

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

**KASTAMONU YÖRESİ ORMAN FİDANLIKLARINDA  
BULUNAN FUNGAL PATOJENLERİN BELİRLENMESİ**

**Mansour S.M. BARTOUH**

**Danışman  
Jüri Üyesi  
Jüri Üyesi  
Jüri Üyesi  
Jüri Üyesi**

**Prof. Dr. Sabri ÜNAL  
Prof. Dr. Erol AKKUZU  
Prof. Dr. Ömer KÜÇÜK  
Dr. Öğr. Üyesi Funda OSKAY  
Dr. Öğr. Üyesi Yalçın KONDUR**

**DOKTORA TEZİ  
ORMAN MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

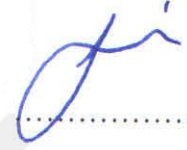
**KASTAMONU – 2019**

## TEZ ONAYI

**Mansour S. M. BARTOUH** tarafından hazırlanan “**Kastamonu Yöresi Orman Fidanlıklarında Bulunan Fungal Patojenlerin Belirlenmesi**”adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde savunulmuş ve **oy çokluğu** ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Orman Mühendisliği Ana Bilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Prof. Dr. Sabri ÜNAL  
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Erol AKKUZU  
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Ömer KÜÇÜK  
Kastamonu Üniversitesi



Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Funda OSKAY  
Çankırı Karatekin Üniversitesi



Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Yalçın KONDUR  
Çankırı Karatekin Üniversitesi



07/02/2019

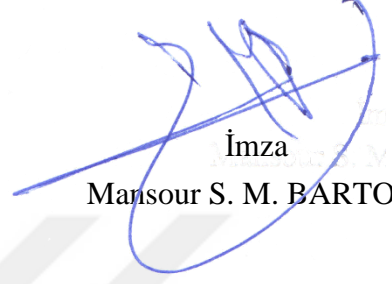
Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Hasbi YAPRAK



## TAAHHÜTNAME

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildirir ve taahhüt ederim.

  
İmza  
Mansour S. M. BARTOUH

# ÖZET

Doktora Tezi

## KASTAMONU YÖRESİ ORMAN FİDANLIKLARINDA BULUNAN FUNGAL PATOJENLERİN BELİRLENMESİ

Mansour S. M. BARTOUH  
Kastamonu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Orman Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sabri ÜNAL

Bu çalışmada Kastamonu yöresinde yer alan orman fidanlıklarında geniş ve iğne yapraklı fidan türlerinde hastalığa neden olan fungal patojenlerin varlığı belirlenmiş, teşhisleri morfolojik ve moleküler yöntemler yardımıyla gerçekleştirilmiş, izole edilen türler elde edildikleri konukçular üzerinde hastalık oluşturma yetenekleri açısından test edilmiştir. Çalışmalar Kastamonu Gököy, Daday ve Taşköprü olmak üzere toplamda 3 orman fidanlığından örneklenen, belirli semptomların görüldüğü 308 fidan üzerinde yapılmıştır.

Semptomatik fidanların doku ya da topraklarından yapılan izolasyonlar ve takip eden teşhis çalışmaları sonucunda, fidanlarda çeşitli semptomlara yol açan dört fungus türü belirlenmiştir: *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme* ve *Cylindrocarpon destructans*. Ayrıca aynı yöntemlerle saprofit olan *Aspergillus niger* ve biyolojik kontrol fungusu olarak da bilinen *Clonostachys rosea* da tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda *Fusarium* spp.'un fidanlıklardaki en yaygın fungus cinsi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, Daday fidanlığındaki *Abies nordmanniana* fidanları üzerinde *C. destructans*'ın varlığı ilk defa bu çalışmada tespit edilmiştir.

*Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme* ve *Cylindrocarpon destructans*'a ait izolatların patojenisiteleri, *Pinus nigra*, *Cedrus libani*, *P. sylvestris*, *Abies nordmanniana* ve *Pinus pinea* fidanları üzerinde test edilmiştir. Sonuçlar, tüm izolatların patojenik olduğunu ve test edilen konukçu bitkilerde geliştiklerini göstermiştir. Patojenisite testleri sonucunda, *Cylindrocarpon destructans*'ın fidanlar üzerinde hastalık oluşturma yeteneği en fazla olan fungus olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Orman fidanlıkları, fidan hastalıkları, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *Cylindrocarpon destructans*, morfolojik ve moleküler tanı, patojenisite, Kastamonu

**2019, 61 sayfa**  
**Bilim Kodu: 1205**

## ABSTRACT

PhD. Thesis

### DETERMINATION OF FUNGAL PATHOGENES IN FOREST NURSERY OF KASTAMONU REGION

Mansour S. M. BARTOUH  
Kastamonu University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Forest Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Sabri ÜNAL

**Abstract:** In this study, the presence of fungal pathogens of deciduous and coniferous seedlings in forest nurseries in Kastamonu region, were determined. The identification of these fungi was carried out with the help of morphological and molecular methods. Isolated fungal species were tested for their ability to cause disease on the hosts. The studies have been carried out on 308 seedlings exhibiting various symptoms sampled from 3 forest nurseries, including Kastamonu Gökçöy, Daday and Taşköprü.

The resulting fungal isolates were identified in detail using morphological and molecular techniques. As a result of the diagnostic studies, four fungi were identified as causal agents of the observed symptoms; *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme* and *Cylindrocarpon destructans*. Saprophytic fungi such as *Aspergillus niger* and *Clonostachys rosea* which is known as a biological control fungus were also isolated and identified in this study from symptomatic seedlings. *Fusarium* was found to be the most common fungal genus in the studied nurseries. Additionally, the presence of *C. destructans* on the *Abies nordmanniana* seedlings in the Daday nursery was first determined in this study.

Pathogenicity tests for *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme* and *Cylindrocarpon destructans* were performed on *Pinus nigra*, *Cedrus libani*, *Pinus sylvestris*, *Abies nordmanniana* and *Pinus pinea* seedlings. . The results showed that all isolates were pathogenic and developed in the host plants tested. As a result of the pathogenicity tests, *Cylindrocarpon destructans* was found to be the fungus most likely to cause disease on the seedlings. This fungus is followed by *Fusarium oxysporum* as the ability to cause disease in seedlings.

**Key Words:** Forest nursery, nursery diseases, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *Cylindrocarpon destructans*, morphologic and molecular identification, pathogenicity, Kastamonu

**2019, 61 pages**

**Science Code: 1205**

## TEŞEKKÜR

“Kastamonu Yöresindeki Kestane Ormanlarında Fungal Patojenlerin Belirlenmesi” isimli Doktora tez çalışmamda danışmanlığımı yaparak, sabırla ve bilgiyle çalışmalarında bana yardımcı olan, desteklerini bir an olsun üzerimden eksik etmeyen saygıdeğer hocam, Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Orman Müh. Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Sabri ÜNAL’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın şekillenmesinde bilgi ve tecrübesi ile yardımlarını ve değerli zamanını esirgemeyen değerli hocam Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Orman Müh. Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Erol AKKUZU’ya, Sayın Arş. Gör. Dr. Mertcan KARADENİZ’e ve Çankırı Karatekin Üniversitesi’nden değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Funda OSKAY’a şükranlarımı sunarım.

Tezin başlangıcından bitimine kadar özellikle fungusların morfolojik teşhisleri konusunda bilgileri ve tecrübelerinden faydalandığım Ankara Üniversitesi’ndeki değerli hocam Sayın Prof. Dr. Salih MADEN’e gönülden teşekkür ederim.

Jüri olarak tezime yaptığı katkılardan dolayı sayın hocalarım Çankırı Karatekin Üniversitesi Orman Fakültesi Orman Müh. Bölümü Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Yalçın KONDUR’a çok teşekkür ederim. Fikirlerinden yararlandığım sayın hocam Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Orman Müh. Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ömer KÜÇÜK’e de ayrıca çok teşekkür ederim.

Türk halkına ve Türkiye Cumhuriyeti hükümetine kabulleri ve misafirperverlikleri için en içten teşekkür, takdir ve saygılarımı ifade etmek isterim.

Son olarak Libya’daki annem ve babama, Türkiye’deki eşim ve çocuklarıma duaları ve gösterdikleri sabır için teşekkür ederim.

Mansour .S. M. BARTOUH  
Kastamonu, Şubat 2019

## İÇİNDEKİLER

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| ÖZET.....  | iv           |
| ABSTRACT.....  | v            |
| TEŞEKKÜR.....  | vi           |
| İÇİNDEKİLER .....  | vii          |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....   | ix           |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....   | x            |
| TABLolar DİZİNİ .....  | xi           |
| HARİTALAR DİZİNİ .....   | xii          |
| FOTOĞRAFLAR DİZİNİ .....   | xiii         |
| 1. GİRİŞ .....   | 1            |
| 2. LİTERATÜR ÖZETİ.....  | 4            |
| 2.1. Dünyada Orman Fidanlıklarında görülen fungal hastalık etmenlerinin<br>belirlenmesine yönelik araştırmalar .....     | 4            |
| 2.2. Türkiye’ de Orman Fidanlıklarında görülen fungal hastalık<br>etmenlerinin belirlenmesine yönelik araştırmalar ..... | 11           |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM .....  | 14           |
| 3.1. Materyal.....   | 14           |
| 3.1.1. Araştırma Alanları .....  | 14           |
| 3.1.1.1. Gököy Orman Fidanlığı.....  | 15           |
| 3.1.1.2. Daday Orman Fidanlığı .....   | 15           |
| 3.1.1.3. Taşköprü Orman Fidanlığı .....  | 16           |
| 3.2. Yöntem .....  | 17           |
| 3.2.1. Fidanlık Çalışmaları.....   | 18           |
| 3.2.2. Laboratuvar Çalışmaları .....   | 20           |
| 3.2.2.1. Bitki Dokularından ve Toprakta Fungusların İzolasyonu .....   | 20           |
| 3.2.2.2. Fungusların Morfolojik ve Moleküler Teşhisi .....   | 23           |
| 3.2.3. Patojenisite Testleri .....   | 24           |
| 3.3. İstatistiksel Analiz .....  | 26           |
| 4. BULGULAR.....   | 27           |
| 4.1. Fidanlardan Elde Edilen Fungal Patojenlerin Teşhisi .....   | 27           |

|  |    |
|--|----|
| 4.1.1. Fidanlardan ve Toprak Örneklerinden İzole Edilen Fungusların<br>Morfolojik Tanısı ..... | 29 |
| 4.1.1.1. <i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht. emend. Snyder & Hansen, (1824)                    | 29 |
| 4.1.1.2. <i>Aspergillus niger</i> van Tieghem 1867 .....                                       | 30 |
| 4.1.1.3. <i>Cylindrocarpon destructans</i> (Zinssm.) Scholten, (1964).....                     | 31 |
| 4.1.1.4. <i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc., (1881) .....                                    | 31 |
| 4.1.1.5. <i>Fusarium moniliforme</i> J. Sheld. (1904).....                                     | 32 |
| 4.1.1.6. <i>Clonostachys rosea</i> f. <i>rosea</i> (Link) Schroers, (1999) .....               | 32 |
| 4.1.2. Fidanlardan ve Toprak Örneklerinden İzole Edilen Fungusların<br>Moleküler Tanısı .....  | 33 |
| 4.1.2.1. <i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht. emend. Snyder & Hansen, (1824)                    | 33 |
| 4.1.2.2. <i>Aspergillus niger</i> van Tieghem 1867 .....                                       | 34 |
| 4.1.2.3. <i>Cylindrocarpon destructans</i> (Zinssm.) Scholten, (1964).....                     | 35 |
| 4.1.2.4. <i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc., (1881) .....                                    | 36 |
| 4.1.2.5. <i>Fusarium moniliforme</i> J. Sheld. (1904).....                                     | 37 |
| 4.1.2.6. <i>Clonostachys rosea</i> f. <i>rosea</i> (Link) Schroers, (1999) .....               | 38 |
| 4.2. Patojenisite Denemesine Ait Bulgular .....  | 39 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....   | 45 |
| KAYNAKLAR .....  | 54 |
| ÖZGEÇMİŞ .....   | 61 |



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|      |  |
|------|--|
| PDA  | Patates Dekstroz Agar                    |
| MUA  | Mısır Unu Agar                           |
| DNA  | Deoxyribo Nükleik Asit                   |
| rRNA | Ribozomal Ribo Nükleik Asit              |
| PCR  | Polimeraz Zincir Tepkimesi               |
| ITS  | İç transkript bölgesi                    |
| NCBI | Ulusal Biyoteknoloji Bilgileri Merkezi   |
| SPSS | Sosyal Bilimler İçin İstatistiksel Paket |
| TTT  | Tamamen Tesadüfi Taslak                  |
| OGM  | Orman Genel Müdürlüğü                    |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Şekil 3.1. Çalışmada izlenen aşamalar .....   | 17           |
| Şekil 3.2. Toprak örneklerinin seyreltme yöntemi .....  | 22           |
| Şekil 4.1. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un DNA dizisi .....   | 33           |
| Şekil 4.2. Gen bankasındaki diğer funguslar ile <i>Fusarium oxysporum</i> 'a ait izolatın karşılaştırılması .....         | 34           |
| Şekil 4.3. <i>Aspergillus niger</i> 'in DNA dizisi .....  | 34           |
| Şekil 4.4. Gen bankasındaki diğer funguslar ile <i>Aspergillus niger</i> 'e ait izolatın karşılaştırılması .....          | 35           |
| Şekil 4.5. <i>Cylindrocarpon destructans</i> 'ın DNA dizisi .....   | 35           |
| Şekil 4.6. Gen bankasındaki diğer funguslar ile <i>Cylindrocarpon destructans</i> 'a ait izolatın karşılaştırılması ..... | 36           |
| Şekil 4.7. <i>Fusarium solani</i> 'nin DNA dizisi .....   | 36           |
| Şekil 4.8. Gen bankasındaki diğer funguslar ile <i>Fusarium solani</i> 'ye ait izolatın karşılaştırılması .....           | 37           |
| Şekil 4.9. <i>Fusarium moniliforme</i> 'nin DNA dizisi .....  | 37           |
| Şekil 4.10. Gen bankasındaki diğer funguslar ile <i>Fusarium moniliforme</i> 'ye ait izolatın karşılaştırılması .....     | 38           |
| Şekil 4.11. <i>Clonostachys rosea</i> 'nın DNA dizisi .....   | 38           |
| Şekil 4.12. Gen bankasındaki diğer funguslar ile <i>Clonostachys rosea</i> 'ya ait izolatın karşılaştırılması .....       | 39           |

## TABLolar DİZİNİ

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Tablo 3.1. Fidanlıklar ve örneklenen fidan türleri .....   | 19           |
| Tablo 4.1. Fidan türleri itibarıyla fungus izolasyonu yapılan örnekler.....                          | 28           |
| Tablo 4.2. Her bir fidanlıktan alınan fidan örnekleri ve bu fidanlardan izole edilen funguslar ..... | 29           |
| Tablo 4.3. Kruskal – Wallis testi sonuçları .....  | 39           |
| Tablo 4.4. Lezyon boyları .....  | 40           |
| Tablo 4.5. Kruskal Wallis (H) Testi Ortalama Derece Tablosu.....                                     | 41           |
| Tablo 4.6. <i>Pinus nigra</i> 'ya göre homojen alt kümeler .....                                     | 42           |
| Tablo 4.7. <i>Cedrus libani</i> 'ye göre homojen alt kümeler .....                                   | 43           |
| Tablo 4.8. <i>Pinus sylvestris</i> 'e göre homojen alt kümeler .....                                 | 43           |
| Tablo 4.9. <i>Abies nordmanniana</i> 'ya göre homojen alt kümeler.....                               | 44           |
| Tablo 4.10. <i>Pinus pinea</i> 'ya göre homojen alt kümeler .....                                    | 44           |

## HARİTALAR DİZİNİ

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| Harita 3.1. Çalışma alanlarını gösteren harita.....          | 14           |
| Harita 3.2. Gölköy orman fidanlığını gösteren harita .....   | 15           |
| Harita 3.3. Daday orman fidanlığını gösteren harita.....     | 16           |
| Harita 3.4. Taşköprü orman fidanlığını gösteren harita ..... | 17           |



## FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

|   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| Fotoğraf 3.1. Arazi çalışmalarından ve toplanan hastalık belirtisi gösteren örneklerden görüntüler.....   | 18           |
| Fotoğraf 3.2. Plastik torbalara yerleştirilen fidan ve toprak örnekleri .....   | 20           |
| Fotoğraf 3.3. Bitki dokularından fungusun izolasyonu a-b) Besi ortamı içeren petri kaplarının hazırlanması c) Hastalıklı dokulardan petri kaplarına izolasyon yapılması.....              | 21           |
| Fotoğraf 3.4. Toprak örneklerinin seyreltme işlemi .....  | 22           |
| Fotoğraf 3.5. DNA ekstraksiyonunda kullanılan kit ve ekstraksiyon işlemleri ..  | 24           |
| Fotoğraf 3.6. Patojenisite denemesinin aşamaları. a) Kabuk delici yardımıyla fidan gövdesinde yara açılması b) Fidanların enfekte edilmesi c) Yaranın üstünün parafilm ile sarılması..... | 25           |
| Fotoğraf 3.7. Patojenisite denemesinin sonuçlandırılması. a) Fidanların dip kısmından kesilmesi b) Lezyon üzerindeki kabuğun soyulması c) Lezyon boylarının ölçülmesi .....               | 25           |
| Fotoğraf 4.1. <i>Fusarium oxysporum</i> a) Besi ortamındaki misel gelişimi b) Işık mikroskobunda sporların görüntüsü .....  | 30           |
| Fotoğraf 4.2. <i>Aspergillus niger</i> a) Besi ortamındaki misel gelişimi b) Işık mikroskobunda sporların görüntüsü .....   | 30           |
| Fotoğraf 4.3. <i>Cylindrocarpon destructans</i> a) Besi ortamındaki misel gelişimi b) Işık mikroskobunda sporların görüntüsü .....  | 31           |
| Fotoğraf 4.4. <i>Fusarium solani</i> a) Besi ortamındaki misel gelişimi b) Işık mikroskobunda sporların görüntüsü .....   | 31           |
| Fotoğraf 4.5. <i>Fusarium moniliforme</i> 'nin ışık mikroskobunda sporların görüntüsü .....   | 32           |
| Fotoğraf 4.6. <i>Clonostacys rosea</i> 'nın besisi ortamındaki misel gelişimi .....   | 32           |

## 1. GİRİŞ

Ormanlar, Türkiye yüzölçümünün yaklaşık%27.6'sını oluşturan 22 milyon hektarlık bir alanı kapsamaktadır. Bu alanın %50.1'i kalite ve verim bakımından iyi durumda ve yüksek verimliliğe sahiptir. Türkiye'de 2006 ve 2010 yılları arasında en kapsamlı ağaç dikim programları uygulanmış ve 2009 yılında Türkiye dünyanın en çok ağaçlandırma yapan üçüncü ülkesi haline gelmiştir. Son yıllarda uygun potansiyel hazine arazilerinde gerçekleştirilen başarılı ağaçlandırma çalışmaları, orman içi ve çevrelerinde yaşayan insanların şehre göç etmeleri sonucu sahip oldukları tarım arazilerinde yeniden orman ekosisteminin oluşması gibi nedenlerle Türkiye'nin orman alanında artış görülmüştür (Mayer-Aksoy 1998; Anonim, 2017).

Nitelik ve nicelik olarak ormanların geliştirilmesi ve korunabilmesi için büyüme ve ağaçlandırma koşullarının iyileştirilmesine yardımcı olmak ve bunun için sağlıklı ve kaliteli fidan üretimi sağlamak, ayrıca bu fidanların taşınacakları ya da dikilecekleri alanlarda belirli koşulları hazır hale getirmek şarttır.

Fidanlıklarda üretilen fidanların, dalları, gövdeleri ve kökleri hastalık ve zararlılar nedeniyle kolayca enfekte olurlar ve üretimleri azalır. Fidanlıklarda mevcut olan çevre koşulları, hastalıkların gelişip yayılmasına olanak sağlar. Yüksek nem ve düşük su drenajı, bu koşullarla uyumlu patojenler için uygun bir ortam hazırlar. Bu durumda, doğal olarak yetiştirilecek fidanların kalitesi ve miktarı ağaçlandırma başarısını olumsuz yönde etkileyecektir; dahası bu fidanlar aracılığıyla hastalıklar yeni alanlara aktarılmış olur. Orman fidanlıklarında, virüs, bakteri, fungus ve nematod gibi patojenlerin sebep olduğu elliden fazla hastalık bilinmektedir (Agrios, 1988; Lilja ve diğ.,1992). Bu organizmalar dünya genelinde orman fidanlıklarında ciddi sorunlar yaratmaktadır ve bu hastalıkların en önemli sebebi, fidanlıklarda yaygın olarak bulunan funguslardır. Bu fungusların varlığı ağaçlandırma sürecinin başarısını olumsuz yönde etkilemektedir (Özdamar, 1999).

Genel olarak, funguslar orman fidanlıklarındaki fidanlarda doğrudan ve dolaylı olarak kök çürüklüğüne ve dolayısıyla da büyük ekonomik kayıplara neden olurlar.

Elde edilen türlerin teşhis edilmesi, organizmaların neden olduğu hastalıkların kontrolü için gereklidir (Zhang ve diğ., 2007).

Fungusların genel olarak tanımlanmasında kullanılan temel standartlardan biri, besi ortamında miselyum büyüme formunun morfolojik tanımıdır ve mikroskop altında eşeyli ve eşeysiz sporlara bakılmasıdır. Bununla birlikte günümüzde, DNA temelli moleküler yöntemler fungus tanısında daha fazla kabul gören, hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. DNA dizileri içindeki ITS bölgesi, farklı fungus tiplerinde farklı formları olan bir bölgedir. Bu bölgenin dizi analizi, fungusları doğru şekilde tespit edilmesi ve tanımlanması için günümüzde en önemli metottur. ITS dizisindeki varyasyon, fungal tiplerin tanımlanmasından daha önemli olarak kabul edilir; ayrıca PCR tekniği bu varyasyonu doğrudan doğruya değerlendirebilir ve fungusun konukçu bitkilerden izole edilmesine gerek kalmadan, aynı ailedeki birçok patojenik fungusun belirlenmesini mümkün kılar (Moukhamedov ve diğ., 1994).. Bu çalışmada, fungusların tanımlanmasında DNA tekniği kullanıldı; ITS dizisi belirlenmiş aynı zamanda Gen Bankası'nda benzerlikler gösteren izolatlara benzerlik yüzdesi verilmiştir.

Günümüzde morfolojik özellikler, morfolojik özellikleri birbirine benzer fakat farklı olan fungal türlerinin tanımlanmasında ve belirlenmesinde özellikle de miselyumun büyüme şekli veya rengi, eşeyli veya eşeysiz spor formları gibi hususlarda yeterli değildir. Teşhis ve tanımlama çalışmaları için tek başına ITS verisini kullanmak da yeterli değildir; çünkü ITS dizisi sonucu elde edilen dizi verileri farklı tipler için benzerlik gösterir, bu durumlarda elde edilen sonuçları desteklemek için fungus türlerinin morfolojik tanısı da gereklidir (Jung ve diğ., 2005; Belbahri ve diğ., 2006; Jung ve Bugrees, 2009).

Türkiye'deki yedi coğrafi bölgede 3264 hektarlık alana (buna ağaçlandırma yapılan bölgeler de dahildir) yayılan 131 orman fidanlığında, her yıl ortalama 300 milyon fidan üretilmektedir (Anonim, 2017). Kastamonu Orman Bölge Müdürlüğünde dört orman fidanlığı bulunmaktadır: Gököy fidanlığı, Daday fidanlığı, Taşköprü fidanlığı ve Sinop fidanlığı. Bu fidanlıkların tümü, orman ağaç fidanlarının yanı sıra pek çok farklı türde de fidan üretirler.

