğu düşünülmektedir (Kohn ve ark, 1991).

Bu çalışmanın amacı, Çanakkale İli Ayvacık ve Ezine İlçelerinden toplanan enfekteli fasulyelerden izole edilen *S. rolfsii* izolatlarını miselyal uyum gruplarına (MUG) göre ayırmak, patojenitelerini belirleyerek uyum grupları arasında farklılıklar olup olmadığını saptamak. Ayrıca elde ettiğimiz izolatların koloni çapı, sklerot sayısı ve sklerot çapı gibi morfolojik özelliklerini belirleyerek, izolatlar arasında ve uyum grupları içerisinde farklılıklar olup olmadığını tespit etmektir.

BÖLÜM 2
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

S. rolfsii oldukça yıkıcı fungal bir etmen olup birçok bitkide ciddi ürün kayıplarına neden olmaktadır. Etmen ilk olarak 1892 yılında Florida'da Peter Henry Rolfs tarafından domates bitkisinde rapor edilmiştir. Saccardo tarafından ise 1911 yılında *Sclerotium rolfsii* olarak isimlendirilmiştir (Aycock, 1966). Patojen üzerinde 19. yy sonlarına doğru yapılan yaklaşık 2000 üzerindeki çalışma etmenin dünya çapında ciddi bir şekilde yayıldığını desteklemektedir. Geniş konukçu dizisine sahip olan etmen hızlı gelişmesi ve toprakta uzun süre kalıcılığını sürdürebilmesi nedeniyle büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Aycock, 1966; Weber, 1931).

Miselyal uyum grupları *S. rolfsii* popülasyonunda hifsel interaksiyondan kaynaklanan ve iki izolat arasında meydana gelen anastomoz olarak ifade edilmektedir. Ayrıca popülasyondaki genetik varyasyonları makroskobik açıdan saptamakta kullanılan oldukça yaygın bir yöntemdir. Aynı MUG içerisinden izole edilen etmenlerin benzer genetik geçmişe sahip olduğu düşünülmektedir (Kohn ve ark., 1991; Leslie, 1993).

Punja ve Grogan (1983) farklı bölge, farklı konukçu ve hatta aynı bölgeden elde etmiş oldukları *S. rolfsii* izolatlarını ilk kez uyum gruplarına göre test etmişler ve elde ettikleri 72 izolat arasından 25 MUG belirlemişlerdir. Ayrıca izolatlar arasında varyasyon olduğunu rapor etmişlerdir.

Miselyal uyumluluk genetik çeşitliliği değerlendirmek amacıyla dünya çapında kullanılan etkin bir metottur. *S. rolfsii* populasyonlarında da dünya çapında yapılmış bir çok çalışma mevcuttur (Punja ve Grogan, 1983; Harlton ve ark., 1995; Nalim ve ark., 1995; Cilliers ve ark., 2000; Okabe ve Matsumoto, 2000; Almeida ve ark., 2001; Punja ve Sun, 2001; Sarma ve ark., 2002; Adandonon ve ark., 2005). Ülkemizde ise *S. rolfsii* popülasyonlarının varyasyonu yönünde yeterince çalışma mevcut değildir.

2.1. Dünyada MUG İle İlgili Yapılmış Çalışmalar

Punja ve Grogan (1983) 19 konukçu bitkiden ve 15 farklı bölgeden toplamış oldukları 72 *S. rolfsii* izolatları ile ilk kez MUG tespiti yapmak için tüm izolatların ikili kombinasyonlarını eşleştirmişlerdir. Eşleştirmelerin %86,5'inde hifsel hücrelerin ölümü ile antagonistik bir bölge oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak elde ettikleri verilere göre izolatlar arasındaki eşleştirme sonucunda 25 miselyal uyum grubu tespit etmişlerdir.

Kohn ve ark. (1990) *Sclerotinia sclerotiorum* izolatları arasında hif interaksiyonundan kaynaklanan bir uyum ve uyumsuzluğu tanımlamışlardır. Ontario'da *S. sclerotiorum*'un 63 izolatı elde edilmiş, PDA üzerinde olası tüm ikili kombinasyonları ile eşleştirme yapılmış ve izolat çiftleri arasında meydana gelen ve hiflerin ölümü sonucunda oluşan bir bariyer mevcut ise uyumsuz, hiflerin birleşmesiyle herhangi bir bariyer mevcut değilse iki izolatın uyumlu olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca 2 kanola tarlasından elde ettikleri izolatlar arasından, ilk tarladan 33 izolat arasından 6 MUG tespit etmiş olup bu MUG'lar arasında en büyük grubun da 19 izolat içerdiğini belirtmişlerdir. İkinci tarladan ise 30 izolat arasından çok sayıda MUG tespit etmişlerdir (Kohn ve ark., 1991).

Harlton ve ark. (1995) dünya çapında elde edilmiş 119 *S. rolfsii*, 11 *S. delphinii* ve 2 *S. coffeicola* izolat koleksiyonu arasından PDA ortamında gözlemledikleri bulgularda 49, 3 ve 2 miselyal uyum grubu tespit etmişlerdir.

Nalim ve ark. (1995) Teksas'ta yer fıstığında yapmış oldukları çalışmada, incelenen 366 izolat arasından 25 adet MUG tespit etmişlerdir. Ayrıca aynı MUG içerisinde bulunan izolatların ITS analizinde aynı motifi verdiğini bulmuşlardır. Böylece aynı MUG içerisinde yer alan izolatların klon olduğunu ifade etmişlerdir.

Cubeta ve ark. (1997) Kuzey Karolina Bölgesinde yetiştirilen enfekteli lahana bitkilerinden izole edilen 84 *S. sclerotiorum* izolatları ile MUG analizi ve DNA fingerprint analizleri uygulamışlardır. Yapmış oldukları çalışma sonucunda 41 adet MUG ve 50 DNA fingerprint elde etmişlerdir.

Yanar (1997) Amerika'da biberden izole ettikleri 123 *S. sclerotiorum* izolatları ile MUG testi uygulamış ve bu analiz sonucunda 13 MUG tespit etmişlerdir.

Cilliers ve ark. (2000) Güney Afrika'da arasında yer fıstığı, ayçiçeği, yabani havuç ve soyanın da yer aldığı 73 izolattan oluşan *S. rolfsii* populasyonu elde etmişlerdir. Araştırıcılar izolatlar arasında MUG'ları araştırmış ve AFLP fingerprint yöntemiyle genetik analiz yapmış ve çalışma sonucunda aynı bitki türünden elde edilen izolatlar farklı MUG'lara dahil olmuş, aynı MUG içerisinde yer alan izolatlar DNA analizinde farklılık göstermişlerdir. Filogenetik analizlere göre aynı MUG içinde yer alan izolatlar yakın kümelenme oluştururken, farklı MUG'lar içerisinde yer alan izolatlarda genetik uzaklık artmıştır.

Almeida ve ark. (2001) Brezilya'nın farklı bölgelerinden ve konukçulardan elde etmiş oldukları 23 *S. rolfsii* izolatları arasından 13 miselyal uyum grubu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar konukçu bitki ve MUG'lar arasında önemli bir korelasyon bulunmamasına

rağmen RAPD analizi kullanarak popülasyonun genetik varyasyonunu incelemişler ve analizler sonucunda genetik açıdan MUG'lar arasında önemli farklılıklar tespit etmişlerdir.

Durman ve ark. (2001) Arjantin'den elde ettikleri 140 *S. sclerotiorum* izolatı ile yapmış oldukları MUG analizinde 23 adet kendine uyumlu, 27 adet ise ikiden fazla izolatı kapsayan toplamda 50 tane MUG elde etmişlerdir. Yapmış oldukları bu çalışma Arjantin'de tarımsal ürünlerden elde edilen *S. sclerotiorum* izolatları arasındaki ilk MUG çalışmasıdır.

Hambleton ve ark. (2002) yapmış oldukları çalışmada 213 *S. sclerotiorum* izolatında 21 miselyal uyum grubu ve 41 DNA fingerprint elde etmişlerdir. İzolatların %60'ı benzer fingerprint olarak tespit edilmiştir.

Carpenter ve ark. (2003) çalışmalarında Yeni Zelanda'nın güney kısımlarından 4 farklı alandan elde ettikleri 75 *S. sclerotiorum* izolatının DNA parmakizini çıkarmışlardır. Bunun sonucunda DNA parmak izleri yüksek derecede benzeyen izolatların uyumlu izolatlar olduğunu, DNA parmak izleri benzemeyen izolatların ise uyumsuz olduğunu rapor etmişlerdir.

Atallah ve ark. (2004) 4 farklı bölgeden toplamış oldukları 167 *S. sclerotiorum* izolatları arasında MUG analizi yapmışlar ve 25 mikrosatealit primer ile genetik olarak farklılıkları incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada izolatlar arasında 82 MUG elde edilmiş olup moleküler analiz sonucunda %92 farklılık tespit etmişlerdir. MUG'lar arasında rastgele seçmiş oldukları bazı izolatların patates bitkisinde patojenik açıdan değerlendirilmiş ve MUG'lar arasında herhangi bir farklılık göstermediğini belirtmişlerdir.

Kull ve ark. (2004) soya fasulyesinden elde ettikleri 299 *S. sclerotiorum* izolatları arasında varyasyonu tespit etmek için MUG analizi yapmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda 42 MUG tanımlamışlardır. Ayrıca izolatlar arasında vürülenslik dereceleri açısından da önemli farklılıklar gösterdiğini belirtmişlerdir.

Adandonon ve ark. (2005) Güney Afrika ve Benin'den kök çürüklüğü etmeninin görüldüğü börülcelerden elde etmiş oldukları 66 *S. rolfsii* ve *S. delfhini* izolatları ile MUG analizi, patojenite ve rDNA sekans analizi yapmışlardır. Yapılan bu analizler sonucunda 66 izolat arasından 4 adet MUG tespit etmişlerdir.

Zandoki ve ark. (2006) toplamda 40 *S. sclerotiorum* izolatının mevcut olduğu çalışmada birçoğunun 2 izolat içerdiği 13 adet MUG tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca izolatlar arasında sklerot sayısı, miselyal gelişim bakımından ve ayçiçeği bitkisine inokule edilen izolatların virülenslik açısından farklılıklar gösterdiğini belirtmiş olup

MUG'lar arasında morfolojik karakterler bakımından herhangi bir ilişkinin bulunmadığını rapor etmişlerdir.

Remesal ve ark. (2012) Şili, İtalya, Portekiz, İspanya gibi Akdeniz iklimine sahip bölgelerden, şeker pancarı bitkisinden elde ettikleri 459 *S. rolfsii* izolatları arasında MUG analizi yapmışlardır. Elde ettikleri MUG'ları ekonomik olarak önemli 11 kültür bitkisi ile patojenik açıdan değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmada 459 izolat arasından 12 MUG tespit edilmiş olup MUG'lar arasında nohut ve ayçiçeğinde yüksek oranda virülens, pamuk, biber, domates ve karpuzda ise orta derecede virülens, şeker pancarı ve brokolide ise hafif duyarlı, buğday ve mısırda ise dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir.

Xie ve ark. (2014) *S. rolfsii*'de fenotipik ve patojenik varyasyonu tespit etmek amacıyla ABD'nin Güney Bölgelerinden toplanan 84 izolat arasında yapılan eşleştirmeler sonucunda 23 MUG elde etmişlerdir. Ayrıca MUG'lar arasındaki 11 MUG tek izolatlardan oluşmaktadır. Yer fıstığı ve diğer konukçulardan elde edilen sklerot büyüklüğü ve üretilen sklerot sayısı bakımından izolatlar arasında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir. Ayrıca MUG'lar içerisindeki en yaygın 19 izolat domates, biber ve yer fıstığında virülenslik açısından test edilmiştir. Yapılan testlerde tüm izolatların konukçu bitkilerde virülens olduğu, virülenslik dereceleri arasında ise önemli farklılıklar olduğunu tespit etmişlerdir. İzolatların yerfıstığında, domates ve biberlere oranla oldukça virülens olduğunu rapor edilmiştir.

