

**ERZİNCAN İLİNDE FASULYE BİTKİLERİNİN  
TOPRAK ÜSTÜ AKSAMLARINDAN İZOLE EDİLEN  
*Rhizoctonia* TÜRLERİNİN ANASTOMOSİS GRUPLARI  
VE PATOJENİTESİ**

**Zehra AKARCA**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Bitki Koruma Anabilim Dalı**

**Prof. Dr. Erkol DEMİRCİ**

**2013**

**Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ERZİNCAN İLİNDE FASULYE BİTKİLERİNİN TOPRAK ÜSTÜ  
AKSAMALARINDAN İZOLE EDİLEN *Rhizoctonia* TÜRLERİNİN  
ANASTOMOSİS GRUPLARI VE PATOJENİTESİ**

**Zehra AKARCA**

**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**ERZURUM  
2013**

**Her hakkı saklıdır**



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**TEZ ONAY FORMU**

**ERZİNCAN İLİNDE FASULYE BİTKİLERİNİN TOPRAK ÜSTÜ  
AKSAMALARINDAN İZOLE EDİLEN *Rhizoctonia* TÜRLERİNİN ANASTOMOSİS  
GRUPLARI VE PATOJENİTESİ**

Prof. Dr. Erkol DEMİRCİ danışmanlığında, Zehra AKARCA tarafından hazırlanan bu çalışma 15/02/2013 tarihinde aşağıdaki juri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği (3/0)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Erkol DEMİRCİ

İmza :

Üye : Prof. Dr. Hidayet BOSTAN

İmza :

Üye : Prof. Dr. Atilla DURSUN

İmza :

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU  
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında desteklenmiştir.  
Proje No: 2011/186

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirilerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

#### ERZİNCAN İLİNDE FASULYE BİTKİLERİNİN TOPRAK ÜSTÜ AKSAMALARINDAN İZOLE EDİLEN *Rhizoctonia* TÜRLERİNİN ANASTOMOSİS GRUPLARI VE PATOJENİTESİ

Zehra AKARCA

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Erkol DEMİRÇİ

Bu çalışma, 2010-2011 yıllarında Erzincan ilinde fasulye bitkilerinin toprak üstü kısımlarında ağ yanıklığı hastalığına neden olan *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis gruplarını ve patojenitelerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Yapılan izolasyonlar sonucu fasulye baklalarından 38 *Rhizoctonia* izolati elde edilmiş ve anastomosis grupları (AG) belirlenmiştir. Elde edilen 34 *Rhizoctonia solani* izolatinin AG-1 IB (1 izolat), AG-2-1 (4 izolat), AG-4 (HG I, HG II ve HG III alt gruplarına ait 24 izolat) ve AG-5 (5 izolat); 4 binükleik *Rhizoctonia* izolatinin ise AG-E (2 izolat) ve AG-K (2 izolat) olduğu saptanmıştır. Belirlenen anastomosis gruplarına ait izolatlar sekans analizine tabi tutulmuş ve sonuçlar moleküller olarak da teyit edilmiştir. Fasulye yaprakları ve baklalarında yapılan patojenite testlerinde AG-1 IB'nin en virulant grup olduğu, AG-4 ve AG-5 izolatlarının sırasıyla onu takip ettiği belirlenmiştir. Türkiye'de bu güne kadar tarla şartlarında fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında *Rhizoctonia* tür ve anastomosis gruplarının belirlenmesine yönelik yapılan ilk çalışmadır.

2013, 65 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Fasulye, *Rhizoctonia*, anastomosis grup, patojenite

## **ABSTRACT**

## **MASTER'S THESIS**

### **ANASTOMOSIS GROUPS AND PATHOGENICITY OF *Rhizoctonia* ISOLATES FROM ABOVE-GROUND PARTS OF BEAN PLANTS IN ERZINCAN PROVINCE**

**Zehra AKARCA**

**Atatürk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Plant Protection**

**Supervisor: Prof. Dr. Erkol DEMİRÇİ**

This study was carried out to identify anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia* isolates from the aerial parts of bean plants in Erzincan province during the years of 2010-2011. At the result of the study, totally, 38 *Rhizoctonia* isolates were obtained from bean pods, and their anastomosis groups (AGs) were identified. AGs of 34 *Rhizoctonia solani* isolates were identified as AG-1 IB (1 isolate), AG-2-1 (4 isolates), AG-4 (24 isolates belonging to HG I, HG II and HG III of subgroups) and AG-5 (5 isolates); AGs of 4 binucleic *Rhizoctonia* isolates were identified as AG-E (2 isolates) and AG-K (2 isolates). All isolates of each anastomosis group were subjected to sequence analysis and the results were also confirmed as molecular. In pathogenicity tests on bean leaves and pods, the most virulent group was determined as AG-1 IB, it was followed AG-4 and AG-5 isolates, respectively. In Turkey, the anastomosis groups of *Rhizoctonia* isolates obtained from the aerial parts of bean plants in fields were determined for the first time in this study.

**2013, 65 pages**

**Keywords:** Bean, *Rhizoctonia*, anastomosis group, pathogenicity

## **TEŞEKKÜR**

Bu çalışmanın planlanması, yürütülmesi ve yazımı sırasında yakın ilgisini, desteğini ve bilgi birikimini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Erkol DEMİRCİ'ye, gereken her konuda yol gösteren ve çalışmalarım boyunca her türlü desteği veren Sayın Arş. Gör. Dr. Tuba GENÇ'e, çalışmalarında laboratuarda yardımcılarını esirgemeyen Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma İstasyonu Müdürlüğüne ve tez aşaması boyunca manevi desteklerinden dolayı Erzincan İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğüne sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam boyunca maddi ve manevi desteklerinden dolayı sevgili aileme, dostlarımı ve çok kıymetli mesai arkadaşlarına teşekkürlerimi sunarım.

Zehra AKARCA

Şubat 2013

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. LİTERATÜR ÖZETLERİ .....</b>	<b>7</b>
2.1. <i>Rhizoctonia</i> Cinsinin Tanımı ve Sistematkteki Yeri .....	7
2.2. Yurt Dışında Fasulye Bitkisinin Toprak Altı Aksamında <i>Rhizoctonia</i> Türlerinin ve Anastomosis Gruplarının Belirlenmesi ile Patojeniteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar .....	11
2.3. Yurt Dışında Fasulye Bitkisinin Toprak Üstü Aksamında <i>Rhizoctonia</i> Türlerinin ve Anastomosis Gruplarının Belirlenmesi ile Patojeniteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar .....	13
2.4. Türkiye'de Fasulye Bitkisinin Toprak Altı Aksamında <i>Rhizoctonia</i> Türlerinin ve Anastomosis Gruplarının Belirlenmesi ile Patojeniteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	17
<b>3. MATERİYAL ve METOD.....</b>	<b>19</b>
3.1. Materyal.....	19
3.2. Metot .....	19
3.2.1. Sürvey çalışmaları .....	19
3.2.2. <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının elde edilmesi .....	19
3.2.3. <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının tanılanması .....	20
3.2.3.a. <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının anastomosis gruplarının saptanması.....	20
3.2.3.b. <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının moleküler yöntemlerle tanılanması.....	20
3.2.3.c. <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının kültürel ve morfolojik özellikleri .....	21
3.2.4. Patojenite Testi .....	21
3.2.4.a. Yaprakta patojenite testi .....	21
3.2.4.b. Bakla patojenite testi .....	23

<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>24</b>
4.1. Hastalığın Tarla Koşullarında Tanımı .....	24
4.2. Elde Edilen <i>Rhizoctonia</i> spp. İzolatları ve Anastomosis Grupları .....	25
4.3. <i>Rhizoctonia</i> 'nın Mikroskopik Özellikleri.....	28
4.5. <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının moleküler yöntemlerle tanılanması .....	29
4.6. Anastomosis Gruplarının Kültürel ve Morfolojik Özellikleri .....	30
4.6.1. <i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 IB .....	30
4.6.2. <i>Rhizoctonia solani</i> AG-2-1.....	31
4.6.3. <i>Rhizoctonia solani</i> AG-4 .....	33
4.6.4. <i>Rhizoctonia solani</i> AG-5 .....	35
4.6.5. Binükleik <i>Rhizoctonia</i> AG-E.....	35
4.6.6. Binükleik <i>Rhizoctonia</i> AG-K .....	36
4.7. Patojenite Testi .....	37
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>55</b>
KAYNAKÇA .....	62
ÖZGEÇMİŞ .....	66

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°	Derece
C	Santigrat
cm	Santimetre
da	Dekar
dk	Dakika
g	Gram
ha	Hektar
kg	Kilogram
L	Litre
µm	Mikrometre
µL	Mikrolitre

### Kısaltmalar

AG	Anastomasis Grup
ITS	Internal Transcribed Spacer
NaOCl	Sodyum Hipoklorid
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDA	Patates Dekstroz Agar
PDB	Patates Dekstroz Broth
SDA	Sabouraud Dekstroze Agar
SA	Su Agarı
SD	Skala değeri
SDA	Sabouraud Dekstroze Agar

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 4.1.</b> Tarla şartlarında bakla üzerinde <i>Rhizoctonia</i> 'nın oluşturduğu lezyon .....	24
<b>Şekil 4.2.</b> Tarla şartlarında bakla üzerinde <i>Rhizoctonia</i> 'nın oluşturduğu lezyonlar .....	25
<b>Şekil 4.3.</b> Fasulye baklalarından elde edilen <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının anastomosis gruplarına göre dağılımı.....	26
<b>Şekil 4.4.</b> <i>Rhizoctonia</i> spp.'nin olgun hifleri .....	29
<b>Şekil 4.5.</b> <i>Rhizoctonia</i> spp.'nin olgun hifinde dallanma .....	29
<b>Şekil 4.6.</b> <i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 IB izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi .....	31
<b>Şekil 4.7.</b> <i>Rhizoctonia solani</i> AG-2-1'in ZB21 izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi .	32
<b>Şekil 4.8.</b> <i>Rhizoctonia solani</i> AG-2-1'in ZB22 izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi .	32
<b>Şekil 4.9.</b> <i>Rhizoctonia solani</i> AG-4 HG I izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi .....	33
<b>Şekil 4.10.</b> <i>Rhizoctonia solani</i> AG-4 HGII izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi .....	34
<b>Şekil 4.11.</b> <i>Rhizoctonia solani</i> AG-4 HGIII izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi .....	34
<b>Şekil 4.12.</b> <i>Rhizoctonia solani</i> AG-5 izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi .....	35
<b>Şekil 4.13.</b> Binükleik <i>Rhizoctonia</i> AG-E izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi.....	36
<b>Şekil 4.14.</b> Binükleik <i>Rhizoctonia</i> AG-K izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi .....	36
<b>Şekil 4.15.</b> <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının yapraktaki virülanslık derecesi.....	37
<b>Şekil 4.16.</b> <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının bakladaki virülanslık derecesi .....	38
<b>Şekil 4.17.</b> AG-1 IB'nin yapraktaki simptomu .....	39
<b>Şekil 4.18.</b> AG-1 IB'nin bakladaki simptomu .....	40
<b>Şekil 4.19.</b> AG-2-1'e ait enfeksiyon oluşturmayan izolatın yapraktaki görünümü .....	41
<b>Şekil 4.20.</b> AG-2-1'e ait ZB23 izolatının yapraktaki virulanslığı .....	42
<b>Şekil 4.21.</b> AG-2-1'e ait izolatların bakladaki virulanslığı.....	43
<b>Şekil 4.22.</b> AG-4'ün virulanslığı en yüksek izolatı ZB12'nin uygulandığı yaprak .....	45
<b>Şekil 4.23.</b> AG-4'ün virulanslığı en düşük izolatı ZB27'nin uygulandığı yaprak.....	45
<b>Şekil 4.24.</b> AG-4'ün virulanslığı yüksek izolatı ZB6'nin uygulandığı baklalar.....	46
<b>Şekil 4.25.</b> AG-4'ün virulanslığı düşük izolatı ZB27'nin uygulandığı baklalar.....	47
<b>Şekil 4.26.</b> AG-5'e ait ZB17 izolatının uygulandığı yaprak .....	49
<b>Şekil 4.27.</b> AG-5 izolatı uygulanmış baklalar.....	50
<b>Şekil 4.28.</b> AG-E izolatı uygulanmış yaprak .....	52

<b>Şekil 4.29.</b> AG-E izolatı uygulanmış baklalar .....	52
<b>Şekil 4.30.</b> AG-K izolatı uygulanmış yaprak.....	54
<b>Şekil 4.31.</b> AG-K izolatı uygulanmış baklalar.....	54

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 1.1.</b> Dünya taze fasulye üretimi ile ilgili 2010 yılı verileri.....	2
<b>Çizelge 1.2.</b> Dünya kuru fasulye üretimi ile ilgili 2010 yılı verileri.....	3
<b>Çizelge 3.1.</b> Yaprakta hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan tanımsal skala.....	22
<b>Çizelge 3.2.</b> Baklada hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan tanımsal skala.....	23
<b>Çizelge 4.1.</b> Fasulye baklalarından izole edilen <i>Rhizoctonia</i> türlerinin ve anastomosis gruplarının lokasyonlara göre izolat sayıları .....	26
<b>Çizelge 4.2.</b> Erzincan ilinde 2010 yılında fasulye baklalarından elde edilen <i>Rhizoctonia</i> izolatları, anastomosis grupları, toplandıkları yerler ve tarihler .....	27
<b>Çizelge 4.3.</b> Erzincan ilinde 2011 yılında fasulye baklalarından elde edilen <i>Rhizoctonia</i> izolatları, anastomosis grupları, toplandıkları yerler ve tarihler .....	28
<b>Çizelge 4.4.</b> <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının anastomosis gruplarının alt grupları.....	30
<b>Çizelge 4.5.</b> <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının yaprak patojenite sonuçları.....	38
<b>Çizelge 4.6.</b> <i>Rhizoctonia</i> izolatlarının bakla patojenite sonuçları.....	39
<b>Çizelge 4.7.</b> AG-2-1 izolatlarının yaprak patojenite sonuçları .....	41
<b>Çizelge 4.8.</b> AG-2-1 izolatlarının bakla patojenite sonuçları .....	42
<b>Çizelge 4.9.</b> AG-4 izolatlarının yaprak patojenite sonuçları .....	44
<b>Çizelge 4.10.</b> AG-4 izolatlarının bakla patojenite sonuçları.....	46
<b>Çizelge 4.11.</b> AG-4 izolatlarının alt gruplarına göre yaprak patojenite sonuçları .....	47
<b>Çizelge 4.12.</b> AG-4 izolatlarının alt gruplarına göre bakla patojenite sonuçları .....	48
<b>Çizelge 4.13.</b> AG-5 izolatlarının yaprak patojenite sonuçları.....	49
<b>Çizelge 4.14.</b> AG-5 izolatlarının bakla patojenite sonuçları.....	50
<b>Çizelge 4.15.</b> AG-E izolatlarının yaprak patojenite sonuçları .....	51
<b>Çizelge 4.16.</b> AG-E izolatlarının bakla patojenite sonuçları .....	51
<b>Çizelge 4.17.</b> AG-K izolatlarının yaprak patojenite sonuçları.....	53
<b>Çizelge 4.18.</b> AG-K izolatlarının bakla patojenite sonuçları.....	53

## 1. GİRİŞ

Günümüzde hızla artan insan nüfusuna paralel olarak beslenme problemi önemli bir sorun haline gelmiştir. Leguminosae familyasına ait fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*)'nın insan beslenmesinde önemli bir yeri vardır. Nitekim baklagiller grubundan olan bitkiler insanların protein ihtiyacının karşılamasında oldukça önemlidir (Vural *et al.* 2000). Tek yıllık bir bitki olan fasulye içерdiği mineral maddeler, vitaminler, proteinler ve karbonhidratlar bakımından oldukça zengin bir besin kaynağıdır. Anavatanı Amerika olan fasulye taze, kuru, konserve veya dondurularak insan gıdası olarak kullanılmaktadır.

Fasulye, dünyada ekim alanı ve üretimi yönünden yemeklik tane baklagiller içerisinde ilk sırada yer almaktadır. Kuru tane yanında taze sebze olarak da yaygın bir şekilde tüketilmektedir. Dünyada kuru fasulye ekim alanları yaklaşık 29 milyon ha ve üretimi 23 milyon ton dolaylarındadır (Anonymous 2011a). Dünya taze fasulye üretiminde Türkiye 3. sırada olup (Çizelge 1.1), kuru fasulye üretiminde ise 19. sırada yer almaktadır (Çizelge 1.2). Türkiye'de kuru fasulye ekim alanı 103 255 ha olup, taze fasulye ekim alanı 70 000 ha civarındadır (Anonymous 2011a). Türkiye'de 2010 yılında taze fasulye üretimi 587 967 ton, kuru fasulye üretimi 212 758 ton olarak gerçekleşmiştir (Anonymous 2011b). Fasulye iklim istekleri ve toprak isteği bakımından seçici olmadığından Türkiye'nin tüm bölgelerinde yetişebilmektedir. Doğu Anadolu Bölgesi'nde 2010 yılı verilerine göre taze fasulye üretiminin 17 108, kuru fasulye üretiminin 21 902 ton olduğu bildirilmiştir. Doğu Anadolu Bölgesi'nde Erzincan Ovası, tarımsal faaliyetler ve potansiyel bakımından dikkat çekici özelliklere sahiptir. Elverişli su kaynakları ve sulama tesisi sayesinde günümüzde tarım arazilerinin %90'a yakını sulanmaktadır. Bu sebeple daha fazla gelir sağlayan fasulye ve şeker pancarı ekiliş alanı artmıştır (Hayali 2002). Erzincan ilinde 2010 yılında taze fasulye üretimi 1 845 ton, kuru fasulye üretimi 10 874 ton olarak gerçekleşmiştir (Anonymous 2011b). Erzincan ilinde gerek taze gerekse kuru fasulye il merkezi başta olmak üzere Çayırlı, Üzümlü, Tercan ve Refahiye ilçelerinde daha fazla yetiştirilmektedir.