Akıllı ve diğ. (2010), Çankırı, Düzce (Akkoca), Zonguldak, Sivas, Ordu, Bursa, Eskişehir, Kastamonu (Gölköy ve Taşköprü) ve Artvin illerinde bulunan orman fidanlıklarında yaptıkları çalışmalarda bu fidanlıklarda üretilen çeşitli orman ağacı fidanları ile ilişkili çok sayıda fungus tespit etmiştir. Bununla birlikte, , özellikle de Kastamonu yöresi fidanlıklarında tespit edilen fungusların patojenisiteleri belirlenmemiştir.

Bu çalışma, Kastamonu bölgesinde bulunan ve yukarıda adı geçen orman fidanlıklarında görülen funguslar ve bunların patojenisitelerini belirlemek amacı ile yürütülmüştür.

Bu çalışma kapsamında hastalık belirtisi gösteren fidanların hastalıklı kısımlarından ve topraktan izole edilen funguslar morfolojik ve moleküler yöntemler yardımı ile teşhis edilmeye çalışılmış ve bu fungusların hastalık oluşturma yeteneklerini belirlemek amacı ile patojenisite testleri gerçekleştirilmiştir.



## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1. Dünyada Orman Fidanlıklarında görülen fungal hastalık etmenlerinin belirlenmesine yönelik araştırmalar

Crandall ve diğ. (1945), ABD'de kestane ve çam fidanlarında *Phytophthora cinnamomi*'nin neden olduğu kök hastalıkları üzerine çalışmış ve bu fungus benzeri organizmanın yirmi tür orman ağacı fidanında enfeksiyona neden olduğunu belirlemişlerdir.

Skilling ve Nicholls (1975), *Pinus resinosa* ve *P. sylvestris* fidanlarında ilk kez 1966 yılında ortaya çıkan, Kuzey Amerika'da yakın zamanda daha sık görülen *Lophodermium* (iğne yaprakların dökülmesi) üzerine çalışmışlardır. Kuzey Amerika genelinde fidanlıklarda Noel ağacı olarak yetiştirilen enfekte olmuş fidanların dağıtılması sonucunda, İskoç çamı ormanlarında ciddi bir iğne dökümü sorunu meydana gelmiştir.

Couteaudier ve Alabouvette (1981) ile Bloomberg (1981) dünya genelinde çam fidanlarında yaygın hastalıkların tanımı üzerine çalışmışlardır. *Fusarium*'un kök çürüklüğüne neden olduğu tespit etmişlerdir.

James (1983) ve Landis (1976), *Fusarium moniliforme* J. Sheld. fungusu üzerine yürüttükleri araştırmalarında bu fungusun ağaçların ve fidanların ölümüne yol açtığını ortaya koymuşlardır.

Graham ve Linderman (1983) en yaygın olan ve bütün orman ağaçları ve fidanlarını istila etme potansiyeline sahip olan *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyder & Hansen ve *F. solani* (Mart.) Sacc. üzerine çalıştılar.

Sharma ve diğ. (1984) Kerala eyaletinde yaptıkları araştırmalarında, okaliptüs ağaçlarının fidanlarını etkileyen hastalıklar açısından, en yaygın hastalıkların çökerten hastalığı, yanma, fidan yanması, ağaç kanseri ve yaprak lekeli olduğunu tespit etmişlerdir. Okaliptüs ağaçlarının fidanlarında saptanan fungusların izolasyonu

ve tanımlanmasıyla, *Rhizoctonia solani* ve *Pythium* spp.'nin majör ve ciddi patojenler olduğunu bulmuşlardır.

James (1985 a,b,c) hastalık tanısı için en önemli belirtilerin fungal oluşumu ve varlığı olduğuna işaret etmiştir. Sarı veya turuncu, orak şeklinde sporların (sporodochia) varlığı kanıt olabilir. Kış döneminde funguslar köklerde ve organik maddeler içerisinde tomurcuklanarak (klamidospor) hayatta kalabilir.

Sharma ve diğ. (1985) Kerala'da patojenlerin neden olduğu hastalıklar üzerine çalışmışlar ve hastalıklı fidanlar üzerinde ortaya çıkan semptomlar rapor edilmiştir. Bunlara sebep olan patojenler izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Çalışma aynı zamanda bazı fungusitlerin kullanımı gibi farklı kontrol yöntemleri de sunmuştur.

James (1985a) *Fusarium avenaceum* fungusunun fidanların kökünde kök çürüklüğüne ve önemli ekonomik kayıplara yol açtığını belirtmiştir. Yapılan bu çalışma ile konifer ağaçların *Fusarium* enfeksiyonuna en çok duyarlı olduğu ve yüksek sıcaklık ve kuraklığın hastalığın yayılma oranını ve fidanlarda hastalık oluşumunu arttıran faktörler arasında olduğu ortaya koyulmuştur. Bu hipotezin test edilmesi amacıyla, ABD fidanlıklarında Douglas çam fidanları üzerinde deneyler yapılmış ve fidanların *Fusarium* ile enfekte oldukları görülmüştür.

Crous ve diğ. (1991) dünya çapında yaygın olarak yayılan *Cylindrocladium* ve *Cylindrocladiella* türleri üzerine çalıştılar. Bu funguslar birçok orman ağaçlarında ciddi hastalıklara neden olur ve ayrıca orman fidanlıklarında da yaygındırlar, ayrıca çam ağaçları ve okaliptüs ağaçlarını da etkilemektedirler.

Ocamb ve Juzwik (1995) ve Sarhan ve diğ. (1989) *Pinus strobus* ve *P. sylvestris* fidanlarında kök çürüklüğü hastalığının belirtilerini gösteren köklerinden *Fusarium oxysporum*, *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. proliferatum*, *F. sambucinum*, *F. solani* ve *F. sporotrichioides* funguslarının izole edildiğini belirtmişlerdir.

Erwin ve Ribeiro (1996), fidanlıklarda yetiştirilen fidanların iyi besin ve suya sahip olduklarını, ancak çeşitli hastalıklara ve kök çürüklüğüne yatkın olduklarını belirtmiştir. Ağaçların bodur kalması, zayıf bir büyüme veya başka enfeksiyonlarda

görüldüğü gibi hastalığın semptomları açık ve net bir şekilde ortaya çıkabilmektedir. Burada topraktan alınan kökler yakından incelendiğinde, kök kıllarındaki çürüklüğün belirgin olduğu ve ana kökte de enfeksiyon belirtileri olduğu gözlenmiştir. Enfeksiyonlu bölgeler üzerinde yapılan testler, sarımsı kahverengi, nekroz varlığını ve koyu kahverengi mutasyonların varlığını göstermiştir. Ayrıca enfekte olan köklerin etrafında fungus varlığı gözlemlenmiş ve hastalıklı köklerdeki enfekte olmuş köklerdeki çatlaklardan fungusların içeri girdiği tespit edilmiştir.

Tzvi ve diğ. (1998) orman ağaçları üzerinde genetik dönüşümler için biyoteknolojinin çalışılması ve gelecekte ormanlara uygulanması gerektiğini; orman ağaçlarının günlük hayatta yaygın olarak kullanılmasının ve var olan tedrici bozulmanın orman fidanları ve ağaçları için yoğun şekilde uygulanması gereken genetik çalışmalar ve moleküler ıslah yoluyla yetiştirme ve geliştirme programlarına duyulan ihtiyaca daha fazla vurgu yaptığını iddia etmektedirler.

Mısır'da orman fidanlıkları üzerine yapılan bir çalışmada El-Settawy (1999) fidanların ölümüne yol açan bir hastalığa işaret etmiş, bu hastalığın semptomlarının yan dalların ölümü, renk değişikliği ve ikincil köklerin ölümünü içerdiğini belirtmiştir. Patojenite testlerini gerçekleştirdikten ve patojeni klasik ve moleküler yöntemlerle tanıladıktan sonra *Pinus* spp. ve *Populus* spp. fidanlarından izole edilerek, *Fusarium solani*'nin hastalığa neden olduğu bulunmuştur.

James ve Perez (1999) tarafından ABD'de Rocky Dağları orman fidanlıklarında yetiştirilen iğne yapraklı ağaçlardaki *Fusarium* türlerini tespit etmek için yapılan çalışmada, *Fusarium proliferatum* ve *F. oxysporum*'un enfekte olan fidanlarda hastalığa neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca bu fungusların gymnospermae fidanları üzerinde enfeksiyonun temel ve en yaygın nedeni oldukları belirtilmiştir.

Louie ve diğ. (2000); Alexandrakis ve diğ. (1998); Reischl ve Lohmann (1997); Bruns ve diğ. (1991); Cooley (1992) gibi çalışmalarda görüldüğü üzere, PCR yoluyla DNA dizilerinin çoğaltılması, fungusların teşhis ve tespitinde yaygın bir uygulama sahası bulmuştur.

Baldauf ve diğ. (2000); Erwin ve Ribeiro (1996) *Pytophthora* spp. türlerinden bahsetmiştir ve bu fungusun fidanların ve ağaçlarının hastalıklarının ana sebebi olduğunu bildirmektedir. Bu sadece *Pytophthora* türleri ile sınırlı değildir, Oomycota grubu da fidanlar ve orman ağaçları için patojenik olan pek çok türü içermektedir. Bu noktada yapılan çalışmaların morfolojik olarak bu türler arasında var olan benzerlikler nedeniyle, farklı fungal türleri tanımlamak için moleküler teknikleri kullandıklarını belirtmek gerekmektedir.

Feyera ve diğ. (2002) genel olarak tropik bölgelerde ormanların yenilenmesi ve orman fidanlıklarından alınan fidanların kullanılması hakkında şunları söylemektedirler: fidanların rejenerasyon veya dikim için kullanılmasında dikkatli olunmalıdır. Bunun, bir bölgeden diğerine hastalıkların aktarılmasına yol açması, dolayısıyla ağaçlandırma sürecini başarısızlığa uğratması ve ekonomik kayıplara neden olması çok olasıdır.

Dick ve Dobbie (2002) tarafından Yeni Zelanda'da çam fidanları üzerinde yapılan çalışmada, kök çürüklüğü belirtileri gösteren fidanlarda, çam ağaçlarında görülen bu durumun başlıca sebebi olan *Fusarium subglutinas*'ın yaygın olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, *F. oxysporum* ve *F. solani*'nin daha az yaygınlıkta olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar hastalığın belirtilerinin ortaya çıkmasının orman fidanlıklarında *Fusarium* türlerinin varlığının bir işareti olduğunu doğrulamışlardır.

Alexopolous ve diğ. (2004), bitkiler için patojenik fungusların sınıflandırılmasını ele almışlardır. Bu fungus ailesinin en önemlileri arasında yer alan Pythiaceae ailesinin türleri genellikle sulama suyunda mevcuttur. Bu fungus ailesine *Phytophthora* spp. ve *Pythium* spp. türleri dahildir, bunlar fidanlar ve orman ağaçları için en önemli patojenlerdir.

Rai ve Mamatha (2005), Karnataka eyaletindeki orman fidanlıklarında fidanları etkileyen hastalıklar üzerine çalışmışlar, bir kısım önemli orman ağaçlarının fidanları bu hastalıktan etkilendiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışma, iyi bir yönetimin önemine işaret etmekte olup enfeksiyon oranlarının azaltılmasına yardımcı olmayı amaçlamaktadır. Fidanları etkileyen hastalıklardan dördü, solgunluk ve yaprak

lekeleri gibi fidanlarda görülen semptomlarla tanımlanmış ve bu hastalıklarla mücadele etmek için kimyasal kontrol ve biyolojik kontrol gibi çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Ayrıca bitki ekstraktları kontrol amaçlı olarak kullanılmıştır. Bitki ekstraktları kullanılarak sağlanan kontrolün, biyolojik ve kimyasal kontrol (fungisitlerin kullanımı) ile karşılaştırıldığında daha iyi olduğu gösterilmiştir.

Kanyi ve diğ. (2005), ekili/dikili alanlardaki artışın bir sonucu olarak, haşere ve hastalık riskinde (en önemlisi funguslar olmak üzere) artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca bu patojenlerin yayılması ve etkileri sadece orman ağaçlarının dikilmiş olduğu ülkeleri değil, komşu ülkeler için de risk taşımaktadır. Bu alanda yapılmış önceki çalışmalar dikkate alınarak, *Botryosphaeria*, *Cylindrocladium*, *Coniothyrium*, *Mycosphaerella*, *Clrysoportha* ve *Phytophthora* gibi sıklıkla Çam, Meşe, Ardıç ve Okaliptüs gibi ağaçlara zarar veren funguslar görülmüştür. Sayılan fungal türler orman ağaçlarında solgunluk, kök çürüklüğü ve kanser gibi hastalıklara yol açabilmektedirler. Bu sayılan hastalıkların hepsi önemli ekonomik kayıplara yol açma potansiyeline sahiptir.

Vasaitis ve diğ. (2008) Fennoscandia bölgesindeki orman ağaçları üzerine çalışmış olup budama işleminin önemini vurgulamışlardır. Çünkü bu uygulama özellikle hastalığın yaygın olduğu bölgelerde kök çürüklüğüne yol açan fungal enfeksiyonları azaltmaktadır. Araştırmacılar budama işlemlerinin büyüme ve üretkenliği arttırdığını; dahası budama sonucu ortaya çıkan parçaların yeni fidanların üretilmesinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Fransa'da Desprez-Loustau ve diğ. (2010) tarafından yapılan ve iklim değişikliğinin ve patojenik fungusların aktivitesinin simüle edildiği çalışmada, fungus türlerinin ilerdeki iklim değişikliklerine nasıl tepki vereceği anlaşılmaya çalışılmıştır. Çam, Kestane ve Meşe ağaçları gibi orman ağaçlarında çeşitli hastalıklarına neden olan *Biscogniauxia*, *Melampsora*, *Mycosphaerella*, *Phytophthora*, *Sphaeropsis* gibi fungus türleri için, düşük yağışların bu patojenlerin etkisinin azalmasına neden olacağını bulmuşlardır.

Lilja ve diğ. (2010) Finlandiya orman fidanlıklarında yetiştirilen ağaç türlerinin %99'unu oluşturan *Picea abies*, *Pinus sylvestris* ve *Betula pendula* fidanlarının önce plastikten yapılmış seralarda belli kaplarda, daha sonra dış mekanlarda yetiştirildiğini belirtmektedir. Kozalaklı fidanlardaki ana hastalıklar *Scleroderris* kanseri (*Gremmeniella abietina*), *Sirococcus* yanığı ve ağaç kanseri (*Sirococcus conigenum*), kar yanığı (*Herpotrichia juniperi* ve *Phacidium infestans*) ve (iğne yapraklı ağaçlarda) yaprak dökülmesi (*Lophodermium seditiosum* ve *Meria larisis*) 'dir. Aynı zamanda gri küf (*Botrytis cinerea*) ve huş ağacı pası (*Melampsorium betulinum*) funguslarla kontrol altına alınacak hastalıklardandır. Son yıllarda *Scleroderris* kanseri, 2000 yılından beri Finlandiya fidanlıklarında üretilen en yaygın tür olan Norveç ladini üzerinde ciddi bir sorundur. Kaplarda yetiştirilen ladin ve çamlarda kök ölümü (*Rhizoctonia* sp.) 1990'larda bir sorundu. Günümüzde hastalık, hijyen ve kültivasyon uygulamalarındaki gelişmeler nedeniyle modern fidanlıklarda çok daha seyrek hale gelmiştir. 1991'den bu yana *Phytophthora cactorum*'un neden olduğu kök lezyonları ve tepe kuruması huş ağacı üzerinde bir sorun olmuştur. Devam eden iklim değişikliği, pas ve toz küflerinin yanı sıra yaprakları enfekte eden diğer fungusları da etkilemiştir. Tüm hastalıklar yüksek miktardaki yağışlardan, ayrıca sıcak ve uzun sonbaharlardan kazanç sağlar. Aynı nedenlerle kışın saklanan fidanların gri küflere karşı püskürtmeye ve ilaçlanmaya ihtiyacı vardır. Kısa gün uygulaması sırasında fungal enfeksiyonları da mümkündür, bu, yaz ve sonbahar ekimleri için gereklidir; dondurucu soğuklar için dondurucuda saklamaya ek olarak faydalı bir adımdır. Yetiştiriciler, fidanlık yetiştirme alanlarından bitki döküntülerinin uzaklaştırılması ve kapların sıcak suyla yıkanması gibi daha iyi fidanlık hijyeni için kültürel ve entegre haşere yönetimi tekniklerini kullanmaya teşvik etmektedirler.

Crosby ve diğ. (2010) *Cylindrocarpon*'a işaret etmişlerdir. Bu fungus genel olarak tarımsal ürünlere ve özel olarak da Washington fidanlıklarındaki fidanlara zarar vermektedir. *Fusarium* ve *Cylindrocarpon* Douglas çamındaki kök çürüklüğüne neden olmaktadır.

Crosby ve diğ. (2010), Brayford ve diğ. (2004), tarafından ayrı ayrı yapılan çalışmalarda ise *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten 'ın fidanlar ve

özellikle de Çam, Sedir ve Ardıçlarda kök çürüklüğüne neden olduğu ve önemli kayıplara yol açtığı tespit edilmiştir. Nectriaceae'nin Ascomycota ailesinden gelen bu fungus orman ağaçlarının köklerinde tespit edilmiş ve izole edilmiştir ve 1963'ten beri bu hastalığın sebebi olarak kabul edilmektedir, toprakta konidiospor ve klamidospore olarak üremektedir ve bu sporların toprakta olan diğer mikroorganizmalarla rekabet etme yeteneği bulunmaktadır. Ağaçların kök kollarının çevresinden ağaçlara ve fidanlara çok hızlı yayılırlar, hastalık gelişir sonrasında kök çürüklüğü ortaya çıkmaktadır. Ayrıca funguslar alkali topraklarda iyi yayılmaktadır.

Moulin (2010) Suudi Arabistan'da ülkenin güneydoğusundaki orman alanlarındaki değişimler üzerine çalışmış olup bu değişikliklerin bölgedeki iklim ve çevre koşullarındaki değişikliklerden ve bu ormanlarda ağaçların hastalık ve ölümüne yol açan birçok patojenin varlığından kaynaklandığını ortaya koymuştur. Bu çalışmada izole edilip tanımlanan patojenler *Alternaria* sp., *Cercoospora* sp., *Cladosporium* sp., *Cylindrocarpon* sp., *Fusarium* spp., *Phoma* sp., *Pythium* sp. ve *Rhizoctonia* sp. funguslarıdır.

Kim ve diğ. (2012) ve Landis (1989) yaptıkları çalışmalarda; *Cylindrocarpon* ile enfekte olan ve kök çürüklüğü görülen fidanlarda, enfekte kabuk dokularının kolayca birbirinden ayrılabilirdiği, fidanlardaki enfeksiyonun sonunda iç kök dokusunun koyu renkli görüldüğü, yeşil kısımların ise kırmızı kahverengi renge dönüştüğü bildirilmiştir.

Weiland ve diğ. (2013); Akıllı ve diğ. (2010); Jung ve diğ. (2005, 2007, 2009); Lilja ve diğ. (1997, 2007a, b); Belisario ve diğ. (1997) genel olarak geniş yapraklı türlerle ait fidanlarda kök çürüklüğüne neden olan başlıca fungus türlerinin *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* spp., *Cylindrocarpon destructans*, *Cylindrocarpon radiclecola*, *Cylindrocladium quinqueseptatum*, *Cylindrocarpon scoparium*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Phyllosticta* spp., *Rhizoctonia solani* ve *Sclerotium rolfsii* ve Pythiaceae türleri *Pythium aphanidermatum*, *Pythium splendens*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora nicotiana*, *Phytophthora*

*ramorum*, *Phytophthora syringae* ve *Phytophthora quercina* olduğunu göstermişlerdir.

ABD'nin Kuzey Pasifik bölgesinde üç fidanlıkta, büyük miktarlarda üretilen, ekonomik önemi olan Douglas çamı fidanları üzerinde yapılan çalışmada, Khorasani (2013) sıcaklığın fungusların bitkisel kısmının büyümesi üzerine etkilerini ve ayrıca dört çeşit fungal ilacın o bölgedeki fidanlıklarda sıklıkla görülen *C. destructans*, *C. liriodendri* ve *C. pauciseptatum* üzerine etkilerini incelemiştir; fidanların büyüme periyodunda *Cylindrocarpon*'un kök çürüklüğüne yol açtığını ayrıca kök hastalıklarında en sık görülen ve en ciddi sonuçları olan fungusun *C. destructans* olduğunu belirtmiştir.

Pathak ve diğ. (2015) tarafından Hindistan' da denetimi ve bakımı yapılan ve birçok ağaç türüne sahip fidanlıklarda yapılan bir araştırma sırasında, 8 ağaç türünün fungal patojenler tarafından enfekte edildiği bulunmuştur. Enfekte olan türlerde, yağmurlu dönemlerde ve kış mevsiminde yaprak lekeli hastalığı görülmüştür.

## **2.2. Türkiye' de Orman Fidanlıklarında görülen fungal hastalık etmenlerinin belirlenmesine yönelik araştırmalar**

Ülkemizde orman fidanlık hastalıkları konusunda yapılmış çok az sayıda araştırmaya rastlanmıştır. Bu çalışmanın birinde Vural (1989) Fıstık çamı fidanlarında çökertme etmenleri olarak *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia* sp., *Pythium* spp., *Phytophthora* spp. saptamıştır. Bu etmenler içinde en yaygın olanının *F. oxysporum* olduğu bulunmuştur. Fidanlıklarda thiram, metalaxyl ve benomyl etkili maddeli programlar denenmiş ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Diğer çalışmada ise Ege ve Göller Bölgesi fidanlıklarında; *Pinus brutia*, *Pinus nigra* subsp. *pallasina*, *Cedrus libani*, *Pinus pinea* ve *Ailanthus glandulosa* fidanlarında çökerten etmenleri olarak *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp. *Alternaria* spp. ve *Macrophomomina phaseolina* sırasıyla %53, %19, %10 %10 ve %6 oranlarında tespit edilmiştir. Çökertene etkili uygulama antagonistlerle kombine edilerek uygulanan propamocarb ve hymexazole olmuştur (Özdamar, 1999).



Doğmuş ve Doğanoğlu (2003) yapmış oldukları çalışmada orman fidanlıklarında ökerten hastalığının öneminden bahsetmiş ve bu hastalığın etmenleri ve hastalığın biyolojik kontrolünde ektomikorizal fungusların kullanım olanaklarını tartışmıştır.

Akıllı ve diğ. (2010), Bursa, Eskişehir, Kastamonu ve Samsun illerinde bulunan orman fidanlıklarında kökler, yapraklar ve ölü ağaçlardan toplanan patojenlerin izolasyonu ve tanımlamalarını yaptıktan sonra fungusların neden olduğu hastalıklara işaret ettiler. Fidanların ölümüne sebep olan birçok fungus olduğu da belirtilmiştir. Bu çalışmada fidanların ölümüne neden olan funguslar *Clindrosporium* sp, *Melapsoridium* sp, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme* ve *Verticillium* sp. olarak tanımlanmıştır.