2.2. Ülkemizde MUG İle İlgili Yapılmış Çalışmalar

Onaran ve Yanar (2004) Tokat ve Amasya illerinden hıyar seralarından elde ettikleri 235 *S. sclerotiorum* izolatları arasından 5 MUG tespit etmişlerdir. Ayrıca 87 izolatın yalnızca kendi ile uyumlu olduğunu ve diğer izolatlar ile uyumsuz olduğunu belirtmişlerdir.

Mert-Türk ve Mermer (2005) örtü altı marul yetiştiriciliğinin yapıldığı Çanakkale İlinden marul yumuşak çürüklük etmeninin sürveyler sonucunda bölgede yoğun olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca elde ettikleri 14 *S. sclerotiorum* izolatları arasında yapılan MUG analizi sonucunda 2 MUG ve 5 *S. minor* izolatları arasında ise hiçbir şekilde MUG'a rastlamamışlardır.

Mert-Türk ve ark. (2007) Çanakkale Bölgesinden sürveyler sonucu kolza bitkilerinden elde ettikleri *S. sclerotiorum* popülasyonu içerisindeki genetik farklılıkları tespit etmek için MUG ve moleküler markörler kullanmışlardır. Elde etmiş oldukları toplam 36 izolat arasından eşleştirmeler sonucunda 19 MUG tespit etmişlerdir. DNA

analizi sonucunda ise populasyon içerisinde 23 farklı klon elde etmişlerdir. İzolatları morfolojik açıdan gözlemleyerek farklı özelliklerde olduğunu tespit etmişlerdir. Türkiye'de *S. sclerotiorum* populasyonlarında genetik ve morfolojik farklılıklar ilk kez bu çalışmada belirtilmiştir.

Mermer-Doğu ve ark. (2007) Çanakkale İlinden lahanagil parsellerinden elde edilen *S. sclerotiorum* izolatları arasında farklılığı tespit etmek amacıyla MUG analizi yapılmış ve bu analizler sonucunda izolatların aynı parsel içinde dahi uyumsuz olduğunu belirtmişlerdir.

Tok ve Kurt (2007) örtü altı domates yetiştiriciliğinin yapıldığı Akdeniz bölgesinden elde etmiş oldukları *S. sclerotiorum* popülasyonundaki farklılıkları tespit etmek amacıyla MUG analizi yapmışlardır. Antalya, Hatay, Adana, Mersin illerinden enfekteli domates bitkilerinden izole edilmiş 58 izolat arasından 17 MUG elde etmişlerdir.

BÖLÜM 3
MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çanakkale İlinde fasulye yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı Ayvacık ve Ezine ilçelerinden toplanan enfekteli bitki materyalleri bu çalışmanın ana materyalini oluşturmaktadır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Sürvey Çalışması

Çalışma kapsamında Ayvacık ve Ezine'de geçici fasulye yetiştirilen bölgelerde sürvey çalışması yapılmıştır. Bu amaçla Eylül (2015) ayında toplamda 30 fasulye tarlasında inceleme yapılmış, sadece hastalık simptomu gösteren bitkilerden örnek alınmıştır. Eğer aynı tarladan birkaç hastalıklı bitki alındıysa, örnekler arasında en az 5 m aralık olmasına özen gösterilmiştir.

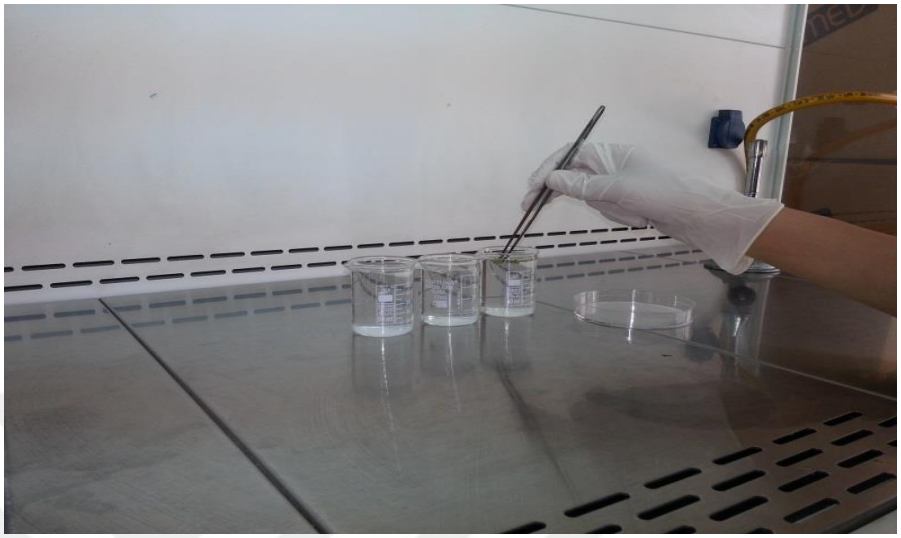
3.2.2. Patojenin Hastalıklı Dokulardan İzolasyonu

Hastalıklı bitki dokularından patojeni izole etmek için PDA (Patates Dekstroz Agar) ortamı kullanılmıştır. Bir litre destile suya 39 gr PDA (Merck, Almanya) eklenmiş ve 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir. Biraz ılıdıktan sonra donmadan önce 9-10 cm çaplı petri kaplarına yaklaşık 10-15 ml gelecek şekilde dökülmüş ve katılaşmaya bırakılmıştır.

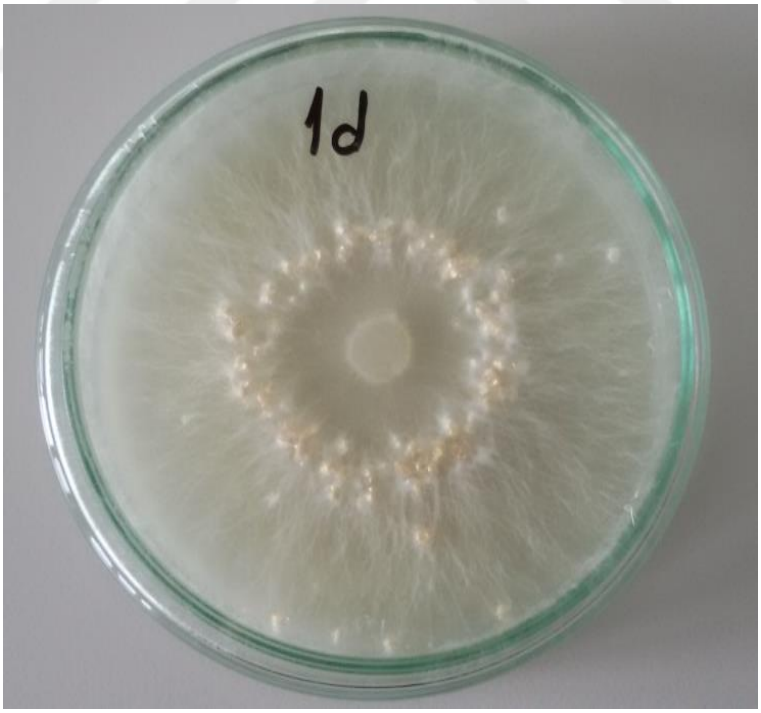
Toplanan enfekteli fasulye bitkileri ilk olarak çeşme suyunda yıkanmıştır. Yıkanan örneklerden söz konusu hastalığı temsil eden, genellikle konukçu bitkinin gövde kısmından olmak üzere lezyonlu doku parçaları kesilmiştir. Henüz yeni enfekteli veya hastalıklı ve sağlam dokuyu içerecek şekilde 7-8 mm büyüklüğünde kesilen lezyonlu parçacıkları %1'lik sodyum hipoklorit (NaOCI) solüsyonu içerisinde 1-2 dakika yüzeysel olarak sterilize edildikten sonra 2 kez steril saf su ile durulanarak steril kurutma kağıtları üzerinde 15-20 dakika kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.1). Kurutulan bitki parçacıkları, PDA bulunan petrilere pens yardımı ile aktarılarak ekimi yapılmıştır. Daha sonra petriler 25°C sıcaklıkta 3-4 gün süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gelişen *S. rolfsii* kolonilerinin en uç noktasından mantar delici yardımı ile fungal diskler kesilmiş ve kesilen hif parçası yeni PDA ortamına aktarılarak saflaştırma işlemi yapılmıştır (Şekil 3.2).

Saflaştırılan kültürler daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere 25°C sıcaklıkta tekrar inkübatörde muhafaza edilmiştir. Yaklaşık 15-20 gün sonra petrilerin kapağı

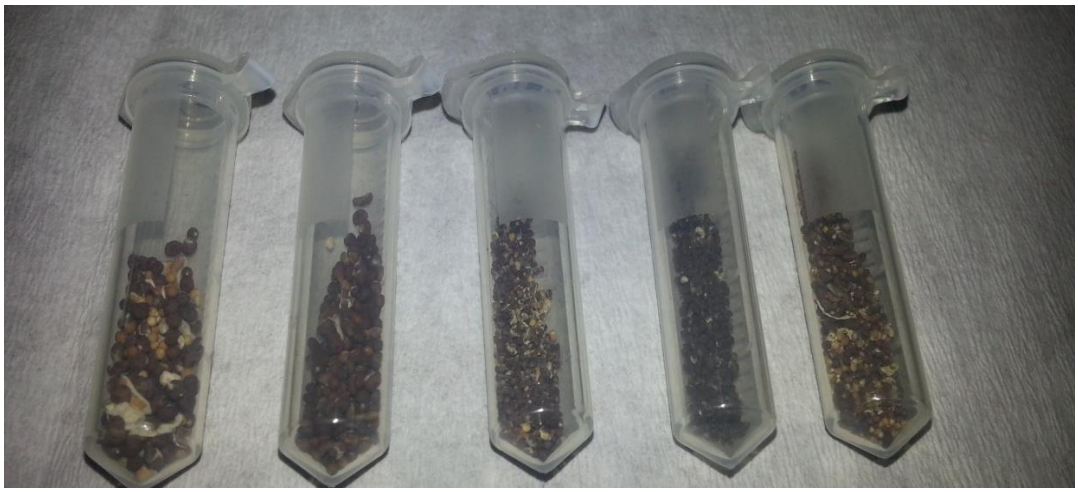
açılarak koloniler üzerinde gelişen sklerotlar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmış ve sklerotlar eppendorf tüplerine konularak gerektiğinde izolatı tekrar elde etmek için muhafaza edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.1. Yüzey sterilizasyonu yapılan hastalıklı bitki dokularından *S. rolfsii* izolasyonu



Şekil 3.2. İzolasyon sonucunda elde edilen *S. rolfsii*'ye ait saf kültürün PDA ortamındaki gelişimi

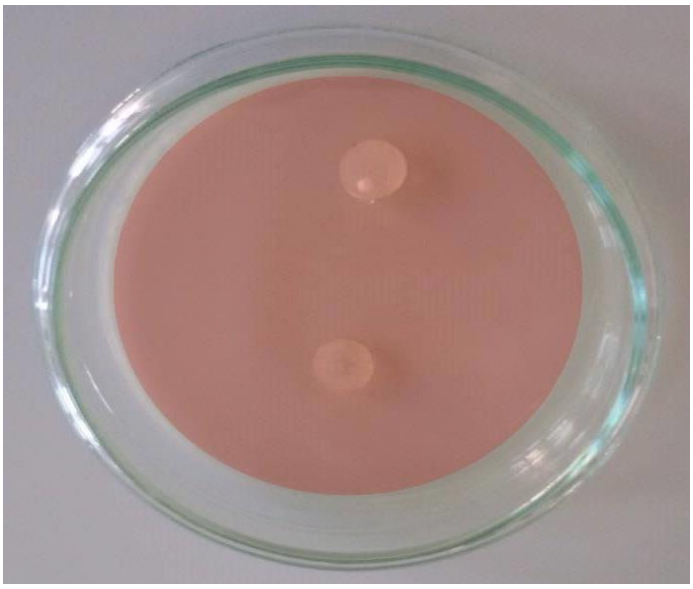


Şekil 3.3. Eppendorf tüplerde muhafaza edilen farklı *S. rolfsii* izolatlarına ait sklerotlar

3.2.3. İzolatlar Arasında Miselyal Uyum Gruplarının (MUG) Saptanması

Fasulye ekim alanlarından elde edilen toplamda 27 izolat arasında miselyal uyumun saptanabilmesi için, her bir izolatın diğer tüm izolatlar ile ikili kombinasyonlar şeklinde eşleştirme işlemi yapılmıştır (Punja ve Grogan, 1983) (Şekil 3.4). İzolatların kendi içerisinde uyumun olup olmadığını saptamak için de kendileriyle eşleştirmeleri yapılmıştır.