**Çizelge 1.1.** Dünya taze fasulye üretimi ile ilgili 2010 yılı verileri (Anonymous 2011a)

Sıra	Ülke	Üretim (ton)
1	Çin	13 033 750
2	Endonezya	884 500
<b>3</b>	<b>Türkiye</b>	<b>587 967</b>
4	Hindistan	582 200
5	Tayland	304 712
6	Mısır	270 740
7	Fas	201 882
8	İtalya	182 955
9	İspanya	174 600
10	Belçika	116 600
11	Meksika	103 500
12	Bangladeş	88 581
13	Yunanistan	57 800
14	Romanya	55 734
15	Amerika Birleşik Devletleri	52 550
16	Cezayir	48 000
17	Hollanda	48 000
18	Kanada	47 077
19	Japonya	44 900
20	Kenya	43 400

**Çizelge 1.2.** Dünya kuru fasulye üretimi ile ilgili 2010 yılı verileri (Anonymous 2011a)

Sıra	Ülke	Üretim (ton)
1	Hindistan	4 870 000
2	Brezilya	3 202 150
3	Myanmar	3 029 800
4	Amerika Birleşik Devletleri	1 442 470
5	Meksika	1 156 250
6	Çin	1 538 693
7	Tanzanya Birleşik Cumhuriyeti	950 000
8	Uganda	460 000
9	Kenya	390 598
10	Arjantin	338 120
11	Ruanda	327 497
12	Endonezya	292 084
13	Kamerun	285 400
14	Etiyopya	263 100
15	Kanada	253 700
16	Angora	250 117
17	Viet Nam	231 200
18	Kore Demokratik Halk Cumhuriyeti	224 300
<b>19</b>	<b>Türkiye</b>	<b>212 758</b>
20	Burundi	201 551

Dünya çapında yetişiriciliği yapılan fasulye bitkilerinde çok sayıda fungus, virus ve bakteri hastalık oluşturmaktır, farklı düzeylerde verim kayıplarına neden olmaktadır (Hall 1991). Fungal hastalıklar içerisinde toprak kaynaklı bir patojen olan *Rhizoctonia solani* Kühn fasulye bitkilerinin hipokotil ve köklerini enfekte ederek farklı büyüklüklerde lezyonlar oluşturmaktır, şiddetli enfeksiyonlarda bitki gelişmeden geri kalmakta ve olgunlaşmadan ölmektedir (Hagedorn 1991). Nemli dönemlerde patojen

fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında da enfeksiyonlara neden olarak yaprak, yaprak sapi, çiçek ve baklada lezyonlar oluşturmaktadır (Schwartz 1991). Bitkinin toprak üstü aksamında fungusun miselleri ve sklerotiumları hızla gelişerek kısa süre içerisinde bitkiyi öldürmektedir. Baklayı enfekte etmesi durumunda, patojen oluşmakta olan tohumlara da geçmektedir. Patojenin toprak altı aksamlarını enfeksiyonu sonucu kök ve hipokotil çürüklüğü, toprak üstü aksamını enfeksiyonu sonucu ağ yanıklığı (web bilght) hastalığı oluşmaktadır.

*Rhizoctonia* spp. fasulye dışında geniş bir konukçu çevresine sahip olup ekonomik önemde sahip patates, buğday, domates, şeker pancarı, mısır, pamuk, soğan, arpa, pirinç, çilek ve lahana gibi bitkilerde de önemli hastalıklara sebep olmaktadır. Bu bitkilere ek olarak *Rhizoctonia* izolatları meyve ve orman ağaçları ile süs bitkilerinde de hastalık oluşturmaktadır. Bunların dışında bazı *Rhizoctonia* izolatlarının saprofitik karakterde olabileceği, bazlarının ise mikorizal özellik gösterebildiği yapılan araştırmalarda ortaya konulmuştur. Ayrıca bu cinsin biyokontrol etmeni olan izolatlarının da bulunduğu saptanmıştır (Sneh *et al.* 1991).

*Rhizoctonia* hücrelerindeki çekirdek sayısı morfolojik olarak sınıflandırmaya yardımcı olmaktadır (Otero *et al.* 2002). *Rhizoctonia* cinsi hif hücrelerinin içerdiği çekirdek sayısına göre multinükleik (MN, çok çekirdekli), binükleik (BN, iki çekirdekli) ve uninükleik (UN, tek çekirdekli) olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır. Çok nükleuslu ve iki nükleuslu gruplar içerisinde anastomosis yapan, yani hifleri birbiriyle uyumlu ve temas noktaları kaynaklı alt gruplar “anastomosis grup” (AG) olarak isimlendirilmektedir (Sneh *et al.* 1996). Hifsel anastomosis reaksiyonlarını tanımlamada dört kategorili (C0-C3) bir sistem oluşturulmuştur. Buna göre reaksiyon tiplerinden ‘C0’ ve ‘C1’ farklı anastomosis grupları, ‘C2’ ve ‘C3’ ise aynı anastomosis gruplarına ait izolatlar arasında görülen reaksiyon tiplerini ifade etmek için kullanılmaktadır (Carling *et al.* 1988).

Yurt dışında çeşitli ülkelerde yapılmış çalışmalarında fasulye bitkilerinin kök ve hipokotillerinden MN *R. solani*'nin AG-1, AG-2, AG-4 ve AG-5, BN *Rhizoctonia*'nın

AG-A, AG-F (Galindo *et al.* 1982; Bolkan and Ribeiro 1985; Muyolo *et al.* 1993a,b; Olmos *et al.* 2005; Nerey 2010), ağ yanıklığı hastalığının görüldüğü bitkilerin toprak üstü aksamlarından yapılan izolasyonlarda MN *R. solani*'nin AG-1, AG-2, AG-4 ve AG-5 (Galindo *et al.* 1982; Bolkan and Ribeiro 1985; Dillard 1987; Muyolo *et al.* 1993a, b; Yang *et al.* 2007; Godoz-Lutz *et al.* 2008) izole edilmiştir.

Türkiye'de farklı konukçu bitkilerde *Rhizoctonia* türlerinin ve anastomosis gruplarının belirlenmesine yönelik son yirmi yılda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda fasulye bitkilerinin kök ve hipokotilinden MN *R. solani*'nin AG-1, AG-2-1, AG-2-2, AG-3, AG-4, AG-5, AG-6, AG-9, AG-10 ve AG-11, tohumdan ise AG-1 ve AG-4 izolatları elde edilmiş, ayrıca kök ve hipokotilden yapılan izolasyonlarda BN *Rhizoctonia*'nın AG-A, AG-B, AG-E, AG-F, AG-G, AG-I ve AG-K grupları elde edilirken, bu grupların yanı sıra *Rhizoctonia zae* de izole edilmiştir (Tuncer and Erdiller 1990, Demirci and Döken 1995, Demirci and Çağlar 1998, Karaca *et al.* 2002, Eken ve Demirci 2004, Kılıçoğlu and Özkoç 2010, Erper *et al.* 2011). Fasulye tohumlarından yapılan izolasyonlar hariç Türkiye'de bu güne kadar fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında *Rhizoctonia* tür ve anastomosis gruplarının belirlenmesine yönelik bir çalışma bulunmamaktadır.

Türkiye'de yapılan çalışmalarda fasulye tohumlarından *R. solani* izole edilmesi bu etmenin fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında da hastalık oluşturabileceğini göstermesi, ayrıca 2010 yılında yapılan ön çalışmalarla Erzincan ilinde fasulye baklalarından MN ve BN *Rhizoctonia* izolatlarının elde edilmiş olması konunun incelenmesi gerektiği fikrini vermiştir.

Bu çalışma ile Erzincan İlinde fasulye ekim alanlarında surveyeler yapılarak toprak üstü aksamından yapılan izolasyonlar ile hastalıkli bitki örneklerinden *Rhizoctonia* izolatlarının elde edilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen *Rhizoctonia* izolatları morfolojik olarak tanılmış, takiben fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamından elde edilen izolatlar test izolatları ile karşılaştırılarak anastomosis grupları belirlenmiştir. Klasik yöntemlerle tanısı yapılan izolatların ITS primerleri kullanılarak sekans analizleri

yapılarak moleküller tanısı da yapılmıştır ve patojenite testleri ile de elde edilen anastomosis gruplarının virulanslıkları ortaya koyulmuştur.

## 2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

### 2.1. *Rhizoctonia* Cinsinin Tanımı ve Sistematkteki Yeri

*Rhizoctonia* cinsi 1815 yılında DeCandolle tarafından ilk kez tanımlanmış ve *Rhizoctonia crocorum* (Pers) DC. tip tür olarak isimlendirilmiştir (Ogoshi 1975). *Rhizoctonia* cinsinin en önemli türü olan *Rhizoctonia solani* Kühn ise 1858 yılında Julius Kühn tarafından patates yumruları üzerinde tespit etmiş ve tanılanmıştır (Sneh *et al.* 1991).

*Rhizoctonia* türleri bölmeli, düzgün ve dik dallanan hifleri bulunan, eşeyli devresinde basidiospor oluşturan, toprakta yaşayan ve tohumla da taşınabilen funguslar olarak bilinmektedir. Birbirile nispeten dik açı yapacak şekilde düzgün dallanan hifler fungusun tanınmasında önem taşımaktır, hiflerde dallanmanın başlangıç noktasının yakınında bir septum oluşmakta ve dallanmanın olduğu yerde hif boguqlanmaktadır. Ayrıca clamp connection'in görülmeyiği, konidi bulunmayışı ve sklerotium'da iç ve dış kısım arasında farklılaşmanın olmayacağı *Rhizoctonia* türlerinin diğer karakteristik özelliklerindendir (Sneh *et al.* 1991).

Bazı *Rhizoctonia* türlerinin 1909 yılında orkide bitkileri ile mikorrhizal birlikteliklerinin bulunduğu bildirilmiştir. İlk anastomosis grup kavramı ise 1930'lu yıllarda ortaya atılmış, 1950'li yıllarda *Rhizoctonia* çalışmaları artmaya başlamıştır. *Rhizoctonia* cinsinin anastomosis grupları, formları ve topraktaki ekolojileri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. İzolasyon teknikleri üzerinde de durulması sonucu *Rhizoctonia* türleri birçok farklı bölgeden kolaylıkla izole edilebilmişlerdir. *R. solani*'nin tarım topraklarındaki popülasyon yoğunluğunun mevsimsel değişimleri de bu yıllarda gözlemlenmiştir. Takiben 1960'lı yıllarda *Rhizoctonia* türlerinin fizyolojisi, ekolojisi ve biyolojik kontrolü ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. O yıllarda *R. solani*'nin anastomosis grup sayısı 4 iken 1970'lerde 7'ye, 1980'li yıllarda da 11'e çıkmıştır. 1990'lı yıllara gelindiğinde biyoteknolojik çalışmaların arttığı görülmüştür. ELISA, RAPD gibi moleküller teknikler,

ribosomal DNA polymorfizmi, transjenik dayanıklı bitki kullanımı üzerine çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (Ogoshi 1996).

*Rhizoctonia* hücrelerindeki çekirdek sayısı morfolojik olarak sınıflandırmaya yardımcı olmaktadır (Otero *et al.* 2002). *Rhizoctonia* cinsi hif hücrelerinin içerdiği çekirdek sayısına göre multinükleik, binükleik ve uninükleik olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır.

MN grup içerisinde yer alan *R. solani*'nin eşeyli dönemi 1956 yılında Donk tarafından *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk olarak adlandırılmıştır. *R. solani* izolatlarının genç hif hücrelerinde üç ya da daha fazla nükleus bulunmakta ve ana hiflerinin genişliği 6-10  $\mu\text{m}$  kalınlığındadır. *R. solani* izolatları, daha önceki çalışmalara göre 14 anastomosis grubu (AG) ayrılmış (AG-1-13 ve AG-BI), ancak moleküller ve mikroskopik çalışma sonuçlarına göre AG-BI grubunun AG-2 içerisinde bir alt grup olarak dahil edildiği bildirilmiştir (AG-2 BI) (Carling *et al.* 2002b). Son olarak *R. solani* izolatları 13 anastomosis grubuna (AG-1, AG-2, AG-3, AG-4, AG-5, AG-6, AG-7, AG-8, AG-9, AG-10, AG-11, AG-12 ve AG-13) ayrılmıştır. Bazı *R. solani* anastomosis gruplarının kendi içlerinde de alt gruplara ayrıldığı belirlenmiştir. AG-1 (IA, IB, IC, ID, IE ve IF) altı alt gruba, AG-2 (-1, -2, -3, -4 ve BI) beş alt gruba, AG-3 (TB ve PT) iki alt gruba, AG-4 (HGI, HGII ve HGIII) üç alt gruba ve AG-6 (HG-I, Gv1, Gv2, Gv3, Gv4) beş alt gruba ayrılmıştır (Sneh *et al.* 1991; Ogoshi 1996; Carling *et al.* 1994, 1999, 2002 a, b, Sharon *et al.* 2006, Gonzalez *et al.* 2008). Diğer MN tür olan *Waitea circinata* koloni morfolojisi ve moleküller yöntemlerle *W. c.* var. *circinata*, *W. c.* var. *zeae* (Eşeysz dönem: *Rhizoctonia ziae*), *W. c.* var. *oryzae* (Eşeysz dönem: *Rhizoctonia oryzae*), *W. c.* var. *agrostis* ve *W. c.* var. *prodigus* olmak üzere alt gruplara ayrılmıştır (Gunnell, 1986; Leiner and Carling, 1994; Garcia *et al.* 2006; Sharon *et al.* 2006; Toda *et al.*, 2007; Kammerer *et al.* 2011).

BN *Rhizoctonia* türlerinin hif hücrelerinde genellikle iki nükleus (nadiren 1-3) bulunmakta ve ana hiflerinin genişliği 4-7 $\mu\text{m}$  kalınlığındadır. BN *Rhizoctonia* izolatları önceki çalışmalara göre 21 anastomosis gruba (AG-A-U) ayrılmıştır (Sneh *et al.* 1991;

Hyakumachi *et al.* 2005). Fakat moleküller ve mikroskobik çalışmalar sonucunda AG-J'nin clamp connection yaptığı, AG-M'nin hiçbir kültür koleksiyonunda mevcut olmadığı, AG-N'nin BN *Rhizoctonia* olmadığı, AG-T'nin AG-A ile AG-U'nun AG-P ile anastomosis yaptığını ve moleküller olarak da bu gruplar içerisinde dahil edildiği bilinmektedir. BNR izolatları son yapılan değerlendirme ve analizler sonucunda 16 anastomosis grubuna (AG-A, AG-B, AG-C, AG-D, AG-E, AG-F, AG-G, AG-H, AG-I, AG-K, AG-L, AG-O, AG-P, AG-Q, AG-R ve AG-S) ayrılmıştır (Sharon *et al.* 2008). BNR izolatlarının eşeyli dönemi 1935 yılında Rogers tarafından *Ceratobasidium* spp. olarak isimlendirilmiştir.

UN *Rhizoctonia* türleri genç hif hücrelerinde genellikle hif uçlarına yakın yerde en fazla bir çekirdeğe sahip olan *Rhizoctonia* türleridir (Sneh *et al.* 1991).

Günümüzde anastomosis gruplarının geleneksel yöntemlerle tespit edilmesi geçerli ve yaygın olarak kullanılmasına rağmen bazı kısıtlamalar içermektedir. *Rhizoctonia* grubu fungusların gruplandırılması temelde hifler arasındaki anastomosis (hif birleşmesi)'e dayanmaktadır (Cubeta and Vilgalys 1997, Carling *et al.* 2002b). Günümüzde DNA polimorfizimlerine dayanan moleküller metodlar *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis grup ve alt gruplarının belirlenmesi için yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Vigalys and Cubeta 1994). Yapılan çalışmalarda ribosomal DNA'nın 28S ve ITS (internal transcribed spacer) bölgelerindeki sekans farklılıklarının anastomosis gruplarının tespit edilmesinde önemli polimorfizimler sağladığı görülmüştür (Gonzales *et al.* 2001).

*R. solani* ve BN *Rhizoctonia* izolatları hifler arasında hif birleşmesi esasına göre anastomosis gruplarına ayrılmaktadır. Her bir AG birbiri ile anastomosis yapabilen izolatlardan oluşmaktadır. Hifsel anastomosis reaksiyonlarını tanımlamada dört kategorili (C0-C3) bir sistem kullanılmaktadır. Buna göre reaksiyon tiplerinden C3 aynı anastomosis gruba dahil olan izolatlar arasında görülmektedir. İzolatlar arasında çok yakın bir ilişki vardır. Hücre duvarı ile sitoplazma arasında yoğun olarak birleşme görülür. Hücre duvarı eriyerek sitoplazma ile kaynaşır. Anastomosis noktası belirgin

değildir. Anastomosis noktasının çapı hif çapına eşit veya aşağı yukarı aynıdır. Kaynaşma sırasında hücre ölümü çok nadir görülür. C2 aynı anastomosis grubuna ait farklı izolatlar arasında görülür. Her iki grubun hiflerinin hücre duvarı birleşir ve sitoplazmik kaynaşma nadiren olmaktadır. Anastomosis noktasının kalınlığı hif kalınlığından daha azdır. Anastomosis yapan hücreler arasında ölüm görülmektedir. C1 farklı anastomosis gruplarında nadiren de aynı anastomosis gruplarına ait izolatlar arasında görülmektedir. Hücreler arasında temas olmakta fakat birleşme olmamakta, ölüm meydana gelmemektedir. C0 farklı anastomosis gruplarında görülmektedir. Hücreler arasında temas ve kaynaşma yoktur. Hifler birbirlerini tanımadan tamamen geçerler (Carling *et al.* 1988).

*R. solani* grubu funguslarının, dünyanın birçok bölgesinde yaygın olarak bulunduğu; hemen hemen tüm sebzelerde, süs bitkilerinde, tarla bitkilerinde, çayır-mera bitkilerinde, çok yıllık bitkilerin fide veya fidanlarında çeşitli hastalıklara neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca birçok bitki türünde ekonomik olarak ürün kaybına neden olduğu gözlenmiştir (Ogoshi 1996; Carling *et al.* 2002 a,b).

*Rhizoctonia* türleri genel olarak bitkilerde çökerten, kök ve kök boğazı çürüklüğü, yaprak lekesi, yaprak ve gövde yanıklığı gibi simptomlar oluşturduğu kaydedilmiştir (Wan Nik and Yap 1979; Sneh *et al.* 1991; Ogoshi, 1996; Carling *et al.* 1994, 1999, 2002a; Hare *et al.* 1999; Gonzalez *et al.* 2001; Otero *et al.* 2002; Mahmoud *et al.* 2006). Diğer yandan bazı *Rhizoctonia* türlerinin toprakta saprofit olarak yaşadıkları ve *Orchid* türlerinde mikoriza olarak bulundukları görülmüştür. Ayrıca bu cinsin biyokontrol etmeni olan BN *Rhizoctonia* izolatlarının da bulunduğu belirlenmiştir (Sneh *et al.* 1991).

*Rhizoctonia* spp.'nin, fasulye bitkilerinde çökerten hastalığına, kök, hipokotil, kapsül ve dane çürüklüğüne neden olduğu tespit edilmiştir (Wan Nik and Yap 1979; Dillard 1987; Muyolo *et al.* 1993a,b). *R. solani* fasulye bitkilerinin hipokotil ve kökleri üzerinde küçük, ince, uzun, basık ve kırmızımsı kahverengi lezyonlar oluşturmaktadır, köklerin kırmızımtırak kahverengi veya siyah renk almasına neden olmaktadır, içlerinin boşalarak köklerde yumuşama meydana getirmektedir. Enfeksiyonun ilerleyen dönemlerinde ise

yapraklarda sararma, bitki gelişiminde durgunluk ve sonuca bitkinin olgunlaşmadan ölmesine neden olduğu bildirilmiştir (Hagedorn 1991 and Hall 1991).