Kurt (2011), Adana bölgesinde ilk kez köklerde çok şiddetli çürüklüğe neden olan *Cylindrocarpon destructans*'ın varlığından bahsetmektedir. Burada *Cupressus sempervirens* ve *Thuja occidentalis* ağaçlarının köklerinden izole edilmiş olan fungusun kök çürüklüğünün asıl nedeni olup olmadığını anlamaya yönelik olarak yapılan aynı tür ağaç fidanları üzerinde fungal enfeksiyon deneyi (patojenisite testi) sonucunda, fidanlardaki kök çürüğünün gerçek sebebi olduğu bulunmuştur.

Aday-Kaya (2014) yapmış olduğu tez çalışmasında Türkiye'nin batısında yer alan ve ağaçlandırma çalışmaları için önem arz eden orman fidanlıklarında geniş ve iğne yapraklı fidan türlerinde kök çürüklüğüne neden olan ökaryot patojenlerin varlığını belirlemiş, teşhisleri klasik ve moleküler yöntemler yardımıyla gerçekleştirmiş, izole edilen türler elde edildikleri konukçular üzerinde hastalık oluşturma yetenekleri açısından test etmiştir. Yapılan alışmalar sonucunda bu fidanlıklarda *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium verticillioides*, *Cylindrocarpon destructans*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae* ve *Pestalotiopsis clavispora*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium intermedium*, *Pythium irregulare*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora megasperma* ve *Phytophthora syringae* varlığı tespit edilmiştir. Elde edilen tüm izolatların ise patojenik olduğu ortaya çıkmıştır.

Karakaya ve diğ. (2015) tarafından ormanlarda hastalıkların patojenik nedenlerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada; birçok ülkede fungal patojenlerin, kötü drenajın olduğu fidanlıklarda (uygun olmayan nem drenajı koşulları) ortaya çıktığı sonucuna varmışlardır. Buna fidanlarda görülen çökerten hastalığı, kök çürüklüğü, yumuşak gövde ve ağaç kanseri gibi başlıca hastalıkların patojenleri tespit edilmiştir. Bunlar bir fidanlıktan diğerine veya bir bölgeden diğerine hastalık bulaştırma nedeni olabilmektedir. Bu fungal patojenler arasında *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Pythium* spp., *Phytophthora* sp., *Melampsora* ve *Dothistroma* türleri yer almaktadır. Bu incelemede izolasyonun ardından, klasik ve moleküler yöntemlerle tanımlama yapılmıştır.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan materyaller ve araştırmanın yapıldığı orman fidanlıkları ile kullanılan yöntemler aşağıda belirtilmiştir.

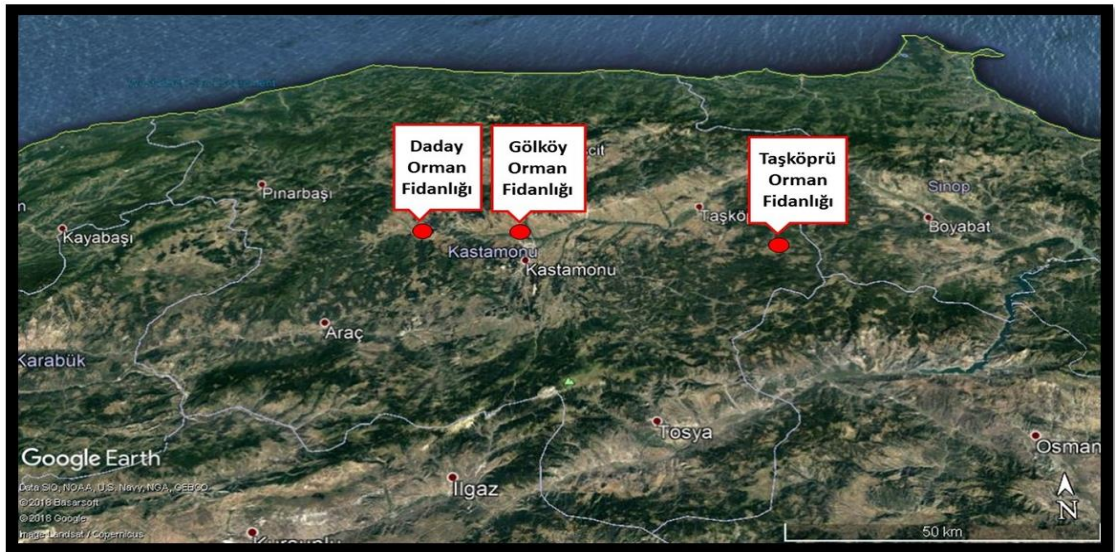
#### 3.1. Materyal

Çalışmanın ana materyallerini, Kastamonu Orman Bölge Müdürlüğü sınırları içerisindeki üç orman fidanlığında yetiştirilen iğne yapraklı ve geniş yapraklı fidanlar ile bu fidanlarda hastalığa neden olan fungal hastalık etmenleri oluşturmaktadır. Fungusların izolasyonu, morfolojik teşhis ve patojenisite testi için Patates Dekstroaz Agar (PDA) ve Mısır Unu Agar (MUA) besi ortamları, steril plastik petri kapları, steril kabin, bisturi, parafilm ve alüminyum folyo kullanılmıştır.

DNA' yı ekstrakte etmek için DNA ekstraksiyon kiti, sterilizasyon cihazı, santrifüj cihazı, su küveti ve vibrasyon cihazı kullanılmıştır.

##### 3.1.1. Araştırma Alanları

Araştırmalar, Kastamonu Orman Bölge Müdürlüğü'ne bağlı Gölköy, Daday ve Taşköprü orman fidanlıklarında gerçekleştirilmiştir (Harita 3.1).



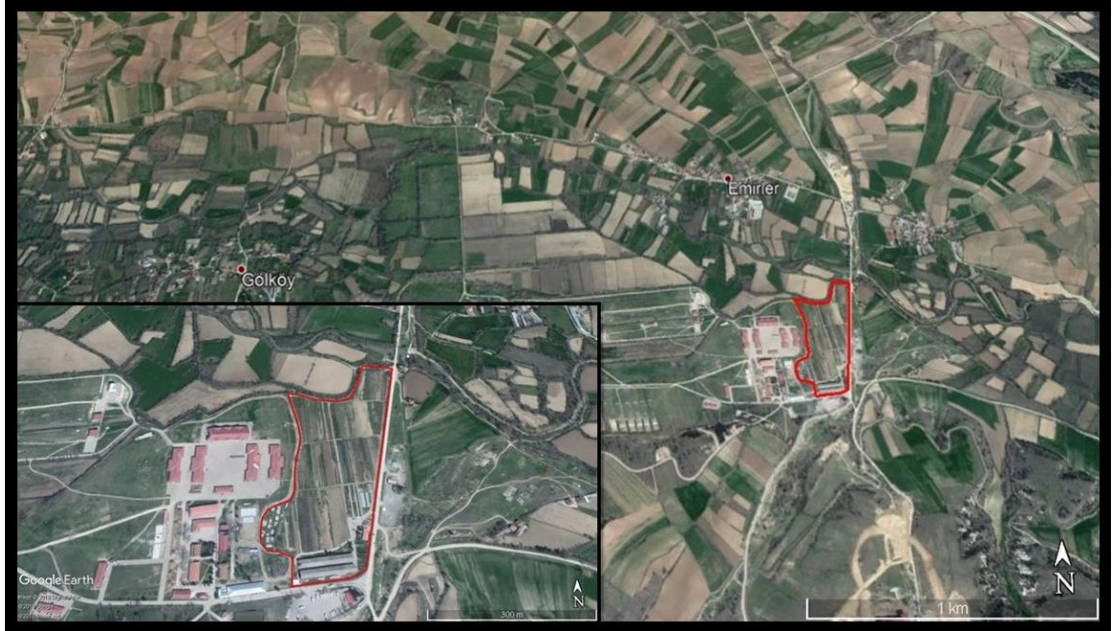
Harita 3.1. Çalışma alanlarını gösteren harita

Bu çalışmanın yapıldığı fidanlıklar ile ilgili genel bilgiler aşağıda sunulmuştur (Anonim, 2004).

### **3.1.1.1. Gölköy Orman Fidanlığı**

87.647 m<sup>2</sup>'lik toplam alanı olan Gölköy fidanlığı 1986 yılında kurulmuştur; birçok orman ağacı cinsi fidan dikilmektedir ve orman ağaçlarının çoğunun fidanları polietilen torbalarda yetiştirilmektedir (Harita 3.2). Bu fidanlıkta araştırmalar 25.05.2017 tarihinde yapılmıştır.

Fidanlık kumlu killi balçık türü toprağa sahiptir. Toprak bileşimi akarsu eğimi alüvyonunun etkisinde (Azonal) gelişmiş genç alüvyal topraklardır. Ayrıca, kireç açısından zengindir. Toprağın pH'ı 7.60-7.80 arasında hafif alkalidir. Organik Madde içeriği ise % 1.45-2.49 oranındadır.



Harita 3.2. Gölköy orman fidanlığını gösteren harita

### **3.1.1.2. Daday Orman Fidanlığı**

Daday fidanlığı 1962 yılında kurulmuş ve toplam alanı 283.517 m<sup>2</sup>'dir (Harita 3.3). Çok sayıda orman ağacı fidanı polietilen torbalarda yetiştirilmektedir. Bu fidanlıkta araştırmalar 14.09.2017 tarihinde yapılmıştır.



Fidanlık kumlu killi balçık türü toprağa sahiptir. Toprak bileşimi akarsu eğimi alüvyonunun etkisinde (Azonal) gelişmiş genç alüvyal topraklardır. Ayrıca, kireç açısından zengindir. Toprağın pH'ı 7.60-7.80 arasında hafif alkalidir. Organik Madde içeriği ise %1.77-4.11 oranındadır.

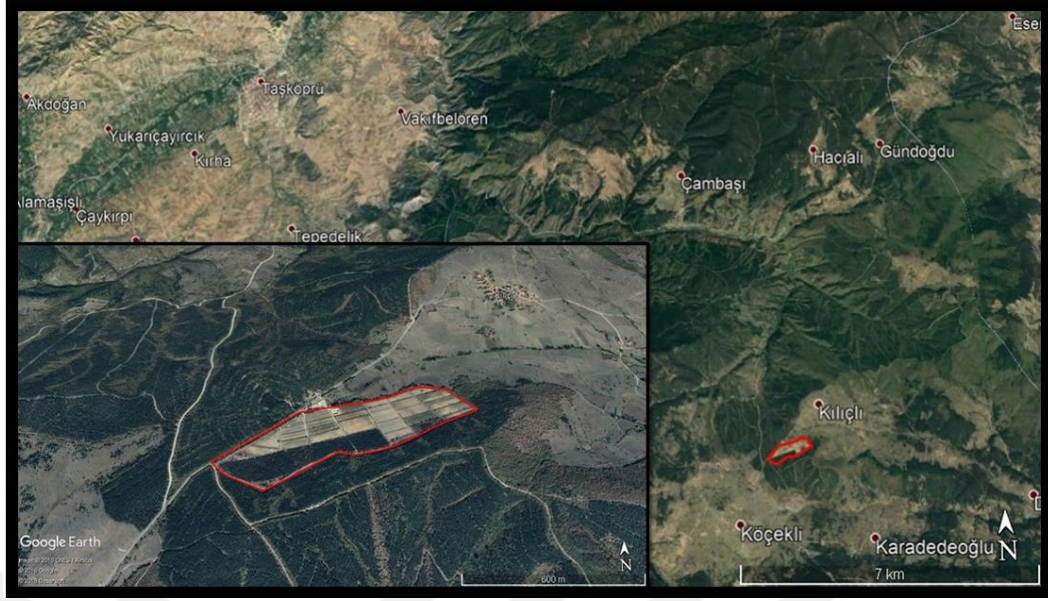


Harita 3.3. Daday orman fidanlığını gösteren harita

### **3.1.1.3. Taşköprü Orman Fidanlığı**

Taşköprü fidanlığı 1989 yılında kurulmuş olup, toplam 327.467 m<sup>2</sup>'lik bir alana yayılmıştır. Birçok orman ağacı türüne ait fidanı dikilidir ve orman ağacı fidanlarının bir kısmı doğrudan toprağa dikilmiştir bir kısmı ise polietilen torbalarda yetiştirilmektedir. Bu fidanlıkta çalışmalar 26.10.2017 tarihinde yapılmıştır (Harita 3.4).

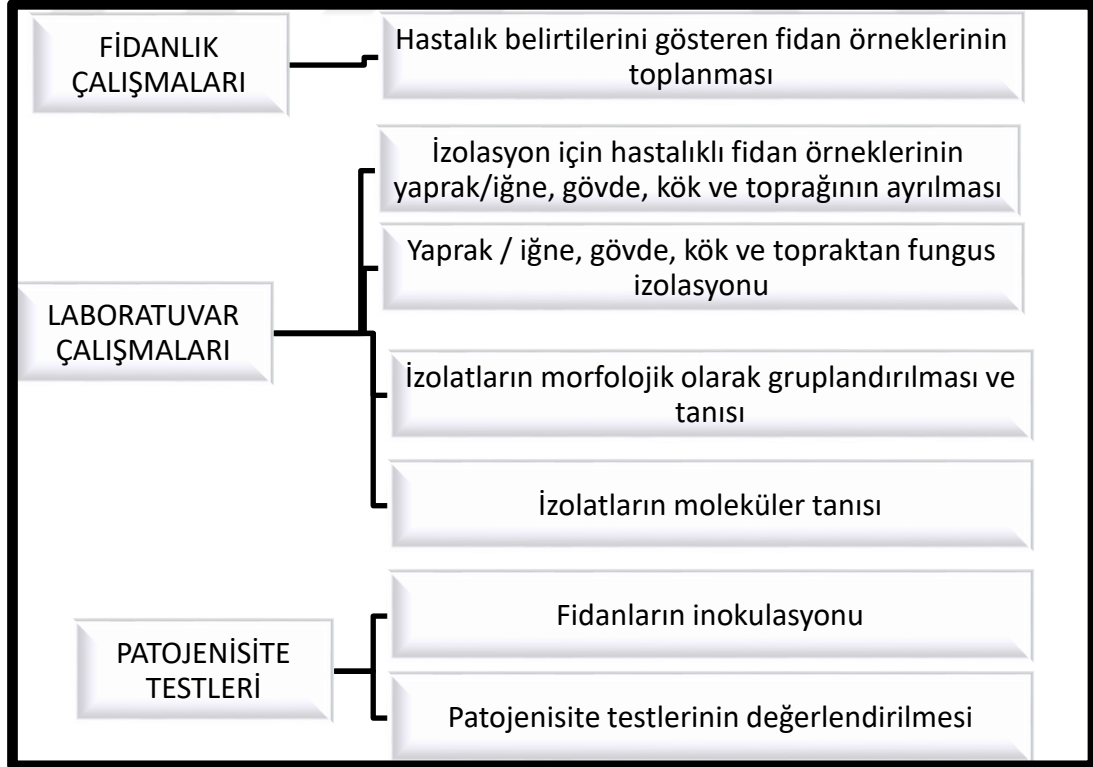
Fidanlık kumlu killi balçık türü toprağa sahiptir. Ayrıca, kireç açısından zengindir. Toprağın pH'ı 5.50-6.80 arasında hafif alkalidir. Organik Madde içeriği ise %1.97 oranındadır.



Harita 3.4. Taşköprü orman fidanlığını gösteren harita

### 3.2. Yöntem

İncelemelerde uygulanan yöntem aşağıdaki verilen temel adımlardan oluşmaktadır. (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Çalışmada izlenen aşamalar

### 3.2.1. Fidanlık Çalışmaları

Araştırmalar, söz konusu üç fidanlıkta 2017 bahar veya sonbaharında gerçekleştirilmiştir. Araştırmalar sırasında, ilk olarak, bu fidanlıklarda yetişen iğne yapraklı veya geniş yapraklı orman ağacı fidanlarında incelemeler yapılmıştır. Bu fidanlıklarda fidan hastalıklarının herhangi bir belirtisi olup olmadığı araştırılmış ve yaygın olarak simptomatik olan fidanlar tespit edilmiştir. Hastalık belirtileri görülen fidan örnekleri alınmıştır.

Bu örnekleme sırasında, hastalık belirtilerini gösteren çıplak köklü fidanlar, malçtan bir miktar toprak içerecek şekilde çıkarılmıştır. Tüplü fidanlar ise bütünüyle alınarak, etiketlenmiş ve plastik torbalara yerleştirilmiştir. (Fotoğraf 3.1).



Fotoğraf 3.1. Arazi çalışmalarından ve toplanan hastalık belirtisi gösteren örneklerden görüntüler

Bu orman fidanlıklarından alınan toplam 308 fidanın tür dağılımı şu şekildedir; *Pinus nigra* (54 fidan), *Pinus sylvestris* (39 fidan), *Pinus pinea* (14 fidan), *Cedrus libani* (76 fidan), *Abies nordmanniana* (92 fidan), *Picea pungens* (15 fidan) ve *Juglans regia* (18 fidan) (Tablo 3.1).

Tablo 4.1. Fidanlıklar ve örneklenen fidan türleri

| Fidanlıklar              | Fidan Türleri        |                    |                         |                    |                      |                    |                      |                    |                           |                    |                      |                    |                      |                    |
|--------------------------|----------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
|                          | <i>Pinus nigra</i>   |                    | <i>Pinus sylvestris</i> |                    | <i>Pinus pinea</i>   |                    | <i>Cedrus libani</i> |                    | <i>Abies nordmanniana</i> |                    | <i>Picea pungens</i> |                    | <i>Juglans regia</i> |                    |
|                          | Toplam Fidan Sayısı* | Örnekleme Sayısı** | Toplam Fidan Sayısı*    | Örnekleme Sayısı** | Toplam Fidan Sayısı* | Örnekleme Sayısı** | Toplam Fidan Sayısı* | Örnekleme Sayısı** | Toplam Fidan Sayısı*      | Örnekleme Sayısı** | Toplam Fidan Sayısı* | Örnekleme Sayısı** | Toplam Fidan Sayısı* | Örnekleme Sayısı** |
| Gölköy orman fidanlığı   | 1175 <sup>ac</sup>   | 25                 | 789 <sup>ac</sup>       | 24                 | -                    | -                  | 970 <sup>ac</sup>    | 28                 | -                         | -                  | -                    | -                  | -                    | -                  |
| Daday orman fidanlığı    | -                    | -                  | -                       | -                  | -                    | -                  | 780 <sup>ac</sup>    | 48                 | 1865 <sup>ac</sup>        | 75                 | -                    | -                  | 894 <sup>ac</sup>    | 18                 |
| Taşköprü orman fidanlığı | 253200 <sup>bd</sup> | 29                 | 272400 <sup>bd</sup>    | 15                 | 135                  | 14                 | -                    | -                  | 867 <sup>ac</sup>         | 17                 | 200 <sup>ac</sup>    | 15                 | -                    | -                  |

\* Toplam Fidan Sayısı: Simptomlar için değerlendirilen fidanların toplam sayısı,

\*\* Örnekleme Sayısı: Simptomlara göre örneklenmiş fidanların sayısı

**a:** polietilen naylon torbalardaki fidanlar

**b:** tohum yataklarında yetiştirilen fidanlar

**c:** 2 yaşından büyük fidanlar

**d:** 1 yaşındaki fidanlar



### 3.2.2. Laboratuvar Çalışmaları

Laboratuvara getirilen hastalıklı fidan örnekleri, belirtilen bölgelere göre yaprak/ibre, gövde, kök ve toprak olarak ayrılmış ve plastik torbalara yerleştirilmiştir (Fotoğraf 3.2).

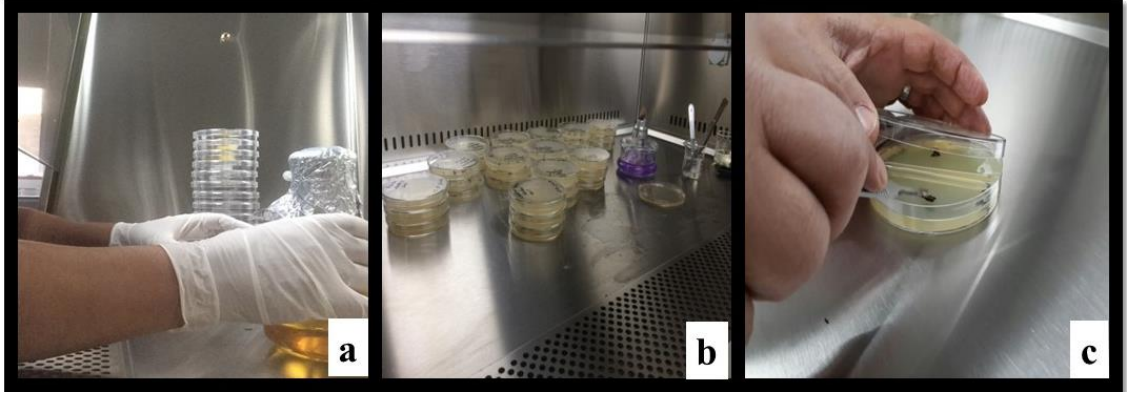


Fotoğraf 3.2. Plastik torbalara yerleştirilen fidan ve toprak örnekleri

#### 3.2.2.1. Bitki Dokularından ve Topraktan Fungusların İzolasyonu

##### *Bitki dokularından fungusların izolasyonu*

Bitki dokularından fungus izolasyonu için, fidanlardan ayrılan yaprak, gövde ve kök parçaları öncelikle çeşme suyu altında yıkanmış ve ardından kurutulmuştur. Bu örnekler daha sonra yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur (Gallegly ve Hong, 2008). Yüzey sterilizasyonu için, doku parçaları ilk önce 30 saniye %70'lik alkol içine daldırılmış, ardından da %6 ile %14 sodyum hipokloritte 1 dakika kadar bekletilip steril saf su ile yıkandıktan sonra steril filtre kağıtlarında kurutulmuştur. Kurutulan doku parçaları, aseptik koşullarda daha küçük parçalara ayrılmış ve içerisinde patetes dekstroz agar (PDA) içeren 9 mm çapında petri kaplarına ekilmiştir. Ekimler her bir örnek için 3 tekerrürlü yapılmıştır. Petri kapları parafilm ile sarılmış ve oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır (Fotoğraf 3.3). Aynı zamanda fungusun mikroskop ile morfolojisini tanımak için kullanılan mısır unu agar (MUA) kullanılmıştır.