Eşleştirme çalışmaları içerisinde %0,25 gıda boyası (Super Cook, İngiltere) içeren PDA ortamında gerçekleştirilmiştir. İki izolata ait disklerin 3-4 cm mesafeyle PDA ortamına ekimleri yapılmıştır (Kohn ve ark., 1991) (Şekil 3.4). Kültürler 25°C inkübatöre konularak 10-15 gün sonra koloni gelişimleri gözlemlenmiştir. Ekimlerden yaklaşık olarak 10 gün sonra yapılan gözlemlerde izolat çiftleri arasındaki hif interaksiyonu gözlemlenmiş ve hiflerin çarpıştığı bölgede boşlukla birlikte kırmızı bir hat oluşmuş ise bu iki izolatın uyumsuz olduğu not edilmiştir. İki koloninin temas bölgesinde kırmızı bir hat gözlemlenmediğinde veya birleşme noktasında sklerot oluşmuşsa bu iki izolatın birbiri ile uyumlu olduğu not edilmiştir (Punja ve Grogan, 1983).



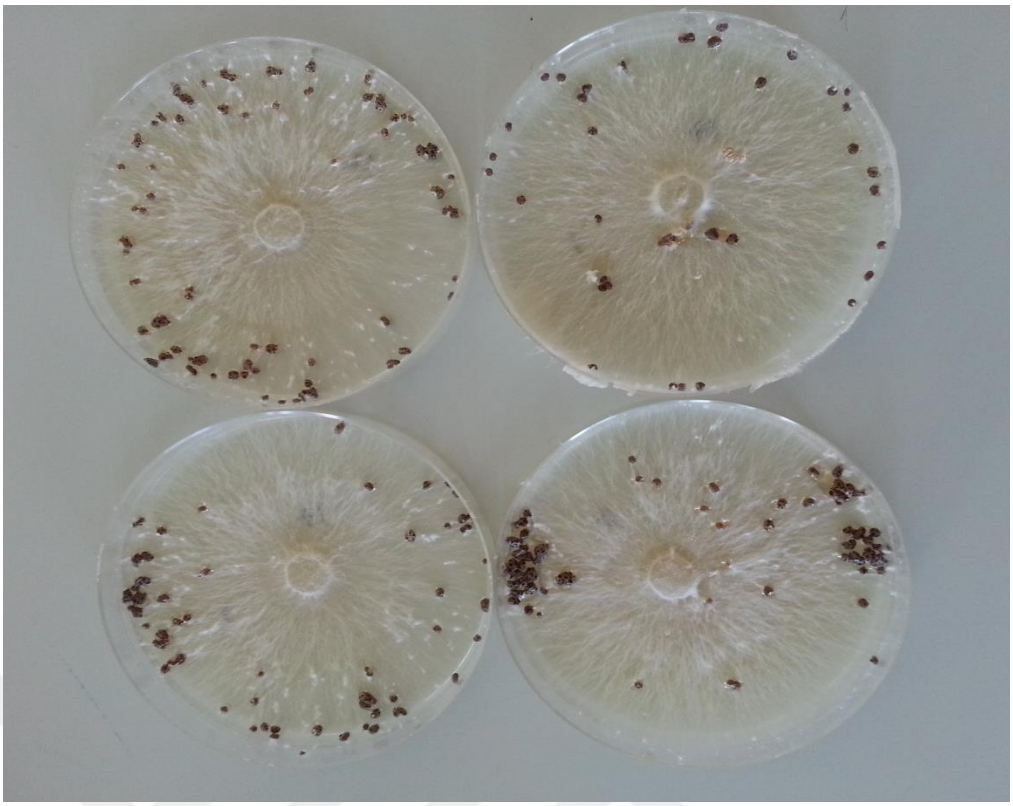
Şekil 3.4. Miselyal uyumun ya da uyumsuzluğun gözlenebilmesi için izolatlar arasında yapılan ikili eşleştirme

3.2.4. İzolatların Koloni Çaplarının Karşılaştırılması

İzolatlar arasında koloni gelişim hızında farklılıklar olup olmadığını saptamak amacıyla, 2 günlük taze kültürlerden alınan fungal diskler PDA ortamına aktarılmıştır. Her bir petride yalnızca bir fungal diskin bulunduğu izolatlar 25°C inkübatöre alınarak gelişmeye bırakılmıştır. Ekimden 2 gün sonra gelişen misellerin misel çapları bir cetvel yardımıyla ölçülerek mm olarak not edilmiştir. Bu çalışmada her bir izolat için 3 tekerrür kullanılmıştır.

3.2.5. İzolatların Sklerot Sayısı ve Sklerot Çaplarının Karşılaştırılması

Farklı izolatların oluşturdukları sklerot sayısı ile sklerot çapları arasında farklılığı saptamak için çalışmanın bu kısmı yapılmıştır. İki günlük taze kültürden alınan diskler PDA üzerine ekimi yapılmış ve ekimden 15 gün sonra petrilerin kapakları açılarak kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.5). Kapakları açılarak kurumaya bırakılan petrilerden 10-14 gün sonra her bir petride oluşan sklerotların sayımları yapılarak not edilmiştir. Daha sonra sklerot çapları oküler mikrometre yardımı ile her bir izolattan tesadüfen seçilen toplamda 10'ar adet sklerotun en ve boyları ölçülmüştür. Her bir sklerotun çap değeri en ve boyun ortalaması alınarak elde edilmiştir. Deneme 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur.



Şekil 3.5. Ekimden 15 gün sonra kurumaya bırakılan *S. rolfsii* izolatları

3.2.6. Patojenite Testi ve İzolatların Virülenslik Oranlarının Belirlenmesi

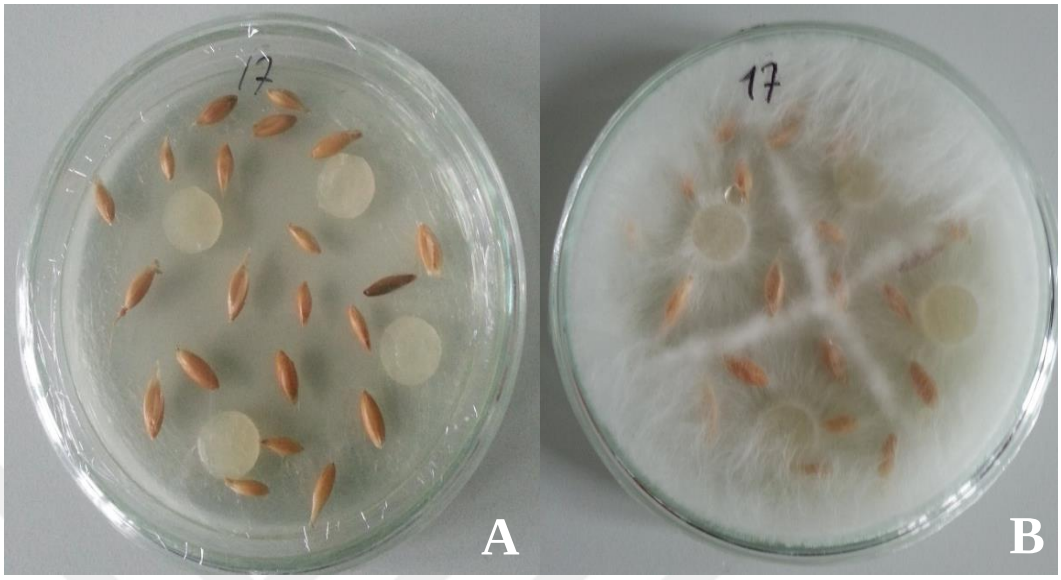
Her MUG grubunu temsilen rastgele seçmiş olduğumuz 3 izolat patojenite testi için kullanılmıştır. Uyum gruplarından MUG3 yalnızca tek izolat içerdiği için toplamda 7 izolat ile deneme kurulmuştur. Sırasıyla MUG1 izolatları arasından Sr2d, Sr13a ve Sr17; MUG2 izolatlarından ise Sr11b-1, Sr16b ve Sr18 rastgele seçilmiş, MUG3 ise yalnızca tek izolat içerdiğinden Sr10a izolatı denemede kullanılmıştır.

İnokulum, fungus yulaf tohumuna sardırılarak elde edilmiş ve toprağa karıştırılarak deneme kurulmuştur.

3.2.6.1. Fungal İnokulumun Hazırlanması

Yulaf tohumları, 2 kez musluk suyuyla yıkandıktan sonra 24 saat destile suda ıslatılmıştır. Yulaf tohumlarının içindeki fazla su süzülmüş, tekrar destile suda yıkanıp suyu iyice süzülmüştür. Yulaf tohumları 100 ml'lik beherlere yarısına gelecek şekilde konulmuş, ağzı alüminyum folyoyla kapatılarak 2 kez otoklav edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan tohumlar soğumaya bırakılmıştır. Her bir izolatı temsilen yaklaşık 20-25 tohum, petride gelişmekte olan fungus kolonilerinin üzerine yerleştirilmiştir (Şekil 3.6). Fungus

tüm tohumları sarana kadar (yaklaşık 10-14 gün) inkübatörde 25°C'de inkübe edilmiştir (Remesal ve ark., 2012). Bulaşık yulaf tohumları patojenite testlerinde kullanılmıştır.



Şekil 3.6. Yulaf tohumlarına fungal inokulumun inokulasyonu A: İnokulum öncesi fungal disk ve yulaf tohumlarının petrilere yerleştirilmesi B: 10-14 gün sonra etmenin yulaf tohumlarını sarması

3.2.6.2. Fasulye Tohumlarının Yüzeysel Sterilizasyonu

Sağlıklı görünümlü Altın kuru fasulye çeşidi tohumları ilk olarak %70'lik alkolde 1 dakika yüzeysel olarak sterilize edildikten sonra 2 kez steril saf suda yıkanmış ve ardından tohumlar 1 gece steril saf suda bekletilmiştir. Daha sonra tohumların suyu süzülerek 1 gün boyunca +4°C buzdolabında bekletilerek ekime hazır hale gelmiştir.

3.2.6.3. Saksı Denemesi

Torf, perlit ve toprak (1:1:1) karışımının bulunduğu 18 cm çaplı saksılara 9 adet fasulye tohumu ekilmiştir. Ekimden yaklaşık 6 gün sonra fasulyelerin 2 yapraklı hale geldiği dönemde inokulasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Misel sardırılmış yulaf tohumları toprağın 0,5 cm derinliğinde ve her bitkinin 0,5-1,0 cm uzaklığında olacak şekilde ikişer adet yulaf tohumu bitkinin kök boğazı çevresine ekilmiştir (Şekil 3.7) (Remesal ve ark., 2012). Daha sonra saksılar 25°C sıcaklıkta 12 saat aydınlık/karanlık koşullarının mevcut olduğu iklim odasına konulmuştur. Negatif kontrol saksılarına yulaf uygulaması yapılmamıştır. Deneme her bir izolat ve kontrol için 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur.

Bitkiler 1 hafta sonra değerlendirmeye alınarak hastalıklı ve sağlıklı bitki sayıları not edilmiştir.



Şekil 3.7. Enfekteli yulaf tohumlarının fasulye fidelerinin iki yapraklı döneminde kök boğazı kısmına verilmesi

3.2.7. İstatistiksel Analizler

Denemeler sonucu elde edilen bütün veriler SAS V8 istatistiki paket programı kullanılarak Varyans Analiz Tekniği (ANOVA) ile analiz edilmiştir (SAS Ins. 1999). Ele alınan her özellik bakımından ortalamalar arasındaki farkları tespit etmek amacıyla ise En Küçük Anlamlı Fark Yöntemi, LSD (Least Significant Differences) kullanılmıştır.

Denemede ele alınan koloni çapı, sklerot sayısı ve sklerot çapı gibi özellikler arasında korelasyon olup olmadığının saptanabilmesi amacıyla, korelasyon testi (Pearson korelasyon testi) uygulanmıştır.