## **2.2. Yurt Dışında Fasulye Bitkisinin Toprak Altı Aksamında *Rhizoctonia* Türlerinin ve Anastomosis Gruplarının Belirlenmesi ile Patojeniteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar**

Yurt dışında çeşitli ülkelerde fasulye bitkisinin toprak altı kısımlarından çeşitli *Rhizoctonia* tür ve AGs izole edilmiş olup, bu konu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır.

New York ve Kolombiya'da yapılan çalışmada *R. solani* izolatlarının, kültürel özellikleri, anastomosis grupları ve patojeniteleri belirlenmiştir. New York eyaletinde fasulye bitkisinin hipokotil ve rizosfer toprağından 33 izolat elde edilmiştir. Bu elde edilen izolatlara bakıldığından en fazla izolatın AG-4'e, bunu takiben sırasıyla diğer izolatların AG-2'ye ve AG-1'e ait olduğu saptanmıştır. Patojenite test sonuçlarına göre, AG-1 izolatının fasulye bitkisinin hipokotiline virulanslığının yüksek, AG-2 izolatının virulanslığının düşük ve AG-4 izolatının ise virulanslığının orta derecede olduğu görülmüştür (Galindo *et al.* 1982).

Brezilya'da fasulye bitkisinin hipokotil kısmından yapılan izolasyonda AG-4 elde edilmiştir. Elde edilen izolatlardan AG-4 fasulye bitkisinin hipokotiline tekrar inokule edildiğinde virulanslığının orta derecede olduğu, yaprağa inokule edildiğinde ise virulanslığının şiddetli olduğu gözlemlenmiştir (Bolkan and Ribeiro 1985).

Batı New York'ta lima fasulyesinin kök kısmından yapılan izolasyonlarda AG-1 izolati elde edilmiştir. Patojenite testi yapıldığında; makrosklerotium oluşturan AG-1 izolatının şiddetli hastalık oluşturduğu görülmüştür (Dillard 1987).

Ohio ve Zaire'nin çeşitli bölgelerinden alınan örneklerden fasulyenin kök ve hipokotil kısmından *R. solani* izolatları elde edilmiştir. Ohio bölgesinde fasulyenin hipokotil ve kök kısmından AG-2-2 IIIB elde edilirken, Zaire bölgesinde kök ve hipokotilden AG-4

elde edilmiştir. İzole edilen bu grupların patojenite testi yapıldığında AG-2 IIIB’nin fasulyede ölüme neden olduğu görülmüştür. AG-4 izolatının bitkinin kök kısmında hastalık oluşturma yeteneğinin zayıf, hipokotilde kısmında ise hastalık oluşturma yeteneğinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Muyolo *et al.* 1993a).

Yapılan başka bir çalışmada ise *Rhizoctonia* türlerinin biyokontrol etmeni olarak da kullanıldığı tespit edilmiştir. Fasulye bitkisinin kök kısmında şiddetli nekrozlara neden olan *R. solani*’ye karşı patojen olmayan BN *Rhizoctonia* grupları kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmada *Rhizoctonia* anastomosis grubuna ait AG-A, AG-B(a), AG-B(o), AG-G, AG-I, AG-K ve AG-P gruplarının *R. solani*’nin gelişmesini engelleyerek, hastalık oluşumunu önlediği görülmüştür. Sonuç olarak BNR izolatları fasulye fidelerinde AG gruplarına karşı sistemik dayanıklılığı sağlayıp, AG-4 patojenine karşı kök kısmını koruduğu saptanmıştır (Hare *et al.* 1999).

Meksika’nın dört eyaletinde ve Veracruz eyaletlerinde yaygın olarak yetiştirilen fasulye bitkisinden 9 *R. solani* izolatı elde edilmiş ve bu izolatların 5’inin Veracruz’dan; 4’ünün ise Meksika’dan elde edildiği belirlenmiştir. Elde edilen izolatlara AFLP analizi yapılmıştır. Yapılan analiz ile beş izolatın AG-2-3, üç izolatın AG-BI ve bir izolatın ise AG-5’e ait olduğu görülmüştür (Olmos *et al.* 2005).

Küba’da yapılan başka bir çalışmada fasulye bitkisinin kök ve hipokotilinden 60 *Rhizoctonia* izolatı elde edilmiştir. Bu izolatların çoğu MN gruba ait olup, AG-2-2 ve AG-4 HGI izolatlarından olduğu belirlenmiştir. Kalan izolatların ise BN gruptan AG-A ve AG-F izolatları olduğu tespit edilmiştir. Yapılan patojenite testinde AG-2-2 ve AG-4 HGI izolatları yüksek derecede hastalık oluştururken, AG-F izolatının orta derecede hastalık oluşturduğu ve AG-A izolatının ise zayıf hastalık oluşturduğu gözlenmiştir (Nerey 2010).

### **2.3. Yurt Dışında Fasulye Bitkisinin Toprak Üstü Aksamında *Rhizoctonia* Türlerinin ve Anastomosis Gruplarının Belirlenmesi ile Patojeniteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar**

*R. solani* bitkinin toprak altı kısımlarında hastalık oluşturduğu gibi, nemli dönemlerde patojen fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında da enfeksiyonlara neden olarak yaprak, yaprak sapı, çiçek ve baklada lezyonlar oluşturduğu tespit edilmiştir (Schwartz 1991). Basidiomycetes grubu funguslardan eşeyli dönemeğe göre *Thanatephorus cucumeris* (eşeyli dönemi: *Rhizoctonia solani*) olarak isimlendirilen fungusun fasulye bitkisinde ağ yanıklığı olarak bilinen Web blight (WB) hastalığına neden olduğu belirlenmiştir (Godoy-Lutz *et al.* 1996; 1998).

Fasulye bitkisinde önemli bir hastalık olan WB tropik, nemli ve sıcak bölgelerde tohum verimini ve kalitesini düşürdüğü saptanmıştır (Godoy-Lutz *et al.* 1996; 1998; Carling *et al.* 2002). Bu hastalığın fasulye yaprağını tahrif ettiği ve tohumda lekeler oluşturduğu gözlemlenerek kalitede azalmaya neden olduğu bunun sonucunda da Pazar değerinde büyük kayıplara sebep olduğu tespit edilmiştir (Godoy-Lutz *et al.* 1996). Ayrıca bu hastalığın bitkilerde kurumaya sebep olarak ekonomik kayıplara yol açtığı belirlenmiştir (Galvez *et al.* 1989, Carling *et al.* 2002).

WB hastalığına neden olan *Rhizoctonia* fungusunun, aseksüel ve sklerotial olmak üzere iki aşamasının olduğu belirlenmiş, hastalığın bu iki aşamada da başlayabildiği fakat her iki aşamada da farklı hastalık belirtilerinin oluştuğu gözlemlenmiştir (Galvez *et al.* 1989; Hall 1991).

Bu hastalığın primer inokulum kaynakları *T. cucumeris* ile bulaşık tohumlar, yüksek sıcaklık ve yüksek bağıl nem koşullarında oluşan basidiosporlar, enfekte olmuş bitki atıkları, hifler ve sklerotiumlardır (Galindo *et al.* 1983a,b). Hastalık özellikle yağmur damlacıklarının bitki yüzeyine sıçraması ile bulaşmakta ve ilk enfeksiyon gerçekleşmektedir (Galindo *et al.* 1983a; Galvez *et al.* 1989; Hall 1991).

Lezyonlar ilk olarak birincil yapraklar üzerinde çapları 5-10 mm olan küçük, kahverengi merkezli ve kenarları zeytin yeşili renkte olan nekrotik lekeler halinde görülmekte ve uygun çevre koşulları, yüksek nem ve sıcaklık altında, hastalık çok hızlı gelişmektedir. Ancak bu gelişmenin düzensiz bir şekilde olduğu görülmektedir. Kuru koşullar altında hastalığın gelişimi durmaktadır. Genellikle bu lezyonlar birleşerek tüm yaprak yüzeyini kaplayabilmektedir (Galvez *et al.* 1989; Hall 1991).

Enfeksiyondan 3-6 gün sonra küçük kahverengi sklerotium formu gelişmektedir. Basidiosporlar tarafından çok sayıda üretilen, çapı 2-3 mm olan lezyonlar farklı, küçük, nekrotik ve yuvarlaktır. Bu lekelerin merkezi açık kahverengi olup, kenarları daha koyu kahverengidir (Galvez *et al.* 1989; Hall 1991).

Patojen bakla üzerine, tane dolumu sırasında bulaşmaktadır. Basidiosporlar tarafından bakla üzerinde oluşan lezyonlar yuvarlak, küçük ve kırmızımsı kahverengi koyu sınırlar ile çevrili lezyonun merkez kısmı ise açık kahverengidir. Düzensiz olan bu lekelere sıkça rastlanabilir, ayrıca hastalığın ileriki evresinde ölüm de görülebilmektedir (Hall 1991).

Patojenin bakladan tohumu bulaşarak tohum embriyosunu, tohum endospermini ve tohum kabuğunu enfekte ettiği belirlenmiştir (Galvez *et al.* 1989; Hall 1991).

Malezya'da enfekteli Fransız fasulyesi tohumlarından izole edilen *R. solani*'nın biyolojisi, patojenitesi ve kontrolüne yönelik yapılan çalışmada fungusun bitkinin toprak üstü aksamını enfekte edebildiği bildirilmiştir (Wan Nik and Yap 1979).

Kolombiya ve Güney Amerika'daki fasulye yapraklarından elde edilen 6 izolatın *Rhizoctonia*'ya ait olduğu saptanmıştır. Kolombiya'dan elde edilen izolatların tümünün AG-1 olduğu tepit edilmiş ve AG-1 izolatlarının yaprakta virulanslığının yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca toprak ve havadaki nemin yüksek olması durumunda hastalık şiddetinin de arttığı yapılan araştırmada gözlenmiştir (Galindo *et al.* 1982).

Fasulye kapsüllerinde *Rhizoctonia* grubu fungusların zarara neden olabildiği araştırmalar sonucu belirlenmiştir. Yapılan araştırmalarda *R. solani*'nin, fasulyelerde kapsül veriminde %13-54 arasında azalmaya neden olabildiği; bununla birlikte Sıcaklığın 18°C'nin üzerine çıktığında ve toprak nemi az olduğunda patojenin çıkışının geciktiği gözlenip, fasulye bitkisinin gelişme oranının azaldığı ve sürgün kök oranının arttığı saptanmıştır (Van Bruggen *et al.* 1986).

New York'un batısında lima fasulyesi baklasından yapılan izolasyonlarda en fazla AG-1 izolatı elde edilirken, geriye kalan izolatların ise AG-5'e ait olduğu belirlenmiştir. Patojenite testi yapıldığında; makrosklerotium oluşturan AG-1 izolatının şiddetli hastalık oluşturduğu, mikrosklerotium oluşturan AG-5 ve AG-1 izolatlarının ise hafif şiddette hastalık oluşturduğu görülmüştür. Ayrıca bu izolatların 19 °C ve 26 °C sıcaklıklıktaki gelişimlerine bakılmıştır (Dillard 1987).

Costa Rico'da yapılan bir çalışmada fasulye bitkisinde WB hastalığının inokulum kaynakları ve yayılma alanlarına bakılmıştır. *R. solani*'nin miselleri ile kolonize olmuş bitki atıkları ve sklerotium bulunduran yağmur damlacıklarının, sağlıklı bitkilere bulaşmasını önlemek amacıyla malçlama yapılmış, sonuçta malçlama ile inokulumun sıçraması minimum düzeye düşürülmüş ve hastalık şiddetinin bu yöntemle azaltılabileceği görülmüştür (Galindo *et al.* 1983a).

Brezilya'da farklı bitkilerden yapılan izolasyonda fasulye bitkisinin yaprak kısmından sadece AG-1 izolatı elde edilirken, tohumdan AG-4 elde edilmiştir. Yapılan patojenite testinde AG-1 izolatının hipokotilde hastalık oluşturma yeteneğinin zayıf olduğu, yaprakta ise hastalık oluşturma yeteneğinin yüksek olduğu gözlenmiştir. AG-4 izolatının ise yaprakta şiddetli hastalık yaptığı gözlenmiştir (Bolkan and Ribeiro 1985).

Fasulye tohumlarından yapılan izolasyonlarda, AG-1 IB, AG-2 ve AG-4 izolatları elde edilmiştir. Yapılan patojenite çalışmasında tüm izolatların hastalık oluşturduğu gözlenmiştir (Godoy-Lutz *et al.* 1996).

Arjantin, Kosta Rika, Küba, Dominik Cumhuriyeti, Honduras, Panama, ve Porto Riko eyaletlerinde fasulyenin yapraklarından yapılan izolasyonlarda 45 izolat elde edilmiştir. rDNA-ITS bölgesinin PCR-RFLP şablonlarından yararlanılarak yapılan enzimatik kesimler sonucu, *Rhizoctonia* türleri tespit edilmiştir. Bunların fasulyede WB hastalığına neden olan *R. solani*'nin AG-1 ve AG-2 anastomosis grupları olduğu saptanmıştır. Yapılan patojenite çalışmasında tüm izolatların fasulye bitkisinin yapraklarında hastalık oluşturduğu gözlenmiştir. AG-1 izolatının hastalık yapabilme özelliği yüksek olup, AG-2 izolatının ise hastalık yapabilme özelliğinin düşük olduğu rapor edilmiştir (Godoy-Lutz *et al.* 2003).

Çin'de yapılan bir araştırmada fasulye bitkisinde WB neden olan *R. solani*'nin AG-4 HGI izolatı elde edilmiştir (Yang *et al.* 2007).

Puerto Riko ve Honduras'ta yapılan bir çalışmada, WB hastalığına dayanıklı olan ya da tolerans gösteren fasulye bitkileri geliştirilmiştir. Bu amaçla farklı dört *R. solani* (AG 1-1F, AG 1-1E, AG 1-1A ve AG 2-2WB) izolatı seçilmiştir. Bu gruplar fasulyenin ilk üç yaprağına inokule edildikten sonra 24, 48 ve 72 saatlik periyotlarla gözlemlenmiştir. Sonuç olarak AG 2-2WB izolatının yaprakta lezyon alanının az ve penetrasyon derecesinin düşük olduğu, AG 1-1E izolatının ise lezyon alanının geniş ve penetrasyon derecesinin yüksek olduğu gözlenmiştir (Gonzalez *et al.* 2008).

Yapılan bir başka çalışmada fasulye bitkisinin üst aksamında WB hastalığına neden olan 68 *R. solani* izolatı elde edilmiştir. 31 izolatın AG-1 ve 37 izolatın ise AG-2 olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlar ITS-5.8S rDNA analizine göre alt grupları belirlenmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre AG-1 izolatı AG-1 IA, AG-1 IB, AG-1 IE ve AG-1 IF olmak üzere 4 alt gruba ayrılmıştır. AG-2 izolatı ise AG-2-2WB alt grubuna ayrıldığı belirlenmiştir (Godoy-Lutz *et al.* 2008).

Dominik Cumhuriyeti, Honduras ve Puerto Riko'da fasulye tarlalarından, yaprakta WB hastalığının belirtileri görülen örnekler toplanmıştır. Dominican Cumhuriyeti'nden 15, Honduras'tan 37 ve Puerto Riko'dan ise 40 izolat olmak üzere 92 izolat elde edilmiştir.

Bu izolatların misel uyumluluk ve DNA analizi ile *R. solani*'nin alt grubu olan AG-1IE ve AG-1IF'ye ait olduğu belirlenmiştir (Gonzalez *et al.* 2012).

#### **2.4. Türkiye'de Fasulye Bitkisinin Toprak Altı Aksamında *Rhizoctonia* Türlerinin ve Anastomosis Gruplarının Belirlenmesi ile Patojeniteleri Üzerine Yapılan Çalışmalar**

İç Anadolu Bölgesinde yapılan bir araştırmada fasulye bitkisinin hipokotilinden, AG-5 izolatının elde edildiği bildirilmiştir. Yapılan patojenite testinde AG-5 izolatı tekrar fasulyenin kök ve kök boğazına inokule edildiğinde bu bölgelerde kızıl kahverengi çökük lekeler olduğu gözlenmiştir (Tuncer and Erdiller 1990).

Türkiye'nin farklı illerde yetişirilen fasulye bitkisinin hipokotilinden *Rhizoctonia* türleri elde edilmiştir. Bu izolatlardan en fazla BN *Rhizoctonia*'nın AG-K grupları izole edilirken, bunu takiben sırasıyla AG-A, AG-I AG-E grupları elde edilmiştir. Geriye kalan izolatların ise *R. solani*'nin AG-4 ve AG-5 grubu olduğu belirlenmiştir (Demirci and Döken 1995).

Erzurum ilinde yapılan bir başka çalışmada fasulye bitkilerinin kök ve hipokotillerinden elde edilen 111 MN *R. solani* izolatının %47,8'unun AG-4, %36,9'unun AG-5, geri kalan izolatların AG-2-1, AG-3, AG-9, AG-10 ve AG-11'e, 116 BN *Rhizoctonia*'nın %86,2'sinin AG-K, geri kalan izolatların AG-A, AG-F ve AG-G'e ait olduğu belirlenmiştir. Patojenite test sonuçlarına göre en yüksek hastalık şiddetini AG-4 ve AG-5 izolatlarının oluşturduğu, AG-G ve AG-F izolatlarının zayıf patojen olduğu, diğer gruplara ait izolatların ise bitkide hastalık yapmadığı belirlenmiştir (Eken and Demirci 2004).

Samsun ilinde fasulye bitkilerinin köklerinden ve rizosfer toprağından yapılan izolasyonlarda *R. solani* izolatlarının %59'unun AG-4, %31'inin AG-2-2 ve %10'unun AG-5 izolatı olduğu görülmüştür. AG-4 ve AG 2-2'ye ait izolatların tüm fasulye çeşitlerinde şiddetli kök çürüklüğüne sebep olduğu gözlenmiştir. AG-5 izolatı ise

hassas fasulye türlerinde virulanslığının yüksek olduğu tespit edilmiştir. Özellikle de fasulye bitkisinin Horoz çeşidinin oldukça hassas olduğu belirlenmiştir (Karaca *et al.* 2002).

Karadeniz bölgesinde farklı illerde toplanan fasulye bitkilerinin köklerinden elde edilen *R. solani* AG-4 grubu fungusların rDNA-ITS bölgesinin PCR-RFLP ile moleküller karakterizasyonuna bakılmıştır. Fasulye bitkisinden elde edilen *R. solani* izolatlarının AG-4'e ait olduğu görülmüştür. AG-4 izolatlarının alt gruplarına ayrimında ise rDNA-ITS bölgesinin PCR-RFLP şablonlarından yararlanılarak enzimatik kesimler sonucu AG-4 HGI ve AG-4 HGII gruplarında farklı PCR-RFLP şablonları elde edildiği bildirilmiştir. Böylece anastomosis tiplendirmesyle *R. solani* AG-4 olarak gruplandırılan izolatların HGI ve HGII olarak alt gruplarına ayrılması sağlanmıştır. Patojenite denemesinde AG-4 izolatının virulanslığının yüksek olduğu görülmüştür (Kılıçoğlu and Özkoç 2010).