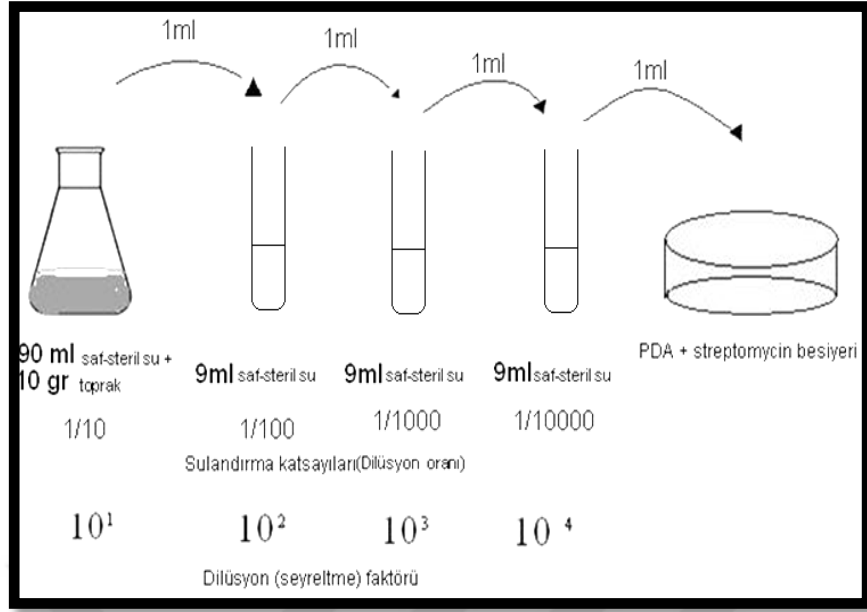


Fotoğraf 3.3. Bitki dokularından fungusun izolasyonu **a-b)** Besi ortamı içeren petri kaplarının hazırlanması **c)** Hastalıklı dokulardan petri kaplarına izolasyon yapılması

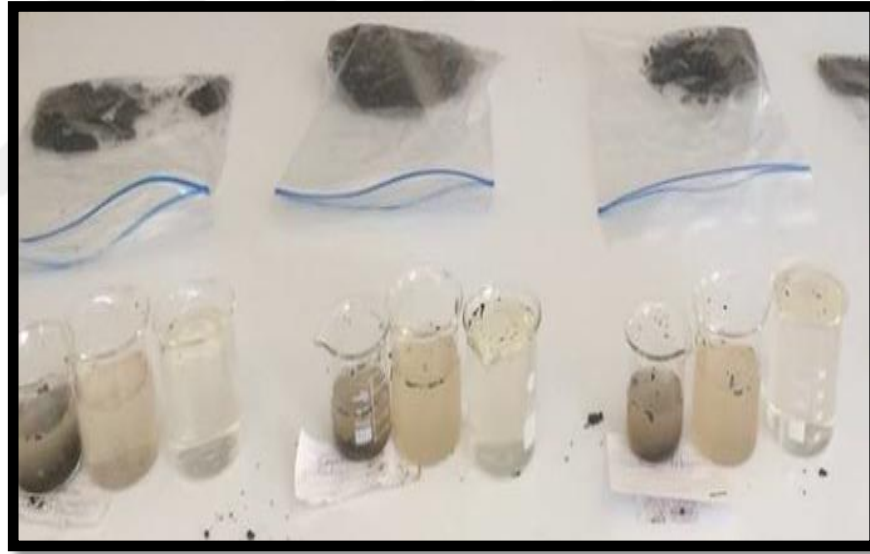
### ***Toprak örneklerinden fungusların izolasyonu***

Toprak örneklerinden fungus izolasyonunda "Toprak Seyreltme Tekniği" kullanılmıştır. Yöntem ayrıca "Toprağı Sulandırma Yöntemi" olarak da adlandırılabilir (Waksman,1922).

Toprak seyreltme yöntemine dayanan kültür tekniğinin uygulanmasında 10 gr taze toprak 250 ml steril erlenmayer içerisine konularak üzerine 90 ml steril distile su eklenmiştir. Bu yöntemle elde edilen 1/10 toprak süspansiyonu, 20-30 dakika boyunca mekanik çalkalayıcıda çalkalanmıştır (Öner 1973). Çalkalama işlemi tamamlandığında, toprak parçacıkları dibe çökmeden önce, steril pipetle 1 ml'lik numune alınarak 9 ml steril saf su içeren bir tüpe aktarılarak 1/100'lük süspansiyon elde edilmiştir. Bu süspansiyonun 1 ml'lik numunesi, 9 ml steril saf su içeren başka bir tüpe aktarılmıştır. Bu şekilde 1/1000'lik bir süspansiyon elde edilmiştir. Bu süspansiyonun 1 ml'sini 9 ml steril saf suya transfer ederek, 1/10.000'lik bir süspansiyon elde edilmiştir (Şekil 3.2, Fotoğraf 3.4). Topraklardan fungus izolasyonunda kullanılmaya en elverişli süspansiyon serileri, dilüsyon oranları 1/1000 ile 1/100.000 arasında olanlardır (Hasenekoğlu, 1989). Bu çalışmada,  $10^3$  seyreltme faktörlü süspansiyonlar kullanılmıştır.



Şekil 3.2.Toprak örneklerinin seyreltme yöntemi



Fotoğraf 3.4. Toprak örneklerinin seyreltme işlemi

Yukarıda açıklandığı gibi hazırlanan 10<sup>3</sup>'lük seyreltme faktörlü toprak süspansiyonundan, organik madde ve toprak partiküllerinin çökmesi olmaksızın, 1 ml'lik bir steril pipetle örnek alınarak, birkaç gün önce hazırlanan PDA ortamı içeren 9 cm çapında petri kabına inokule edilmiştir (Phara ve Kommedahl, 1954). Kapağı kapalı olan petri kabı, örneğin kültür ortamı ile örnek karışımı sağlamak için ıslak bir bez üzerinde rotasyonel hareketlerle hafifçe çalkalanmıştır (Hasenekoğlu, 1989).

Yukarıda açıklanan tüm işlemler, tüm toprak örnekleri için teker teker uygulanmış, inokulasyonlar (ekimler) 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Tüm petripler  $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış ve 12 saat NUV aydınlatmalı inkübatörde 7 ile 8 gün inkübe edilmiştir.

### ***3.2.2.2. Fungusların Morfolojik ve Moleküler Teşhisi***

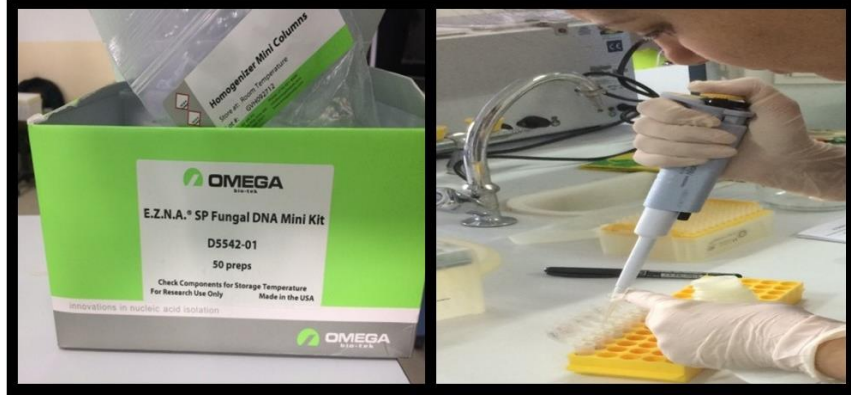
#### ***Fungal izolatların morfolojik teşhisi***

Fungusların misel gelişimi tamamlandıktan sonra sporların ışık mikroskobu kullanılarak görüntüleri alınmıştır. Ayrıca fungal izolatların morfolojik teşhislerinde, elde edilen saf kültürlerin besin ortamındaki gelişimleri, koloni morfolojilerine bakılarak değerlendirilmesi sonucunda gerçekleştirilmiştir (Landis, 1976; Bloomberg, 1981; James, 1985b,c; Crosby ve diğ. 2010).

#### ***Fungal izolatların moleküler teşhisi***

Elde edilen fungal izolatların moleküler yöntemlerle tanısında DNA dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Burada izlenecek aşamalar; (1) funguslardan DNA izolasyonu, (2) PCR, (3) DNA dizilemesi ve (4) dizi analizi şeklindedir.

DNA'sı elde edilmek istenen izolatlar ilk olarak selofan membran ile kaplanmış malt ekstrakt agar (MEA) içeren besiyerlerinde 6-8 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda gelişen miseller selofan membrandan kazınarak steril ependorf tüplere aktarılmıştır. Bu taze miseller toz haline gelene kadar sıvı azot yardımı ile porselen havanlarda ezilmiştir. 50 mg toz materyal DNA izolasyonunda kullanılmak üzere steril bir ependorf tüpe alınmıştır. Toz haline getirilmiş miselin DNA izolasyonunda, uygun fungal DNA izolasyon kiti kullanılmıştır (Fotoğraf 3.5). İzole edilmiş fungal genomik DNA, PCR yapılmaya kadar  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de tutulmuştur.



Fotoğraf 3.5. DNA ekstraksiyonunda kullanılan kit ve ekstraksiyon işlemleri

Elde edilen izolatlarının DNA'ları, PCR ile, ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) ve ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır (White vd., 1990).

DNA dizilemesi ve filogenetik analizler, hizmet alımı yoluyla ticari bir şirket (BM Laboratuvarları – Ankara) tarafından gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA dizileri çeşitli bilgisayar yazılımları kullanılarak düzenlenmiş ve daha sonra Gen Bankasında BLAST programında gen bankasında bulunan diğer diziler ile karşılaştırılmıştır.

### 3.2.3. Patojenisite Testleri

Patojenisite testleri Ocak 2018'den itibaren 3 ay süre ile Kastamonu Üniversitesi Mantar Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

*Clindrocarpon destructans*, *Fusarium solani*, *F. moniliforme*, *F. oxysporium* olarak teşhis edilen funguslara ait izolatların patojenisite testleri *Pinus nigra*, *Cedrus libani*, *Pinus sylvestris*, *Abies nordmanniana*, *Pinus pinea*, *Picea pungens* ve *Juglans regia* fidanları üzerinde yapılmıştır.

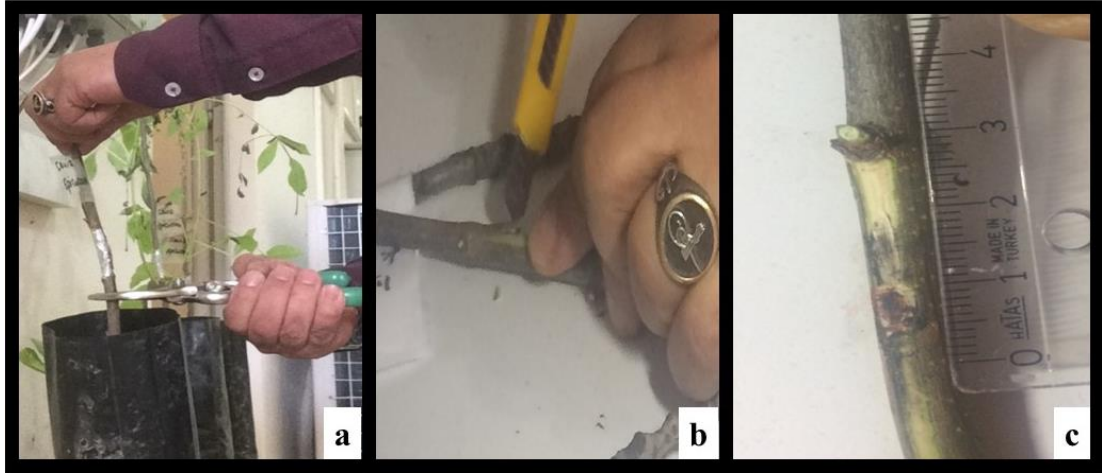
Patojenite testlerinde, her bir izolat 3 fidana inoküle edilmiş ve 3 ay boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Patojenite testlerinde ilk önce fidanların gövdesinin 5-10 cm yukarısı alkol ile temizlenmiş ve bu temizlenmiş alanda bir kabuk delici yardımıyla 2 mm'lik yara açılmıştır. Bu yaraya fungal izolatların gelişmekte olan kolonisinin uç kısımlarından steril bir kabuk deliciyle alınan aynı büyüklükteki

parçalar yerleştirilmiştir. Yara, kurumayı önlemek için ve alüminyum kaplı örtü parçasını yaralı dokuda tutmak için parafilm ile sarılmıştır (Fotoğraf 3.6).



Fotoğraf 3.6. Patojenisite denemesinin aşamaları. **a)** Kabuk delici yardımıyla fidan gövdesinde yara açılması **b)** Fidanların enfekte edilmesi **c)** Yaranın üstünün parafilm ile sarılması

Üç aylık inkubasyon döneminin sonunda, fidanlar kök boğazından kesilmiş, parafilmeler açılmış ve inokülasyon noktasından lezyonun gelişimi cetvel yardımıyla dikey olarak ölçülmüştür (Fotoğraf 3.7).



Fotoğraf 3.7. Patojenisite denemesinin sonuçlandırılması. **a)** Fidanların dip kısmından kesilmesi **b)** Lezyon üzerindeki kabuğun soyulması **c)** Lezyon boylarının ölçülmesi



### 3.3. İstatistiksel Analiz

Yapılan patojenisite testi için; her bir fungus türünün (dört tür), her bir konukçu türü (yedi tür) üzerindeki patojenik yeti düzeylerinin etkisini araştırmak amacıyla Kruskal-Wallis testi (H) yapılmıştır. Gruplar arası karşılaştırılmal ortalama lezyon uzunluğu ve standart sapmayı göstermek için bir betimleyici istatistik tablosu hazırlanmıştır.

İstatistiksel analizleri yapmak için, fidanlarda tamamen tesadüfi taslak (TTT) uygulanmıştır. Bunlar da:

4 Fungus \* 7 Fidan Türü\* 3 Tekerrür

İstatistiksel analizlerde SPSS programı kullanılmıştır (Pallant, 2013).

## 4. BULGULAR

### 4.1. Simptomatik Fidanlardan İzole edilen Fungusların Teşhisi

Çalışma boyunca yörede bulunan üç adet orman fidanlıklarından, Gököy Fidanlığı'ndan 77, Daday Fidanlığı'ndan 141 ve Taşköprü Fidanlığı'ndan ise 90 olmak üzere 308 simptomatik fidan örneği alınmış ve bunlardan yaprak, kök, gövde ve ayrıca topraktan örnekleri ayrılmıştır (Tablo 4.1)., fungal patojenlerin tespiti için ve bu dokulardan ve topraktan PDA ve MUA besi ortamına izolasyonlar yapılmıştır. Elde edilen izolatların morfolojik ve moleküler yöntemlerle teşhisi yapılmıştır. Teşhis çalışmaları sonucunda, Kastamonu yöresi orman fidanlıklarında hastalık belirtisi gösteren fidanlarda toplam 6 tür fungus tespit edilmiştir (Tablo 4.2).

Gököy orman fidanlığında yapılan çalışmalar sonucunda *Cedrus libani* fidanlarından *Aspergillus niger*, *Pinus nigra* fidanlarından *Fusarium solani* ve *Pinus sylvestris* fidanlarından *Clonostachys rosea* izole edilmiştir (Tablo 4.2).

Daday orman fidanlığından toplanan fidanlarda yapılan izolasyonlar sonucu *Abies nordmanniana* fidanlarında *Clindrocarpon destructans* ve *Cedrus libani*, *Abies nordmanniana* ve *Juglans regia* fidanlarında *Fusarium moniliforme* tespit edilmiştir. (Tablo 4.2).

Taşköprü orman fidanlığında *Pinus nigra*, *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* fidanlarından *Fusarium oxysporium* izole edilirken *Picea pungens* ve *Abies nordmanniana* fidanlarından *Fusarium solani* izole edilmiştir. (Tablo 4.2).



Tablo 4.1. Fidan türleri itibariyle fungus izolasyonu yapılan örnekler

|                           | Örnek Dokusu | İzolasyonlar için ayrılmış örnek sayısı |                 |                    | Toplam |
|---------------------------|--------------|---|-----------------|--------------------|--------|
|                           |              | Gölköy fidanlığı                        | Daday fidanlığı | Taşköprü fidanlığı |        |
| <i>Pinus nigra</i>        | Fidan        | 25                                      | -               | 29                 | 54     |
|                           | Yaprak       | 8                                       | -               | 7                  | 15     |
|                           | Gövde        | 5                                       | -               | 8                  | 13     |
|                           | Kök          | 6                                       | -               | 7                  | 13     |
|                           | Toprak       | 6                                       | -               | 7                  | 13     |
| <i>Pinus sylvestris</i>   | Fidan        | 24                                      | -               | 15                 | 39     |
|                           | Yaprak       | 8                                       | -               | 4                  | 12     |
|                           | Gövde        | 6                                       | -               | 3                  | 9      |
|                           | Kök          | 5                                       | -               | 4                  | 9      |
|                           | Toprak       | 5                                       | -               | 4                  | 9      |
| <i>Pinus pinea</i>        | Fidan        | -                                       | -               | 14                 | 14     |
|                           | Yaprak       | -                                       | -               | 3                  | 3      |
|                           | Gövde        | -                                       | -               | 3                  | 3      |
|                           | Kök          | -                                       | -               | 4                  | 4      |
|                           | Toprak       | -                                       | -               | 4                  | 4      |
| <i>Cedrus libani</i>      | Fidan        | 28                                      | 48              | -                  | 76     |
|                           | Yaprak       | 7                                       | 11              | -                  | 18     |
|                           | Gövde        | 7                                       | 13              | -                  | 20     |
|                           | Kök          | 7                                       | 12              | -                  | 19     |
|                           | Toprak       | 7                                       | 12              | -                  | 19     |
| <i>Abies nordmanniana</i> | Fidan        | -                                       | 75              | 17                 | 92     |
|                           | Yaprak       | -                                       | 13              | 4                  | 17     |
|                           | Gövde        | -                                       | 22              | 5                  | 27     |
|                           | Kök          | -                                       | 20              | 4                  | 24     |
|                           | Toprak       | -                                       | 20              | 4                  | 24     |
| <i>Picea pungens</i>      | Fidan        | -                                       | -               | 15                 | 15     |
|                           | Yaprak       | -                                       | -               | 3                  | 3      |
|                           | Gövde        | -                                       | -               | 4                  | 4      |
|                           | Kök          | -                                       | -               | 4                  | 4      |
|                           | Toprak       | -                                       | -               | 4                  | 4      |
| <i>Juglans regia</i>      | Fidan        | -                                       | 18              | -                  | 18     |
|                           | Yaprak       | -                                       | 6               | -                  | 6      |
|                           | Gövde        | -                                       | 4               | -                  | 4      |
|                           | Kök          | -                                       | 4               | -                  | 4      |
|                           | Toprak       | -                                       | 4               | -                  | 4      |
| Toplam                    |              | 77                                      | 141             | 90                 | 308    |

Tablo 4.2. Her bir fidanlıktan alınan fidan örnekleri ve bu fidanlardan izole edilen funguslar

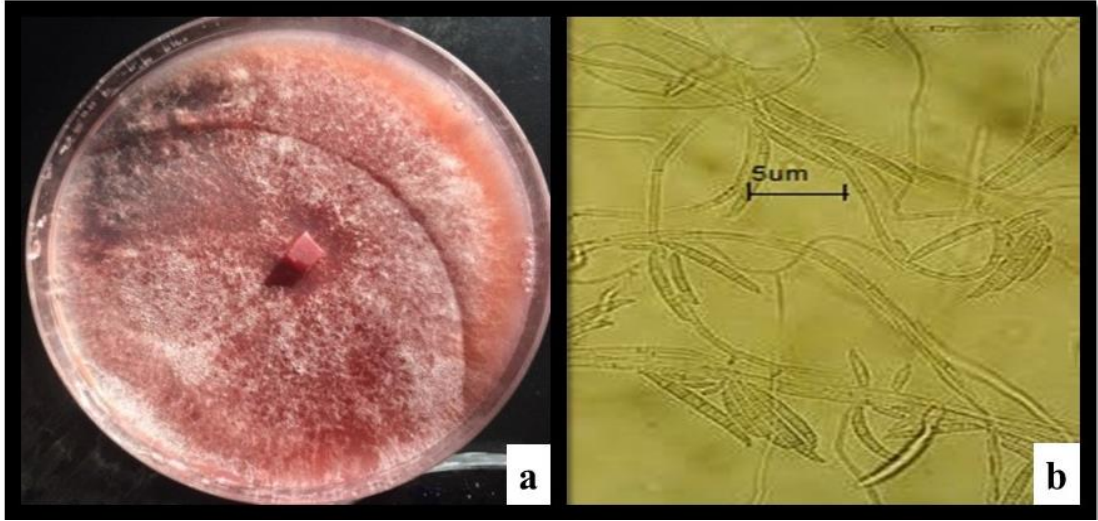
| Fidanhıklar | Fungus                           | Fidan Türleri                          |
|-------------|----------------------------------|--|
| Gölköy      | <i>Fusarium solani</i>           | <i>Pinus nigra</i> <sup>c</sup>        |
|             | <i>Aspergillus niger</i>         | <i>Cedrus libani</i> <sup>a</sup>      |
|             | <i>Clonostachys rosea</i>        | <i>Pinus sylvestris</i> <sup>a</sup>   |
| Daday       | <i>Clindrocarpon destructans</i> | <i>Abies nordmanniana</i> <sup>b</sup> |
|             | <i>Fusarium moniliforme</i>      | <i>Cedrus libani</i> <sup>b</sup>      |
|             |                                  | <i>Abies nordmanniana</i> <sup>a</sup> |
|             |                                  | <i>Juglans regia</i> <sup>b</sup>      |
| Taşköprü    | <i>Fusarium oxysporium</i>       | <i>Pinus nigra</i> <sup>b,d</sup>      |
|             |                                  | <i>Pinus sylvestris</i> <sup>b,d</sup> |
|             |                                  | <i>Pinus pinea</i> <sup>b,d</sup>      |
|             | <i>Fusarium solani</i>           | <i>Picea pungens</i> <sup>b</sup>      |
|             |                                  | <i>Abies nordmanniana</i> <sup>d</sup> |

a:yaprak, b:gövde, c:kök, d:toprak

#### 4.1.1. Fidanlardan ve Toprak Örneklerinden İzole Edilen Fungusların Morfolojik Tanımlaması

##### 4.1.1.1. *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyder & Hansen, (1824)

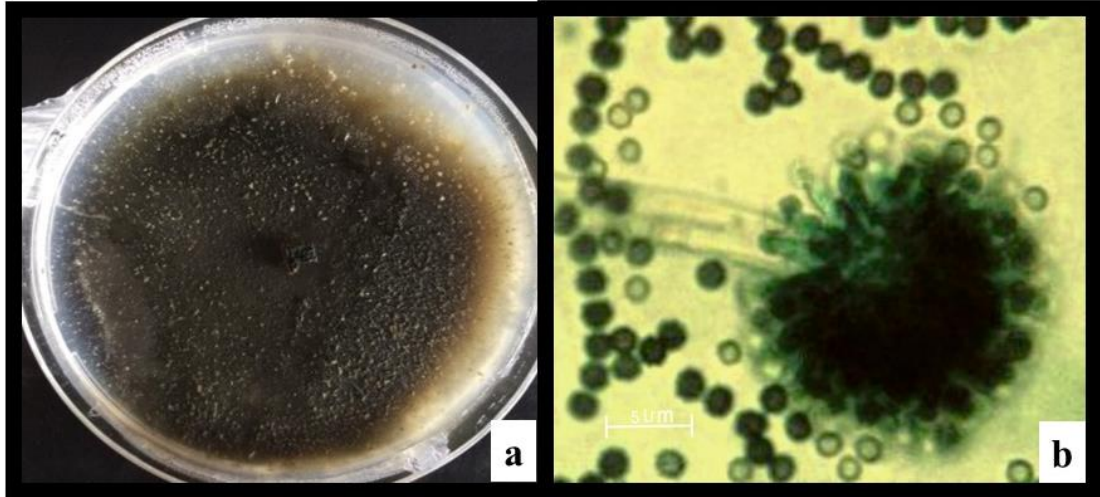
Fidanlardan izole edilen funguslar için, MUA'daki yetişen fungusun büyümesi ile ilgili olarak solma ve renk kaybı gözlenmiştir. Fungusun miselleri kırmızı beyaz renktedir. Fungusun mikrokonidyum ve sporodokiyumunun açık ve yoğun bir görünümü bulunmakta, renksiz ve uzun bölümlü bir şekildedir (Fotoğraf 4.1).