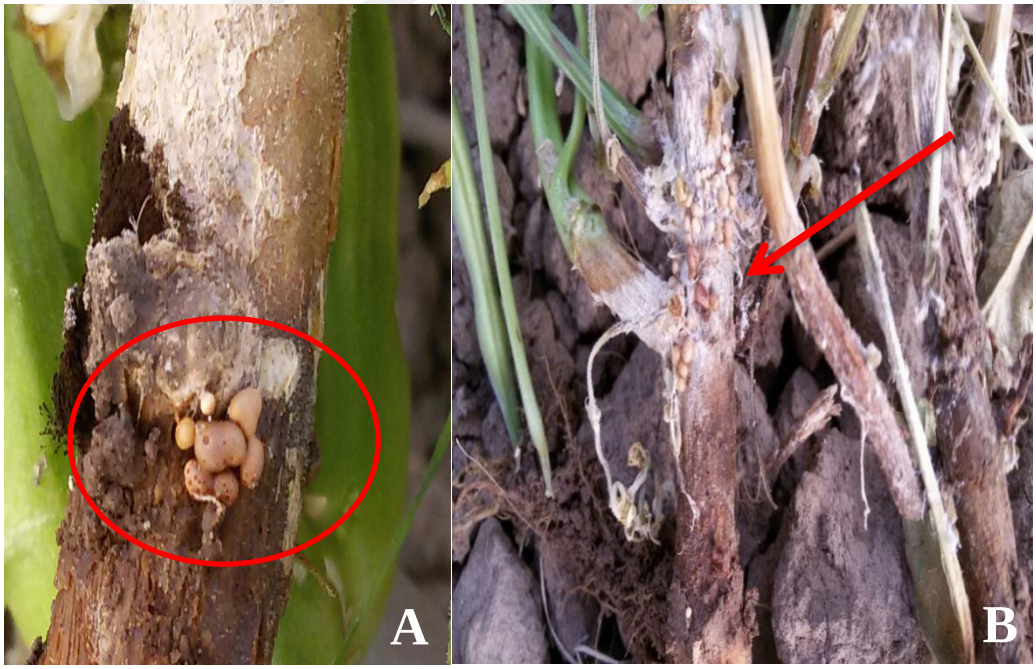
BÖLÜM 4
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Fasulyede *S. rolfsii* Simptomları

Çanakkale Ayvacık ve Ezine ilçeleri fasulye tarımı bakımından önemli bir yer tutmaktadır. Geçici fasulye bahçelerinde yapılan sürveyde 30 tarlanın 13'ünda hastalık etmeninin varlığı simptomolojik olarak saptanmıştır. Laboratuvara getirilen hastalıklı bitki örneklerinden 10 tarlayı temsil edecek bir ya da birden fazla izolat elde edilmiştir.

Bitkide özellikle kök boğazı, sap bölgesinde enfeksiyon, beyaz havai miselyal gelişim, bazı enfekteli dokularda miselyum üzerinde beyazdan açık kahve rengine çalan küçük sklerot oluşumu, bitkide genel sararma ve bazen genel bir kuruma şeklinde hastalığın simptom verdiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Fasulye bitkisinde *S. rolfsii* etmeninin gövde üzerindeki belirtileri (A: Etmeninin sklerotları. B: Etmenin gövde üzerindeki misel ve sklerotları)

Bölgede hastalığın yaygın olduğu ve önemli sorun teşkil ettiği görülmüştür. Fasulyenin sık ekilmesi ve damlama sulamadan dolayı toprağın sürekli nemli veya ıslak olmasından kaynaklanan, kök ve sap bölgesindeki nemli mikroklima, özellikle hastalığın

daha yaygın görülmesine neden olmaktadır. Ayrıca etmenin tarla içinde öbekler halinde bitki ölümlerine sebep olduğu da tespit edilmiştir (Şekil 4.2).

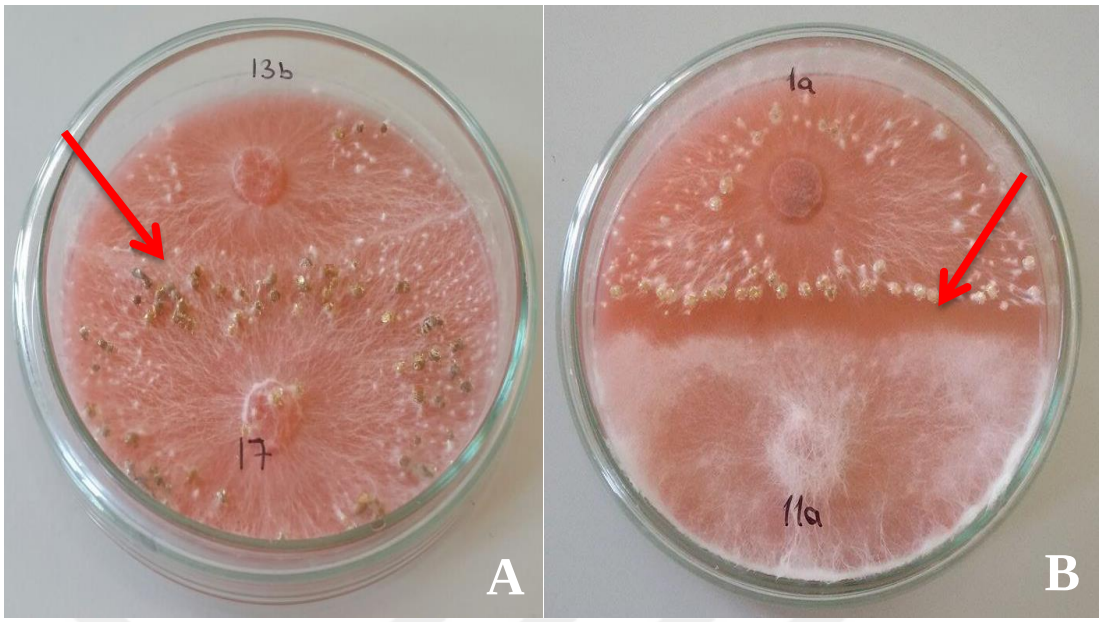


Şekil 4.2. *S. rolfsii* etmeninin fasulye tarlasındaki görüntüsü (tarlanın farklı alanlarında enfeksiyon sonucu bitkilerin öbek öbek kuruması)

4.1.2. İzolatlar Arasında Miselyal Uyum Gruplarının Saptanması

Sürveyler sonucunda Çanakkale İli Ayvacık ve Ezine İlçelerinden toplanan enfekteli fasulye bitkilerinden elde edilen toplamda 27 izolat arasında miselyal uyumun gözlenebilmesi için, her izolatın başta kendisi ile olmak üzere diğer tüm izolatlarla ikili kombinasyonlar şeklinde eşleştirmesi yapılmış, izolatların ikili kombinasyonları şeklinde yapılan eşleştirmeleri sonucunda izolatlar birbiri içerisinde homojen olarak gelişmiş ve birleşme noktasında ve çevresinde sklerot oluşmuşsa bu iki izolatın birbiriyle uyumlu olduğu not edilmiştir (Şekil 4.3.A). Eğer izolat çiftleri arasında hiflerin karşılaştığı bölgede bir bariyerin yanısıra kırmızı bir bant oluşmuş ise bu iki izolatın uyumsuz olduğu varsayılmıştır (Şekil 4.3.B).

Toplam 27 izolatın birbiriyle yapılan eşleştirmeleri sonucunda 3 MUG elde edilmiştir (Çizelge 4.2). Bunlara ek olarak çalışmada kullanılan tüm izolatların kendi kendileri ile eşleştirilmesi sonucunda tümünün kendilerine uyumlu olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. *S. rolfsii*'ye ait farklı izolatların meydana getirdiği hif interaksiyonu A: Uyumlu izolatlar B: Uyumsuz izolatlar

MUG1 sırasıyla Sr1a, Sr1a-1, Sr1b-1, Sr1c-2, Sr1d, Sr2a, Sr2d, Sr2e, Sr10b, Sr11b-2, Sr12, Sr13a, Sr13b, Sr17, Sr24 izolatlarını içermektedir. MUG2'de ise Sr1b-2, Sr1c-1, Sr11a, Sr11b-1, Sr11c, Sr11d, Sr11d-1, Sr11e, Sr16a, Sr16b, Sr18 izolatları yer almaktadır (Çizelge 4.1).

Gözlemlenen sonuçlar doğrultusunda MUG3'te yer alan Sr10a izolatı hiçbir izolat ile uyumlu bulunmamış, yalnızca kendisiyle uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Aynı bitkinin farklı dokularından elde edilen bazı izolatların ise farklı MUG içerisinde bulundukları da tespit edilmiştir. Örneğin Sr1b-1 izolatı MUG1'de yer alırken Sr1b-2 izolatı ise MUG2'de yer almaktadır. Aynı şekilde Sr1c-1, MUG2'de yer alırken Sr1c-2 izolatı ise MUG1'de yer almaktadır. Bununla birlikte Sr11b-2 izolatı MUG1 de yer alırken, Sr11b-1 MUG2'de yer almaktadır. Bu da aynı bitkiden izole edilen örneklerin farklı uyum grubu içerisinde yer aldıklarını göstermektedir.

MUG1 izolatların büyük bir kısmını içermektedir; bu da izolat popülasyonunun yaklaşık olarak %55'ini oluşturmaktadır. MUG2 ise izolatların %40,74'ünü içermektedir.

Çizelge 4.1. Denemede ele alınan özellikler ile ilgili ortalamalar ve çoklu karşılaştırma testi sonuçları

İzolat No	MUG	KÇ (mm)	SS	SÇ (mm)
Sr1a	MUG1	52 b-f	28,3 d	1,6 a-c
Sr1a-1	MUG1	58,7 a-d	32,3 d	1,8 a-c
Sr1b-1	MUG1	63,3 ab	44 d	1,6 a-c
Sr1c-2	MUG1	55 a-e	39,3 d	0,8 d
Sr1d	MUG1	56,7 a-e	42,3 d	0,8 d
Sr2a	MUG1	53,7 a-e	68,7 d	0,8 d
Sr2d	MUG1	64,7 a	67 d	0,8 d
Sr2e	MUG1	59 a-c	29,7 d	0,8 d
Sr10b	MUG1	63,3 ab	63,3 d	1,5 bc
Sr11b-2	MUG1	61 ab	41,7 d	1,7 a-c
Sr12	MUG1	58,7 a-d	26,7 d	1,8 a-c
Sr13a	MUG1	52 b-f	49,7 d	1,6 a-c
Sr13b	MUG1	61 ab	35,3 d	1,9 a
Sr17	MUG1	54,7 a-e	54,7 d	1,8 ab
Sr24	MUG1	59,3 a-c	55 d	1,5 a-c
Sr1b-2	MUG2	46,7 e-ı	345 a-c	0,8 d
Sr1c-1	MUG2	47 e-ı	479,7 a	0,8 d
Sr11a	MUG2	36,3 ı-j	436,3 ab	0,8 d
Sr11b-1	MUG2	47,3 d-ı	338 a-c	0,8 d
Sr11c	MUG2	37,7 h-j	327,3 a-c	0,8 d
Sr11d	MUG2	42 f-j	147,3 cd	0,8 d
Sr11d-1	MUG2	49 c-h	412,7 ab	0,8 d
Sr11e	MUG2	39,3 g-j	383,3 ab	0,8 d
Sr16a	MUG2	49,3 c-g	154,3 cd	0,8 d
Sr16b	MUG2	46,7 e-ı	296,3 a-c	0,9 d
Sr18	MUG2	31,6 j	312,3 a-c	0,8 d
Sr10a	MUG3	54,7 a-e	277 bc	0,9 d
Ortalama	3	51,9	169,91	1,28

*İstatistiksel analizler sonucunda her sütun kendi içerisinde LSD (P≤0,05) testine göre değerlendirilmiştir.