Türkiye'de Samsun ilinde yapılan bir başka çalışmada fasulye bitkilerinin köklerinden ve rizosfer toprağından *R. solani* izolatının AG-1, AG-4, AG-5 ve AG-6, BN *Rhizoctonia*'nın AG-A, AG-B ve AG-K, geri kalan izolatların *Rhizoctonia zae*'e ait olduğu belirlenmiştir. Patojenite testlerinde en yüksek hastalık şiddetini AG-4 izolatı oluştururken, AG-1 ve AG-6 orta derecede hastalık yaptığı görülmüştür. Ayrıca AG-B izolatının orta derecede hastalık yaptığı gözlemlenirken, diğer BN izolatların zayıf hastalık yaptığı ve *Rhizoctonia zae*'e izolatlarının ise hafif hastalık oluşturduğu belirlenmiştir (Erper *et al.* 2011).

Türkiye'de Erzurum ilinde fasulye bitkisinin tohumundan yapılan izolasyonda sadece AG-1 izolatı elde edilmiştir (Demirci and Döken 1995). Bir başka çalışmada Erzurum ilinde fasulye tohumlarından yapılan izolasyonlarda elde edilen *R. solani* izolatlarının tamamının AG-4'e ait olduğu bildirilmiştir (Demirci and Çağlar 1998). Bu iki çalışma dışında Türkiye'de bu güne kadar fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında *Rhizoctonia* tür ve anastomosis gruplarının belirlenmesine yönelik bir çalışma bulunmamaktadır.

### **3. MATERİYAL ve METOD**

#### **3.1. Materyal**

Erzincan iline ait Merkez, Çayırlı, Üzümlü, Refahiye ve Tercan ilçelerinden alınan fasulye yaprak ve bakla örnekleri ile bunlardan izole edilen *Rhizoctonia* izolatları çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Belirtilen alanlarda yoğun olarak yetişiriciliği yapılan Yalancı Dermason genotipi patojenite çalışmasında kullanılmıştır.

#### **3.2. Metot**

##### **3.2.1. Sürvey çalışmaları**

Sürvey için arazi çalışmaları 2010 yılında Eylül ayı ortası Ekim ayı sonuna kadar, 2011 yılında ise Mayıs ayı sonundan Ekim ayı ortasına kadar yapılmıştır. Erzincan iline bağlı ilçelerde yaygın olarak fasulye yetişiriciliği yapılan alanlardaki tarlaların büyülükleri dikkate alınarak her tarladan, fasulye bitkisinin genotipine bakılmaksızın, 10-15 adet hastalık simptomu gösteren bitki örneği tarlada 10 adımda bir durularak şansa bağlı olarak toplanmıştır. Bitki örnekleri polietilen torbalara konularak buz kutusu içinde laboratuara getirilmiş ve izolasyon aşamasına kadar buzdolabında 5°C'de muhafaza edilmiştir.

##### **3.2.2. *Rhizoctonia* izolatlarının elde edilmesi**

Hastalıklı bitki örneklerinden *Rhizoctonia* spp.'nin izolasyonu için, önce toplanan bitki kısımları musluk suyu altında yılanarak topraklarından arındırılmış, her bitkinin yaprak veya bakla kısımlarından yaklaşık  $1\text{ cm}^2$  ebadında hastalıklı ve sağlıklı kısmı içerecek şekilde doku parçaları kesilmiştir. Bu parçalar %1'lik NaOCl'de 1 dakika yüzeysel dezenfeksiyona tabi tutularak 3 kez steril saf sudan geçirilmiş ve takiben steril kurutma kağıtları arasında fazla suları alınmıştır. Kurutulan bu bitki parçaları  $50\text{ mg l}^{-1}$

streptomycin sülfat içeren %1.5 su agarına (SA) alınıp, 25°C'de 48-72 saat karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. *Rhizoctonia* hifinin geliştiği kolonilerden hif ucu izolasyon yöntemi kullanılarak SA veya Patates Dekstroze Agar (PDA)'da kültürler saflaştırılmıştır. Saflaştırılan kültürler 25°C'de 48-72 saat karanlıkta inkübe edilmişdir. Gelişen kültürler PDA içeren test tüplerde 5°C'de saklanmış ve çalışmanın bundan sonraki aşamalarında bu izolatlar kullanılmıştır.

### **3.2.3. *Rhizoctonia* izolatlarının tanılanması**

#### **3.2.3.a. *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis gruplarının saptanması**

Bu çalışmada saflaştırılan *Rhizoctonia* izolatları mikroskopta incelenmiş, vejetatif hifin temel karakteristik özellikleri dikkate alınarak MN *R. solani* ve BN *Rhizoctonia* olarak gruplandırılmıştır. Anastomosis gruplarını belirlemek için kullanılan *Rhizoctonia* test izolatları Prof. Dr. Erkol DEMİRCİ'nin (Karadeniz Teknik Üniversitesi, Maçka Meslek Yüksekokulu, Trabzon) kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Çalışmada elde edilen MN ve BN *Rhizoctonia* izolatları ile test izolatları PDA'da 25°C'de 7 gün geliştirildikten sonra %1.5'luk SA'da eşleştirilmişlerdir. Alınan misel parçaları 9 cm çapındaki petrilerde aralarında 5-6 cm mesafe olacak şekilde karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. Petriler 48-72 saat süresince 25°C'de inkübe edildikten sonra karşılaşma hattı phase-contrast mikroskobunda incelenmiştir (Parmeter *et al.* 1969). Karşılıklı olarak eşleştirilen iki izolatın karşılaşıkları hattaki hifler arasında hücre duvarı ve sitoplazmik birleşme (C0, C1, C2 veya C3) durumunun olup olmadığı gözlemlenerek anastomosis grupları belirlenmiştir (Carling *et al.* 1988).

#### **3.2.3.b. *Rhizoctonia* izolatlarının moleküller yöntemlerle tanılanması**

Bu çalışmada elde edilen ve test izolatları ile hifsel anastomosis sonuçlarına göre anastomosis grubu belirlenen *Rhizoctonia* izolatlarının tamamında Internal Transcribed Spacer (ITS) bölgesinin sekans analizleri yapılmıştır. Bu amaçla PDA'da 48-72 saat

süresince 25°C'de inkübe edilen izolatlar, 300 ml'lik erlanmayerlerde hazırlanan 100 ml'lik Patates Dekstroze Broth (PDB)'a aktarılarak 4-7 gün 25°C karanlıkta inkübasyona bırakılmış, takiben gelişen miseller hasat edilmiş ve steril ependorf tüplere aktarılmıştır. İzolatların DNA izolasyonu ve sekans analizleri ITS-1 ve ITS4 primerleri (White *et al.* 1990) esas alınarak RefGen firmasında (Ortadoğu Teknik Üniversitesi Teknokent Ankara) yaptırılmıştır. Elde edilen baz dizilimleri “fasta file” haline getirildikten sonra National Center for Biotechnology Information (NCBI)'da blast edilmiş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır (Anonymous 2011c).

### **3.2.3.c. *Rhizoctonia* izolatlarının kültürel ve morfolojik özellikleri**

Anastomosis grupları belirlenen MN ve BN *Rhizoctonia* izolatlarından 5 mm'lik mantar delici ile alınan miseller, PDA ve Sabouraud Dekstroze Agar (SDA)'a aktarılarak 25°C'de 10 gün inkübe edildikten sonra her iki besi yerindeki gelişimleri, koloni renkleri, sklerot oluşturup oluşturmadıkları, oluşturuyorsa petri üzerindeki dağılımları yönünden incelenmiştir.

### **3.2.4. Patojenite Testi**

#### **3.2.4.a. Yaprakta patojenite testi**

Patojenite testi için yörede en fazla yetişiriciliği yapılan Yalancı Dermason fasulye genotipi kullanılmıştır. Anastomosis gruplarının virulanslığını tespit etmek amacıyla 23 *Rhizoctonia* izolatı (AG-1'den 1, AG-2'den 4, AG-4'den 9, AG-5'den 5, AG-E'den 2, AG-K'dan 2 izolat) ile patojenite testi kurulmuştur. Her izolat ve kontrol için 3 adet üç yapraklı gerçek yaprak kullanılmış ve deneme iki kez tekrarlanmıştır.

Bitki yetiştirmek amacı ile fasulye tohumları %1'luk NaOCl'de 1 dakika tutularak yüzeysel olarak dezenfekte edilmiştir. Daha sonra tohumlar steril saf sudan geçirilerek steril kurutma kağıtları arasında fazla suları alınmıştır. Saksı toprağı olarak 121°C'de 1 saat otoklavda steril edilmiş hazır çiçek toprağı kullanılmıştır. Her saksiya bir tohum

ekilmiş, 25°C'de 14 saat ışık 10 saat karanlıkta 15 gün geliştirilen fasulye bitkilerinden alınan üç yaprakçıklı gerçek yapraklar steril petrilere yerleştirilmiştir. İnokulum hazırlamak amacıyla *Rhizoctonia* izolatları PDA'da 3 gün 25°C'de geliştirilmiş ve bu izolatlardan gelişen kolonilerin kenarlarından alınan 5 mm'lik misel diskleri yaprakların ortasına gelecek şekilde yerleştirilerek inokülasyonlar gerçekleştirilmiştir. Kontrol bitkilerine ise 5 mm'lik steril PDA diskleri yerleştirilmiştir. Takiben ortamda %100'e yakın nem oranını sağlamak için petriler alüminyum kaplar içine konulmuş, yaprak sapi steril su ile nemlendirilmiş pamukla sarılmış ve polietilen poşetler içerisinde yerleştirilerek poşetin ağız kısmı kapatılmıştır. Alüminyum kaplar 4 gün 27°C'de 14 saat ışık 10 saat karanlıkta bırakılmıştır. Bu süre sonunda yapraklardaki hastalık şiddeti 1-9 skalarına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Yaprakta hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan tanımsal skala (Van Schoonhoven and Pastor-Corrales 1987)

Hastalık Şiddeti	Tanım
<b>1</b>	Simptom yok
<b>3</b>	Yaprak yüzeyinin %5-10'u enfekte olmuş
<b>5</b>	Yaprak yüzeyinin %20-30'u enfekte olmuş
<b>7</b>	Yaprak yüzeyinin %40-60'ı enfekte olmuş
<b>9</b>	Yaprak yüzeyinin %80'inden fazlası enfekte olmuş

Reisolasyon işlemi için yapraklardan kesilen parçalar %0.5'lik NaOCl'de 1 dakika bekletilerek yüzeysel dezenfeksiyon sağlandıktan sonra steril saf sudan geçirilerek kurutma kağıtlarına alınmış ve steril kabin içinde kurutulmuştur. Daha sonra bu parçalar, streptomycin sülfat ilaveli SA'na alınıp, 25°C'de 3-5 gün karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Her yapraktan tekrar elde edilen izolatlar başlangıçta kullanılan izolatla SA'da eşleştirilerek anastomosis grupları teyit edilmiştir.

### **3.2.4.b. Bakla patojenite testi**

Patojenite testi için taze fasulye baklaları kullanılmıştır. Anastomosis gruplarının baklada virulanslığını tespit etmek amacıyla yapılan patojenite testinde, yaprakta patojenite testinde kullanılan izolatlar kullanılmıştır. Her izolat ve kontrol için her tekerrürde 3 adet bakla kullanılmış, toplam üç tekerrür yapılmış ve deneme iki kez tekrarlanmıştır.

Misel inokulumu hazırlamak amacı ile *Rhizoctonia* izolatları PDA'da 3 gün 25°C'de geliştirilmiş, gelişen kolonilerin kenarlarından alınan bir adet 5 mm'lik misel diski 300 ml'lik erlanmayererde hazırlanan 100 ml'lik PDB'a aktarılarak 10 gün 25°C karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen miseller hasat edilmiş ve bisturi yardımıyla parçalanarak 100 ml steril su ile karıştırılıp süspansiyon haline getirilmiştir. Her bir baklaya 4 ml bu süspansiyondan püskürtülerek her bir petriye üçer adet bakla konularak alüminyum kaplara yerleştirilmiştir. Ortamda %100 nemi sağlamak için alüminyum kaplar polietilen poşetler içeresine yerleştirilerek poşetin ağız kısmı kapatılmıştır. Alüminyum kaplar 7 gün 27°C'de 14 saat ışık 10 saat karanlıkta tutulmuştur. Süre sonunda baklalardaki hastalık şiddeti 1-5 skaliasına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.2).

Yaprakta patojenite testi bölümünde anlatıldığı üzere baklalardan reisolasyon işlemi gerçekleştirilerek anastomosis grupları teyit edilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Baklada hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan tanımsal skala

<b>Hastalık Şiddeti</b>	<b>Tanım</b>
<b>1</b>	Simptom yok
<b>3</b>	Bakla yüzeyinde 5 mm'den küçük lezyonlar
<b>5</b>	Bakla yüzeyinde 5 mm'den büyük lezyonlar

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Hastalığın Tarla Koşullarında Tanımı

Fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında *Rhizoctonia* türlerinin oluşturduğu web blight olarak bilinen ağ yanıklığı hastalığının tipik simptomlarına çalışmanın yapıldığı alanlarda sadece baklalarda rastlanılmıştır. Bu hastalığa yakalanmış fasulye baklalarında, yuvarlağa yakın ve kırmızımsı kahverengi koyu sınırlar ile çevrili düzensiz çökük nekrotik lekeler oluşmaktadır, bu lezyonların merkez kısmı ise açık kahverengidir (Şekil 4.1). Düzensiz ve farklı boyutlarda olabilen, ilerleyen dönemde birbirleri ile birleşip düzensiz bir şekil alan bu lezyonlar bakla yüzeyinin büyük bir kısmını da kaplayabilmektedir (Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Tarla şartlarında bakla üzerinde *Rhizoctonia*'nın oluşturduğu lezyon



**Şekil 4.2.** Tarla şartlarında bakla üzerinde *Rhizoctonia*'nın oluşturduğu lezyonlar

#### **4.2. Elde Edilen *Rhizoctonia* spp. İzolatları ve Anastomosis Grupları**

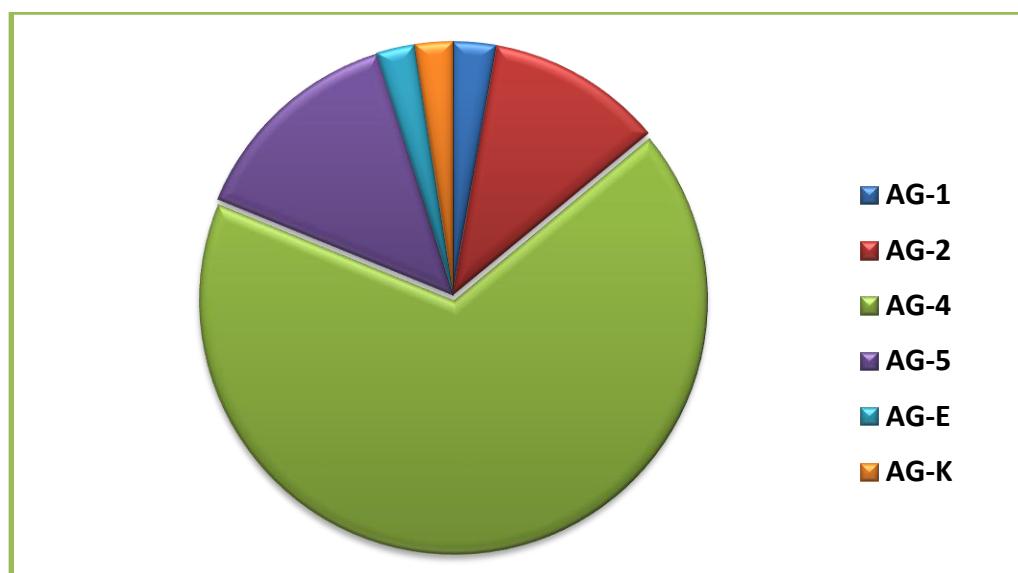
Erzincan ilinde Merkez, Üzümlü, Çayırlı, Refahiye ve Tercan ilçelerinden alınan fasulye yaprak ve baklalarından yapılan izolasyonlarda, yapraklardan *Rhizoctonia* izolatı elde edilememiştir. Baklalardan yapılan izolasyonlarda Merkez, Üzümlü ve Çayırlı ilçelerinden *Rhizoctonia* izolatları elde edilmiş olup, bu izolatların ilçelere göre dağılımı Çizelge 4.1'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre Merkez ilçeden 16, Üzümlü ilçesinden 21, Çayırlı ilçesinden 1 olmak üzere toplam 38 *Rhizoctonia* spp. izolatı elde edilmişken, Refahiye ve Tercan ilçelerinden alınan baklalardan ise *Rhizoctonia* izolatı elde edilememiştir.

Fasulye tarlalarından 2010-2011 yıllarında toplanan baklalardan yapılan izolasyonlar sonucunda 38 adet *Rhizoctonia* spp. izolatı elde edilmiş ve anastomosis grupları (AG) belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen 38 izolatın 34 adedi *R. solani* AG-1 (%2,63), AG-2 (%10,53), AG-4 (%63,16) ve AG-5 (%13,16)'e; 4 adedinin ise BN *Rhizoctonia* AG-E (%5,26) ve AG-K (%5,26)'a ait olduğu saptanmıştır. *Rhizoctonia* anastomosis

gruplarının toplam izolat sayısı içerisindeki dağılımı Şekil 4.3'de şematik olarak gösterilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Fasulye baklalarından izole edilen *Rhizoctonia* türlerinin ve anastomosis gruplarının lokasyonlara göre izolat sayıları

Tür/ Anastomosis grup	LOKASYONLAR			<b>TOPLAM</b>
	<b>Merkez</b>	<b>Üzümlü</b>	<b>Çayırlı</b>	
<b><i>R. solani</i></b>				
AG-1	-	1	-	1
AG-2	2	2	-	4
AG-4	9	14	1	24
AG-5	2	3	-	5
<b>BN <i>Rhizoctonia</i></b>				
AG-E	2	-	-	2
AG-K	1	1	-	2
<b>TOPLAM</b>	<b>16</b>	<b>21</b>	<b>1</b>	<b>38</b>



**Şekil 4.3.** Fasulye baklalarından elde edilen *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis gruplarına göre dağılımı

Baklardan yapılan izolasyon çalışmaları 2010 ve 2011 yıllarında yürütülmüştür. Farklı tarihlerde ilçelerin farklı köylerinden elde edilen *Rhizoctonia* spp izolatlarının 2010 ve 2011 yıllarında anastomosis gruplarına göre toplandıkları yer ve tarih bilgileri sırası ile Çizelge 4.2 ve 4.3'de verilmiştir. Bu sonuçlar incelendiğinde AG-1'e ait bir izolatın 2010 yılında Üzümlü'den; AG-2'nin bir izolatı 2010 yılında Üzümlü'den, üç izolat ise 2011 yılında Merkez ve Üzümlü'den; AG-4'e ait 23 izolatın 2010 ve 2011 yıllarında Merkez ve Üzümlü'den, bir izolatın ise 2011 yılında Çayırlı'dan; AG-5'e ait 4 izolatın 2010 yılında Merkez ve Üzümlü'den, bir izolatın ise 2011 yılında Üzümlü'den; AG-K'a ait iki izolatın 2010 yılında Merkez ve Üzümlü'den; AG-E'ye ait iki izolatın 2011 yılında Merkez'den elde edildiği görülecektir.