Fotoğraf 4.1. *Fusarium oxysporum* a) Besi ortamındaki misel gelişimi b) Işık mikroskopunda sporların görüntüsü

#### 4.1.1.2. *Aspergillus niger* van Tieghem 1867

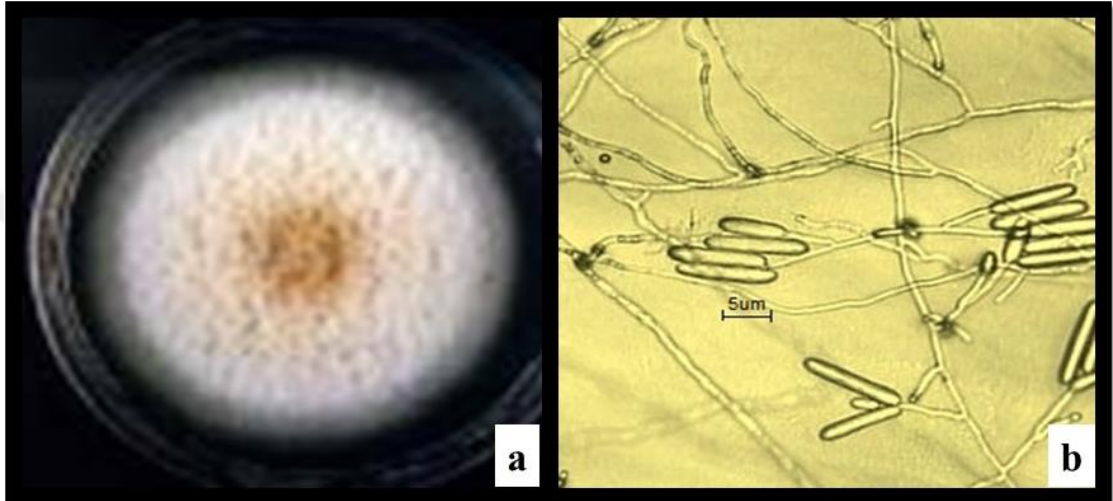
MUA içeren petri kabında geliştirilen fungus, mikroskop altında incelendiğinde koyu kahverengi renkte miselleri görülmüştür. Işık mikroskopunda incelendiğinde fungusun küresel sporları göze çarpmaktadır. (Fotoğraf 4.2).



Fotoğraf 4.2. *Aspergillus niger* a) Besi ortamındaki misel gelişimi b) Işık mikroskopunda sporların görüntüsü

#### 4.1.1.3. *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten, (1964)

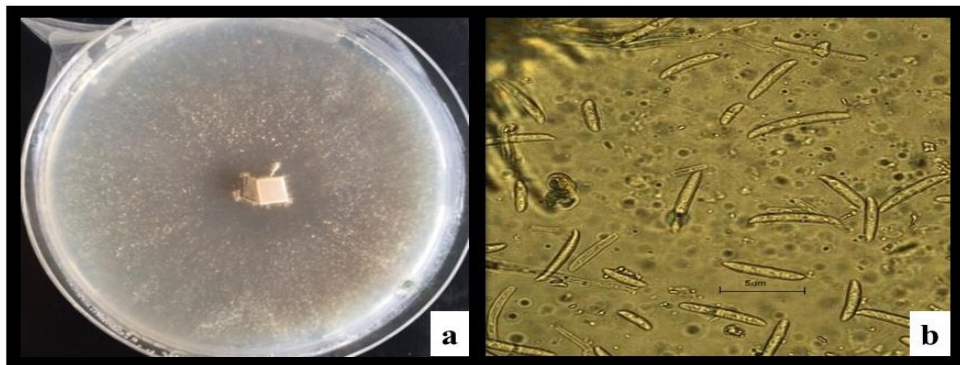
Fungusun izole edildiği fidanlarda, hastalığın açık belirtileri görülmüştür. MUA besiyerinde elde edilen saf kültürün rengi ortası sarı-kahverengi etrafı beyaz olarak görülmüştür. Işık mikroskobunda incelendiğinde kalın silindirik ve şeffaf sporlar görülmektedir (Fotoğraf 4.3).



Fotoğraf 4.3. *Cylindrocarpon destructans* a) Besi ortamındaki misel gelişimi b) Işık mikroskobunda sporların görüntüsü

#### 4.1.1.4. *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., (1881)

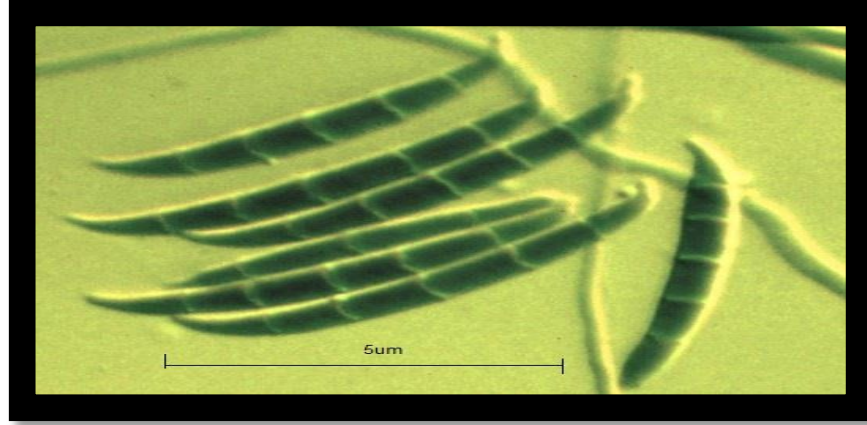
Fungusun MUA'daki misel gelişimi incelendiğinde miselin beyaz renkte olduğu gözlemlenmiştir. Işık mikroskop altında, fungusun sporlarının eliptik ya da fasulye benzeri bir şekle sahip olduğu görülmüştür (Fotoğraf 4.4).



Fotoğraf 4.4. *Fusarium solani* a) Besi ortamındaki misel gelişimi b) Işık mikroskobunda sporların görüntüsü

#### 4.1.1.5. *Fusarium moniliforme* J. Sheld. (1904)

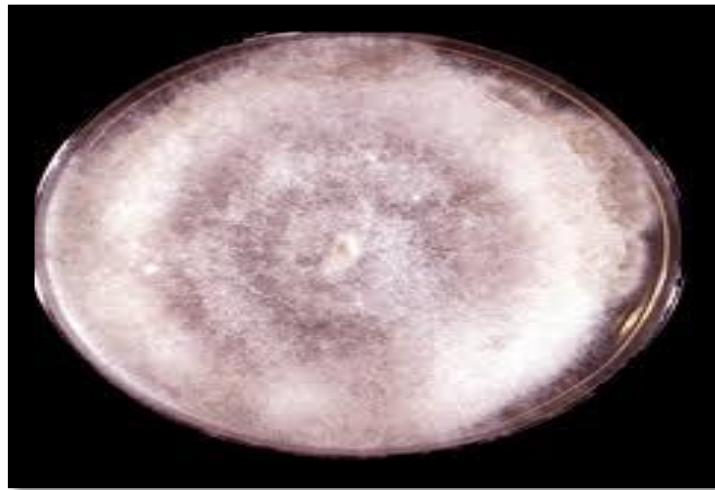
Enfeksiyonun ileriki aşamalarında, fidanlar üzerinde açık belirtiler ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Fidan solgun görünür; bu fungusun varlığı köklerde açıkça gözlenebilmektedir. Bu fungus MUA besi ortamı üzerinde gelişen miseller açık kahverengi renktedir. Işık mikroskobu altında ise çok sayıda küçük, bölünmüş fasulye şeklinde sporları gözlenmiştir (Fotoğraf 4.5).



Fotoğraf 4.5. *Fusarium moniliforme* 'nin ışık mikroskobunda sporların görüntüsü

#### 4.1.1.6. *Clonostachys rosea* f. *rosea* (Link) Schroers, (1999)

Fungusun MUA besiyerinde gelişen miselleri beyaz yün şeklinde (Fotoğraf 4.6) görülmektedir. Sporları küre biçimindedir.



Fotoğraf 4.6. *Clonostachys rosea* 'nın besi ortamındaki misel gelişimi

#### 4.1.2. Fidanlardan ve Toprak Örneklerinden İzole Edilen Fungusların Moleküler Tanısı

Fidan ve toprak örneklerinden izole edilen funguslar için moleküler teşhis (ITS1-ITS4) örnekleri kullanılarak elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi gen dizisine göre sıralanmıştır.

##### 4.1.2.1. *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyder & Hansen, (1824)

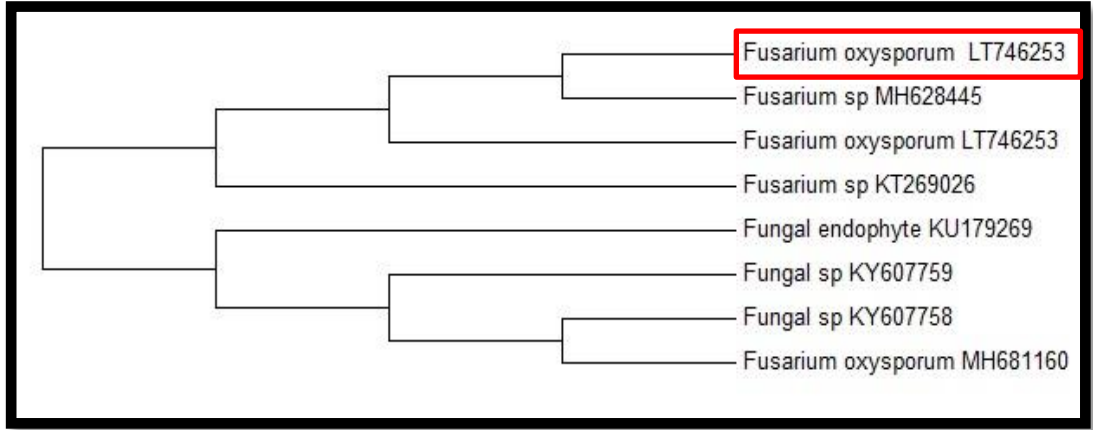
Taşköprü orman fidanlığında bulunan *Pinus nigra*, *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* fidanlarından izole edilen *F. oxysporum* olarak teşhis edilen izolatu, gen bankasındaki diğer fungusların dizileriyle kıyaslanmıştır. Elde edilen filogenetik ağaçta hastalıklı fidandan izole edilen izolat kırmızı çerçeve içerisinde gösterilmiştir. DNA dizisinin toplam baz sayısı 530'dur (Şekil 4.1). Gen bankasındaki *F. oxysporum* izolatlarına benzerlik %99 olup matriks eşleşme oranı ise % 99'dur (Şekil 4.2)

```
GTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGA
ACATAACCACTTGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAAACGGGAC
GGCCCGCCAGAGGACCCCTAAACTCTGTTTCTATATGTAACCTTCTGAGTAAA
ACCATAAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGA
TGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATG
CCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCACAGCTTGGTGTGGGACTCGC
GTTAATTCGCGTTCCTCAAATTGATTGGCGGTACGTCGAGCTTCCATAGCG
TAGTAGTAAAACCCTCGTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTTAAACCC
CAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAG
CATATGAATAAC
```

Toplam baz sayısı: 530  
Benzerlik skoru: 972  
Dizi eşleştirme oranı: %99  
Benzerlik oranı: %99

Şekil 4.1. *Fusarium oxysporum*'un DNA dizisi





Şekil 4.2. Gen bankasındaki diğer funguslar ile *Fusarium oxysporum*'a ait izolatin karşılaştırılması

#### 4.1.2.2. *Aspergillus niger* van Tieghem 1867

Genetik zincirin toplam baz uzunluğu 509' dur (Şekil 4.3). Gen bankasındaki dizilerle kıyaslandığında fidanlardan elde edilen izolatların benzerlik oranı %100 olup matriks eşleşme oranı da %100'dür. Şekil 4.4'te Gök köy orman fidanlığında ve gen bankasında bulunan *Cedrus libani*'den izole edilmiş ve tanımlanmış olan *A. niger* arasındaki karşılaştırma görülebilmektedir. Elde edilen filogenetik ağaçta hastalıklı fidandan izole edilen izolat kırmızı çerçeve içerisinde gösterilmiştir.

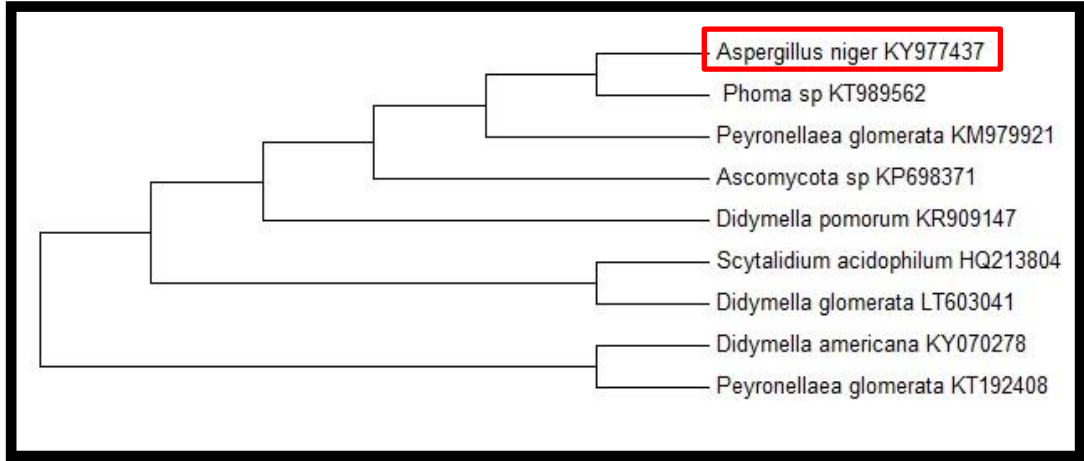
```

ACCTGCGGAAGGATCATTACCTAGAGTTGTAGGCTTTGCCTGCTATCTCTTA
CCCATGTCTTTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCGCCCGCCGATTGGA
CAATTTAAACCATTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAAACTTAATAGTTA
CAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGA
AATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
ACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCAT
TTGTACCTTCAAGCTCTGCTTGGTGTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGCGCGTA
GACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGGCGTATTGATTTCCGGAGCGCAGTA
CATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGTCCAAAAGTACATTTTACAC
TCTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA

Toplam Baz sayısı: 509
Benzerlik skoru: 941
Dizi eşleştirme oranı: %100
Benzerlik oranı :%100

```

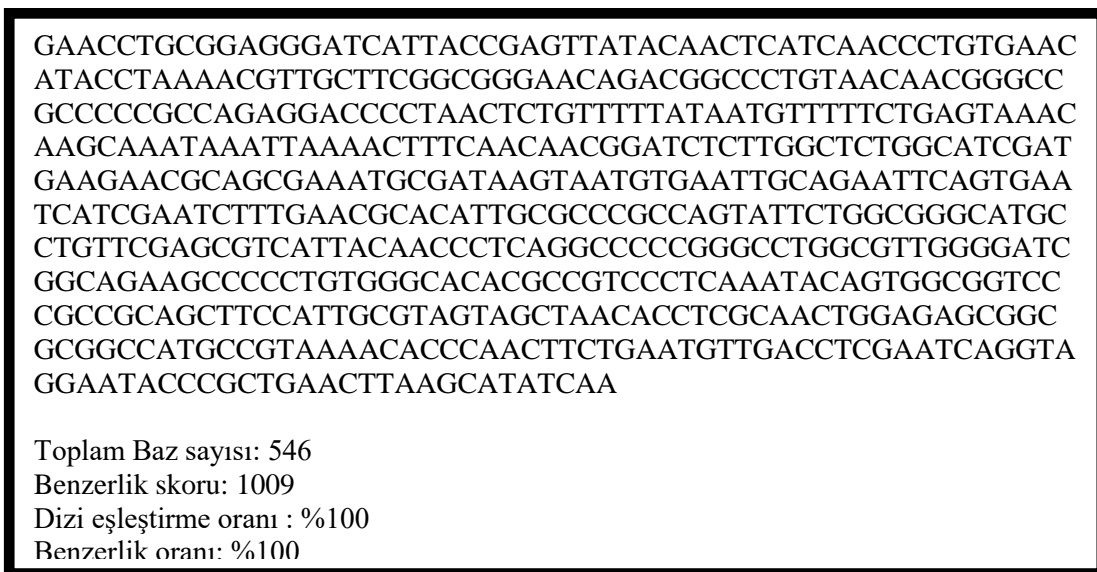
Şekil 4.3. *Aspergillus niger*'in DNA dizisi



Şekil 4.4. Gen bankasındaki diğer funguslar ile *Aspergillus niger*'e ait izolatin Karşılaştırılması

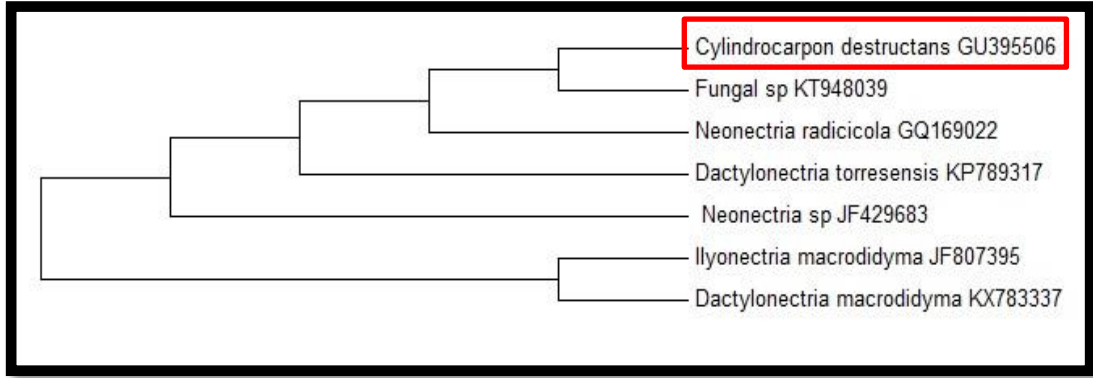
#### 4.1.2.3. *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten, (1964)

Genetik zincirin toplam baz uzunluğu 547 'dur (Şekil 4.5). Gen bankasındaki diziye kıyasla; elde edilen izolatin benzerlik oranı % 100 olup matriks eşleştirme oranı %100'dür. Şekil 4.6'da, Daday orman fidanlığında bir *Abies nordmanniana*'dan izole edilmiş olan *C. destructans*'ın ve gen bankasındaki başka bir izolatlarla kıyaslaması görülebilmektedir. Elde edilen filogenetik ağaçta hastalıklı fidandan izole edilen izolat kırmızı çerçeve içerisinde gösterilmiştir.



Şekil 4.5. *Cylindrocarpon destructans*'ın DNA dizisi





Şekil 4.6. Gen bankasındaki diğer funguslar ile *Cyindrocarpon destructans*'a ait izolatın karşılaştırılması

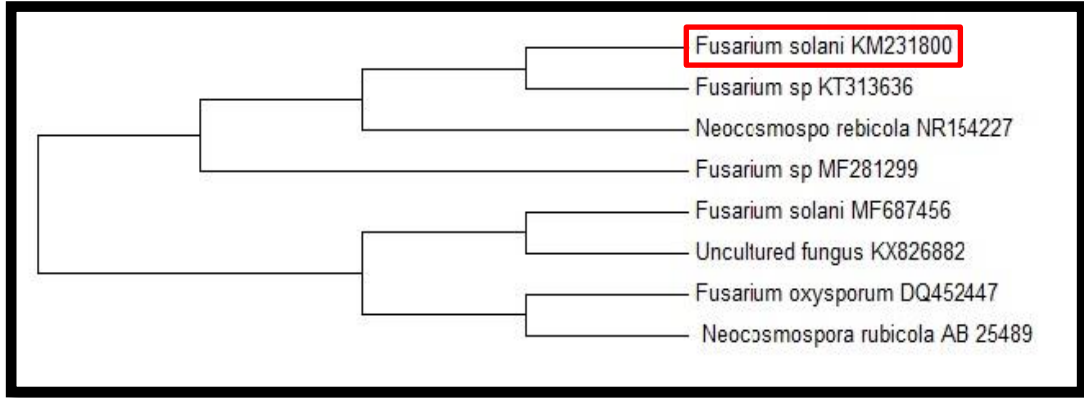
#### 4.1.2.4. *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., (1881)

Genetik zincirin toplam baz uzunluğu 546 'dur (Şekil 4.7). Gen bankasındaki diziyeye kıyasla; elde edilen izolatın benzerlik oranı % 100 olup matriks eşleştirme oranı %100'dür. Gölköy orman fidanlığında *Pinus nigra*'dan ve Taşköprü'deki *Abies nordmanniana* ve *Picea pungens*'ten izole edilmiş ve tanımlanmış olan *F. solani* ile ve gen bankasındaki diğer bir izolatın karşılaştırması yapılmıştır (Şekil 4.8). Elde edilen filogenetik ağaçta hastalıklı fidandan izole edilen izolat kırmızı çerçeve içerisinde gösterilmiştir.

```
GGGGAACCAGGAGTACACTCCCAACCCCTGGTGACATACCTATTTGTTGCCT
CGGCGGTGCCTGTTCCGACAGCCCAGAGGACCCCAAACCCTGATTACA
TTTAAGAAGTCTTCTGAGTAAACCGATTAAATAAATCAAACTTTCAACAAC
GGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTA
ATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGC
CCGCTAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCAATTTCAACCCCTCAAG
CCCCCGGGCTTGGTGTTGGGGATCGGCGAGCCTCCGCGCCCGCCGTCCCCTA
AATCTAGTGGCGGTCTCGCTGTAGCTTCTCTGCGTAGTAGCACACCTCGCA
CTGGGAAACAGCGCGGCCACCGTTAAACCCCAACTTCTGAACGTTTGA
CCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAA
```

Toplam baz sayısı: 547  
Benzerlik skoru: 1007  
Dizi eşleştirme oranı:%100  
Benzerlik oranı:%100

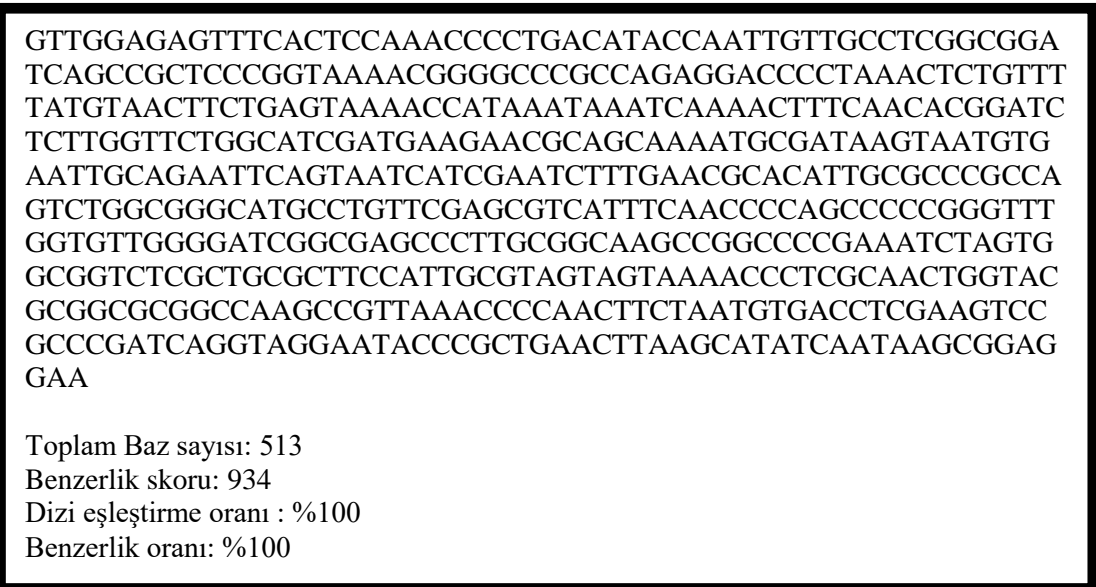
Şekil 4.7. *Fusarium solani*'nin DNA dizisi



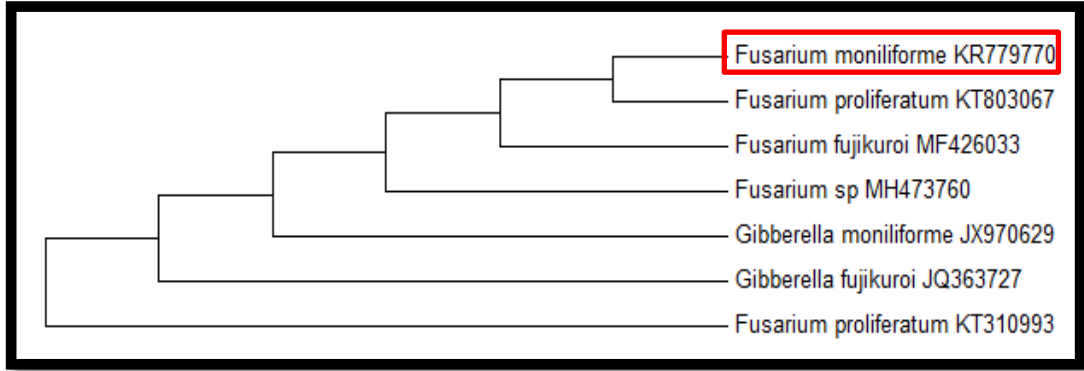
Şekil 4.8. Gen bankasındaki diğer funguslar ile *Fusarium solani*'nye ait izolatin karşılaştırılması

#### 4.1.2.5. *Fusarium moniliforme* J. Sheld. (1904)

Genetik zincirin toplam baz uzunluğu 513'tür (Şekil 4.9). Gen bankasındaki diziyeye kıyasla; elde edilen izolatin benzerlik oranı % 100 olup matriks eşleştirme oranı %100'dür. Şekil 4.10, Daday orman fidanlığında bulunan *Cedrus libani*, *Abies nordmanniana* ve *Juglans regia* fidanlarından izole edilmiş ve tanımlanmış olan *F. moniliforme* ve gen bankasındaki izolatlara arasındaki karşılaştırmayı göstermektedir. Elde edilen filogenetik ağaçta hastalıklı fidandan izole edilen izolat kırmızı çerçeve içerisinde gösterilmiştir.