MUG: Miselyal Uyum Grupları, KÇ: Koloni çapı, SS: Sklerot sayısı, SÇ; Sklerot çap

4.1.3. Koloni Çapı, Sklerot Sayısı ve Sklerot Çapının Saptanması

4.1.3.1. Koloni Çapı

Ekimden 2 gün sonra ölçülen koloni çapı ile ilgili varyans analizi sonucunda izolatlar arasında tespit edilen farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2). İzolatların misel çapları 31,6 mm ortalama değeri ile Sr18 izolatı en düşük değere sahip olurken; 64,7 mm koloni çapı ile Sr2d izolatının ise en yüksek koloni çapına sahip olduğu bulunmuştur. İzolatların ortalama koloni çapı değeri ise 51,9 mm olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

Uyum grupları arasında koloni çapları bakımından herhangi bir farklılık tespit edilmemiş olup, genellikle izolatların koloni çapları değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmüştür. Aynı MUG içerisinde bulunan izolatlarda ise koloni çapı değerinin birbirine daha yakın olduğu görülmüştür. Buna göre MUG1 izolatlarının koloni çapları değeri 52-64,7 mm arasında değişirken, MUG2'de yer alan izolatların koloni çapları değerleri ise 31,6-49,3 mm arasında bulunmuştur. Son olarak MUG3'te bulunan Sr10a izolatının koloni çapı değerinin de 54,7 mm olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

4.1.3.2. Sklerot Sayısı

Varyans analizi sonucunda sklerot sayısı ortalamaları arasında elde edilen farkın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). İzolatlar arasında sklerot sayısı ortalamaları bakımından 479,7 adet sklerot sayısına sahip Sr1c-1 izolatı en yüksek değere sahip olurken, en düşük ortalama sklerot sayısı ise Sr12 izolatında hesaplanmıştır. Ayrıca istatistiksel analiz sonucunda yapılan gruplandırmada Sr12 izolatı diğer 15 izolat ile aynı gruplandırma içerisinde yer almaktadır. Denemede kullanılan izolatların sklerot sayılarının ortalama değeri ise 169,9 dir (Çizelge 4.1).

Yapılan bu çalışmada uyum grupları arasında sklerot sayısı bakımından farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Aynı MUG içerisinde yer alan izolatların sklerot sayılarının birbirine daha yakın olduğu tespit edilmiştir. Örneğin MUG1 izolatlarının bulunduğu uyum grubunda sklerot sayısı 26,7-68,7 arasında değişmektedir. Bu da izolatların sklerot sayılarının birbirine yakın olduğunu ve MUG1 içerisindeki tüm izolatların istatistiksel analiz sonucunda aynı gruplandırma içerisinde yer aldığını göstermektedir. MUG2'de ise sklerot sayılarının 147,3-479,7 arasında olduğu ve MUG1'e oranla sklerot sayılarının daha fazla olduğu elde edilmiştir (Çizelge 4.1). Ayrıca yüksek oranda sklerot içeren MUG2 içerisindeki izolatların istatistiksel analiz sonucunda farklı gruplar içerisinde olduğu da görülmektedir (Çizelge 4.1). Tek izolat içeren MUG3 içerisindeki Sr10a izolatı ise 277

ortalama sklerot sayısı içermektedir. Elde edilen bu bulgulara göre MUG2 ve MUG3 izolat sayıları bakımından birbirine yakın olduğu bulunurken, MUG1'de bulunan izolatların ise diğer uyum gruplarına göre daha az sayıda sklerot oluşturduğu belirlenmiştir.

4.1.3.3. Sklerot Çapı

Sklerot çapı verileri ile yapılan varyans analizi sonucunda izolatların sklerot çapları arasında var olan farkın istatistiksel olarak önemli olduğu gözlenmektedir (Çizelge 4.2). Sklerot çapı değeri en düşük izolatlar 0,8 mm ortalama ile Sr1b-2, Sr1c-1, Sr11a, Sr11b-1, Sr11c, Sr11d, Sr11d-1, Sr11e, Sr16a, Sr18 olup ve tamamı aynı MUG içerisinde yer almaktadırlar. En yüksek sklerot çapına sahip olan izolat ise 1,9 mm ortalama ile MUG1 içerisinde bulunan Sr13b izolatıdır. İzolatların ortalama sklerot çapları ise 1,29 mm olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

Uyum grupları arasında ölçülen sklerot çapı değerleri bakımından herhangi bir farklılık görülmemiştir. MUG1 içerisinde bulunan izolatların sklerot çapı değerleri 0,8-1,9 mm arasında değişirken, MUG2 izolatlarının ise ölçülen sklerot çapı değerleri genellikle 0,8 mm olarak hesaplanmıştır. MUG3'te yer alan Sr10a izolatı ise 0,9 mm sklerot çapına sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Elde edilen bu sonuçlara göre MUG'lar arasında sklerot çapı değerlerinin birbirlerine yakın olduğunu, fakat aynı MUG içerisinde farklı çapta sklerot oluşturan izolatların da olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.2. Denemede ele alınan özellikler ile ilgili kareler ortalamaları ve önem düzeyleri

Varyans Kaynağı	Koloni Çapı(mm)	Sklerot Sayısı	Sklerot Çapı (mm)
Tekerrür	58,68**	7067,5	0,02
İzolat	238,03***	73803,4***	0,59***
Hata	12,74	4021,6	0,014

P≤0,05* P≤0,01** P≤0,001***

4.1.4. Korelasyon Analizi

Toplamda 27 izolat ile ele alınan parametreler koloni çapı, sklerot sayısı ve sklerot çapı ölçümleri yapılarak elde edilen veriler arasında korelasyon olup olmadığı araştırılmıştır.

Yapılan analiz sonucunda ekimden yaklaşık olarak 2 gün sonra ölçülen koloni çapı değerleri ve sklerot sayısı değerleri arasında negatif yönde korelasyon olduğu, koloni çapı

ve sklerot çapı arasında ise pozitif yönde korelasyon olduğu, son olarak sklerot çapı ve sklerot sayısı arasında ise negatif yönde korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Korelasyon analizi sonucunda sklerot sayısı arttıkça sklerot çapında azalma olduğu tespit edilmiştir. Örneğin Sr1b-2 ortalama 345 adet sklerot sayısına sahip olurken aynı zamanda 0,8 mm sklerot çapına sahiptir. Bir başka izolatta ise 479,7 ortalama sklerot sayısına sahip Sr1c-1 izolatı 0,8 mm sklerot çapına sahiptir. Aynı şekilde Sr10a 277 ortalama sklerot sayısına sahip iken aynı zamanda 0,9 mm sklerot çapına sahiptir. İzolatlar arasında Sr13b izolatı 1,9 mm ile en yüksek sklerot çapına sahip olurken ortalama sklerot sayısı ise 35,3 adettir. Sr1d 42,3 sklerot sayısına sahip olurken aynı zamanda 1,8 mm sklerot çapına sahiptir. Sr1c-2 izolatında ise 39,3 ortalama sklerot sayısına sahipken aynı zamanda 1,7 mm sklerot çapına sahiptir. Ölçümler sonucu elde edilen korelasyon analizinde de görüldüğü gibi sklerot sayısı ve sklerot çapı arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Sklerot sayısı arttıkça sklerot çapının da azaldığı görülmektedir.

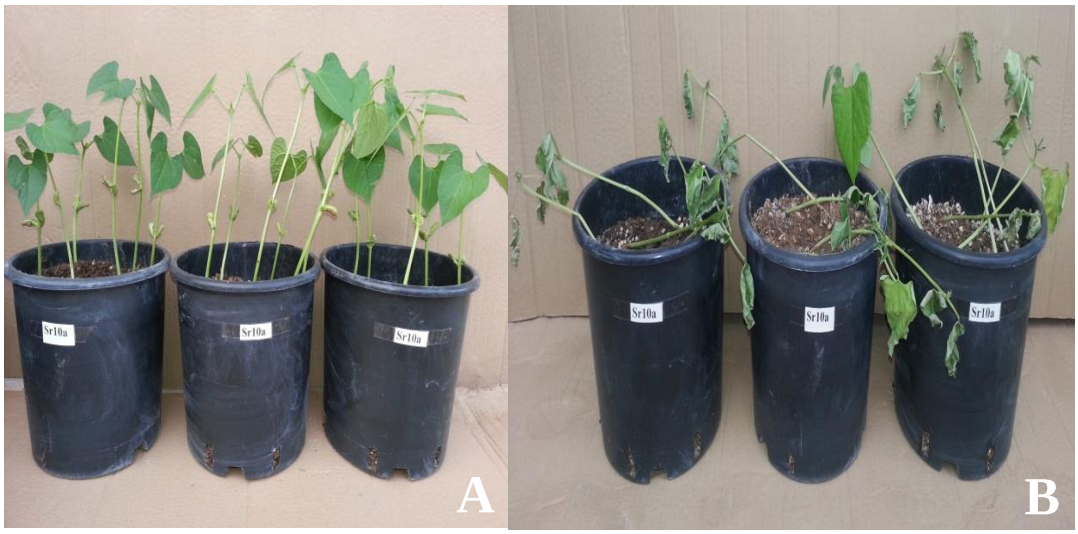
Çizelge 4.3. Denemede ele alınan özellikler ile ilgili korelasyon katsayısı ve önem düzeyleri

	Koloni Çapı	**Sklerot Sayısı**
Sklerot Sayısı	-0.68512***	
Sklerot Çapı	0.72399***	-0.84891***

P≤0,05* P≤0,01** P≤0,001***

4.1.5. İzolatların Virülensliklerinin Saptanması

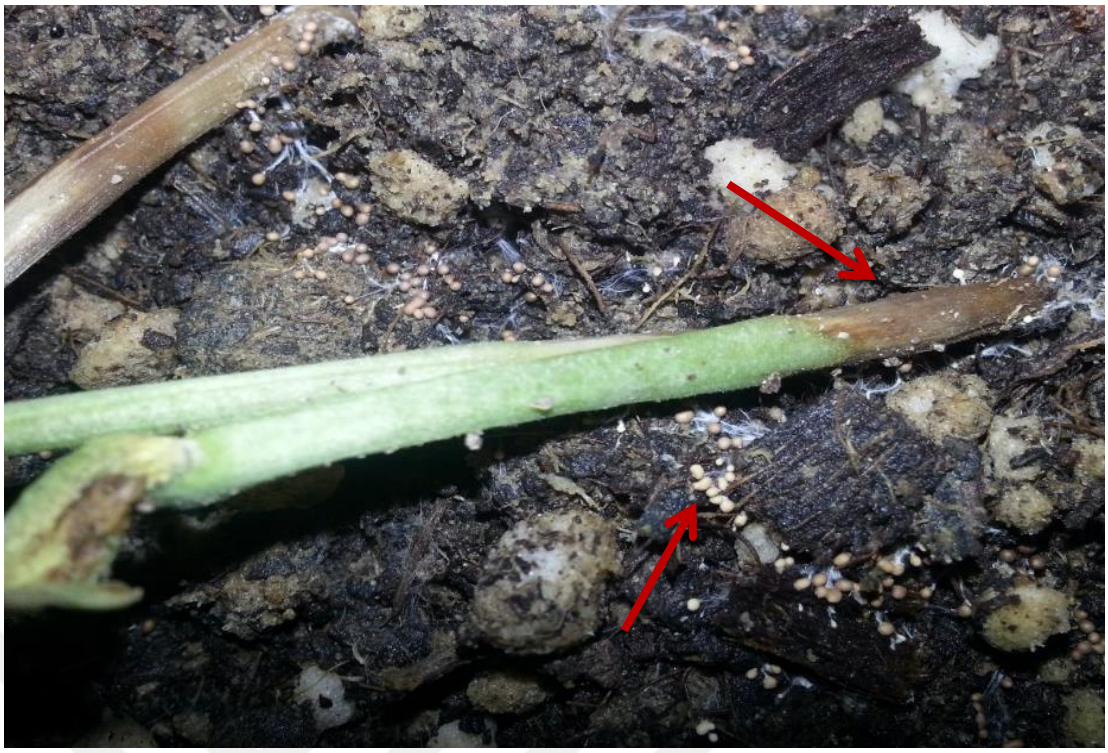
Patojenite testinde kullanılan fasulye tohumları, saksılara ekimi yapılarak patojenin oluşturduğu belirtiler inokulasyondan sonra 1 hafta boyunca gözlemlenmiştir. Gözlemlenen sonuçlar doğrultusunda *S. rolfsii* fasulyelerin fide döneminde bitkilerin erkenden yatmasına neden olmuştur (Şekil 4.4). Bu yatmalar sonucu yapraklarda kıvrılmalar, solmalar meydana gelmiş ve bunların sonucunda süreç fidelerin ölümüyle son bulmuştur (Şekil 4.4, Şekil 4.5). Ayrıca devrilen fidelerin kök boğazında kahverengileşme ve daha sonra kahverengi doku üzerinde beyaz misel yapısının oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.6). Kahverengileşen doku kısımları zamanla yumuşayarak bitkilerin erkenden devrilmesine yol açmıştır. Bitki dokusu üzerinde ve toprakta etmenin miselleri, ileriki dönemde ise fungusun sert kahverengi sklerotları bol miktarda görülmüştür (Şekil 4.6).