**Çizelge 4.2.** Erzincan ilinde 2010 yılında fasulye baklalarından elde edilen *Rhizoctonia* izolatları, anastomosis grupları, toplandıkları yerler ve tarihler

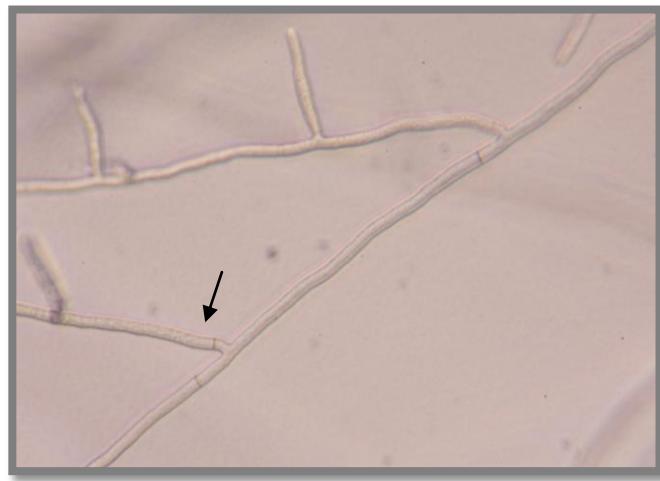
İzolat Kodu	Örnek alınan yer	Anastomosis grubu	Alındığı tarih
ZB1	Üzümlü 3 (Merkez)	AG-1	16.10.2010
ZB2	Üzümlü 3 (Merkez)	AG-2	16.10.2010
ZB3	Merkez (Keklikkayası)	AG-4	16.10.2010
ZB4	Merkez (Keklikkayası)	AG-4	16.10.2010
ZB5	Merkez (Keklikkayası)	AG-4	16.10.2010
ZB6	Merkez (Keklikkayası)	AG-4	16.10.2010
ZB7	Merkez (Keklikkayası)	AG-4	16.10.2010
ZB8	Üzümlü 1 (Merkez)	AG-4	16.10.2010
ZB9	Üzümlü 1 (Merkez)	AG-4	16.10.2010
ZB10	Üzümlü 6 (Merkez)	AG-4	23.10.2010
ZB11	Üzümlü 5 (Merkez)	AG-4	23.10.2010
ZB12	Üzümlü 5 (Merkez)	AG-4	23.10.2010
ZB13	Üzümlü 5 (Merkez)	AG-4	23.10.2010
ZB14	Üzümlü 2 (Merkez)	AG-4	16.10.2010
ZB15	Merkez (Bahçeliköy2)	AG-5	16.10.2010
ZB16	Merkez (Bahçeliköy1)	AG-5	16.10.2010
ZB17	Üzümlü 2 (Merkez)	AG-5	16.10.2010
ZB18	Üzümlü 3 (Merkez)	AG-5	16.10.2010
ZB19	Merkez (Bahçeliköy1)	AG-K	16.10.2010
ZB20	Üzümlü 1 (Merkez)	AG-K	16.10.2010

**Çizelge 4.3.** Erzincan ilinde 2011 yılında fasulye baklalarından elde edilen *Rhizoctonia* izolatları, anastomosis grupları, toplandıkları yerler ve tarihler

İzolat Kodu	Örnek alınan yer	Anastomosis grubu	Alındığı tarih
ZB21	Üzümlü 7 (Merkez)	AG-2	09-10-2011
ZB22	Merkez (Bahçeliköy 3)	AG-2	15-10-2011
ZB23	Merkez (Bahçeliköy 3)	AG-2	15-10-2011
ZB24	Merkez (Bahçeliköy 2)	AG-4	15-10-2011
ZB25	Merkez (Bahçeliköy 2)	AG-4	15-10-2011
ZB26	Merkez (Akyazı 1)	AG-4	09-10-2011
ZB27	Merkez (Elmalıköy1)	AG-4	22-09-2011
ZB28	Üzümlü 4 (Merkez)	AG-4	09-10-2011
ZB29	Üzümlü 6 (Merkez)	AG-4	07-09-2011
ZB30	Üzümlü 6 (Merkez)	AG-4	07-09-2011
ZB31	Üzümlü 6 (Merkez)	AG-4	07-09-2011
ZB32	Üzümlü 6 (Merkez)	AG-4	07-09-2011
ZB33	Üzümlü 7 (Merkez)	AG-4	09-10-2011
ZB34	Üzümlü 9 (Merkez)	AG-4	09-10-2011
ZB35	Çayırlı 2 (Çelikli)	AG-4	08-09-2011
ZB36	Üzümlü 5 (Merkez)	AG-5	07-09-2011
ZB37	Merkez (Yalnızbağ)	AG-E	22-09-2011
ZB38	Merkez (Yalnızbağ)	AG-E	22-09-2011

#### 4.3. *Rhizoctonia*'nın Mikroskopik Özellikleri

*Rhizoctonia* spp., nispeten birbirile dik açı yapan düzgün dallanan hiflere sahiptir (Şekil 4.4). Hiflerde dallanmanın başlangıç noktasının yakınında bir septum oluşmakta ve dallanmanın olduğu yerde hif boğumlanmıştır (Şekil 4.5).



**Şekil 4.4.** *Rhizoctonia* spp.'nin olgun hifleri



**Şekil 4.5.** *Rhizoctonia* spp.'nin olgun hifinde dallanma

#### **4.5. *Rhizoctonia* izolatlarının moleküler yöntemlerle tanılanması**

ITS bölgesinin sekans analizleri ve elde edilen baz dizilimlerinin gen bankasındaki izolatlarla karşılaştırılması sonucunda, klasik yöntemle test izolatları ile anastomosis grupları belirlenen bu çalışmadaki tüm izolatların grupları moleküler yöntemle teyit edilmiştir. Ayrıca moleküler yöntemle anastomosis gruplarının var olan alt gruplarının belirlenmesi de gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.4). Bu sonuçlara göre, AG-1 izolatinin IB, AG-2 izolatlarının tip1, AG-4 izolatlarının HG I, HG II ve HG III alt gruplarına ait olduğu saptanmıştır.

**Çizelge 4.4.** *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis gruplarının alt grupları

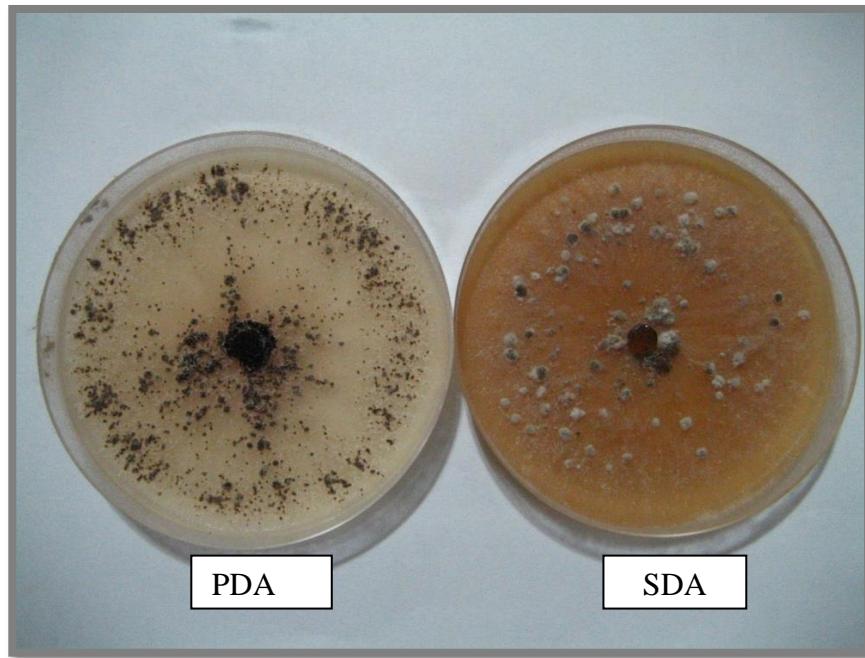
İzolat Kodu	Anastomosis grubu	Alt grup
ZB1	AG-1	IB
ZB2	AG-2	1
ZB21	AG-2	1
ZB22	AG-2	1
ZB23	AG-2	1
ZB3	AG-4	HG I
ZB13	AG-4	HG I
ZB32	AG-4	HG I
ZB4	AG-4	HG II
ZB5	AG-4	HG II
ZB6	AG-4	HG II
ZB7	AG-4	HG II
ZB8	AG-4	HG II
ZB9	AG-4	HG II
ZB10	AG-4	HG II
ZB11	AG-4	HG II
ZB12	AG-4	HG II
ZB24	AG-4	HG II
ZB25	AG-4	HG II
ZB26	AG-4	HG II
ZB27	AG-4	HG II
ZB28	AG-4	HG II
ZB33	AG-4	HG II
ZB34	AG-4	HG II
ZB35	AG-4	HG II
ZB14	AG-4	HG III
ZB29	AG-4	HG III
ZB30	AG-4	HG III
ZB31	AG-4	HG III

#### 4.6. Anastomosis Gruplarının Kültürel ve Morfolojik Özellikleri

##### 4.6.1. *Rhizoctonia solani* AG-1 IB

Bu gruba ait ZB1 izolatinin PDA'daki koloni rengi grimsi sarı renkte olup, SDA'daki koloni rengi ise devetüyü rengindedir. PDA'da çok miktarda koyu renkli sklerot

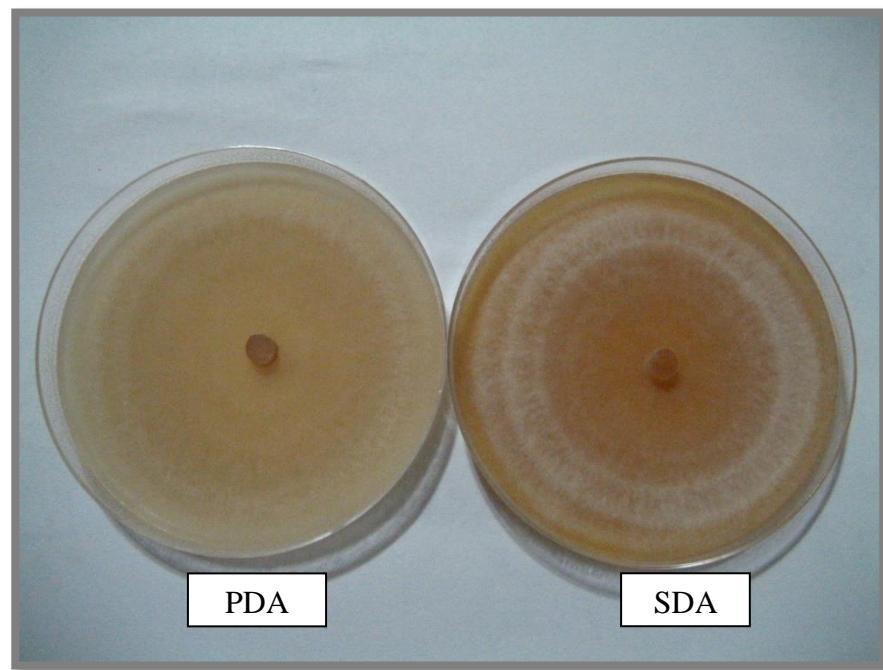
oluşumu mevcuttur. SDA'da ise açık renkli daha az miktarda sklerot oluşumu görülmektedir (Şekil 4.6).



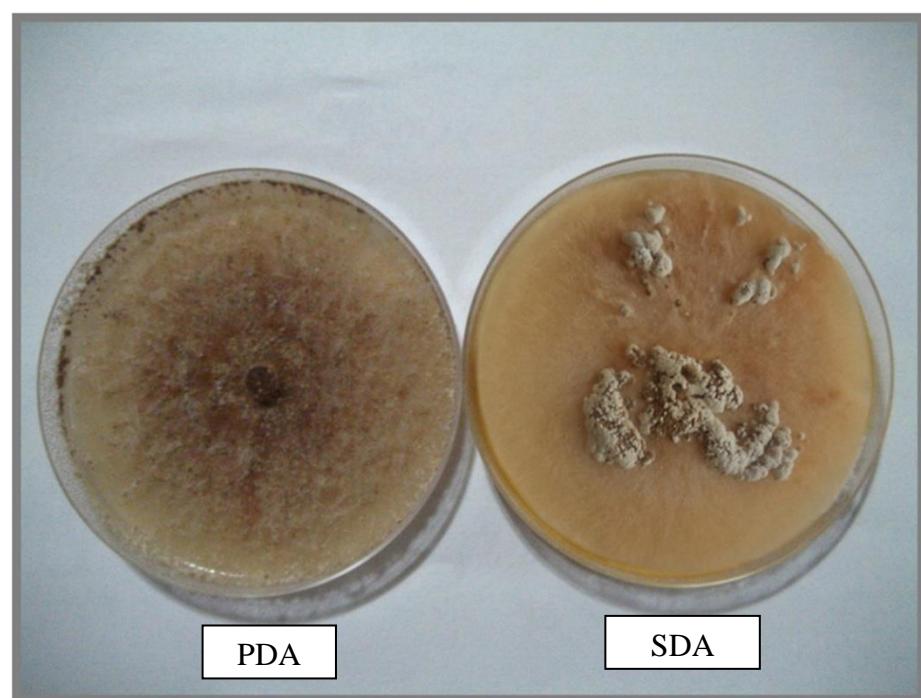
**Şekil 4.6.** *Rhizoctonia solani* AG-1 IB izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi

#### **4.6.2. *Rhizoctonia solani* AG-2-1**

Hem PDA'da hem de SDA'da ZB21 izolatı açık kahverengi kremimsi koloni rengine sahiptir (Şekil 4.7). ZB22 izolatının ise PDA'da ki koloni rengi koyu kahverengi olup havai hifler oluşturmuştur. SDA'daki koloni rengi ise açık kahverengidir. Ayrıca PDA ve SDA'da sklerot oluşumu görülmektedir (Şekil 4.8).



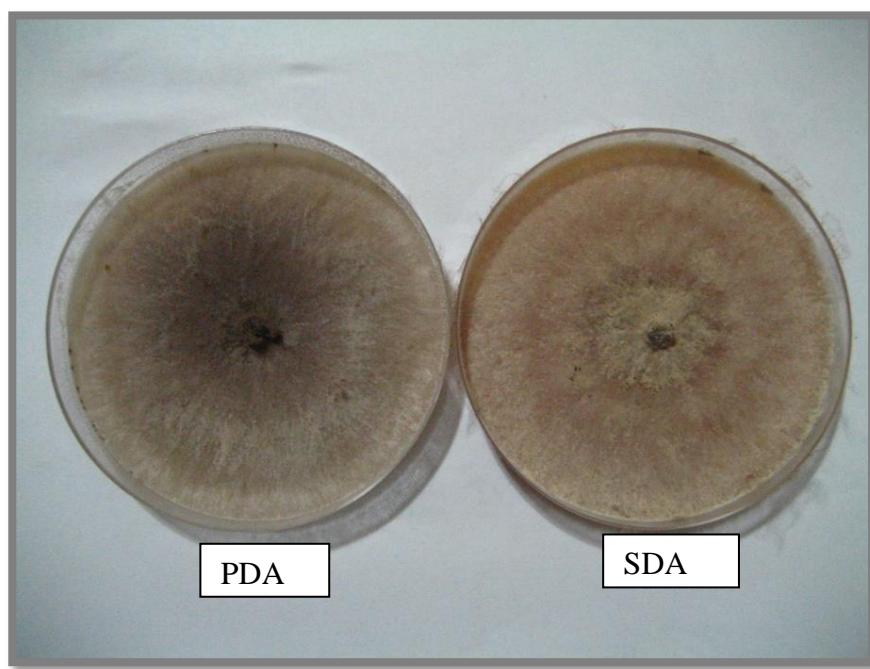
**Şekil 4.7.** *Rhizoctonia solani* AG-2-1'in ZB21 izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi



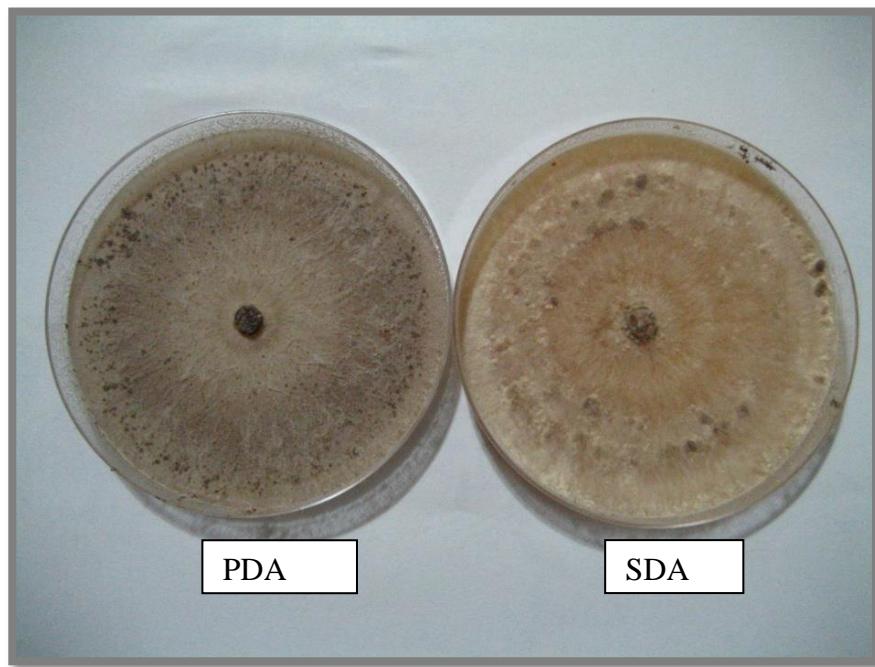
**Şekil 4.8.** *Rhizoctonia solani* AG-2-1'in ZB22 izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi