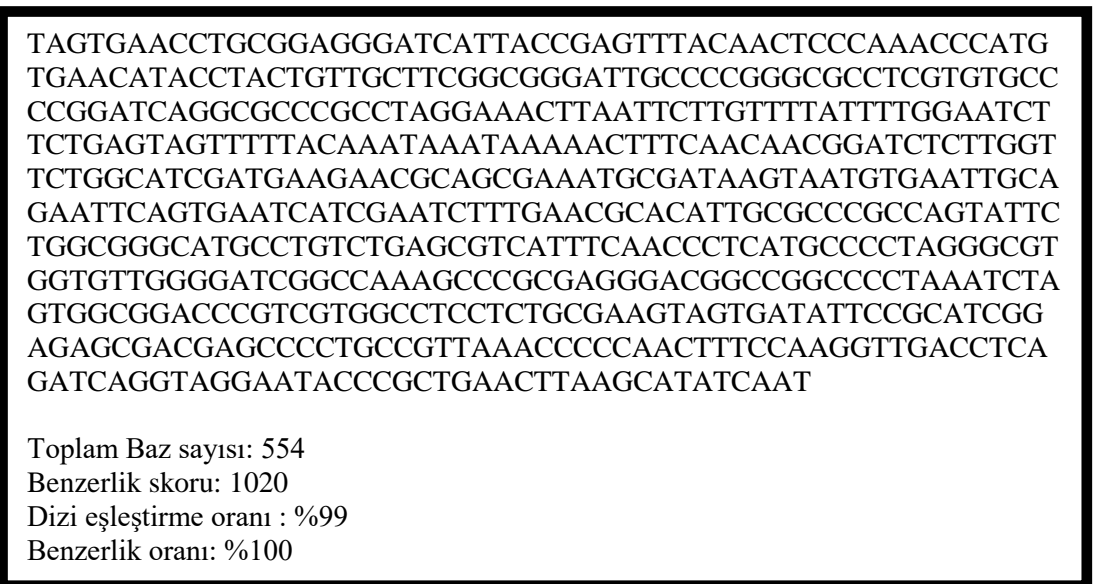
Şekil 4.9. *Fusarium moniliforme*'nin DNA dizisi



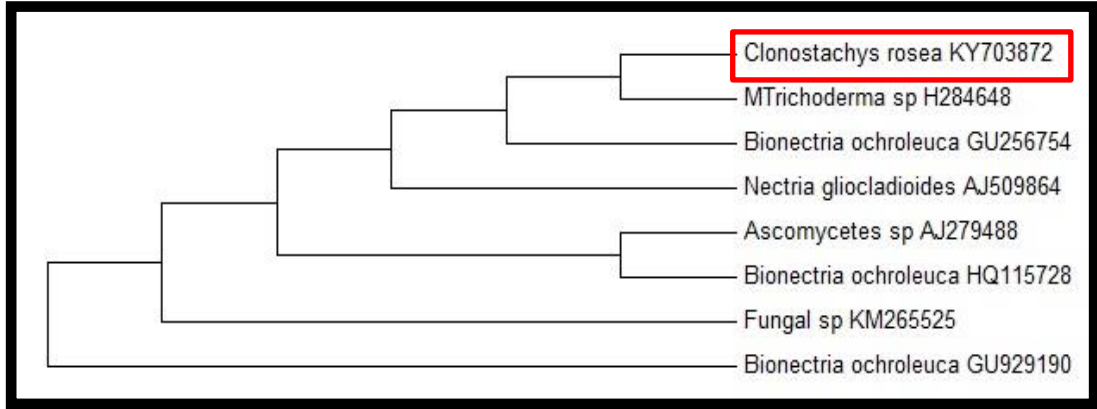
Şekil 4.10. Gen bankasındaki bir diğer funguslar ile *Fusarium moniliforme*'ye ait izolatın karşılaştırılması

#### 4.1.2.6. *Clonostachys rosea f. rosea* (Link) Schroers, (1999)

Genetik zincirin toplam baz uzunluğu 554'tür (Şekil 4.11). Gen bankasındaki diziyeye kıyasla; elde edilen izolatın benzerlik oranı % 99 olup matris eşleştirme oranı % 100'dür. Gököy orman fidanlıklarında *Pinus sylvestris*'ten izole edilmiş ve tanımlanmış olan *C. rosea* ve gen bankasındaki izolatlarla arasındaki karşılaştırmayı göstermektedir (Şekil 4.12). Elde edilen filogenetik ağaçta hastalıklı fidandan izole edilen izolat kırmızı çerçeve içerisinde gösterilmiştir.



Şekil 4.11. *Clonostachys rosea*'nın DNA dizisi



Şekil 4.12. Gen bankasındaki diğer funguslar ile *Clonostachys rosea* 'ya ait izolatin karşılaştırılması

#### 4.2. Patojenisite Denemesine Ait Bulgular

Kruskal – Wallis testi (H) kullanarak elde edilen veriler Tablo 4.3'de gösterilmektedir. Elde edilen sonuçlara göre *Pinus nigra*, *Cedrus libani*, *Pinus sylvestris*, *Abies nordmanniana* ve *Pinus pinea* patojenisite testinde kullanılan funguslar tarafından önemli ölçüde etkilenmiştir (*Pinus nigra* H (4) = 9,848, p = 0,043, *Cedrus libani* H (4) = 11,062, p = 0,026, *Pinus sylvestris*, H (4) = 10,610, p = 0,031, *Abies nordmanniana* H (4) = 10.271, p = 0.036 ve *Pinus pinea* H (4) = 10.742, p = 0.030). *Juglans regia* ve *Picea pungens*, funguslardan çok fazla etkilenmemiştir (*Juglans regia* H (4) = 8.324, p = 0.080 ve *Picea pungens* H (4) = 9.260, p = .055).

Tablo 4.3. Kruskal – Wallis testi sonuçları

| Test Statistics <sup>a,b</sup> |                    |                      |                         |                           |                      |                    |                      |
|--------------------------------|--------------------|----------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------|--------------------|----------------------|
|                                | <i>Pinus nigra</i> | <i>Cedrus libani</i> | <i>Pinus sylvestris</i> | <i>Abies nordmanniana</i> | <i>Juglans regia</i> | <i>Pinus pinea</i> | <i>Picea pungens</i> |
| Ki Kare                        | 9.848              | 11.062               | 10.610                  | 10.271                    | 8.324                | 10.742             | 9.260                |
| df                             | 4                  | 4                    | 4                       | 4                         | 4                    | 4                  | 4                    |
| Asymp. Sig.                    | .043               | .026                 | .031                    | .036                      | .080                 | .030               | .055                 |
| a. Kruskal Wallis Testi        |                    |                      |                         |                           |                      |                    |                      |
| b. Gruplandırma değeri: Fungus |                    |                      |                         |                           |                      |                    |                      |

Test edilen fidanlar üzerinde fungal enfeksiyonun başarısı göz önüne alındığında, enfekte edilen tüm fidanlarda enfeksiyon gözlendiği ve fidanların kabuğunun soyulmasından sonra ölçülen lezyon boyları bakımından aralarında önemli

farklılıklar olduğu bulunmuştur. konukçuların kabuğu altında fungal lezyon uzunluklarını sırayla renk kaybı da gözlemlenmiştir bulunmuştur. Tablo 4.4'te görülebileceği gibi *Clindrocarpon destructans*'ın daha agresif olduğu ve en duyarlı olan *Pinus pinea* fidanlarında lezyon boyunun 12.9 mm'ye ulaştığı ölçülmüştür. Fidanların *Fusarium* türlerine duyarlılığına bakıldığında ise, *Pinus pinea*'nın *F. oxysporium*'a karşı en duyarlı olduğu (12.1 mm), ardından *Cedrus libani* fidanlarının geldiği, *F. moniliforme*'nin *Pinus nigra* fidanları üzerinde etkisinin en az olduğu (10.2 mm) görülebilir.

Tablo 4.4. Lezyon boyları

| Fungus                           | Konukçu                   | Ortalama | Standart sapma | N  |
|----------------------------------|---------------------------|----------|----------------|----|
| <i>Fusarium oxysporium</i>       | <i>Pinus nigra</i>        | 11.6000  | .88882         | 3  |
|                                  | <i>Cedrus libani</i>      | 11.9333  | .41633         | 3  |
|                                  | <i>Pinus sylvestris</i>   | 11.7000  | .20000         | 3  |
|                                  | <i>Abies nordmanniana</i> | 11.8000  | .45826         | 3  |
|                                  | <i>Juglans regia</i>      | 11.3000  | .95394         | 3  |
|                                  | <i>Pinus pinea</i>        | 12.1333  | .45092         | 3  |
|                                  | <i>Picea pungens</i>      | 11.7000  | .43589         | 3  |
|                                  | Toplam                    | 11.7381  | .55989         | 21 |
| <i>Clindrocarpon destructans</i> | <i>Pinus nigra</i>        | 12.5333  | .41633         | 3  |
|                                  | <i>Cedrus libani</i>      | 12.4333  | .41633         | 3  |
|                                  | <i>Pinus sylvestris</i>   | 12.7333  | .51316         | 3  |
|                                  | <i>Abies nordmanniana</i> | 12.2667  | .40415         | 3  |
|                                  | <i>Juglans regia</i>      | 12.4000  | .43589         | 3  |
|                                  | <i>Pinus pinea</i>        | 12.9333  | .41633         | 3  |
|                                  | <i>Picea pungens</i>      | 12.2333  | .41633         | 3  |
|                                  | Toplam                    | 12.5048  | .43414         | 21 |
| <i>Fusarium solani</i>           | <i>Pinus nigra</i>        | 10.5000  | .95394         | 3  |
|                                  | <i>Cedrus libani</i>      | 10.7000  | .95394         | 3  |
|                                  | <i>Pinus sylvestris</i>   | 10.9000  | .95394         | 3  |
|                                  | <i>Abies nordmanniana</i> | 10.9333  | .51316         | 3  |
|                                  | <i>Juglans regia</i>      | 10.9000  | 1.30767        | 3  |
|                                  | <i>Pinus pinea</i>        | 10.6000  | .95394         | 3  |
|                                  | <i>Picea pungens</i>      | 11.2000  | .95394         | 3  |
|                                  | Toplam                    | 10.8190  | .83822         | 21 |
| <i>Fusarium moniliforme</i>      | <i>Pinus nigra</i>        | 10.2000  | .95394         | 3  |
|                                  | <i>Cedrus libani</i>      | 10.6000  | .95394         | 3  |
|                                  | <i>Pinus sylvestris</i>   | 10.7000  | .95394         | 3  |
|                                  | <i>Abies nordmanniana</i> | 10.6000  | .95394         | 3  |
|                                  | <i>Juglans regia</i>      | 11.2000  | .95394         | 3  |
|                                  | <i>Pinus pinea</i>        | 11.6000  | .88882         | 3  |
|                                  | <i>Picea pungens</i>      | 10.5000  | .95394         | 3  |
|                                  | Toplam                    | 10.7714  | .90837         | 21 |
| Kontrol                          | <i>Pinus nigra</i>        | 3.5000   | 2.12132        | 2  |
|                                  | <i>Cedrus libani</i>      | 3.6000   | .56569         | 2  |
|                                  | <i>Pinus sylvestris</i>   | 3.5000   | .56569         | 2  |
|                                  | <i>Abies nordmanniana</i> | 3.0000   | .00000         | 2  |
|                                  | <i>Juglans regia</i>      | 3.0000   | 1.41421        | 2  |
|                                  | <i>Pinus pinea</i>        | 3.7000   | .56569         | 2  |
|                                  | <i>Picea pungens</i>      | 3.6000   | 1.13137        | 2  |
|                                  | Toplam                    | 3.4143   | .86634         | 14 |

Tablo 4.5, çıktı değişkenlerinin ortalama derece değerlerini göstermektedir (*Pinus nigra*, *Cedrus libani*, *Pinus sylvestris*, *Abies nordmanniana*, *Juglans regia*, *Pinus pinea* ve *Picea pungens*) . Kruskal-Wallis (H) testi kullanılarak yapılan istatistiklere göre fidanlar fungus tipinden önemli ölçüde etkilenmiştir. Homojen alt kümeleri göstermek için her bir çıkış değişkeni için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Homojen Alt kümeleri tanımlamak için Kademeli İndirgeme yöntemi ile çoklu karşılaştırmalar kullanılmıştır. Aynı alt kümenin üyeleri homojendir ve istatistiksel olarak farklı değildir.

Tablo 4.5. Kurskal Wallis (H) Testi Ortalama Derece Tablosu

| Fidan türü                | Fungus                           | N  | Ortalama derece |
|---------------------------|----------------------------------|----|-----------------|
| <i>Pinus nigra</i>        | <i>Fusarium oxysporium</i>       | 3  | 9.67            |
|                           | <i>Clindrocarpon destructans</i> | 3  | 12.33           |
|                           | <i>Fusarium solani</i>           | 3  | 6.67            |
|                           | <i>Fusarium moniliforme</i>      | 3  | 5.33            |
|                           | Kontrol                          | 2  | 1.50            |
|                           | Toplam                           | 14 |                 |
| <i>Cedrus libani</i>      | <i>Fusarium oxysporium</i>       | 3  | 10.50           |
|                           | <i>Clindrocarpon destructans</i> | 3  | 12.33           |
|                           | <i>Fusarium solani</i>           | 3  | 6.17            |
|                           | <i>Fusarium moniliforme</i>      | 3  | 5.00            |
|                           | Kontrol                          | 2  | 1.50            |
|                           | Toplam                           | 14 |                 |
| <i>Pinus sylvestris</i>   | <i>Fusarium oxysporium</i>       | 3  | 9.00            |
|                           | <i>Clindrocarpon destructans</i> | 3  | 13.00           |
|                           | <i>Fusarium solani</i>           | 3  | 6.67            |
|                           | <i>Fusarium moniliforme</i>      | 3  | 5.33            |
|                           | Kontrol                          | 2  | 1.50            |
|                           | Toplam                           | 14 |                 |
| <i>Abies nordmanniana</i> | <i>Fusarium oxysporium</i>       | 3  | 10.00           |
|                           | <i>Clindrocarpon destructans</i> | 3  | 12.33           |
|                           | <i>Fusarium solani</i>           | 3  | 6.17            |
|                           | <i>Fusarium moniliforme</i>      | 3  | 5.50            |
|                           | Kontrol                          | 2  | 1.50            |
|                           | Toplam                           | 14 |                 |
| <i>Juglans regia</i>      | <i>Fusarium oxysporium</i>       | 3  | 8.00            |
|                           | <i>Clindrocarpon destructans</i> | 3  | 12.33           |
|                           | <i>Fusarium solani</i>           | 3  | 6.67            |
|                           | <i>Fusarium moniliforme</i>      | 3  | 7.00            |
|                           | Kontrol                          | 2  | 1.50            |
|                           | Toplam                           | 14 |                 |
| <i>Pinus pinea</i>        | <i>Fusarium oxysporium</i>       | 3  | 9.33            |
|                           | <i>Clindrocarpon destructans</i> | 3  | 12.67           |
|                           | <i>Fusarium solani</i>           | 3  | 4.67            |
|                           | <i>Fusarium moniliforme</i>      | 3  | 7.33            |
|                           | Kontrol                          | 2  | 1.50            |
|                           | Toplam                           | 14 |                 |
| <i>Picea pungens</i>      | <i>Fusarium oxysporium</i>       | 3  | 9.83            |
|                           | <i>Clindrocarpon destructans</i> | 3  | 11.83           |
|                           | <i>Fusarium solani</i>           | 3  | 7.17            |
|                           | <i>Fusarium moniliforme</i>      | 3  | 5.17            |
|                           | Kontrol                          | 2  | 1.50            |
|                           | Toplam                           | 14 |                 |

Kruskal Wallis testi (H) kullanılarak yapılan test istatistikleri fidanlar, funguslardan önemli ölçüde etkilendiğinden, homojen alt grupları göstermek için her bir çıkış değişkeni için ayrı ayrı analizler yapılmıştır. Homojen Alt Kümeleri belirlemek için Kademeli İndirgeme Yöntemi ile çoklu karşılaştırmalar kullanılmıştır. Aynı alt kümenin üyeleri homojendir ve istatistiksel olarak farklı değildir (Tablo 4.6-4.10).

Tablo 4.6'ya göre *Pinus nigra* fidanlarındaki lezyon boylarında *Clindrocarpon destructans*'ın kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmaktadır. Ancak *Fusarium oxysporium*, *Fusarium solani* ve *Fusarium moniliforme*'ye göre anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

Tablo 4.6. *Pinus nigra* 'ya göre homojen alt kümeler

| <i>Pinus nigra</i> 'ya göre Homojen Alt Kümeler                                |                                  | Alt Kümeler |        |
|--|----------------------------------|-------------|--------|
|  |                                  | 1           | 2      |
| <i>Pinus nigra</i> *   | Kontrol                          | 1.500       |        |
|  | <i>Fusarium moniliforme</i>      | 5.333       | 5.333  |
|  | <i>Fusarium solani</i>           | 6.667       | 6.667  |
|  | <i>Fusarium oxysporium</i>       | 9.667       | 9.667  |
|  | <i>Clindrocarpon destructans</i> |             | 12.333 |
| Test İstatistiği   |                                  | 6.379       | 6.795  |
| Önemlilik (2-yönlü test)   |                                  | .095        | .079   |
| Düzeltilmiş önemlilik (2-yönlü test)   |                                  | .095        | .079   |
| Homojen altkümeler asimptotik önemlere dayanmaktadır. Anlamlılık seviyesi .05. |                                  |             |        |
| *Her bir hücre, <i>Pinus nigra</i> örnek ortalamasını gösterir.                |                                  |             |        |

Tablo 4.7'ya göre *Cedrus libani* fidanlarındaki lezyon boylarında *Clindrocarpon destructans*'ın kontrol grubuna ve *Fusarium moniliforme*'ye göre anlamlı bir farkı bulunmaktadır. Ancak *Fusarium oxysporium* ve *Fusarium solani*'ye göre anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

Tablo 4.7. *Cedrus libani*'ye göre homojen alt kümeler

| <i>Cedrus libani</i> 'ye göre Homojen Alt Kümeler                              |                                  | Alt Kümeler |        |        |
|--|----------------------------------|-------------|--------|--------|
|  |                                  | 1           | 2      | 3      |
| <i>Cedrus libani</i> *   | Kontrol                          | 1.500       |        |        |
|  | <i>F. moniliforme</i>            | 5.000       | 5.000  |        |
|  | <i>F. solani</i>                 | 6.167       | 6.167  | 6.167  |
|  | <i>F. oxysporium</i>             |             | 10.500 | 10.500 |
|  | <i>Clindrocarpon destructans</i> |             |        | 12.333 |
| Test İstatistiği   |                                  | 4.250       | 5.132  | 5.535  |
| Önemlilik (2-yönlü test)   |                                  | .119        | .077   | .063   |
| Düzeltilmiş önemlilik (2-yönlü test)   |                                  | .191        | .125   | .102   |
| Homojen altkümeler asimptotik önemlere dayanmaktadır. Anlamlılık seviyesi .05. |                                  |             |        |        |
| *Her bir hücre, <i>Cedrus libani</i> örnek ortalamasını gösterir.              |                                  |             |        |        |

Tablo 4.8'ye göre *Pinus sylvestris* fidanlarındaki lezyon boylarında *Clindrocarpon destructans*'ın kontrol grubuna ve *Fusarium moniliforme*'dekine göre anlamlı bir fark bulunmaktadır. Ancak *Fusarium oxysporium* ve *Fusarium solani*'ye göre anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

Tablo 4.8. *Pinus sylvestris*'e göre homojen alt kümeler

| <i>Pinus sylvestris</i> 'e göre Homojen Alt Kümeler                            |                                  | Alt Kümeler |        |
|--|----------------------------------|-------------|--------|
|  |                                  | 1           | 2      |
| <i>Pinus sylvestris</i> *  | Kontrol                          | 1.500       |        |
|  | <i>F. moniliforme</i>            | 5.333       |        |
|  | <i>F. solani</i>                 | 6.667       | 6.667  |
|  | <i>F. oxysporium</i>             | 9.000       | 9.000  |
|  | <i>Clindrocarpon destructans</i> |             | 13.000 |
| Test İstatistiği   |                                  | 6.379       | 5.956  |
| Önemlilik (2-yönlü test)   |                                  | .095        | .051   |
| Düzeltilmiş önemlilik (2-yönlü test)   |                                  | .095        | .083   |
| Homojen altkümeler asimptotik önemlere dayanmaktadır. Anlamlılık seviyesi .05. |                                  |             |        |
| *Her bir hücre, <i>Pinus sylvestris</i> örnek ortalamasını gösterir.           |                                  |             |        |

Tablo 4.9 incelendiğinde *Abies nordmanniana* fidanlarında *Clindrocarpon destructans* en uzun ortalama lezyon boyuna sahiptir. *Clindrocarpon destructans* yapmış olduğu lezyon boyunun kontrol grubundakine göre anlamlı bir fark bulunmaktadır. Ancak *Fusarium oxysporium*, *Fusarium solani* ve *Fusarium moniliforme*'ye göre anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.