Şekil 4.4. *S. rolfsii* izolatlarının bitkiye inokulasyonu A: inokulasyondan hemen sonra fasulye bitkileri B:İnokulasyondan bir hafta sonra bitkilerde meydana gelen solmalar ve bitki ölümleri



Şekil 4.5. İnokulasyon işleminden bir hafta sonra izolatların fasulye bitkisinde oluşturduğu simptomlar ve izolatların karşılaştırılması



Şekil 4.6. İnokulasyondan bir hafta sonra fasulye fidelerinde meydana gelen kök boğazı enfeksiyonları ve toprakta oluşan misel ve sklerotlar

Patojenite testi için her bir uyum grubu içerisinden 3 izolat seçilmiştir. Sırasıyla MUG1'den Sr2d, Sr13a, Sr17; MUG2 içerisinden Sr11b-1, Sr16b, Sr18; MUG3 ise yalnızca tek izolat içerdiğinden dolayı Sr10a izolatı denemede kullanılmıştır. Denemede fidelerin iki yapraklı döneminde inokulasyon işlemi gerçekleştirilmiş olup her saksıda 6 bitki olacak şekilde toplamda her bir izolat için 18 bitki değerlendirmeye alınmıştır. Gözlemlenen sonuçlara göre bitkilerde inokulasyon işleminden üç gün sonra ilk belirtiler görülmeye başlamıştır. Bu belirtiler sonucunda fidelerin toprağa yakın kısımlarından kahverengileşmeye başlayarak devrildiği gözlemlenmiştir. Üçüncü gün sonunda MUG1 içerisinden Sr2d izolatından toplamda 18 bitki içerisinden 4 bitkide enfeksiyon sonucu fidelerde devrilme meydana gelmiştir. Sr13a izolatının bulunduğu saksılarda ise 5 bitki ve Sr17 de ise toplamda 2 bitkide devrilmeler meydana gelmiştir. MUG2 de ise Sr18 izolatından hiçbir bitki devrilmemiş olup Sr16b den 2 bitki, Sr11b-1 izolatının bulunduğu saksılarda ise 3 bitkide devrilmeler gözlemlenmiştir. MUG3'te ise yalnızca Sr10a izolatı ele alınmış olup toplamda 5 bitkide enfeksiyon meydana gelmiştir (Çizelge 4.4).

İnokulasyondan bir hafta sonra deneme sonlandırılmış olup ele alınan hastalıklı bitkiler not edilmiştir. Bir hafta sonunda MUG1 izolatları arasında Sr2d, Sr13a, Sr17 izolatlarının bulunduğu saksılardaki tüm bitkilerde enfeksiyon sonucu ölümler meydana

gelmiştir. Bunun sonucunda ise bir hafta sonunda saksılarda sağlıklı bitki tespit edilmemiştir. MUG2'de ise Sr16b izolatının bulunduğu 18 bitki arasından yalnızca 1 tane sağlıklı bitki mevcut olup diğer tüm bitkilerde ise enfeksiyon sonucu ölümler meydana gelmiştir. Sr11b-1'nin bulunduğu saksılarda ise 18 bitki arasından 1 tane sağlam bitki mevcuttur. Sr18 izolatında ise toplamda 6 sağlam bitki mevcuttur. MUG3'te yer alan Sr10a izolatının inokulasyonu sonucunda bitkilerde bir hafta sonunda sağlıklı bitki mevcut olmayıp, tüm bitkilerin enfeksiyon sonucu kök boğazından devrilerek bitki ölümleri meydana gelmiştir. Kontrol grubuna ise herhangi bir patojen inokulasyonu gerçekleştirilmemiş olup hiçbir hastalık belirtisi gözlenmemiştir (Çizelge 4.4).

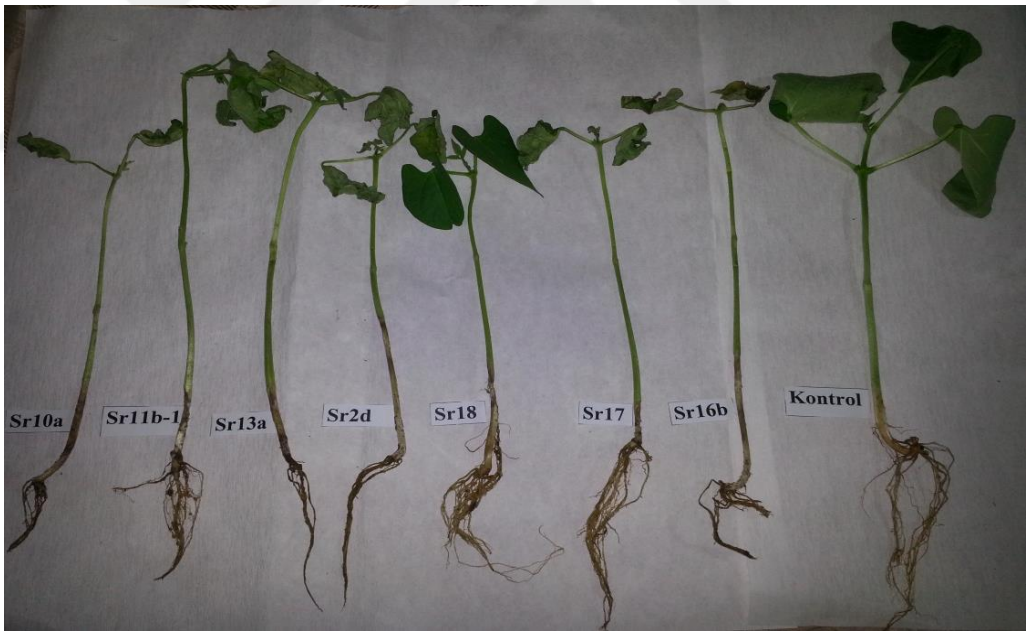
Patojenite testi sonucunda 3 MUG arasında belirgin bir fark görülmemiş olup ele alınan tüm izolatların fasulye bitkisinde yüksek oranda virülens olduğu ve bir hafta içerinde bitkilerin tamamen öldüğü tespit edilmiştir (Şekil 4.7, Şekil 4.8).

Çizelge 4.4. Patojenite testi sonucu izolatların karşılaştırılması

İzolat No	**Bitki Sayısı**	**MUG**	**3. Gün Hastalıklı Bitki Sayısı**	**7. Gün Hastalıklı Bitki Sayısı**	**7. Gün Sağlıklı Bitki Sayısı**
Sr2d	18	MUG1	4	18	-
Sr13a	18	MUG1	5	18	-
Sr17	18	MUG1	2	18	-
Sr11b-1	18	MUG2	3	17	1
Sr16b	18	MUG2	2	17	1
Sr18	18	MUG2	-	12	6
Sr10a	18	MUG3	5	18	-
Kontrol	18	-	-	-	18



Şekil 4.7. Fasulye fidelerinde bir hafta sonunda meydana gelen kök boğazı enfeksiyonu ve izolatların karşılaştırılması



Şekil 4.8. Bir hafta sonunda denemede ele alınan tüm izolatların fasulye fidelerinde meydana getirmiş oldukları lezyonlar

4.2. Tartışma

Yaptığımız çalışmalar sonucunda elde edilen bulgulara göre; *S. rolfsii*'nin Çanakkale İlinden toplanan 27 izolat arasından yapılan eşleştirmeler sonucunda 3 miselyal uyum grubu tespit edilmiştir. Bu bulgulara paralel olarak yapılan çalışmalarda Punja ve Grogan

(1983) ilk kez *S. rolfsii* populasyonunda MUG tespiti yapmış olup, *S. rolfsii*'deki miselyal uyum guruplarının hifsel interaksiyonundan kaynaklandığını göstermek için incelenen 72 izolat arasından 25 miselyal uyum grubu tespit etmişlerdir. Aynı şekilde Harlton ve ark. (1995) dünya çapında elenmiş *S. rolfsii* izolat koleksiyonu arasından 119 izolat arasından 49 MUG elde etmişlerdir. Benzer bir çalışmada ise Nalim ve ark. (1995) Teksas'da yerfıstığında incelemiş oldukları 366 izolat arasından 25 MUG tespit etmişlerdir. Diğer taraftan Brazilya'nın farklı bölgelerinden ve konukçulardan toplanmış olan 23 *S. rolfsii* izolatları arasından 13 miselyal uyum grubu tespit edilmiştir (Almeida ve ark.,2001). Güney Afrika ve Benin bölgelerinde yapılan bir diğer araştırmada ise börülce bitkisinden elde edilen 66 *S .rolfsii* ve *S. delfhini* izolatları arasından 4 MUG elde edilmiştir (Adandonon ve ark., 2005). Remesal ve ark. (2012) Akdeniz iklimine sahip bölgelerden, şeker pancarı bitkisinden elde ettikleri 459 *S. rolfsii* izolatları arasında 12 MUG tespit etmişlerdir. Bu bulgulara paralel olarak *S. rolfsii*'nin heterokaryon oluşturabilme özelliğine de bakılarak kendi içerisinde bile hem morfolojik hem de genetik açıdan farklılıklar olduğunu göstermektedir.

Yapılan araştırmalarda da görüldüğü üzere fungal etmenin kendi içerisinde bile çok büyük bir varyasyonun mevcut olduğu tespit edilmiştir. Etmenin tarla içerisinde, tarlalar arasında ve bölgeler arasında bile büyük bir varyasyon olduğu görülmektedir.

S. rolfsii sklerot büyüklükleri ile ilgili farklı kayıtlar bulunmaktadır. Punja ve Rahe (1992) yapmış oldukları çalışmada sklerotların enfeksiyondan yaklaşık 7 gün sonra miseller üzerinde bazı bölgelerin sertleşmeye başlamasıyla, bu hifsel yığının daha sonra 0,3 ile 2,0-3,0 mm ölçülerinde yuvarlak sklerotlar halini aldığını açıklamışlardır. Sklerotların önce beyaz, daha sonra olgunlaşmasına göre sarı, kahverengi veya esmer olduğunu rapor etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise 20°C sıcaklıkta *S. rolfsii* izolatlarının 0,2-1 mm ortalama sklerot çapına sahip olduğu Punja ve Damiani (1996) tarafından kaydedilmiştir. Kown ve Park (2002) yapmış oldukları çalışmada *S. rolfsii* izolatlarının morfolojik özelliklerini belirlemek için elde ettikleri izolatların PDA üzerindeki gelişimini sağlamıştır. 30°C PDA üzerinde geliştirmiş oldukları izolatların sklerot çapı değerlerinin 1-3,2 mm arasında değişmekte olduğunu tespit etmişlerdir. Kokub ve ark. (2007) elde ettikleri 8 fungal izolatın PDA ortamında 28°C sıcaklıkta geliştirerek izolatların morfolojik özelliklerini araştırmışlardır. Elde ettikleri bulgulara göre sklerot çapının 0,5-2 mm arasında değiştiğini kaydetmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise 27 izolatın 25°C sıcaklıkta morfolojik özelliklerini tespit etmek için PDA ortamına ekimleri yapılmıştır.

Geliştirmiş olduğumuz *S. rolfsii* izolatlarının sklerot çapı değerlerinin ortalama 0,8-1,9 arasında değişmekte olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Morfolojik özellikleri bakımından ele aldığımız diğer bir özellik ise izolatların sklerot sayılarıdır. Araştırma bulgularına göre 27 izolat arasından en yüksek sklerot sayısı 479,7 olarak, en düşük sklerot sayısı ise 26,7 olarak not edilmiştir (Çizelge 4.2). Punja ve Damiani (1996) 35°C sıcaklıkta geliştirmiş oldukları *S. rolfsii* izolatlarının sklerot sayılarının 1043-340 arasında olduğunu kaydetmişlerdir. Kown ve Park (2002) yapmış oldukları çalışmada ise 30°C sıcaklıkta izolatlar arasında en yüksek sklerot sayısı değerini 262,2 olarak tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Kokub ve ark. (2007) *S. rolfsii*'nin farklı izolatları tarafından geliştirilen sklerotia sayılarının 91 ile 1210 arasında değiştiğini kaydetmişlerdir. Sklerot çapları ve sklerot sayıları bakımından ele alınan özellikler ile ilgili elde edilen bulgular yapılan önceki çalışmalarla paralel olduğu tespit edilmektedir.