#### 4.6.3. *Rhizoctonia solani* AG-4

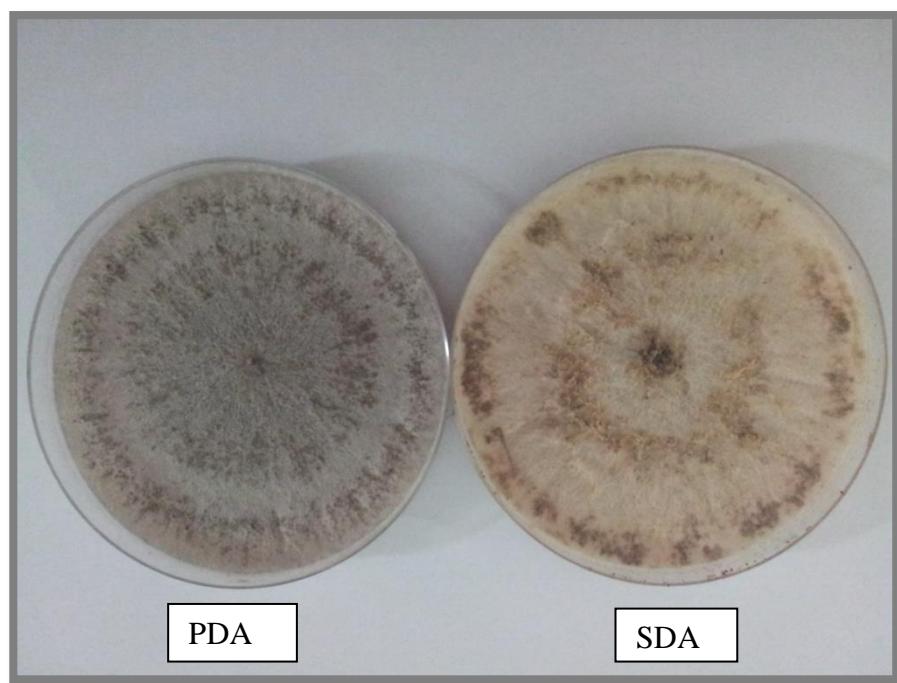
AG-4 grubuna ait izolatlar 3 alt gruba ayrılmıştır. Bu alt grupların PDA ve SDA'daki koloni gelişimleri farklıdır. AG-4 HG I izolatinin PDA'daki koloni rengi merkez kısmi koyu kahverengi olup kenarlara doğru daha açık kahverengidir. SDA'daki koloni rengi ise sarımsı kahverengidir. Sklerot oluşumu görülmekken havai hif oluşturduğu görülmektedir (Şekil 4.9). AG-4 HG II izolatlarının PDA'daki koloni rengi grimsi kahverengi renkte olup SDA'daki koloni rengi ise sarımsı kahverengidir. PDA'da az miktarda koyu renkli petri kenarlarında sklerot oluşumu mevcuttur. SDA'da ise açık renkli daha az miktarda sklerot oluşumu görülmektedir (Şekil 4.10). AG-4 HG III izolatları ise PDA ve SDA'daki koloni rengi kahverengidir. PDA'da koyu renkli havai hif oluştururken SDA'da açık renkli havai hif oluşturmaktadır ve havai hifler petrinin kenarında daha yoğun olduğu görülmektedir. Her iki besi yerinde de sklerot oluşumu görülmemiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.9. *Rhizoctonia solani* AG-4 HG I izolatinin PDA ve SDA'daki gelişimi



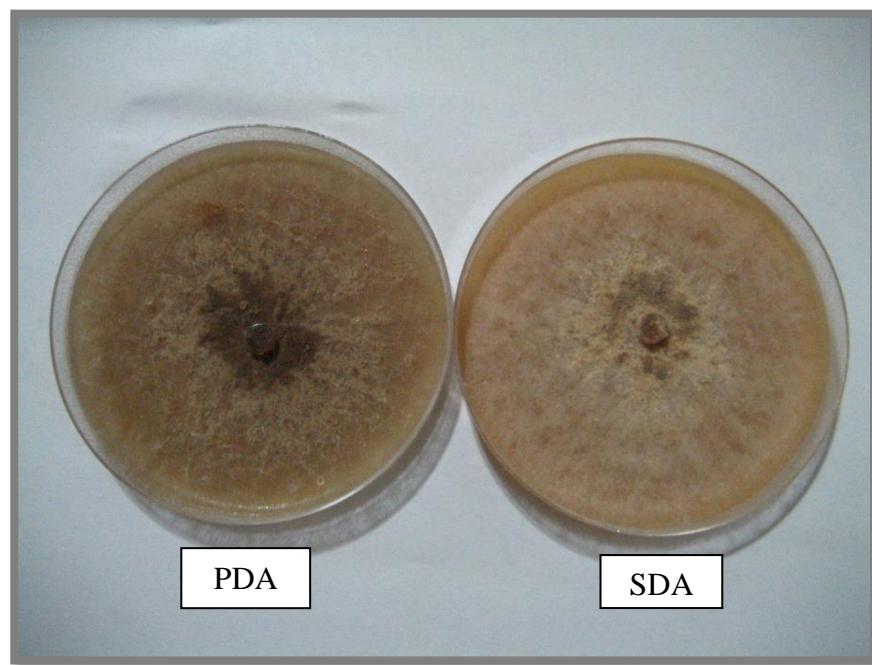
**Şekil 4.10.** *Rhizoctonia solani* AG-4 HGII izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi



**Şekil 4.11.** *Rhizoctonia solani* AG-4 HGIII izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi

#### 4.6.4. *Rhizoctonia solani* AG-5

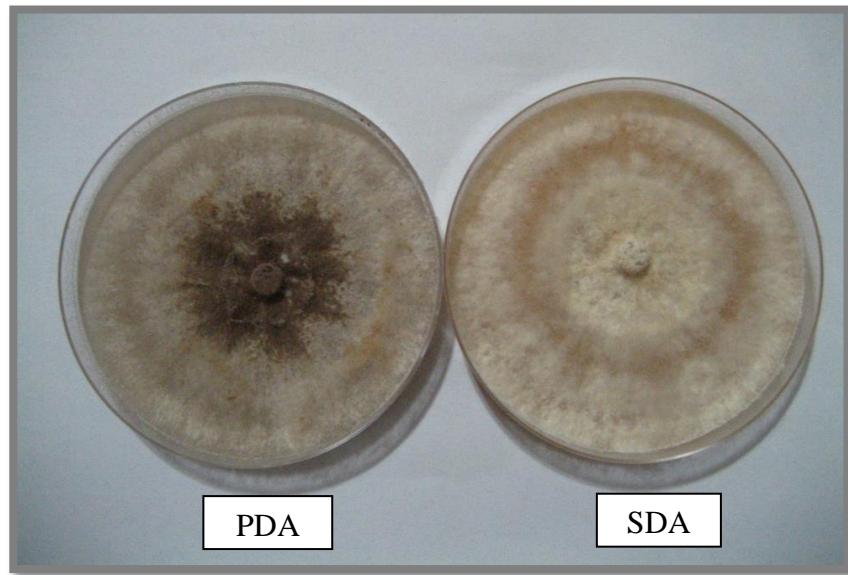
PDA'daki koloni rengi grimsi kahverenginde olup SDA'daki koloni rengi ise daha açık renktedir. PDA'da sklerot oluşumu mevcut olup sklerotlar merkeze yakın toplanmıştır. SDA'da ise açık renkli oluşan sklerotların merkezde toplandığı görülmektedir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. *Rhizoctonia solani* AG-5 izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi

#### 4.6.5. Binükleik *Rhizoctonia* AG-E

PDA'da koloni rengi merkez kısmı koyu kahverengi olup kenarları açık kahverengidir. SDA'da ise koloniler krem rengindedir. Sklerotlar merkezde toplanmıştır (Şekil 4.13).



**Şekil 4.13.** Binükleik *Rhizoctonia* AG-E izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi

#### 4.6.6. Binükleik *Rhizoctonia* AG-K

Her iki besi yerinde de koloni rengi beyazımsı olup miseller işinsal olarak gelişmiştir. Misel oluşumu merkezde daha yoğundur. Beyaz renkte sklerotlar oluşturmaktadır (Şekil 4.14).

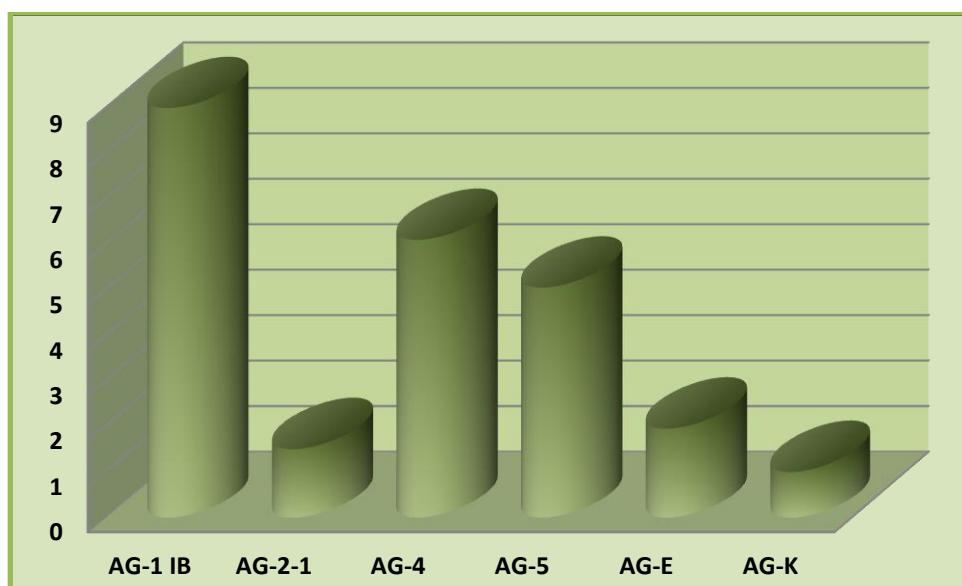


**Şekil 4.14.** Binükleik *Rhizoctonia* AG-K izolatının PDA ve SDA'daki gelişimi

#### 4.7. Patojenite Testi

Erzincan ilinde fasulye ekim alanlarında yapılan surveyeler sonunda enfekeli baklalardan elde edilen MN ve BN *Rhizoctonia* gruplarına ait 23 *Rhizoctonia* izolatın kullanıldığı yaprak patojenite test sonuçları Şekil 4.15 ve Çizelge 4.5'te, bakla patojenite test sonuçları ise Şekil 4.16'da ve Çizelge 4.6'da toplu olarak verilmiştir. Virulanslık açısından gruplar arasındaki farkın  $p<0,05$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.

Yapraktaki patojenite sonuçları toplu olarak değerlendirildiğinde AG-1 IB'ye ait bir izolatın en yüksek hastalık şiddetini oluşturduğu, AG-4 ve AG-5'e ait izolatların orta derecede, AG-2-1 ve AG-E'nin çok düşük virulanslığa sahip olduğu, AG-K'nın ise enfeksiyon oluşturmadığı görülmüştür. Bakladaki patojenite sonuçları toplu olarak değerlendirildiğinde ise AG-1 IB ve AG-4'e ait izolatların en yüksek hastalık şiddetini oluşturduğu, diğer gruplara ait izolatların ise genellikle enfeksiyon oluşturmadığı görülmüştür.



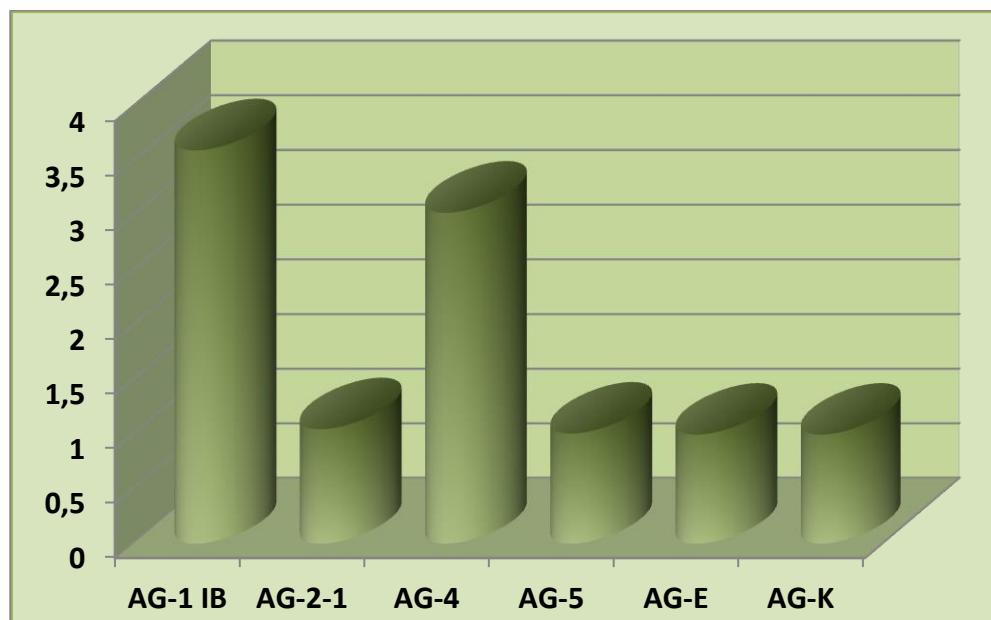
**Şekil 4.15.** *Rhizoctonia* izolatlarının yapraktaki virülanslık derecesi

**Çizelge 4.5.** *Rhizoctonia* izolatlarının yaprak patojenite sonuçları

AG	Skala Değeri*	İzolat Sayısı
<b>AG-1 IB</b>	9,00 a	1
<b>AG-2-1</b>	1,50 c	4
<b>AG-4</b>	6,10 b	9
<b>AG-5</b>	5,08 b	5
<b>AG-E</b>	1,95 c	2
<b>AG-K</b>	1,00 c	2
<b>KONTROL</b>	1,00 c	

\*: Yapraklar 1-9 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).



**Şekil 4.16.** *Rhizoctonia* izolatlarının bakladaki virülanslık derecesi

**Çizelge 4.6.** *Rhizoctonia* izolatlarının bakla patojenite sonuçları

AG	Skala Değeri*	İzolat sayısı
<b>AG-1 IB</b>	3,60 a	1
<b>AG-2-1</b>	1,05 b	4
<b>AG-4</b>	3,03 a	9
<b>AG-5</b>	1,01 b	5
<b>AG-E</b>	1,00 b	2
<b>AG-K</b>	1,00 b	2
<b>KONTROL</b>	1,00 b	

\*: Baklalar 1-5 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).

Toplamda 1 izolatın elde edildiği ve patojenitede kullanılan AG-1 IB izolatının yaprağa uygulandığında gösterdiği hastalık şiddeti kullanılan skalanın en yüksek değeri olan 9,00 olup, tüm izolatlar arasında virülanslığı en yüksek olan izolat olmuştur (Şekil 4.17). Baklada yapılan patojenite çalışmasında ise ortalama skala değeri 3,60 olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.18).



**Şekil 4.17.** AG-1 IB'nin yapraktaki simptomu



**Şekil 4.18.** AG-1 IB'nin bakladaki simptomu

İzolasyonlarda toplam 4 izolatın elde edildiği ve tamamının patojenitede kullanıldığı AG-2-1 izolatlarının yaprak patojenite test sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir. Potojenite testi sonucunda ZB2, ZB21 ve ZB22 izolatlarında hastalık belirtisine rastlanmamıştır (Şekil 4.19). Kontrol olarak bırakılan yapraklarda da herhangi bir simptom görülmemiştir. ZB23 izolatu ise 3,00 skala değerinde enfeksiyona neden olmuş (Şekil 4.20) olup, diğer izolatlar ve kontrol uygulamasına göre istatistikî olarak önemli fark oluşturmuştur ( $P<0,05$ ).

AG-2-1'e ait izolatlar ile bakla üzerinde yapılan patojenite denemesindeki sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir. İzolatlar bakla üzerinde genellikle simptom oluşturmamıştır (Şekil 4.21). Skala değerleri açısından izolatlar birbirleri ve kontrol ile karşılaştırıldıklarında aralarındaki farklılıklar istatistikî olarak önemli bulunmamıştır ( $P<0,05$ ).

**Çizelge 4.7.** AG-2-1 izolatlarının yaprak patojenite sonuçları

İzolatlar	Skala Değeri*
<b>ZB2</b>	1,00 <b>b</b>
<b>ZB21</b>	1,00 <b>b</b>
<b>ZB22</b>	1,00 <b>b</b>
<b>ZB23</b>	3,00 <b>a</b>
<b>Kontrol</b>	1,00 <b>b</b>

\*: Yapraklar 1-9 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).



**Şekil 4.19.** AG-2-1'e ait enfeksiyon oluşturmayan izolatin yapraktaki görünümü



**Şekil 4.20.** AG-2-1'e ait ZB23 izolatının yapraktaki virulanslığı

**Çizelge 4.8.** AG-2-1 izolatlarının bakla patojenite sonuçları

<b>İzolatlar</b>	<b>Skala Değeri*</b>
<b>ZB2</b>	1,10 a
<b>ZB21</b>	1,00 a
<b>ZB22</b>	1,10 a
<b>ZB23</b>	1,00 a
<b>Kontrol</b>	1,00 a

\*: Baklalar 1-5 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).



**Şekil 4.21.** AG-2-1'e ait izolatların bakladaki virülanslığı

İzolasyonlardan elde edilen 24 AG-4 izolatını temsilen seçilen 9 izolat ile yapılan patojenite testlerinin sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir. Kontrol olarak bırakılan yapraklarda herhangi bir hastalık belirtisine rastlanmamıştır. Skala değerlerinin genellikle 5'in üzerinde olduğu, 7,50 ve 7,40 ortalamayla en yüksek değeri sırasıyla ZB12 ve ZB32 nolu izolatların verdiği, ZB27 ve ZB31 nolu izolatların ise en düşük değerlerde olduğu görülmüştür. Skala değerleri açısından izolatlar kontrol ile karşılaştırıldıklarında aralarındaki farklılıklar istatistikî olarak önemli bulunmuş ve izolatların kendi aralarında da önemli farklılıklar olduğu görülmüştür ( $P<0,05$ ). Virülanslığı en yüksek olan izolatın uygulandığı yaprağın tamamında kuruma meydana gelmiştir (Şekil 4.22). Virülanslığı en düşük olan izolatın uygulandığı yapraklardaki simptom ise Şekil 4.23'de gösterilmiştir.

Aynı izolatlar ile bakla üzerinde yapılan patojenite denemesindeki sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir. Yapılan değerlendirmede ZB6 ve ZB32 nolu izolatların virülanslığı en şiddetli olup bakla üzerinde geniş symptomlar oluşturmuştur (Şekil 4.24). ZB4 ve ZB27 izolatlarının ise virülanslığı düşük olup bakla üzerinde az miktarda symptom

oluşturduğu görülmüştür (Şekil 4.25). Skala değerleri açısından izolatlar kontrol ile karşılaştırıldıklarında aralarındaki farklılıklar istatistikî olarak önemlidir ve izolatların kendi aralarında da önemli farklılıklar görülmüştür ( $P<0,05$ ).

**Çizelge 4.9.** AG-4 izolatlarının yaprak patojenite sonuçları

<b>İzolatlar</b>	<b>Alt grup</b>	<b>Skala Değeri*</b>
<b>ZB13</b>	HG I	5,50 <b>cde</b>
<b>ZB32</b>	HG I	7,40 <b>a</b>
<b>ZB4</b>	HG II	5,80 <b>d</b>
<b>ZB6</b>	HG II	6,50 <b>ab</b>
<b>ZB12</b>	HG II	7,50 <b>a</b>
<b>ZB27</b>	HG II	5,40 <b>e</b>
<b>ZB34</b>	HG II	6,30 <b>bcd</b>
<b>ZB30</b>	HG III	6,20 <b>bc</b>
<b>ZB31</b>	HG III	5,10 <b>e</b>
<b>Kontrol</b>		1,00 <b>f</b>

\*: Yapraklar 1-9 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).