Tablo 4.9. *Abies nordmanniana* 'ya göre homojen alt kümeler

| <i>Abies nordmanniana</i> 'ya göre Homojen Alt Kümeler                         |                                  | Alt Kümeler |        |
|--|----------------------------------|-------------|--------|
|  |                                  | 1           | 2      |
| <i>Abies nordmanniana</i> *  | Kontrol                          | 1.500       |        |
|  | <i>F. moniliforme</i>            | 5.500       | 5.500  |
|  | <i>F. solani</i>                 | 6.167       | 6.167  |
|  | <i>F. oxysporium</i>             | 10.000      | 10.000 |
|  | <i>Clindrocarpon destructans</i> |             | 12.333 |
| Test İstatistiği   |                                  | 6.850       | 7.320  |
| Önemlilik (2-yönlü test)   |                                  | .077        | .062   |
| Düzeltilmiş önemlilik (2-yönlü test)   |                                  | .077        | .062   |
| Homojen altkümeler asimptotik önemlere dayanmaktadır. Anlamlılık seviyesi .05. |                                  |             |        |
| *Her bir hücre, <i>Abies nordmanniana</i> örnek ortalamasını gösterir.         |                                  |             |        |

Tablo 4.10' a bakıldığında *Pinus pinea* fidanlarında en uzun ortalama lezyon boyuna *Clindrocarpon destructans*'in sebep olduğu görülmüştür. *Clindrocarpon destructans*'in yapmış olduğu lezyon boyunun kontrol grubundakine ve *Fusarium solani*'dekine göre anlamlı bir farkı bulunmaktadır. Ancak *Fusarium oxysporium*, ve *Fusarium moniliforme*'ye göre anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

Tablo 4.10. *Pinus pinea* 'ya göre homojen alt kümeler

| <i>Pinus pinea</i> 'ya göre Homojen Alt Kümeler                                |                                  | Alt Kümeler |        |
|--|----------------------------------|-------------|--------|
|  |                                  | 1           | 2      |
| <i>Pinus pinea</i> *   | Kontrol                          | 1.500       |        |
|  | <i>F. solani</i>                 | 4.667       |        |
|  | <i>F. moniliforme</i>            | 7.333       | 7.333  |
|  | <i>F. oxysporium</i>             | 9.333       | 9.333  |
|  | <i>Clindrocarpon destructans</i> |             | 12.667 |
| Test İstatistiği   |                                  | 7.306       | 4.782  |
| Önemlilik (2-yönlü test)   |                                  | .063        | .092   |
| Düzeltilmiş önemlilik (2-yönlü test)   |                                  | .063        | .148   |
| Homojen altkümeler asimptotik önemlere dayanmaktadır. Anlamlılık seviyesi .05. |                                  |             |        |
| *Her bir hücre, <i>Pinus pinea</i> örnek ortalamasını gösterir.                |                                  |             |        |

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmanın yapılmasının nedeni daha önce de yörede bulunan orman fidanlıklarında hastalık yapan patojenlerin belirlenmesi konusunda az sayıda da olsa çalışma bulunmasına rağmen tespit edilen fungusların patojenisite testlerinin yapılmamış olmasıdır.

Bu çalışma, Kastamonu bölgesinde bulunan ve Gölköy, Daday ve Taşköprü orman fidanlıklarında görülen fungusların tespit edilerek bunların patojenisitelerini belirlemek amacı ile gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışma ile fidanlıklardan toplanan semptomatik fidanlardan elde edilen fungal izolatların morfolojik ve moleküler teşhisleri yapılmıştır. Daha sonra elde edilen izolatların patojenliklerinin belirlenmesi için patojenisite testleri gerçekleştirilmiştir.

Çalışma sonucunda söz konusu üç orman fidanlığında *Fusarium oxysporum*; *Pinus nigra*, *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* fidanlarından, *F. solani*; *Pinus nigra*, *Picea pungens* ve *Abies nordmanniana* fidanlarından, *F. moniliforme*; *Abies nordmanniana* ve *Juglans regia* fidanlarından, *Clindrocarpon destructans*; *Abies nordmanniana* fidanlarından, *Aspergillus niger*; *Cedrus libani* fidanlarından ve *Clonostachys rosea* ise *Pinus sylvestris* fidanlarından izole edilmiştir. Bunlardan *Aspergillus niger* ve *Clonostachys rosea* dışındakiler parazit patojenlerdir.

Bu çalışmada, Daday fidanlığında *Abies nordmanniana* fidanlarında *C. destructans*'ın varlığı ilk defa tespit edilmiştir. Bu fungusun özellikle *Abies nordmanniana* fidanlarının gövdelerinde daha fazla izole edildiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu fidanlıkta *F. moniliforme*'nin de varlığı tespit edilmiştir. *C. destructans* ile ilgili literatürde daha önce Kastamonu yöresinde bu fungusun bulunduğu dair herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. Akıllı ve diğ. (2010) Devrek-Gökçebey ve Zonguldak-Alaplı'da kayın fidanlarında *Clindrocarpon* sp. tespit ettiklerini bildirmektedirler. Yapılan bu tez çalışmasında ise bu fungusun varlığı *Abies nordmanniana* fidanları üzerinde yoğun olarak görülürken *Cedrus libani*'de daha az

miktarda bulunmuştur. Aynı zamanda bu fungusun varlığı *Juglans regia*'da da tespit edilmiştir. Bu fungus, tehlikeli funguslardan biri olarak kabul edilir, ayrıca orman fidanlıklarında daha önce yapılan çalışmalarda *C. destructans*, *C. liriodendri* ve *C. pauciseptatum* dahil olmak üzere bu tür fungusların varlığı belirtilmiş, söz konusu funguslar fidanlıklardan izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Unestam ve diğ., 1989).

*Cylindrocarpon destructans*'ın orman ağacı fidanlarında kök çürüklüğüne neden olduğu ve önemli kayıplara yol açtığı konusunda dünyada ve ülkemizde Belisario ve diğ. (1997), Lilja ve diğ. (1997, 2007a, b), Brayford ve diğ. (2004), Jung ve diğ. (2005), Orlikowski ve diğ. (2006), Jung ve diğ. (2007; 2009), Akıllı ve diğ. (2010), Crosby ve diğ. (2010), Kurt (2011) Khorasani (2013) ve Weiland ve diğ. (2013) tarafından yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu araştırmalardan özellikle Khorasani (2013) tarafından yapılan çalışma sonucunda orman ağaçları fidanları üzerinde tanımlanmış olan en yaygın ve agresif fungus olarak *C. destructans*'ın tespit edilmesiyle ilgili elde edilen sonuç yapılan bu çalışma ile benzer niteliktedir.

Taşköprü fidanlığında ise *F. oxysporum* ve *F. solani*'nin birçok fidan ve toprak örneğinde varlığı tespit edilmiştir. *Pinus nigra* fidanlarının gövdeleri ve alınan toprak örneklerinde *F. oxysporum* tespit edilmiştir. Ayrıca, *Pinus pinea* fidanlarının gövdeleri ve toprak örneklerinde de görülmekle beraber daha ziyade *Pinus nigra* fidanlarından izole edilmiştir. *F. solani* ise, *Picea pungens* fidanlarının gövdeleri üzerinde ve ayrıca *Abies nordmanniana* fidanlarının toprak örneklerinden izole edilmiştir. Sonuç olarak, *F. oxysporum*'un bu fidanlıkta en yaygın şekilde bulunan fungus olduğu belirlenmiştir.

Fidanlarda bu enfeksiyonların ortaya çıkmasında fungal belirtilere ek olarak, başka nedenlerin de olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenlere düşük veya yüksek sıcaklık gibi hava koşulları, özellikle polietilen torbalarda yetiştirilen fidanlarda olduğu gibi yüksek nem, havalandırma imkanları, fidanların yetiştirilme teknikleri, fidanların fidanlığa dağılımları, yeterince güneş alamama gibi çevresel nedenler de dahildir. Başka bölgelerde yapılan çalışmalarda, *Pinus nigra*, *Cedrus libani*, *Pinus sylvestris*, *Abies nordmanniana*, *Juglans regia*, *Pinus pinea* ve *Picea pungens* gibi fidanların enfekte olmalarından ve bunun da *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*,

*Verticillium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp. ve *Cylindrocarpon destructans* gibi patojenik fungus türlerinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Akıllı ve diğ. 2010).

Fidanların yaygın olarak kullanıldığı Avrupa ülkelerinde yapılan diğer birçok çalışmada (Lilja ve diğ.,1997) *Pinus sylvestris*, *Pinus radiata*, *Castanea sativa*, *Abies* sp. ve *Thuja orientalis* fidanlarında *Clindrocarpon destructans*, *Pythium* spp., *Phytophthora* spp. ve *Cylindrocladium* spp. gibi fungus türlerinin kök çürüklüğüne neden olduğu belirtilmektedir.

Ayrıca birçok araştırmada bu çalışmada da tespit olan *Cylindrocarpon destructans*, *F. moniliforme* ve *F. oxysporum*'un kök çürüklüğüne neden oldukları daha önce ispat edilmiştir (Sick ve Vanner, 1986; James ve diğ.,1988; Jung ve diğ., 2005; Orlikowski ve diğ., 2006; Kurt, 2011 ve Yardımcı ve diğ., 2010).

*Fusarium* türlerinin fidanlar için patolojik sonuçlar doğuran funguslar olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca fidanlarda kök çürüklüğüne sebep olan en yaygın fungal türdür. Tüm büyüme evrelerinde fidanlarda önce solgunluğa sonra ölüme neden olurlar. Önceki çalışmalar, *F. oxysporum*'un, özellikle ağaçların köklerinde tespit ve izole edildiğini belirtmiştir (Graham ve Lindermaan, 1993). James, (1983) de, *F. solani*'nin ormanlardaki ağaçların köklerinden izole edildiğini ve tanımlandığını belirtmiştir. Ayrıca, *F. moniliforme* ve *F. avenaceum* da ormanlardaki ağaçların köklerinden izole edilmiştir (James, 1985). *Fusarium* türleri özellikle kuru ve yüksek sıcaklığa maruz kalan fidanlıklarda ve ormanlarda konifer fidanlardan ve ağaçlardan izole edilmiştir. İğne yapraklı ağaçlar, *Fusarium* ile enfeksiyona daha duyarlıdır (Landis, 1989).

Çalışma sonuçlarımıza göre, her üç fidanlıktaki da *Fusarium* türlerinin ortaya çıktığı anlaşılmıştır; Gölköy ve Taşköprü fidanlıklarının her birinde *F. solani*'nin ortaya çıktığı ve *Pinus nigra*, *Picea pungens* ve *Abies nordmanniana* fidanları üzerinde değişik oranlarda enfeksiyona neden olduğu görülmüştür. Fungus, ağaç köklerinden, gövdelerinden ve toprak örneklerinden izole edilmiştir. Taşköprü fidanlığında *F. oxysporium* bulunmuştur ve bu fidanlıktaki *Pinus* türlerinin yaprak ve toprak

örneklerinden fungus izole edilmiştir. Yapılan patojenisite denemelerinde *Pinus nigra*, *Pinus sylvestris* ve *Pinus pinea* fidanlarında enfeksiyona neden olduğu gözlenmiştir.

Daday fidanlığında ise *F. moniliforme* izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Bu fungus *Cedrus libani*, *Abies nordmanniana* ve *Juglans regia* fidanlarından izole edilmiştir. Fungus fidanların yaprak ve gövdelerinde ortaya çıkmıştır. Orman fidanlıklarının en patolojik funguslarından biri olan *Clindrocarpon destructans*, Daday fidanlığında ortaya çıkmış ve *Abies nordmanniana* fidanlarının gövdeleri üzerinde hastalığa neden olmuştur. Bu fungus daha önce yapılan çalışmalarda ise fidanların köklerinden izole edilmiştir (Sarhan ve diğ., 1989; Ocamp ve Juzwik, 1995; El-Settaw, 1999).

Bu çalışma sırasında ayrıca *Clonostachys rosea* adı verilen başka bir fungus tespit edilmiş ve tanımlanmıştır; bu fungus, kök çürüklüğüne yol açan *F. oxysporum*, *F. solani*, *Pythium* spp ve *Rhizoctonia solani* gibi funguslara karşı antifungal olarak kullanılmaktadır. *Clonostachys rosea*, bahsedilen patojenik fungusların miselyumunun büyümesini engellemekte veya yan miselyumun büyümesini azaltmaktadır. Ayrıca, bu fungus fidan büyüme alanı etrafında yetişir, fidanların ve köklerin gelişip büyümesi ile beraber bu fungus da gelişir ve çoğalır; kök çürüklüğüne neden olan fungusların büyümesini önler veya azaltır, böylece fidanların büyümesini artırır. Bu özelliği, tiram gibi fungusitlere benzemektedir. Toprak bu fungus ile enfekte olduğunda, var olan kök çürüklüğünün şiddeti % 65'e kadar düşmektedir. Bu yüzde, tiram fungusitinin kullanımıyla elde edilen aynı düzeydedir. Bu nedenle, bu funguslara karşı biyolojik olarak dirençli olarak kabul edilir ve mevcut kimyasal ürünlere alternatif oluşturmaktadır (Allen, 2003).

Buna ek olarak, *Aspergillus niger* olarak bilinen bir başka fungus elde edilmiştir. Bu fungus, fidanlarda ve bitkilerde toksisiteye neden olan topraktaki ağır metal iyonlarının uzaklaştırılmasında önemli kabul edilir (Kapoor ve diğ.,1999). Ayrıca, bu fungus ekonomik olarak önemlidir çünkü; fermente edici özelliği vardır, sitrik asitin üretilmesinde kullanılmaktadır, en etkili biyolojik tedavilerden biridir ve şu anda sanayide en üretken en verimli unsurlardan biri olduğu düşünülmektedir (Scott, 2009). Diğer çalışmalarda, bu fungusun sitrik ve oksalik asit üretimindeki potansiyelinden bahsedilmektedir; besleyici ortamda morfolojik formları ortaya çıkar

ve bu formlar ağır metallerin oksitlenmesidir, fungus bu çözünmeyen metal bileşiklerini organik bileşiklere taşır. Bu işlemin; toksik metallerin ortadan kaldırılmasında kullanılabileceği belirtilmiştir (Sayer ve Gadd, 1997).

Daday fidanlığından izole edilen ve tanımlanmış olan funguslar için izolasyon sonuçlarıyla ilgili kapsamlı bir inceleme yapıldığında, *Clindrocarpon destructans*'ın fidanlar üzerinde daha saldırgan olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle, lezyon boyu tüm fidanlarda fazla çıkmıştır. Özellikle *Pinus pinea* fidanlarında lezyon boyu (12.93 mm) daha uzundur. Bununla birlikte, diğer fidan türlerinde hastalık etmenlerinin daha az lezyon oluşturduğu gözlenmiştir. En az lezyon boyu *Picea pungens*'te (12.23 mm) görülmüştür. Funguslar tarafından fidanlarda oluşturulan enfeksiyon anlamında, *C. destructans*'ın en saldırgan fungal patojen olduğu görülmüştür. Bu fungusu karşı *P. pinea* fidanları en hassas olanlardır. Bu fungusun sebep olduğu enfeksiyonda fidanlar arasında duyarlılık farkı olduğu görülmüştür, ancak bu farklılık miktarını tahmin etmek zordur. Sonuç olarak bu fungusun sebep olduğu enfeksiyonda, enfeksiyon miktarındaki farkın çok az olmasına rağmen, hastalığın konukçulardaki genetik farklılıklarından dolayı bir miktar farklılıklar olduğu diğer çalışmalarda da gösterilmiştir (Jung ve diğ.,2005). Buna göre *Cylindrocarpon* türleri, diğer patojenik fungus türlerine kıyasla bitki konukçularında daha geniş bir alana yayılabilen enfeksiyona neden olabilmektedirler.

Bu tez çalışmasında, *C. destructans*'ın büyümesi ve laboratuvarındaki fidanlarda enfeksiyona yol açması, diğer funguslarla karşılaştırıldığında daha güçlü ve agresiftir. Bu sonuç, Isparta bölgesinde farklı türdeki ağaçların kök bölgesinden fungusun izole edildiği diğer bir çalışmadan elde edilen bulgularla uyumluluk göstermektedir. Bu fungus aynı zamanda Türkiye'de Akdeniz bölgesinde ve İç Anadolu'da da izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Kurt, 2011).

*Fusarium* türlerinin patojenisite testlerinde, incelenen üç fidanlıkta da enfeksiyonun ortaya çıktığı ve fungusun test edilen tüm fidanlar üzerinde enfeksiyon yapabilme kabiliyeti bulunduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte patojenisite testleri sonucunda *Cylindrocarpon destructans*'tan daha az enfeksiyon oluşturma yeteneğinde olduğu tespit edilmiştir. Patojenisite testi sonucunda *Pinus pinea* fidanlarının *F. oxysporum*

tarafından daha fazla etkilendiği, vek bütün fidanlarda da lezyon oluştuğu gözlenmiştir.

*F. solani* için de, önceki fungusu benzer şekilde lezyon oluşturduğu görülmüştür. Bununla birlikte, fidan türlerinin fungusu duyarlılığı farklıdır, *Picea pungens* fidanlarının *F. solani* enfeksiyonuna karşı daha duyarlı olduğu gözlenmiş, diğer fidan türlerinin, *F. oxysporum*'a göre daha az duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

*Fusarium moniliforme*, patojenisite testlerinde lezyon oluşturmakla beraber, daha önceki iki fungusu (*F. oxysporum* ve *F. solani*) kıyasla daha az patojenik potansiyeli olduğu ortaya çıkmıştır. Yapılan patojenisite testi sonuçlarına göre bu fungusun en fazla *P. pinea* fidanlarında hastalık oluşturma yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. Orlikowski ve Szkuta (2004) göre ise bu fungusun en büyük etkisi *Cedrus libani* fidanlarında görülmüştür.

*Fusarium* türlerinin dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalarda çeşitli orman ağacı fidanlarında meydana getirdiği zararlar konusunda Landis (1976), Couteaudier ve Alabouvette (1981), Bloomberg (1981), James (1983), Graham ve Linderman (1983), James (1985a), Vural (1989), Sarhan ve diğ. (1989), Ocamb ve Juzwik (1995), El-Settawy (1999), Özdamar, (1999), James ve Perez (1999), Dick ve Dobbie (2002), Akıllı ve diğ. (2010), Crosby ve diğ. (2010), Moulin (2010), Aday-Kaya (2014), Karakaya ve diğ. (2015) tarafından çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda özellikle Vural (1989) ve James ve Perez (1999) söz konusu çalışmada elde edilen sonuca benzer olarak en yoğun zararın *F. oxysporum* tarafından oluşturulduğu belirtilmektedir. El-Settawy (1999) ise Mısır'daki orman ağacı fidanlarında yapmış olduğu çalışmalar sonucunda *F. solani* tarafından fidanların daha çok zarar gördüğünü bildirmektedir.

Bu çalışmada, incelenen üç fidanlıktaki fungusların tanımlandığı ve izole edildiği test süreçlerinde, *Clonostachys rosea* tanımlanmış, izole edilmiştir. İzole edilmesi ve tanımlanması mümkün olan bu tip funguslar, *Trichoderma* gibi biyolojik kontrol ajanları olarak kabul edilir. Misellerin geliştirilmesi ve mikroskop altında sporların tanımlanması ile bu fungusu tanımlamak mümkün olmuştur. Bu fungus patojenik

fungusların gelişimini etkileyerek büyümesini engelleme yeteneğine sahiptir; dolayısı ile bu tip funguslar kullanılarak kök hastalıklarına neden olan fungusların biyolojik kontrolünde etkin bir şekilde kullanılabilir (Green ve diğ.,1999).

Fidanlıklarda patojenlerin yol açtığı enfeksiyonların ortaya çıkması, çoğaltımda kullanılan tohumlardan veya fidan çoğaltımında kullanılacak bitki parçalarından aynı enfeksiyonların var olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle, bitki parçalarının veya tohumların patojen veya enfeksiyon faktörlerinden arındırılmış olarak seçilmesi gerekir. Sulama amaçlı kullanılan suların patojenler ve diğer hastalık etkenleri açısından da izlenmesi gereklidir. Bu patojenlerin veya diğer hastalık faktörlerinin varlığı fark edilirse, suları arıtmak için kimyasal maddelerin kullanılması gerekebilir. Ayrıca fidanların yetiştirilmesi polietilen torbalarda yapıldığında, patojen veya hastalık etkenleri içermeyen, iyi drenaj sağlayan uygun bir toprak tipinin seçilmesi önemlidir; kireçli veya taş içeren toprak türünden kaçınılması gerekir.

Elde edilen sonuçlar ve fidan sayıları açısından bakıldığında, *Abies nordmaniana*'nın bu bölgedeki fidanlıklarda en çok yetiştirilen tür olduğu görülebilir. Bu türün polietilen poşetlerde yetiştirilmesinin *Clindrocarpon destructans* ve *Fusarium moniliforme* gibi patojenlerden kaynaklı enfeksiyonlara neden olduğu görülmüştür. Ayrıca, doğrudan toprakta yetiştirildiğinde *Fusarium solani*'den kaynaklanan enfeksiyonlar görülmüştür. Kastamonu yöresindeki fidanlıklarda büyük sayılarda bu fidanların yetiştirildiği göz önüne alındığında bu çalışmadan elde edilen sonuçların bu fidanların yetiştirilmesinde dikkate alınması çok önemli görünmektedir. Dolayısıyla patojenlerin neden olduğu hastalık tehlikelerinden korunmak için pek çok şey göz önünde bulundurulmalıdır.

Üç orman fidanlığında yapılan araştırma, Daday fidanlığında modern ve yeni yöntemlerin kullanıldığını göstermiştir. Fidanlıktaki işçilerin fidanların yetiştirilmesi, çoğaltılması, sulaması ve enfekte olmuş veya kusurlu fidanlardan vazgeçilmesi gibi işlerle oldukça ilgili oldukları ve süreçleri dikkatle takip ettikleri gözlenmiştir. Buna rağmen, bu fidanlık patolojik enfeksiyonlardan arınmış değildir. Gökçöy'deki fidanlık için de aynı şeyler daha az ölçüde olmakla beraber söylenebilir. Drenajın zayıf olması dışında fidanların iyi üretilmesi için gerekli olan diğer süreçler ilgiyle takip



edilmektedir. Taşköprü fidanlığında ise geleneksel yöntemlerin kullanıldığı görülmüştür. Pek çok fidan yastıklara dikilmektedir, ancak bu pek çok fungusun enfeksiyon oluşturmaya neden olmaktadır. Fidanlığın diğer tarafında ise; fidan üretimi için modern teknikler kullanılmaktadır. Ayrıca, polietilen torbalarda fidanların üretiminde drenaj açısından iyi bir toprak kullanılmış, üretimde kalite yakalanmış ve fidanlardaki enfeksiyon seviyeleri azalmıştır. Bu nedenle fidanlıklara ilginin artırılması, fidanların üretiminde modern tekniklerin takip edilmesi ve kullanılması, ve bu fidanlıklardaki rehabilitasyon yapan işçi sayısının artırılması, fidanları yetiştirmek için uygun toprak tipinin seçilmesi, fidanlık bölgesinde hava koşullarını ve sıcaklığının izlenmesi ve fidanların çoğunluğunun enfeksiyonlarda korunması için gerekli önleyici adımların ihmal edilmemesi gerekmektedir.