Yapılan analiz sonucunda ekimden yaklaşık olarak 2 gün sonra ölçülen koloni çapı değerleri ve sklerot sayısı değerleri arasında negatif yönde korelasyon olduğu, koloni çapı ve sklerot çapı arasında ise pozitif yönde korelasyon olduğu, son olarak sklerot çapı ve sklerot sayısı arasında ise negatif yönde korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Korelasyon analizi sonucunda sklerot sayısı arttıkça sklerot çapında azalma olduğu tespit edilmiştir. Mermer (2008) yapmış olduğu çalışmada 116 *S. sclerotiorum* izolatının morfolojik özelliklerini araştırmıştır. Sklerot ağırlıkları ve sklerot sayıları arasında yapılan istatistiksel analiz sonucunda bu parametreler arasında herhangi bir ilişki tespit edilmemiş olup aynı sayıda veya farklı sayıda sklerot üreten izolatların sklerot ağırlıklarında farklılıklar tespit etmiştir. Yapılan bu çalışma ele aldığımız parametrelerle herhangi bir benzerlik göstermemiştir.

Patojenite sonucunda her uyum grubunu temsilen 3 izolat patojenite için test edilmiş olup toplamda 7 izolat ile yapılan çalışmada izolatların fasulye bitkisinde yüksek oranda virülens olduğu tespit edilmiştir. Yaqub ve Shahzad (2005) Pakistan'da şeker pancarından elde etmiş oldukları *S. rolfsii* izolatları ile patojenite testi yapmış olup elde ettikleri sonuçlara göre etmenin siyah fasulye, şeker pancarı, ayçiçeği bitkilerinde yüksek oranda virülens; lahana, mercimek, domates, tatlı kabakta ise hafif duyarlı; karnabahar bitkisinin ise etmene karşı dayanıklı olduğu tespit etmişlerdir. Remesal ve ark. (2012) Akdeniz iklimine sahip bölgelerden, şeker pancarı bitkisinden elde ettikleri 459 *S. rolfsii* izolatları arasında 12 MUG tespit etmişlerdir. Elde ettikleri 12 MUG ile toplamda 11 kültür bitkisi ile yapmış oldukları çalışmada *S. rolfsii* izolatlarının nohut ve ayçiçeğinde yüksek oranda

virülens, pamuk, biber, domates ve karpuzda ise orta derecede virülens, şeker pancarı ve brokolide ise hafif duyarlı, buğday ve mısırda ise dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir.

Yapılan bu çalışmalar sonucunda *S. rolfsii* etmeninin birçok bitkide patojen olduğu tespit edilmiştir.

BÖLÜM 5
SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, Çanakkale İli Ayvacık ve Ezine ilçelerinden toplanan enfekteli fasulye bitkilerinden izole edilen *S. rolfsii* izolatlarını miselyal uyum gruplarına ayırmak, elde edilen uyum grupları arasında patojeniteleri yönünden farklılıklar olup olmadığını saptamak ve elde edilen izolatların morfolojik özelliklerini belirlemek amacıyla 2015-2016 yılları arasında yapılmıştır.

Fungal türler içinde popülasyonlar çeşitlilik göstermektedirler. Tür içinde mevcut genetik çeşitlilik her ne kadar eşeyli üreme ile bağlantılı olsa da, eşeyli üreme formu bilinmeyen türlerde de popülasyonda varyasyon olabileceği bilinmektedir. Tür içinde farklılığı sağlayan fenomen heterokaryon oluşumudur (Leslie, 1993).

Miselyal uyum grupları *S. rolfsii* popülasyonlarında farklılığı saptamada sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Punja ve Grogan, 1983; Harlton ve ark., 1995; Nalim ve ark., 1995; Cilliers ve ark., 2000; Okabe ve Matsumoto, 2000; Almeida ve ark., 2001; Punja ve Sun, 2001; Sarma ve ark., 2002; Adandonon ve ark., 2005). Daha önce belirtildiği gibi miselyal uyum çalışması, izolatlar arasındaki genetik farklılığı makroskobik olarak tespit etmekte kullanılan bir yöntemdir. İzolat çiftleri arasında hif interaksiyonu gözlemlenmiş ve hiflerin çarpıştığı bölgede kırmızı açık bir hat oluşmuş ise bu iki izolatın uyumsuz olduğunu, temas bölgesinde kırmızı bir hat gözlemlenmediğinde ise bu iki izolatın birbiri ile uyumlu olduğu not edilmiştir (Punja ve Grogan, 1983). Aynı MUG'da yer alan izolatların benzer genetik geçmişe sahip olduğu yapılan diğer moleküler analizler sonucunda desteklenmiştir (Kohn ve ark, 1991). Çalışmada ele alınan toplamda 27 izolat arasından uyum ya da uyumsuzluğun belirlenmesi açısından eşleştirmeler yapılmıştır. Elde edilen veriler ışığında 3 adet MUG tespit edilmiş olup izolat çiftlerinin kendileriyle eşleştirilmesi sonucunda ise her izolatın kendisi ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada ele alınan 27 izolatın toplamda 15 adeti MUG1 içerisinde yer almakta ve mevcut izolatların büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Bu izolatların genetik olarak benzer olduğu düşünülmektedir. MUG2 de 11 izolat mevcutken, MUG3'te ise tek izolat mevcut olup yalnızca kendisi ile uyumlu olduğu gözlenmektedir. Yapılan bu çalışmada etmenin tarla içerisinde, tarlalar arasında ve hatta aynı bitki dokusu üzerinden elde edilen izolatlar arasında bile çok büyük bir varyasyonun mevcut olabileceği görülmektedir. Popülasyonlar arasında tespit edilen bu varyasyonun muhtemelen uzak mesafelerden farklı yollarla

taşınabileceği veya eşeyli üreme sonucunda olabileceğini göstermektedir (Glass ve Kuldau, 1992).

İzolatların yapay besi ortamında geliştirilmesi sonucunda izolatların morfolojik özellikleri test edilmiştir. PDA üzerine ekimleri yapılan izolatların 2. gün sonunda cetvel yardımı ile koloni çapları ölçülmüş ve ölçümler sonucunda izolatların koloni çapları ortalaması 51,9 mm olarak hesaplanmıştır. En küçük koloni çapı değeri 31,6 mm, en büyük koloni çapı değerinin ise 64,7 mm çapında olduğu tespit edilmiştir. Bu da etmenin 2 gün içerisinde bile hızlı bir şekilde yayıldığını göstermektedir. Ayrıca uyum grupları arasında koloni çapları bakımından herhangi bir farklılık tespit edilmemiş olup, genellikle izolatların koloni çapları değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmüştür. Aynı MUG içerisinde bulunan izolatlarda ise koloni çapı değerlerinin farklı MUG'larda yer alan izolatlara oranla daha yakın olduğu görülmektedir.

Denemede ele alınan diğer morfolojik özellikler ise sklerot çapı ve sklerot sayısıdır. Genellikle sklerotlar enfeksiyondan yaklaşık 7 gün sonra misel yığınlarının birleşmesi ile meydana gelmekte ve 0,3 ile 2,0-3,0 mm ölçülerinde yuvarlak sklerotlar halini almaktadırlar (Punja ve Rahe, 1992). Yaptığımız çalışmada ise her izolatın farklı sklerot sayı ve çapına sahip olduğu tespit edilmiştir. İzolatlar arasında ölçülen sklerot çapı değerinin 1,29 mm olduğu tespit edilmiştir. Uyum grupları arasında ise sklerot çapı değerleri bakımından herhangi bir farklılık görülmemiştir. MUG1 içerisinde bulunan izolatların sklerot çapı değerleri 0,8-1,9 mm arasında değişirken, MUG2 izolatlarının ise ölçülen sklerot çapı değerleri genellikle 0,8 mm olarak hesaplanmıştır. MUG3'te yer alan Sr10a izolatı ise 0,9 mm sklerot çapına sahip olduğu elde edilmiştir. Bunun sonucunda ise MUG'lar arasında sklerot çapı değerlerinin birbirlerine yakın olduğunu, fakat aynı MUG içerisinde farklı sklerot çaplarının da olduğunu göstermektedir.

Ele alınan diğer parametre ise sklerot sayısıdır. Sklerot sayısı ortalamaları 26,7-479,7 arasında değişmektedir. Elde edilen uyum grupları arasında sklerot sayısı bakımından farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Aynı MUG içerisinde yer alan izolatların sklerot sayılarının birbirine daha yakın olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu bulgulara göre MUG2 ve MUG3 izolat sayıları bakımından birbirine yakındır, fakat MUG1'de ise diğer uyum gruplarına göre daha az sayıda sklerot sayısını içeren izolatlar mevcuttur.

Ekimden yaklaşık olarak 2 gün sonra ölçülen koloni çapları değerleri ve sklerot sayısı değerleri arasında negatif yönde korelasyon olduğu, koloni çapı ve sklerot çapı arasında ise pozitif yönde korelasyon olduğu, son olarak sklerot çapı ve sklerot sayısı

arasında ise negatif yönde korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Bu da sklerot sayısı arttıkça sklerot çapında azalma olduğunu göstermektedir.

Her MUG içerisinden rastgele seçilmiş 3 izolat patojenite testi için değerlendirmeye alınmıştır. Yapılan çalışmada toplamda 7 izolat ele alınmış ve her bir izolat için 3 tekerrür olacak şekilde izolatlar fidelerin kök boğazı kısmına inokule edilmiştir. Hiçbir izolatın verilmediği 3 adet kontrol grubu ile toplamda 24 saksı ele alınmıştır. Yapılan bu çalışmada fasulye fidelerinde inokulasyondan yaklaşık 3 gün sonra fidelerin kök boğazında kahverengi lezyonlar ile enfeksiyonların başladığı görülmüş ve yaklaşık 6-7 gün sonunda fidelerin yapraklarında solmalar ve fidelerin kök boğazı kısmından devrilmesi ile bitkinin tamamen öldüğü gözlemlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda ise her bir uyum grubu içerisindeki izolatlar arasında virülenslik yönünden hiçbir farklılık gözlemlenmemiş ve farklı uyum grubunda bulunan izolatlar arasında da herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir. İzolatların genel olarak fasulye bitkisinde yüksek oranda virülens olduğu saptanmıştır.

Genetik çeşitlilik, kimyasallara karşı mevcut dayanıklılık sorunlarını meydana getirmekte ve bu durum etmenle savaşımı bir hayli zorlaştırmaktadır. *S. rolfsii* 20. yy'ın ortalarında bazı fümigantlar ve toprağa uygulanan fungisitler ile kontrol edilmeye çalışılmıştır. Bu kimyasallar birçok durum için genellikle çok pahalı ve çok zehirli olması ve ayrıca fümigantların gelecekteki kullanımları çevresel kaygılar nedeniyle sınırlı tutulmaktaydı (Singh ve Dwivedi, 1991). Günümüzde ise bu hastalık etmeninin kontrolü yönünde birçok araştırma projesi, biyolojik ajanlar, kültürel değişiklikler, hastalık fizyoloji, beslenme çalışmaları ve direnç gibi daha birçok çalışma mevcut olmaktadır. Yapılan tüm araştırma ve çabalara rağmen, *S. rolfsii* diğer birçok toprak kökenli fungal etmen gibi, kontrol edilmesi zor bir patojen olmaya devam etmektedir. Etmenin geniş konukçu aralığı, hızlı misel gelişimi ve sklerotların uzun süre toprakta kalıcılığını sürdürebilme yeteneği sayesinde fungus büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Singh ve Dwivedi, 1991). Mevcut kayıpların artışı etmenin popülasyon genetiğinin araştırılması yönünden önemlidir. Fungus popülasyonlarındaki genetik araştırmalar fungusa karşı gerçekleştirilecek olan alternatif ve daha etkin mücadele yöntemleri için alternatif olacaktır.