**Şekil 4.22.** AG-4'ün virulanslığı en yüksek izolatı ZB12'nin uygulandığı yaprak



**Şekil 4.23.** AG-4'ün virulanslığı en düşük izolatı ZB27'nin uygulandığı yaprak

**Çizelge 4.10.** AG-4 izolatlarının bakla patojenite sonuçları

İzolatlar	Alt grup	Skala Değeri*
<b>ZB13</b>	HG I	3,80 <b>abc</b>
<b>ZB32</b>	HG I	4,50 <b>abc</b>
<b>ZB4</b>	HG II	1,40 <b>e</b>
<b>ZB6</b>	HG II	4,50 <b>a</b>
<b>ZB12</b>	HG II	3,70 <b>abc</b>
<b>ZB27</b>	HG II	1,40 <b>e</b>
<b>ZB34</b>	HG II	1,70 <b>d</b>
<b>ZB30</b>	HG III	3,30 <b>bd</b>
<b>ZB31</b>	HG III	3,00 <b>cd</b>
<b>Kontrol</b>		1.00 <b>e</b>

\*: Baklalar 1-5 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).

**Şekil 4.24.** AG-4'ün virulanslığı yüksek izolatı ZB6'nın uygulandığı baklalar



**Şekil 4.25.** AG-4'ün virulanslığı düşük izolatı ZB27'nin uygulandığı baklalar

Patojenite testinde kullanılan 9 adet AG-4 izolatının HG I, HGII ve HGIII alt gruplarına göre yaprak test sonuçları Çizelge 4.11'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre her üç grubun yaprakta oluşturduğu skala değerleri açısından istatistik olarak aralarında fark bulunmadığı görülmüştür ( $P<0,05$ ).

Her üç grubun bakladaki patojenite sonuçları Çizelge 4.12'de verilmiştir. Sonuçlara bakıldığından her üç grubun yaprakta oluşturduğu skala değerleri açısından istatistik olarak aralarında fark bulunmadığı görülmüştür ( $P<0,05$ ).

**Çizelge 4.11.** AG-4 izolatlarının alt gruplarına göre yaprak patojenite sonuçları

Alt grup	Skala Değeri*	İzolat sayısı
<b>HGI</b>	6,42 a	2
<b>HGII</b>	6,31 a	5
<b>HGIII</b>	5,65 a	2
<b>KONTROL</b>	1,00 b	

\*: Yapraklar 1-9 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).

**Çizelge 4.12.** AG-4 izolatlarının alt gruplarına göre bakla patojenite sonuçları

Alt grup	Skala Değeri*	İzolat sayısı
<b>HGI</b>	4,15 a	2
<b>HGII</b>	2,54 b	5
<b>HGIII</b>	3,15 b	2
<b>KONTROL</b>	1,00 c	-

\*: Baklalar 1-5 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).

İzolasyonlardan elde edilen 5 adet AG-5 izolatının kullanıldığı yaprak patojenite test sonuçları Çizelge 4.13'de verilmiştir. Kontrol olarak bırakılan yapraklarda herhangi bir hastalık belirtisine rastlanmamıştır. Virülanslığı en yüksek olan izolatın uygulandığı yaprağın büyük bir kısmında kuruma meydana gelmiştir (Şekil 4.26). Skala değerlerinin genellikle 5 değerine yakın olduğu, izolatlar arasında belirgin bir farklılığın olmadığı, skala değerleri açısından izolatlar kontrol ile karşılaştırıldıklarında aralarındaki farklılık istatistikî olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Bakla üzerinde 5 adet AG-5 izolatının patojenite test sonuçları Çizelge 4.14'de verilmiştir. İzolatların baklada simptom oluşturmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.27). Skala değerleri açısından izolatlar kontrol ile karşılaştırıldıklarında aralarındaki farklılıklar istatistikî olarak önemli bulunmamış, ayrıca izolatların kendi aralarında önemli farklılıklar görülmemiştir ( $P<0,05$ ).

**Çizelge 4.13.** AG-5 izolatlarının yaprak patojenite sonuçları

İzolatlar	Skala Değeri*
<b>ZB15</b>	<b>5,45 ab</b>
<b>ZB16</b>	<b>4,65 ab</b>
<b>ZB17</b>	<b>5,80 a</b>
<b>ZB18</b>	<b>4,95 ab</b>
<b>ZB36</b>	<b>4,55 b</b>
<b>Kontrol</b>	<b>1,00 c</b>

\*: Yapraklar 1-9 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).



**Şekil 4.26.** AG-5'e ait ZB17 izolatının uygulandığı yaprak

**Çizelge 4.14.** AG-5 izolatlarının bakla patojenite sonuçları

İzolatlar	Skala Değeri*
<b>ZB15</b>	1,00 a
<b>ZB16</b>	1,00 a
<b>ZB17</b>	1,00 a
<b>ZB18</b>	1,05 a
<b>ZB36</b>	1,00 a
<b>Kontrol</b>	1,00 a

\*: Baklalar 1-5 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).



**Şekil 4.27.** AG-5 izolatı uygulanmış baklalar

Çalışmada elde edilen 2 adet AG-E izolatının kullanıldığı yaprak patojenite test sonuçları Çizelge 4.15'de verilmiştir. Kontrol olarak bırakılan yapraklarda herhangi bir hastalık belirtisine rastlanmamıştır. AG-E'nin ZB37 nolu izolatı çok hafif enfeksiyon oluştururken, diğer izolatın yaprakta enfeksiyon yapmadığı görülmüştür (Şekil 4.28).

Skala değerleri açısından izolatlar kontrol ile karşılaştırıldıklarında istatistikî olarak önemli bir fark bulunmamıştır ( $P<0,05$ ). Baklaya uygulanan her iki izolatın ise virülant olmadığı belirlenmiş (Çizelge 4.16), bakla üzerinde herhangi bir simptoma da rastlanılmamıştır (Şekil 4.29).

**Çizelge 4.15.** AG-E izolatlarının yaprak patojenite sonuçları

İzolatlar	Skala Değeri*
<b>ZB37</b>	2,90 a
<b>ZB38</b>	1,00 b
<b>Kontrol</b>	1,00 b

\*: Yapraklar 1-9 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).

**Çizelge 4.16.** AG-E izolatlarının bakla patojenite sonuçları

İzolatlar	Skala Değeri*
<b>ZB37</b>	1,00 a
<b>ZB38</b>	1,00 a
<b>Kontrol</b>	1,00 a

\*: Baklalar 1-5 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).



**Şekil 4.28.** AG-E izolatı uygulanmış yaprak



**Şekil 4.29.** AG-E izolatı uygulanmış baklalar

Elde edilen 2 adet AG-K izolatının yapraktaki patojenite test sonuçları Çizelge 4.17'de ve baklada patojenite test sonuçları Çizelge 4.18'de verilmiştir. İzolatların uygulandığı

yapraklarda (Şekil 4.30) ve baklalarda (Şekil 4.31) her hangi bir hastalık belirtisine rastlanmamıştır. Skala değerleri açısından izolatlar kontrol ile karşılaştırıldıklarında aralarında istatistikî olarak önemli bir fark bulunmadığı görülmüştür ( $P<0,05$ ).

**Çizelge 4.17.** AG-K izolatlarının yaprak patojenite sonuçları

<b>İzolatlar</b>	<b>Skala Değeri*</b>
<b>ZB19</b>	1,00 a
<b>ZB20</b>	1,00 a
<b>Kontrol</b>	1,00 a

\*: Yapraklar 1-5 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).

**Çizelge 4.18.** AG-K izolatlarının bakla patojenite sonuçları

<b>İzolatlar</b>	<b>Skala Değeri*</b>
<b>ZB19</b>	1,00 a
<b>ZB20</b>	1,00 a
<b>Kontrol</b>	1,00 a

\*: Baklalar 1-5 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir

\*\*: Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark vardır ( $P<0,05$ ).



**Şekil 4.30.** AG-K izolatı uygulanmış yaprak



**Şekil 4.31.** AG-K izolatı uygulanmış baklalar

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Erzincan ilinde fasulye yetiştirciliğinin biyotik ve abiyotik faktörlerden dolayı etkilendiği bilinmektedir. Bu çalışma ile bölgede fasulye tarımını olumsuz yönde etkileyip verim ve kalite düşüklüğüne yol açan web blight hastalığı incelenmiş, hastalığa neden olan patojenin anastomosis grupları ve virulanslıkları tespit edilmiştir.

Türkiye'de yapılan çalışmalarda fasulye tohumlarından *R. solani* izole edilmesi bu etmenin fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında da hastalık oluşturabileceğini göstermiş, ayrıca 2010 yılında yapılan ön çalışmalarda Erzincan ilinde fasulye baklalarından MN ve BN *Rhizoctonia* izolatlarının elde edilmiş olması konunun incelenmesi gerektiği fikrini vermiştir.

Erzincan'da da fasulye yetiştirilen bölgelerde öncelikle genel bir survey yapılmıştır. Tarlalarda yapılan surveyler sonucunda WB hastalığının genel belirtileri baklada yuvarlak, küçük, düzensiz ve kırmızımsı kahverengi koyu sınırlar ile çevrili, merkez kısmı ise açık kahverengi olan simptomlar gösteren örnekler alınarak laboratuarda incelenmişlerdir. Yapılan izolasyonlar sonucunda *Rhizoctonia* izolatları elde edilmiş, 2 yıl süren arazi çalışmaları sonucunda baklalardan toplam 38 tane *Rhizoctonia* spp. izolatı elde edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen izolatlar arasında binükleik *Rhizoctonia*'ya göre *R. solani* anastomosis gruplarının daha fazla çıkması bu grubun WB hastalığının esas etmeninin olduğu fikrini vermektedir. Nitekim ağ yanıklığı hastalığının görüldüğü bitkilerin toprak üstü aksamlarından yapılan izolasyonlarda MN *R. solani*'nin AG-1, AG-2, AG-4 ve AG-5 grupları izole edilmiştir (Galindo *et al.* 1982; Bolkan and Ribeiro 1985; Dillard 1987; Muyolo *et al.* 1993a, b; Olmos *et al.* 2005; Yang *et al.* 2007; Godoz-Lutz *et al* 2008). Yurt dışında yapılan çalışmalar incelendiğinde fasulye bitkisinin toprak üstü aksamında binükleik *Rhizoctonia*'ya rastlanmamıştır.

İzolatlar elde edildikten sonra anastomosis gruplarını belirlemek için PDA'da morfolojik olarak benzeyenler kendi aralarında eşleştirilerek gruplama yapılmışlar, en

son bu gruplar test izolatlarıyla karşılaştırılmışlardır. Yapılan eşleştirmeler sonucunda 6 anastomosis grubu belirlenmiştir. Toplam 38 tane *Rhizoctonia* spp. izolatının %2,63'ünün AG-1, %10,53'ünün AG-2, %63,16'sının AG-4 ve %13,16'sının AG-5, %5,26'sının AG-E ve %5,26'sının AG-K olduğu saptanmıştır. Hifsel reaksiyonlara göre belirlenen *Rhizoctonia* anastomosis grupları sekans analizleri ile teyit edilmiştir.

Bu çalışmada 24 adet AG-4 izolatının elde edilen izolatlar içerisinde sayıca fazla olması dikkat çekmektedir. Yapılan izolasyonlarda AG-1 izolatı sadece bir tane, 4 tane AG-2, 5 tane AG-5, 2'şer tane AG-E ve AG-K izolatları elde edilmiştir. Moleküller analiz sonuçlarına göre bu anastomosis grupların alt grupları da belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre AG-1'in IB alt grubuna ait, AG-2 izolatlarının tip 1 alt grubuna ve AG-4 izolatlarının ise HG I, HG II ve HG III alt gruplarına ait olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma ile Türkiye'de tarla şartlarında fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamından elde edilen MN ve BN *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis grupları ilk kez belirlenmiştir. Ayrıca, AG-4 HG III alt grubu Türkiye'den ilk kayıttır.

Galindo *et al.* (1982), Kolombiya ve Güney Amerika'daki fasulye yapraklarından elde edilen 6 izolatın *Rhizoctonia*'ya ait olduğu saptanmıştır. Kolombiya'dan elde edilen izolatların tümünün AG-1 olduğu tespit edilmiştir. Bolkan and Ribeiro (1985), yaptıkları çalışmalarda AG-1 ve AG-4'izole etmişlerdir. Bunun dışında Dillard (1987) Batı New York'ta yetişirilen Lima fasulye kapsüllerinden 11 *R. solani* izolatı elde etmişlerdir. Yapılan incelemeler sonucunda 10 izolatın AG-1 olduğu ve bir tanesinin AG-5 izolatı olduğu belirtilmiştir. Godoy-Lutz *et al.* (1996), fasulye tohumlarından yapılan izolasyonlarda, AG-1 IB, AG-2 ve AG-4 izolatları elde edildiğini belirtmişlerdir. Godoy-Lutz *et al.* (2003), yaptıkları çalışmalarda AG-1 ve AG-2 izolatlarını elde etmişlerdir. Ayrıca Yang *et al.* (2007), Çin'de yapılan bir araştırmada fasulye bitkisinde WB neden olan *R. solani*'nin AG-4 HG I izolatını belirlediklerini rapor etmişlerdir. Godoy-Lutz *et al.* (2008), elde ettikleri 68 *R. solani* izolatının 31'inin AG-1 ve 37'sinin ise AG-2 olduğu belirlemişlerdir. Gonzalez *et al.* (2012), Dominik Cumhuriyeti, Honduras ve Puerto Rico'da fasulye tarlalarından alınan yaprak örneklerinin izolasyonu sonucunda AG-1 izolatı elde etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen anastomosis

gruplarının yukarıda bahsedilen çalışmalar ile benzer olduğu görülmektedir. Ancak bu çalışmada binükleik *Rhizoctonia* izolatları da elde edilmiştir.

Fasulyede izole edilen *Rhizoctonia* türlerinin anastomosis grupları, çalışmaların yapıldığı ülkeler arasında bazı farklılıklar göstermektedir. Örneğin Kolombiya ve Güney Amerika'da AG-1 grubu elde edilmişken (Galindo *et al.* 1982), New York'da AG-1 yoğunluk gösterirken, AG-5 düşük oranda izole edilmiştir (Dillard 1987). Brezilya'daki sonuçlara bakıldığından ise AG-1 ve AG-5 grupları izole edilmiştir. Bu çalışmadaki sonuçlara bakıldığından ise Erzincan ilinin merkez ilçesinden AG-2-1, AG-4, AG-5, AG-E ve AG-K izolatları; Üzümlü ilçesinden AG-1, AG-2, AG-4, AG-5 ve AG-K izolatları; Çayırlı ilçesinden ise sadece AG-4 izolatı elde edilmiştir.

Izole edilen *Rhizoctonia* türlerinin anastomosis grupları, fasulyenin farklı kısımlarından alınan örneklerde göre de farklılık göstermektedir. Örneğin yapraktan AG-1 ve AG-2 izole edilirken (Galindo *et al.* 1982; Bolkan and Ribeiro 1985; Godoy-Lutz *et al.* 2003; Gonzalez *et al.* 2012), tohumdan AG-1, AG-2, AG-4 elde edilmiştir (Bolkan and Ribeiro 1985, Godoy-Lutz *et al.* 1996). Bakladan ise AG-1 ve AG-5 izole edilmiştir (Dillard 1987). Bu çalışmada ise MN *R. solani* anastomosis gruplarından başta AG-4 olmak üzere AG-1IB, AG-2-1 ve AG-5; BN *Rhizoctonia* anastomosis gruplarından ise AG-E, AG-K fasulye baklalarından elde edilmiş, yapraktan yapılan izolasyonlarda ise izolat elde edilememiştir.

*Rhizoctonia* grubu funguslar, dünyanın birçok bölgesinde bulunan ve hemen hemen bütün bitki türlerinde ekonomik olarak ürün kaybına neden olan toprak kökenli patojendir (Ogoshi 1996; Carling *et al.* 2002 a,b). *Rhizoctonia solani* Kühn fasulye bitkilerinin hipokotil ve köklerini enfekte ederek farklı büyüklüklerde lezyonlar oluşturmaktır, şiddetli enfeksiyonlarda bitki gelişmeden geri kalmakta ve olgunlaşmadan ölmektedir (Hagedorn 1991).

Yurt dışında çeşitli ülkelerde yapılmış çalışmalarda fasulye bitkilerinin kök ve hipokotillerinden MN *R. solani*'nin AG-1, AG-2, AG-4 ve AG-5, BN *Rhizoctonia*'nın

AG-A, AG-F izole edilmiştir (Galindo *et al.* 1982; Bolkan and Ribeiro 1985; Muyolo *et al.* 1993a,b; Olmos *et al.* 2005; Nerey 2010).

Türkiye'de farklı konukçu bitkilerde *Rhizoctonia* türlerinin ve anastomosis gruplarının belirlenmesine yönelik son yirmi yılda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda fasulye bitkilerinin hipokotilinden MN *R. solani*'nin AG-4 ve AG-5, tohumdan ise AG-1, ayrıca hipokotilden BN *Rhizoctonia*'nın AG-A, AG-E, AG-I ve AG-K grupları izole edilmiştir (Demirci and Döken 1995). Ayrıca, Erzurum ilinde fasulye tohumlarından yapılan izolasyonlarda elde edilen MN *R. solani* izolatlarının tamamının AG-4'e ait olduğu belirlenmiştir (Demirci and Çağlar 1998). Yapılan bir başka çalışmada Erzurum ilinde fasulye bitkilerinin kök ve hipokotillerinden elde edilen 111 MN *R. solani* izolatının %47.8'nin AG-4, %36.9'unun AG-5, geri kalan izolatların AG-2-1, AG-3, AG-9, AG-10 ve AG-11'e, 116 BN *Rhizoctonia*'nın %86.2'sinin AG-K, geri kalan izolatların AG-A, AG-F ve AG-G'e ait olduğu, patojenite test sonuçlarına göre en yüksek hastalık şiddetini AG-4 ve AG-5 izolatlarının oluşturduğu, AG-G ve AG-F izolatlarının zayıf patojen, diğer gruptara ait izolatların ise patojenik olmadığı belirlenmiştir (Eken ve Demirci 2004). İç Anadolu Bölgesinde fasulye hipokotilinden elde edilen MN *R. solani* izolatlarının AG-5'e (Tuncer and Erdiller 1990), Samsun ilinde fasulye bitkilerinin köklerinden ve rizosfer toprağından yapılan izolasyonlarda elde edilen MN *R. solani* izolatlarının AG-2-2, AG-4 ve AG-5'e (Karaca *et al.* 2002), Karadeniz bölgesinde farklı illerden toplanan fasulye köklerinden elde edilen MN *R. solani* izolatlarının AG-4 HG I ve HG II alt gruplarına (Kılıçoğlu and Özkoç 2010) ait olduğu saptanmıştır. Samsun ilinde yapılan bir başka çalışmada ise fasulye bitkilerinin köklerinden elde edilen MN *R. solani* izolatının AG-1, AG-4, AG-5 ve AG-6, BN *Rhizoctonia*'nın AG-A, AG-B ve AG-K, geri kalan izolatların *Rhizoctonia zae*'e ait olduğu belirlenmiştir. Patojenite testlerinde en yüksek hastalık şiddetini AG-4 izolatlarının oluşturduğu bildirilmiştir (Erper *et al.* 2011).