Özdamar (1999) tarafından yapılan çalışmada, *Fusarium* spp, *Rhizoctonia* spp ve *Pythium* spp funguslarının fidanların ekim işlemlerini gerçekleştirmeden önce topraktan izole edildiğinden bahsedilmiştir. Bu patojen türlerinin, özellikle dikim ve büyümenin ilk dönemlerinde kök çürüklüğüne ve fidanların ölümüne sebep olan hastalıklara neden olduğu bilinmektedir. Bu patojenler, fidanların gelişiminin her aşamasında enfeksiyonlara ve hastalığa neden olabilir ve fidanlık üretimini azaltır (Wardlaw ve Philips, 1990; Mirabolfathy ve Ershad, 1996; Lija ve diğ.,1997).

Bu nedenle, kök çürüklüğü hastalıklarına neden olan patojenlerden fidanları korumak için gerekli önlemlerin alınması gereklidir. Burada bazı ülkelerin mikorizayı hastaliksız sağlıklı fidanların dikilmesi ve yetiştirilmesinde başarılı bir şekilde kullandıkları belirtilmelidir (Trappe, 1977; Doğmuş ve Doğanoğlu, 2003; Whipps, 2004).

Ayrıca, bu patojenlerin neden olduğu hastalıklarla mücadelede takip edilen tüm prosedürler ve metotlar, tohumların çoğaltılmasından, gelişip büyümesine, oradan ormana bu fidanların dikilmesine kadar birbirleriyle uyumlu olmalıdır.

Kastamonu yöresindeki üç orman fidanlığında tarafımızdan yapılan gözlemler sonucunda, mikoriza funguslarının fidan yetiştirme işleminde kullanılmadığı görülmüştür. Bu tekniğin optimum düzeyde kullanımı için daha iyi bir teknoloji ve

uzun dönemli araştırmaların yapılması gereklidir. Bu tekniğın kullanımındaki karmaşıklığa rağmen bu teknikten yararlanarak, özellikle fidanların kıkleri ve fidanlık toprağında var olan mikoriza fungusları arasındaki ilişkiyi belirlemek oldukęa kolaydır. Geniş yapraklı ağağlara ait fidanların yetiştirilmesinde mikoriza metodu her zaman kullanılmıştır. Tohumlar mikorizanın olduğu toprağa farklı metotlarla dikilebilirler, ve bıkylece bu fidanlar ormanda toprakta daha iyi gelişebilirler. Bu metot sayesinde orman toprağında olması her zaman muhtemel olan patojen funguslara karşı fidanların korunması garanti edilmiş olur. Bunun yanı sıra, fidan kıklerinin etrafında bulunan mikoriza funguslarının yardımıyla toprakta bulunan su ve besinlerin fidanlara iletilmesi de kolaylaşmış olur. Sonuğta, hem bitki hem de fungus, aralarındaki simbiyotik ilişkiden faydalanmaktadır.

Sonuç olarak orman fidanlıklarında hastalıklara neden olan fungal tırlerinin zararının farkındalığına varılması ve bunlara karşı gerekli önlemlerin alınması, ılıkemiz ağağlandırma ęalıřmalarının başarisının artması açısından önemli bir etkiye sahip olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Aday-Kaya A.G. (2014). Türkiye'nin batısında yer alan orman fidanlıklarında geniş ve iğne yapraklı fidan türlerinde kök çürüklüğüne neden olan ökaryot patojenlerin belirlenmesi (Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Agrios, G. N. (1988). Plant Pathology, 3rd. ed. Academic Press, Inc.,803pp. New York.
- Akıllı, S.,Katırcıoğlu Y. Z., Maden S. (2010). Türkiye'deki Bazı Orman Fidanlıklarında Fungusların Neden Olduğu Hastalıklar Üzerinde Çalışmalar. Düzce Üniversitesi, Ormancılık Dergisi, 6(2), 1–10.
- Alexandrakis, G.,Jalali, S and Gloor, P. (1998). Diagnosis of *Fusarium keratitis* in an animal model using the polymerase chain reaction. British Journal of Ophthalmology82, 306–11.
- Alexopolous, C. J.,Charles, W. M., Blackwell, M. M. (2004). Introductory Mycology, 4th ed. John Wiley, 632, New York.
- Ali, M. A., Gyulai, G., Hidvegi, N., Kerti, B., Al Hemaïd, F. M., Pandey, A. K., & Lee, J. (2014). The changing epitome of species identification–DNA barcoding. Saudi journal of biological sciences, 21(3), 204-231.
- Anonim, (2004). Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Müdürlüğü 2004 Yılı Çalışma Raporu 2004 Yılı Çalışma Programı, Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Müdürlüğü, Ankara.
- Anonim (2017). Orman Genel Müdürlüğü 2017 yılı faaliyet raporu. <https://www.ogm.gov.tr/ekutuphane/FaaliyetRaporu/Orman%20Genel%20M%C3%BCd%C3%BCr%C3%BC%202017%20Y%C4%B1%20Faaliyet%20Raporu.pdf> Erişim tarihi: 28.10.2018
- Baldauf, S. L., Roger, A. J., Wenk-Siefert, I., & Doolittle, W. F. (2000). A kingdom-level phylogeny of eukaryotes based on combined protein data. Science, 290(5493), 972-977.
- Belbahri, L., Moralejo, E., Calmin, G., Oszako, T., García, J. A., Descals, E., & Lefort, F. (2006). *Phytophthora polonica*, a new species isolated from declining *Alnus glutinosa* stands in Poland. *FEMS Microbiology Letters*, 261(2), 165-174.
- Belisario, A., Caciola, S. O., & Magnano Disan Lio, G. (1997). *Phytophthora cactorum* on walnut seedlings in Italian nurseries. European Journal of Forest Pathology, 27(3), 137-146.
- Bloomberg, W. J. (1981). Disease caused by *Fusarium* in forest nurseries.

- Brayford, D., Honda, B. M., Mantiri, F. R., & Samuels, G. J. (2004). *Neonectria* and *Cylindrocarpon*: the *Nectria mammoidea* group and species lacking microconidia. *Mycologia*, 96(3), 572-597.
- Bruns, T. D., Fogel, R., & Taylor, J. W. (1990). Amplification and sequencing of DNA from fungal herbarium specimens. *Mycologia*, 82(2), 175-184.
- Bruns, T. D., White, T. J., & Taylor, J. W. (1991). Fungal molecular systematics. *Annual Review of Ecology and systematics*, 22(1), 525-564.
- Cooley, R. N. (1992). use of RFLP analysis, electrophoretic karyotyping and PCR in studies of plant pathogenic fungi. In *Molecular biology of filamentous fungi: proceedings of the EMBRO-Workshop, Berlin, August 24-29, 1991*/edited by U. Stahl and P. Tudzynski. Weiheim: VCH, c1992..
- Couteaudier, Y., & Alabouvette, C. (1981). *Fusarium* wilt diseases in soilless cultures. In *Symposium on Substrates in Horticulture other than Soils In Situ* 126 (pp. 153-158).
- Crandall, B. S., Gravatt, G. F., & Ryan, M. M. (1945). Root disease of *Castanea* species and some coniferous and broadleaf nursery stocks, caused by *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology*, 35, 162-80.
- Crosby, C., Carpenter-Boggs, L., Higgins, S., & Khadduri, N. (2010). Detection and control of *Fusarium oxysporum* and *Cylindrocarpon destructans* in forest nursery soils. In *USDA Forest Service Proceedings* (pp. 32-34).
- Crous, P. W., Phillips, A. J. L., & Wingfield, M. J. (1991). The genera *Cylindrocladium* and *Cylindrocladiella* in South Africa, with special reference to forest nurseries. *South African Forestry Journal*, 157(1), 69-85.
- Desprez-Loustau, M. L., Robin, C., Reynaud, G., Déqué, M., Badeau, V., Piou, D., ... & Marçais, B. (2007). Simulating the effects of a climate-change scenario on the geographical range and activity of forest-pathogenic fungi. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 29(2), 101-120.
- Dick, M. A. & Dobbie, K. (2002). Species of *Fusarium* on *Pinus radiata* in New Zealand. *New Zealand Plant Protection*, 55, 58-62.
- Doğmuş, T., & Doğanoglu, Ö. (2003). Orman Fidanlıklarında Çökerten Hastalığının Önemi ve Hastalığın Biyolojik Kontrolünde Ektomikorizal Fungusların Kullanımı. *Turkish Journal Of Forestry*, 1, 103-118.
- El-Settawy, A. A. (1999). Diseases of the Most Important Trees Growing in Egypt, 4th Meeting of IUFRO 7.03.03 Working Party, Diseases and Insects in Forest Nurseries, 25-28 July, Suonenjaki, 33.
- Erwin, D. C., & Ribeiro, O. K. (1996). *Phytophthora* diseases worldwide. American Phytopathological Society (APS Press).

- Feyera, S., Beck, E., & Lüttge, U. (2002). Exotic trees as nurse-trees for the regeneration of natural tropical forests. *Trees*, 16(4-5), 245-249.
- Gallegly, M., Hong, C. (2008). *Phytophthora*: Identifying Species By Morphology and DNA Fingerprint. American Phytopathological Society Press, 158pp. St Paul, Minnesota.
- Graham, J. H., & Linderman, R. G. (1983). Pathogenic seedborne *Fusarium oxysporum* from Douglas-fir. *Plant Disease*, 67(3), 323-325.
- Green, H., Larsen, J., Olsson, P. A., Jensen, D. F., & Jakobsen, I. (1999). Suppression of the Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum* by Mycelium of the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Glomus intraradices* in Root-Free Soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(4), 1428-1434.
- Hasenekoğlu, İ. (1989). Toprak Mikrofunguslarının İzolasyon ve Kültür Metodları. Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi, Erzurum.
- James, R. L. (1983). Occurrence of *Fusarium* on Douglas-fir seed from the Coeur d'Alene Nursery. USDA For. Serv., Northern Region.
- James, R. L. (1985a). Diseases associated with containerized seedling soil mixes. Tree planters' notes-United States, Forest Service (USA).
- James, R. L. (1985b). *Fusarium* Associated With Seedborne Disease of Ponderosa Pine Seedlings At The Montana State Nursery, Missoula. USDA Forest Service, Northern Region, 5.
- James, R. L. (1985c). Pathogenic *Fusarium* on Spruce Seed From The Towner Nursery, North Dakota. USDA Forest Service, Northern Region. Report, 85-23.
- James, R. L., & Perez, R. (1999). Pathogenic characteristics of *Fusarium sporotrichioides* isolated from inland Pacific Northwest forest nurseries.
- James, R. L., Gilligan, C. J., & Reedy, V. (1988). Evaluation of root diseases of containerized conifer seedlings at the Champion Timberlands Nursery, Plains, Montana.
- Jung, T., Burgess, T. (2009). Re-Evaluation of *Phytophthora citricola* Isolates from Multiple Woody Hosts in Europe and North America Reveals a New Species, *Phytophthora plurivora* sp. nov., *Persoonia*, 22, 95 – 110.
- Jung, T., Downing, M., Blaschke, M., Vernon, T. (2007). *Phytophthora* Root and Collar Rot of Alders Caused by the Invasive *Phytophthora alni* : Actual Distribution, Pathways, and Modelled Potential Distribution in Bavaria. In: Alien Invasive Species and International Trade. (Evans, HF & Oszako, T, eds). Proceedings of the 1st International IUFRO Unit 7.03.12 Meeting, 3rd - 7th July 2006, Forest Research Institute, Warsaw, 10-18.

- Jung, T., Hudler, G. W., Jensen-Tracy, S. L., Griffiths, H. M., Fleischmann, F., Oßwald, W. (2005). Involvement of *Phytophthora* Species in the Decline of European Beech in Europe and The USA. *Mycologist*, 19, 159-166.
- Jung, T., Schumacher, J., Leonhard, S., Hartmann, G., Cech, T. (2009). Widespread *Phytophthora* Inflammation of Nurseries in Germany and Austria and Their Role As Primary Pathway of Phytophthora Diseases of Trees. In : Goheen EM, Frankel SJ. Proceeding of the fourth meeting of The International Union of Forest Research Organizations (IUFRO) Working Party S07.02.09, *Phytophthoras* in forests and natural ecosystems. Gene. Tech. Rep. PSW-GTR-221. Albany, CA: U.S. Pat. Department of Agriculture, Forest Research, Pacific Southwest Research Station, 140-141.
- Kapoor A., Viraraghavana T. and Cullimore D.R. (1999). Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. *Journal Elsevier* : Volume 70, Issue 1, October 1999, Pages 95-104.
- Karakaya, A., Gültekin, H.C., Aday Kaya, A.G., Doğmuş Lethtijarvi, H.T. (2015) Marmara Bölgesindeki Orman Fidanlıklarında Yetiştirilen Odunsu Bitkilerdeki Fungal Etmenlerin Tespiti, Kavak ve Hızlı Gelişen Orman Ağaçları Enstitüsü Müdürlüğü/ Türkiye.
- Kanyi, B., Mwangi, L., Mbagi, A., Hunter, G. C., Wingfield, M. J., Nakabonge, G., ... & Meke, G. (2005). Diseases of plantation forestry trees in eastern and southern Africa. *South African Journal of Science*, 101(9), 409-413.
- Khorasani M., (2013). *Cylindrocarpon* Species in Pacific Northwest Douglas-fir Nurseries: Diversity and Effects of Temperature and Fungicides on Mycelial Growth. University of Washington, Msc Thesis, 88s, Washington.
- Kim, M. S., Stewart, J. E., Dumroese, R. K., & Klopfenstein, N. B. (2012). Occurrence of the Root Rot Pathogen, *Fusarium commune*, in Forest Nurseries of the Midwestern and Western United States. *Journal of Phytopathology*, 160(2), 112-114.
- Kurt, Ş. (2011). Orman Fidanlıklarında Görülen Kök Çürüklük Hastalığı Etmeni *Cylindrocarpon destructans*' in Tanısı ve Patojenitesi, IV. Bitki Koruma Kongresi, 28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş, 388.
- Landis, T. D. (1976). An Analysis of Seed and Seedling Losses at Mt. Sopris Tree Nursery (CO). Denver (CO): USDA Forest Service, Forest Insect and Disease Management. *Biological Evaluation*, 76.18-7.
- Landis, T. D. (1989). Disease and Pest Management, pp. 1-99. In: Landis, T. D., Tinus, R. W., McDonald, S. E. and Barnett, J. P. (Eds) *The Container Tree Nursery Manual, Volume 5. Agri. Handbook 674*. US Dept. of Ag., Forest Service, Washington, D.C.
- Lilja, A., Lilja, S., & Kurkela, T. (1997). Nursery practices and management of fungal diseases in forest nurseries in Finland. A review.

- Lilja, A., Lilja, S., Poteri, M., & Ziren, L. (1992). Conifer seedling root fungi and root dieback in Finnish nurseries. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 7(1-4), 547-556.
- Lilja, A., Poteri, M., Petäistö, R. L., Rikala, R., Kurkela, T., & Kasanen, R. (2010). Fungal diseases in forest nurseries in Finland.
- Lilja, A., Rytönen, A., Kokkola, M., Parikka, P., & Hantula, J. (2007a). First report of *Phytophthora ramorum* and *P. inflata* in ornamental Rhododendrons in Finland. *Plant Disease*, 91(8), 1055-1055.
- Lilja, A., Rytönen, A., Parikka, P., Kokkola, M., & Hantula, J. (2007b). Alien Species in Finnish Nurseries, *Phytophthora* spp. *Acta Silvatica & Lignaria Hungarica*, Spec. Edition, 219-227.
- Louie, M., Louie, L., & Simor, A. E. (2000). The role of DNA amplification technology in the diagnosis of infectious diseases. *Cmaj*, 163(3), 301-309.
- Mayer, H., & Aksoy, H. (1998). Türkiye Ormanları (Forests of Turkey). Orman Bakanlığı. Batı Akdeniz Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bolu, ISSN: 975 7829 56 0, OB Yayın No: 38, Müdürlük Yayın No, 2.
- Mirabolfathy, M., & Ershad, D. (1996). Studies on the conifer damping-off in the forest nurseries of northern and central Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*. Vol., 32.
- Moukhamedov, R., Hu, X., Nazar, R. N., & Robb, J. (1994). Use of polymerase chain reaction-amplified ribosomal intergenic sequences for the diagnosis of *Verticillium tricorpus*. *Phytopathology*, 84(3), 256-259.
- Moulin Y.Y. (2010). Determination of pathogenic fungi associated with the roots and branches of Juniper trees in the forests of Asir region. *Journal Soc for Agric.Sci.*, Vol : 9, No2a;2010.
- Ocamb, C. M., & Juzwik, J. (1995). *Fusarium* species associated with rhizosphere soil and diseased roots of eastern white pine seedlings and associated nursery soil. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 17(4), 325-330.
- Orlikowski, L. B. (2006). Relationship between source of water used for plant sprinkling and occurrence of *Phytophthora* shoot rot and tip blight in container-ornamental nurseries. *Journal of Plant Protection Research*, 2(46), 163-168.
- Orlikowski, L. B., & Szkuta, G. (2004). First notice of *Phytophthora ramorum* on *Calluna vulgaris*, *Photinia fraseri* and *Pieris japonica* in Polish container-ornamental nurseries. *Phytopathologia Polonica*, 34, 87-92.
- Öner, M., (1973) Atatürk Üniversitesi Erzurum Çiftliği, Eğerli Dağı Kuzey Yamacı ve Trabzon-Hopa Sahil Şeridi Mikrofungus Florası İle İlgili Bir Araştırma. Atatürk Üniv. Yayınları. Sevinç Matbaası Ankara. Atatürk Üniv. Yayın No. 158, Fen-Edebiyat Fak. Yayınları N o.21,Araştırma Serisi No. 17,1-71.

- Özdamar, T. (1999). Ege ve Göller Bölgesi Orman Fidanlıklarında Çökerten Hastalığının Önemi, Etmenleri ve Savaşım Olanakları Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi. Fen bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi.
- Pallant, J. (2013). SPSS survival manual. McGraw-Hill Education (UK).
- Pathak, H., Maru, S., & HN, S. (2015). Fungal diseases of trees in forest nurseries of Indore, India. *Plant Pathology & Microbiology*.
- Phara, K .D. & Kommedahl, T .A ., (1954) A Modified Plating Technique for the Study of Soil Fungi. *Phytopath.* 44:502.
- Rai, V. R., & Mamatha, T. (2005). Seedling diseases of some important forest tree species and their management. In *Diseases and Insects in Forest Nurseries. Proceedings of the 5th Meeting of IUFRO Working Party S (Vol. 7, pp. 6-8)*.
- Reischl, U., & Lohmann, C. P. (1997). Polymerase chain reaction (PCR) and its possible applications in diagnosis of infection in ophthalmology. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*, 211(4), 227-234.
- Sarhan, A. R. T., Abdul-Hammed, F. A., Salam, M., & Ashki, A. H. (1989). Occurrence and pathogenicity of damping-off fungi of pine seedlings in northern Iraq. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 24(3-4), 277-281.
- Sayer, J. A., & Gadd, G. M. (1997). Solubilization and transformation of insoluble inorganic metal compounds to insoluble metal oxalates by *Aspergillus niger*. *Mycological Research*, 101(6), 653-661.
- Schori, M., & Showalter, A. M. (2011). DNA barcoding as a means for identifying medicinal plants of Pakistan. *Pak. J. Bot.*, 43, 1-4.
- Scott, P. M., Burgess, T. I., Barber, P. A., Shearer, B. L., Stukely, M. J. C., Hardy, G. S. J., & Jung, T. (2009). *Phytophthora multivora* sp. nov., a new species recovered from declining Eucalyptus, Banksia, Agonis and other plant species in Western Australia. *Persoonia*, 22, 1.
- Sharma, J. K., Mohanan, C., & Florence, E. M. (1985). Disease survey in nurseries and plantations of forest tree species grown in Kerala. *Disease survey in nurseries and plantations of forest tree species grown in Kerala.*, (36).
- Sharma, J. K., Mohanan, C., & Maria Florence, E. J. (1984). Nursery diseases of Eucalyptus in Kerala 1. *European Journal of Forest Pathology*, 14(2), 77-89.
- Skilling, D. D., & Nicholls, T. H. (1975). The development of *Lophodermium pinastri* in conifer nurseries and plantations in North America. *European Journal of Forest Pathology*, 5(4), 193-197.
- Trappe, J. M. (1977). Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries. *Annual Review of Phytopathology*, 15(1), 203-222.



- Unestam, T., Beyer & Ericson, L., & Strand, M. (1989). Involvement of *Cylindrocarpon destructans* in root death of *Pinus sylvestris* seedlings: pathogenic behaviour and predisposing factors. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 4(1-4), 521-535.
- Vasaitis, R., Stenlid, J., Thomsen, I. M., Barklund, P., & Dahlberg, A. (2008). Stump removal to control root rot in forest stands. A literature study. *Silva Fennica*, 42(3), 457.
- Vural, N. (1989). Çam fidelerinde görülen çökerten hastalığının etmenleri ve kimyasal yolla önlenmeleri. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 23 sayfa. İzmir.
- Waksman, S.A ., (1922). A Method of Counting the Number of Fungi in the Soil. *J. Bacteriol.*7(3):339-341.
- Wardlaw, T., & Phillips, T. (1990). Nursery diseases and their management at the Forestry Commission nursery, Perth. *Tasforests*, 2(1), 21-26.
- Weiland, J. E., Beck, B. R., & Davis, A. (2013). Pathogenicity and virulence of *Pythium* species obtained from forest nursery soils on Douglas-fir seedlings. *Plant disease*, 97(6), 744-748.
- Whipps, J. M. (2004). Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. *Canadian journal of botany*, 82(8), 1198-1227.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. L. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322.
- Zhang, N., Sung, G., Castlebury, LA, Seifert, KA, Rossman, AY, Rogers, JD, Miller, N., Huhndorf, SM, Schoch, CL, Kohlmeyer, J., Volkman- Kohlmeyer, B., (2007). An Overview of Molecular Phylogeny of the Sordariomycetes. *Mycologia*, 98, 1076-1087.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mansour S. M. BARTOUH  
Doğum Yeri ve Yılı : Libya - 1967  
Medeni Hali : Evli  
Yabancı Dili : İngilizce  
E-posta : mansour.bartooh@yahoo.com



### Eğitim Durumu

Lise : İbrahim Al-Osta Omar school (1982-1985)  
Lisans : Bitki Hastalıkları Bölümü, Bitki Koruma, Ömer Muhtar Üniversitesi, El-Bayda – Libya (1990)  
Yüksek Lisans : Bakteriyel ve Fungal Flora Hastalıkları, Ömer Muhtar Üniversitesi. El-Bayda – Libya (2009)

### Mesleki Deneyim

İş Yeri : El-Kifah Middle School / Derna, Libya (1994).  
İş Yeri : Endüstri, Mineraller ve Enerji Bakanlığı (2002).  
İş Yeri : Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (2006).  
İş Yeri : Libya Ömer Muhtar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Bitki Bilimleri Bölümü (2011).

### Yayımları

Bartouh, M.S.M., Ünal, S., Karadeniz, M., Boufaris, M.S.M. (2017). The impact of liquid plants extracts on some fungus causing root rots on chickpea. International Journal of Science and Research Methodology. Acceptance Date: Article ID: IJSRM/HUMAN.June 2017 Vol.: 6, Issue: 4.

Bartouh, M.S.M., Ünal, S., Karadeniz, M.. (2018). Biological control of fungal plant pathogens using *Trichoderma harzanium* and *Bacillus subtilis* on chickpea. International Journal of Science and Research Methodology. Acceptance Date: Article ID: IJSRM/HUMAN.January 2018Vol.:8, Issue:3.

Boufaris M.S.M., Alzand K.I., Ünal S., Karadeniz M., Bartouh M. (2017). Trace elements concentrations in Turkey species of wild growing edible mushrooms: A review. International Symposium on New Horizons in Forestry, 18-20 Ekim 2017, Isparta.