Yapılan bu çalışma Dünya ve özellikle de Türkiye açısından yapılacak diğer çalışmalara faydalı olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda daha ayrıntılı çalışmalar yapılmalı, MUG analizleri çeşitli moleküler yöntemler ile desteklenmelidir. Patojenik açıdan ise elde edilen uyum grupları içerisinde bulunan izolatlar daha fazla bitki çeşidinde

denenmeli ve etmenin konukçu seçiciliği ile ele alınan bitki çeşidinde hastalık şiddetinin tespit edilmesi yönünden faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışması Çanakkale İli Ayvacık ve Ezine ilçelerinden elde edilen *S. rolfsii* izolatlarının patojenite değerlerinin ve morfolojik özelliklerinin belirlendiği ilk araştırma niteliğini taşımaktadır.

KAYNAKLAR

Adandonon A., Aveling T.A.S., Merwe N.A., Sanders G., 2005. Genetic Variation Among *Sclerotium* Isolates from Benin and South Africa, Determined Using Mycelia Compatibility and ITS rDNA Sequence Data. Australas Plant Pathol, 34: 19–25.

Akçin A., 1988. Yemeklik Tane Baklagiller. Selçuk Üniversitesi Yayınları 43. Ziraat Fakültesi Yayınları: 8. Konya. 377s.

Alexopoulos C.J., 1966. Einführung in die Mykologie. Gustav Fischer Verlag. Stutgard. 496 pp.

Almeida A., Abdelnoor R., Calvo E., Tessnman D., Yorinori J., 2001. Genotypic Diversity among Brazilian Isolates of *Sclerotium rolfsii.* Phytopathology, 149: 493-502.

Anonim, 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). http://www.fao.org. Erişim tarihi: 10.06.2016.

Anonim, 2015. Türkiye İstatistik Kurumu, http://www.tuik.gov.tr. Erişim Tarihi: 10.06.2016.

Anonim, 2016. https://en.wikipedia.org/wiki/Athelia_rolfsii. Erişim Tarihi: 05.06.2016.

Atallah Z.K., Larget B., Chen X., Johnson D.A., 2004. High Genetic Diversity, Phenotypic Uniformity and Evidence of Outcrossing in *Sclerotinia sclerotiorum* in the Columbia Basin of Washington State. The American Phytopathological Society, 94(7):737-742.

Aycock R., 1966. Stem Rot and Other Diseases Caused by *Sclerotium rolfsii* or The Status of Rolf's Fungus After 70 Years. North Carolina State University Agricultural Experiment Station. Tech. Bull. 174.

Balkaya A., 1999. Karadeniz Bölgesindeki Taze Fasulye (*Phaseolus Vulgaris* L) Gen Kaynaklarının Toplanması, Fenolojik ve Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Taze Tüketime Uygun Tiplerin Teksel Seleksiyon Yöntemi İle Seçimi Üzerinde Araştırmalar. Ondokuz Mayıs Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. 199s. Samsun, Türkiye.

Carpenter M.A., Frampton C., Stewart A., 1999. Genetic Variation in New Zealand Populations of The Plant Pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, Vol.27: 13-21.

Cilliers A.J., Herselman L., Pretorius Z.A., 2000. Genetic Variability Within and Among Mycelial Compatibility Groups of *Sclerotium rolfsii* in South Africa. Phytopathology, 90: 1026-31.

Cubeta M.A., Cody B.R., Kohli Y., Kohn. L.M., 1997. Clonality in *Sclerotinia sclerotiorum* on Infected Cabbage in Eastern North Carolina. Phytopathology, 87: 1000-1004.

Direk M., Bayramoğlu Z., Paksoy M., 2002. Konya İlinde Fasulye Üretiminde Karşılaşılan Sorunlar ve Çözüm Önerileri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16(30): 21-27.

Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H., 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Press, London, NewYork. 406pp.

Durman S.B., Menendez A.B., Godeas A.M., 2001. Mycelial Compatible Groups in *Sclerotinia sclerotiorum* from Agricultural Fields in Argentina. The XI th International *Sclerotinia* Workshop, 8-12 Temmuz 2001, İngiltere. s; 30-31.

Farr D.F., Bills G.F., Chamuris G.P., Rossman A.Y., 1989. Fungi on Plants and Plant Products in the United States. Amer. Phytopath. Soc., St. Paul, Minnesota.

Franke M., Brenneman T., Stevenson K., Padgett G., 1998. Sensitivity of Isolates of *Sclerotium rolfsii* from Peanut in Georgia to Selected Fungicides. Plant Dis, 82: 578-583.

Glass N.L., Kaneko I., 2003. Fatal Attraction: Nonself Recognition and Heterokaryon Incompatibility in Filamentous Fungi. Eukaryot Cell, 2: 1-8.

Glass N.L., Kuldav G.A., 1992. Mating Type and Vegetative Incompatibility in Filamentous Ascomycetes. Annual Review of Phytopathology, 30: 201-224.

Hambleton S., Walker C., Kohn L.M., 2002. Clonal Lineages of *Sclerotinia sclerotiorum* Previously Known from Other Crops Predominate in 1999-2000 from Ontario and Quebec. Can. J. Plant Pathol, 24: 309-315.

Harlton C.E., Levesque C.A., Punja Z.K., 1995. Genetic Diversity in *Sclerotium* (*Athelia*) *rolfsii* and Related Species. Phytopathology, 85: 1269-1281.

Kohn L.M., Carbone I., Anderson J.B., 1990. Mycelial Interactions in *Sclerotinia sclerotiorum*. Exp. Mycol, 14: 255-267.

Kohn L.M., Stasoviski E., Carbone I., Royers J., Anderson J.B., 1991. Mycelial Incompatibility and Molecular Markers Identify Genetic Variability in Field Populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. Phytopathology, 81: 480-485.

Kokub D., Azam F., Hassan A., Ansar M., Asad M.J., Khanum A., 2007. Comparative Growth, Morphological and Molecular Characterization of Indigenous *Sclerotium rolfsii* Strains Isolated from Different Locations of Pakistan. Pak. J. Bot., 39(5): 1849-1866.

Kown J.H., Park C.S., 2002. Stem Rot of Tomato Caused by *Sclerotium rolfsii* in Korea. Mycobiology, 30(4): 244-246.

Kull L.S., Pederson W.L., Palmquist D., ve Hartman G.L., 2004. Mycelial Compatibility Grouping and Aggressiveness *of Sclerotinia sclerotiorum*.Plant Disease, 88: 325-332.

Leslie J.F., 1993. Fungal Vegetative Compatibility. Annu Rev Phytopathol, 31: 127-150.

Mermer-Doğu D., 2008. Çanakkale Örtüaltında Yetişen Marullardan İzole Edilen *Sclerotinia sclerotiorum* Populasyonlarında Varyasyonların Saptanması, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisanas Tezi, Çanakkale.

Mermer-Doğu D., Mert-Türk F., Yıldırım İ., 2007. Çanakkale Merkez'de Lahanagillerde Beyaz Çürüklük Etmeni *Sclerotinia sclerotiorum*'un Yaygınlığının ve İzolatlar Arasındaki Varyasyonun Saptanması. II. Bitki Koruma Kongresi, Isparta. s 282.

Mert-Türk F., İpek M., Mermer D., Nicholson P., 2007. Microsatellite and Morphological Markers Reveal Genetic Variation Within a Population of *Sclerotinia sclerotiorum* From Oilseed Rape in Çanakkale Province of Turkey. Journal of Phytopathology.

Mert-Türk F., Mermer D., 2005. Çanakkale'de Örtüaltında Yetiştirilen Marullarda *Sclerotinia sclerotiorum*'un Yaygınlığının ve Miselyal Uyum Gruplarının Saptanması. MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 9(1-2): 1-8.

Mullen J., 2001. Southern Blight, Southern Stem Blight, White mold. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2001-0104-01.

Nalim F.A., Starr J.L., Woodard K.E., Segner S., Keller N.P., 1995. Mycelial Compatibility Groups in Texas Peanut Field Populations of *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology, 85: 1507-1512.

Okabe I., Matsumoto N., 2000. Population Structure of *Sclerotium rolfsii* in Peanut Fields. Mycoscience, 41: 145-148.

Onaran A., Yanar Y., 2004. "Tokat ve Amasya Yöresinde Seralarda Hıyarlarda Görülen Beyaz Çürüklük Etmeni *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary'un Yaygınlığı ve Miselyum Uyumluluk Gruplarının Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar." Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi. 27-29 Ağustos, 2007, Isparta, s. 283.

Punja Z.K., 1985. The Biology, Ecology and Control of *Sclerotium rolfsii*. Annual Review of Phytopathology, 23: 97-127.

Punja Z.K., Damiani A., 1996. Comparative Growth, Morphology and Physiology of three *Sclerotium* species. Mycologia, 88: 694-706.

Punja Z.K., Grogan R. G., 1983. Hyphal Interactions and Antagonism among Field Isolates and Single-Basidiospore Strains of *Athelia (Sclerotium) rolfsii*. Phytopathology, 73: 1279-1284.

Punja Z.K., Rahe J.E., 1992. *Sclerotium*. In: Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi, ed. L. L., Singleton, J. D. Mihail, C. M. Rush, 166-170. St. Paul, MN: American Phytopathological Society Press.

Punja Z.K., Sun L.J., 2001. Genetic Diversity Among Mycelial Compatibility Groups of *Sclerotiun rolfsii* (Teleomorph: *Athelia rolfsii*) and *Sclerotium delphinii*. Mycol Res, 105: 537–546.

Remesal E., Jordán-Ramírez R., Jiménez-Díaz R.M., NavasCortés J.A., 2012. Mycelial Compatibility Groups and Pathogenic Diversity in *Sclerotium rolfsii* Populations From Sugar Beet Crops in Mediterranean-Type Climate Regions. Plant Pathol. 61: 739-753.

Sarma B.K., Singh U.P., Singh K.P., 2002. Variability in Indian Isolates of *Sclerotium rolfsii*. Mycologia, 94: 1051–1058.

SAS Institue, 1999. SAS/STAS User's Guide. SAS. Inst. Inc. Carry NC.

Saupe S.J., 2000. Molecular Genetics of Heterokaryon Incompatibility in Filamentous Ascomycetes. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 64: 489-502.

Singh R.K., Dwivedi R.S., Ecologia, 1991, 6, 161 -171.

Şehirali S., 1988. Yemeklik Tane Baklagiller Ders Kitabı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. 1089, Ders Kitabı: 314, Ankara, 435s

Tok F.M., ve Kurt Ş., 2007. Akdeniz Bölgesi Örtü Altı Domates Bitkilerinden Elde Edilen *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary İzolatlarının Miselyal Uyum Grubu (MUG) ve Patojenite Yöntemleriyle Karakterizasyonu, Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi 27-29 Ağustos, 2007, Isparta, s. 284

Ülker M., Ceyhan E., 2006. Konya İlinde Fasulye Tarımında Karşılaşılan Problemler ve Çözüm Önerileri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(49): 73-82pp

Weber G.F., 1931. Blight of Carrots Caused by *Sclerotium rolfsii* with Geographic Distribution and Host Range of The Fungus. Phytopathology. 21: 1129-1140.

Yanar Y., 1997. Pathogenesis of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary on pepper (*Capsicum annum* L.). Doktora tezi. Ohio State Uni. 136 s.

Yaqub F., Shahzad S., 2005. Pathogencity of *Sclerotium rolfsii* on Different Crops and Effect of Inoculum Density on Colonization of Mungbean and Sunflower Roots. Pak. J. Bot., 37(1): 175-180.

Zandoki E., Szodi S., Turoczi G., 2006. Mycelial Compatibility, Aggressiveness and Cultural Characteristics of *Sclerotinia sclerotiorum*. Acta Agronomica Ovariensis. 48(1): 31-39.

Xie C., Huang C.H., Vallad G.E., 2014. Mycelial Compatibility and Pathogenic Diversity among *Sclerotium rolfsii* İsolates in The Southern United States. Plant Dis. 98: 1685-1694.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: İpek YAŞAR

Doğum Tarihi: 03.02.1988

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi: ÇOMÜ Fen Bilimleri Ens. Bitki Koruma Anabilim Dalı

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

İLETİŞİM

E-posta Adresi:ipekk_yasar@hotmail.com