Nemli dönemlerde patojen fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında da enfeksiyonlara neden olmakta, yaprak, yaprak sapı, çiçek ve baklada lezyonlar oluşturmaktadır (Schwartz 1991). Bitkinin toprak üstü aksamında fungusun miselleri ve sklerotiumları hızla gelişerek kısa süre içerisinde bitkiyi öldürmektedir. Baklayı enfekte

etmesi durumunda patojen oluşmakta olan tohumlara da geçmektedir. Patojenin toprak altı aksamalarını enfeksiyonu sonucu kök ve hipokotil çürüklüğü, toprak üstü aksamını enfeksiyonu sonucu ağ yanıklığı Web blight (WB) hastalığı oluşturmaktadır.

Bu hastalığın primer inokulum kaynakları *T. cucumeris* ile bulaşık tohumlar, yüksek sıcaklık ve yüksek bağıl nem koşullarında oluşan basidiosporlar, enfekte olmuş bitki atıkları, hifler ve sklerotiumlardır (Galindo *et al.* 1983a,b). Hastalık özellikle yağmur damlacıklarının bitki yüzeyine sıçraması ile bulaşmakta, takiben ilk enfeksiyon gerçekleşmektedir (Galindo *et al.* 1983a; Galvez *et al.* 1989; Hall 1991).

WB hastalığın fasulye yaprağını tahrif ettiği ve tohumda lekeler oluşturduğu gözlemlenerek kalitede azalmaya neden olduğu, bunun sonucunda da büyük kayıplara sebep olduğu tespit edilmiştir (Godoy-Lutz *et al.* 1996). Ayrıca bu hastalığın bitkilerde kurumaya sebep olarak bitkinin ölümüne neden olarak ekonomik kayıplara yol açtığı belirlenmiştir (Galvez *et al.* 1989, Carling *et al.* 2002).

İzolasyonlarda elde edilen anastomosis gruplarının PDA'daki gelişmeleri sonucu oluşan koloni renkleri belirlenmiştir. Genel olarak binükleikler *R. solani* anastomosis gruplarının koloni renkleri daha açık renkte olmaktadır. AG-1 IB izolatının koloni rengi grimsi sarı renkte olup çok sayıda sklerot oluşturmaktadır. Aynı tür içerisinde yer alan AG-2-1 ise AG-1'e göre daha açık kahverengi koloniye sahip olmakla birlikte az miktarda sklerot oluşumu gözlenmiştir. MN grubundan AG-4'ün koloni rengi daha koyudur. AG-5 koloni rengi merkez kısmı daha koyu renkte olup kenarları daha açık renktedir. Binükleik grupların koloni renklerine bakıldığından AG-E ve AG-K'nın açık renklerde, beyaz veya renksiz oldukları, açık renkli sklerotlar oluşturdukları görülmektedir. Nitekim yapılan çalışmada Demirci (1991)'nin de belirttiği gibi aynı anastomosis grubundaki izolatların koloni renklerinin birbirlerinden farklılık gösterdiği belirtilmiştir

Erzincan bölgesinde yapılan bu çalışmada elde edilen izolatların anastomosis grupları tespit edildikten sonra her grubu temsilen şansa bağlı olarak seçilen izolatların

virulanslıklarını belirlemek amacıyla patojenite testleri yapılmıştır. Yetişirilen fasulye bitkilerinin yaprak ve baklalarında hastalık belirtilerinin görülmeye başlanması yaklaşık 4-7 günü bulmuştur. Ayrıca *R. solani* AG-1 IB ile inocule edilmiş bitkilerdeki hastalık belirtilerinin diğer muamele gruplarına göre biraz daha erken ve yoğun çıktıgı gözlenmiştir. Hastalıktan etkilenen yaprak ve baklalarda WB hastalığının tipik belirtisi olan merkez kısmı açık kahverengi kenarları koyu renkli simptomlar görülmüştür. Enfeksiyonun ileriki aşamalarında ise tüm yaprak yüzeyini kaplayarak kurumaya sebep olduğu belirlenmiştir.

Yaprak patojenite sonuçlarına bakıldığından binükleik AG-E izolatlarının skala değerinin 1,95 olduğu, AG-K'nın ise hastalık oluşturmadığı görülmüştür. İzolatların virülanslıkları değerlendirildiğinde 9 ile en yüksek skala değerinin AG-1 IB olduğu belirlenmiştir. AG-1 izolatından sonra AG-4'ün 6,10 ve takiben AG-5 izolatlarının ise 5,08 skala değerine sahip oldukları gözlenmiştir. AG-2-1 izolatlarının ise en düşük skala değeri 1,50 olarak belirlenmiştir. Gruplar içindeki farklı izolatların arasında da farklılıkların olduğu gözlenmiştir. Bakla patojenite sonuçlarına bakıldığından ise yine en yüksek skala değerinin AG-1 IB izolatında olduğu, AG-4'ün ise ikinci en yüksek skala değerine sahip olduğu gözlenmiştir. Diğer MN ve BN *Rhizoctonia* anastomosis gruplarına ait izolatlarının ise hastalık oluşturmadığı görülmüştür.

Patojenite sonuçlarında, izolasyonlarda en az elde edilen AG-1 IB izolatı en tahripkar grup olmuştur. İzolasyonda en çok elde edilen AG-4'ün ise ikinci tahripkar grup olduğu gözlenmiştir. Nitekim Kolombiya ve Güney Amerika'da yapılan bir çalışmada AG-1'nin fasulye bitkilerinde virulant olduğunu (Galindo *et al.* 1982), New York'da ise patojenite testi yapıldığında; AG-1 izolatının şiddetli hastalık oluşturduğu, AG-5 izolatının ise hafif şiddetli hastalık oluşturduğu görülmüş, (Dillard 1987), Brezilya'da AG-1 ve AG-4'ün fasulyede daha yaygın olduğunu ve yapılan patojenite çalışmalarında bu iki türün yaprakta virulant olduğunu (Bolkan and Ribeiro 1985), yapılan bir başka patojenite testinde AG-1 izolatının hastalık yapabilme özelliği yüksek olup, AG-2 izolatının ise hastalık yapabilme özelliğinin düşük olduğu rapor edilmiş (Godoy-Lutz *et al.* 2003) olup, belirten çalışmaların bu çalışmadaki patojenite sonuçlarını destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

Bu çalışma ile Türkiye'de tarla şartlarında fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamında ağ yanıklığı hastalığının etmeni olan MN ve BN *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis grupları ilk kez belirlenmiştir.

Ayrıca, AG-4 HG III alt grubu Türkiye'den ilk kayıttır.

## KAYNAKÇA

- Anonymous, 2011a. Food and Agriculture Organization of The United Nations. [<http://faostat.fao.org>] Erişim tarihi 12/6/2011.
- Anonymous, 2011b. Türkiye İstatistik Kurumu. [<http://tuik.gov.tr>] Erişim tarihi 12/6/2011.
- Anonymous, 2011c. <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- Bolkan H.A., Ribeiro W.R.C., 1985. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates from Brazil. Plant Disease, 69: 599-601.
- Carling D.E., Baird R.E., Gitaitis R.D., Brainard K.A., Kuninaga S., 2002a. Characterization of AG-13, a newly reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology, 92: 893-899.
- Carling D.E., Kuninaga S., Brainard, K.A., 2002b. Hyphal anastomosis reactions, rDNA-internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-2 (AG-2) and AG-BI. Phytopathology, 92: 43–50.
- Carling D.E., Pope E.J., Brainard K.A., Carter D.A., 1999. Characterization of mycorrhizal isolates of *Rhizoctonia solani* from an orchid, including AG-12, a new anastomosis group. Phytopathology, 89: 942-946.
- Carling D.E., Rothrock, C.S., MacNish, G.C., Sweetingham, M.W., Brainard, K.A., Winters, S.W., 1994. Characterization of anastomosis group 11 (AG-11) of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology, 84(12): 1387-1393.
- Carling D.E., Kuninaga, S. and Leiner, R.H., 1988. Relatedness within and among intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* A comparison of grouping by anastomosis and by DNA hybridization. Phytoparasitica, 16 (2): 209-210.
- Cubeta M.A., Vilgalys R., 1997. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. Phytopathology, 87: 480–484.
- Demirci E., Çağlar A., 1998. Erzurum ilinde fasulye tohumlarından izole edilen funguslar. Bitki Koruma Bülteni, 38 (1-2): 91-97.
- Demirci E., Döken M.T., 1995. Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* Kühn and binucleate *Rhizoctonia* isolates from various crops in Türkiye, J.Türk. Phytopathology, 24(2): 57-62.
- Dillard H.R., 1987. Chererterization of isolates of *Rhizoctonia solani* from lima beans grown in New York State. Phytopathology, 77:748-751.
- Eken C., Demirci E., 2004. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* isolates from bean in Erzurum. Turkey, Journal of Plant Pathology, 86(1): 49-52.
- Erper İ., Karaca G., Özkoç İ., 2011. Identification and pathogenicity of *Rhizoctonia* species isolated from bean and soybean plants in Samsun. Turkey, Archives of Phytopathology and Plant Protection, 44 (1): 78-84.
- Galindo J.J., Abawi G.S., Thurston H.D., and Galvez, G., 1983a. Effect of mulching on web blight of beans in Costa Rica, Phytopathology, 73:610-615.
- Galindo J.J., Abawi G.S., Thurston H.D., and Galvez, G., 1983b. Source of inoculum and development of beans web blight in Costa Rica. Plant Dis, 67:1016-1021.

- Galindo J.J., Abawi G.S., Thurston H.D., 1982. Variability among isolates of *Rhizoctonia solani* associated with snap bean hypocotyls and soil in New York. *Plant Disease*, 66: 390-394.
- Ga'ívez GE, Mora B, Pastor-Corrales, 1989. Web blight. In: Schwartz HF, Pastor-Corrales MA (eds), Bean production problems in the tropics, CIAT. Cali, pp 195–259 MA.
- García V. G., Portal Onco M.A. and Susan V.R., 2006. Biology and Systematics of the form genus *Rhizoctonia*. Spanish Journal of Agricultural Research, 4(1): 55-79.
- Godoy-Lutz G., Kuninaga S., Steadman J.R., Powers K., 2008. Phylogenetic analysis of *Rhizoctonia solani* subgroups associated with web blight symptoms on common bean based on ITS-5.8s rDNA. *J. Gen. Plant Path.*, 74: 32-40.
- Godoy-Lutz, G., Steadman, J. R., Higgins, B., and Powers, K., 2003. Genetic variation among isolates of the web blight pathogen of common bean based on PCR-RFLP of the ITS-rDNA region. *Plant Dis.*, 87:766-771.
- Godoy-Lutz G., Arias J., Sdeadman R.J. and Eskridge K.M., 1996. Role of natural seed infection by the web blight pathogen in common bean seed damage, seedling emergence, and early disease devopment. *Plant Dis*, 80:887-890.
- Gonzalez N., Godoy-Lutz G., Steadman J. R., Higgins R., Eskridge K. M., 2012. Assessing genetic diversity in the web blight pathogen *Thanatephorus cucumeris* (anamorph *Rhizoctonia solani*) subgroups AG-1-IE and AG-1-IF with molecular markers. *J Gen Plant Pathol*, 78:85–98.
- Gonzalez N., Beaver J., Rosas J.C., Godoy-Lutz G. and Steadman J., 2008. Development of a differential set of common bean lines to screen for web blight pathogen virulence. *Bean improvement cooperative*, 51:32-33.
- Gonzalez D., Carling D.E., Kuninaga S., Vilgalys R., Cubeta M.A., 2001. Ribosomal DNA systematics of *Ceratobasidium* and *Thanatephorus* with *Rhizoctonia* anamorphs. *Mycologia*, 93: 1138–1150.
- Gunnell P.S., 1986. Characterization of the teleomorphs of *Rhizoctonia oryzae-sativae*, *Rhizoctonia oryzae*, and *Rhizoctonia zae*, and the effect of cultural practices on aggregate sheat spot of rice, caused by *R. oryzae-sativae*. PhD thesis, Davis: University of California.
- Hagedorn D.J., 1991. Rhizoctonia root rot. *Compendium of Bean Diseases* (Ed.: Hall, R.). APS Press, USA, 13.
- Hall R., 1991. *Compendium of Bean Diseases*, APS Press, USA, 73pp.
- Hare J.S., 1999. Chamberland H. and Charest P.M., Cell wall alterations in hypocotyls of bean seedlings protected from Rhizoctonia stem canker by a binucleate *Rhizoctonia* isolate. *Mycol. Res*, 103 (8): 1035-1043.
- Hayali S., 2002. Erzincan ovasında tarımın başlıca özellikleri, Fırat Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi.
- Hyakumachi M, Priyatmojo A., Kubota M., and Fukui H., 2005. New anastomosis groups, AG-T and AG-U,of binucleate *Rhizoctonia* spp. causing root and stem rot of cut-flower and miniature rose. *Phytopathology*, 95:784-792.
- Kammerer S.J., Burpee L.L., Harman P.F., 2011. Identification of a new *Waitea circinata* variety causing basal leaf blight of seashore paspalum. *Plant Disease*, 95(5): 515-522.

- Karaca G.H., Özkoç İ., Erper İ., 2002. Determination of the anastomosis grouping and virulence of *Rhizoctonia solani* Kühn isolates associated with bean plants grown in Samsun/Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 5 (4): 434-437.
- Kılıçoğlu M. Ç., Özkoç İ., 2010. Molecular characterization of *Rhizoctonia solani* AG4 using PCR-RFLP of the rDNA-ITS region. *Turk J Biol.*, 34: 261-269.
- Leiner R.H., Carling D.E., 1994. Characterization of *Waitea circinata* (*Rhizoctonia*) isolated from agricultural soil in Alaska. *Plant Disease*, 78: 385-388.
- Mahmoud Y.A.G., Gaafar R.M. and Mubarak H.M., 2007. Genetic diversity among Nile Delta isolates of *Rhizoctonia solani* Kühn based on pathogenicity, Compatibility, Isozyme Analysis and Total Protein. *Pattern Turk J Bot.*, 31: 19-29 TÜBİTAK.
- Muyolo N.G., Lipps P.E., Schmitthenner A.F., 1993a. Reactions of dry bean, lima bean, and soybean cultivars to *Rhizoctonia* root and hypocotyl rot and web blight. *Plant Disease*, 77: 234-238.
- Muyolo N.G., Lipps P.E., Schmitthenner A.F., 1993b. Anastomosis grouping and variation in virulence among isolates of *Rhizoctonia solani* associated with dry bean and soybean in Ohio and Zaire. *Phytopathology*, 83: 438-444.
- Nerey Y., Panneccouque J., Hernandez H. P., Diaz M., Espinosa R., De Vos S., Van Beneden S., Herrera L., Höfte M., 2010. *Rhizoctonia* spp. causing root and hypocotyl rot in *Phaseolus vulgaris* in Cuba. *J Phytopathol*, 158: 236-243.
- Ogoshi A., Introduction the genus *Rhizoctonia*. In: Sneh B., Jabaji-Hare S., Neate S., Dijst G. (eds). 1996. *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control, pp. 1-9. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
- Ogoshi A., 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis andintraspecific groups of *Rhizoctonia solani* KUHN. *Ann Rev. Phytopathology*, 25: 125-143.
- Ogoshi A., 1975. Grouping of *Rhizoctonia solani* Kühn and their perfect stages. *Review of Plant Protection Research*, 8: 93-103.
- Olmos K.L., Delgado H.S., Perez N.M., 2005. AFLP fingerprinting for identification of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* Kühn from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Mexico. *Revista Mexicana de Fitologia*, 0185-3309.
- Otero J.T., Ackerman J.D., and Bayman P., 2002. Diversity and host specificity of endophytic *Rhizoctonia*-like fungi from tropical orchids. *American Journal of Botany*, 89(11): 1852-1858.
- Parmenter, J.R., Sherwood, Jr., R.T. and Platt, W.D., 1969. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology*, 59: 1270-1278.
- Schwartz H.F., 1991. Web blight. *Compendium of Bean Diseases* (Ed.: Hall, R.). APS Press, USA, 27.
- Sharon M., Kuninaga S., Hyakumachi M., Naito S., Sneh B., 2008. Classification of *Rhizoctonia* spp. using rDNA-ITS sequence analysis supports the genetic basis of the classical anastomosis grouping. *Mycoscience*, 49: 93-114.
- Sharon M., Kuninaga S., Hyakumachi M., Sneh B., 2006. The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. *Mycoscience*, 47(6): 299-316.

- Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate, S. and Dijst, G., 1996. *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer Academic Publishers, 577 p. London.
- Sneh B., Burpee L., Ogoshi A., 1991. Identification of *Rhizoctonia* species, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- Toda, T., Hyakawa, T., Mwafaida Mghalu, J., Yaguchi, S., Hyakumachi, M., 2007. A new *Rhizoctonia* sp. closely related to *Waitea circinata* causes a new disease of creeping bentgrass. *J. Gen. Plant Pathol.*, 73: 379-387.
- Tuncer G., Erdiller, G., 1990. The identification of *Rhizoctonia solani* Kuhn anastomosis groups isolated from potato and some other crops in Central Anatolia. *Journal of Turkish Phytopathology*, 19(2): 89-93.
- Van Bruggen A.H.C., Whalen, C.H. and Arneson, P.A., 1986. Emergence, growth, and development of dry bean seedlings in response to temperature, soil moisture, and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 76:568-572.
- Van Schoonhoven A. and Pastor-Corrales, M.A., 1987. Standard system for the evaluation of bean germplasm. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia 54 p. - <http://www.google.com/books?id=e7144M7teYcC>.
- Vilgalys R., Cubeta M.A., 1994. Molecular systematics and population biology of *Rhizoctonia*, *Annu. Rev. Phytopathology*, 32: 135-155.
- Wan Nik W.Z. And Yap M. Y., 1979. *Rhizoctonia solani*, a seed-borne pathogen of French Bean in Malaysia. *Pertanika*, 2(1): 11-15.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a guide to methods and applications. (Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., White T. J. ,eds). Academic Press, New York, USA, 315–322.
- Vural, H., Eşiyok, D. Ve Duman, İ., 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir. 440s.
- Yang G.H., Chen J.Y., Pu W.Q., 2007. First report of head rot of cabbage and web blight of snap bean caused by *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI. *Plant Pathology*, 56: 351.

## ÖZGEÇMİŞ

Erzincan'da 1987 yılında doğdu. İlk ve orta öğrenimini Erzincanda'da tamamladı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nden 2009 yılında ikincilikle mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı, 2011 yılında Erzincan İl Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü'nde ziraat mühendisi olarak görevye başladı. Halen aynı birimdeki görevine devam etmektedir.