

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ÇANAKKALE ÖRTÜALTINDA YETİŞEN
MARULLARDAN İZOLE EDİLEN
Sclerotinia sclerotiorum POPULASYONLARINDA
VARYASYONLARIN SAPTANMASI**

Duygu MERMER DOĞU

**Danışman:
Doç. Dr. Figen TÜRK**

**Mayıs, 2008
ÇANAKKALE**

**ÇANAKKALE ÖRTÜALTINDA YETİŞEN
MARULLARDAN İZOLE EDİLEN
Sclerotinia sclerotiorum POPULASYONLARINDA
VARYASYONLARIN SAPTANMASI**

**Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi
Bitki Koruma Anabilim Dalı**

Duygu MERMER DOĞU

**Danışman:
Doç. Dr. Figen TÜRK**

Mayıs, 2008

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

DUYGU MERMER DOĞU, tarafından DOÇ. DR. FİGEN TÜRK yönetiminde hazırlanan “ÇANAKKALE ÖRTÜALTINDA YETİŞEN MARULLARDAN İZOLE EDİLEN *Sclerotinia sclerotiorum* POPULASYONLARINDA VARYASYONLARIN SAPTANMASI” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Figen TÜRK

Yönetici

Yrd. Doç. Dr. İsmet YILDIRIM

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Canan KUZUCU

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Mehmet Emin ÖZEL

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

“Çanakkale Örtüaltında Yetişen Marullardan İzole Edilen *Sclerotinia sclerotiorum* Populasyonlarında Varyasyonların Saptanması” konulu yüksek lisans tezinin her aşamasında yakın ilgi ve önerilerinin yanısıra mesleki birikimi ve desteğiyle beni yönlendiren değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Fiğen TÜRK’e, sağladıkları yardım ve katkıları için Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyelerine teşekkür ederim. Ayrıca araştırmamın yürütülmesinde bana destek sağlayan Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Proje Komisyonuna (Proje No: BAP 2006-08) teşekkür ederim.

Çalışmanın başlangıcından son aşamasına kadar maddi ve manevi desteğini esirgemeyerek her zaman yanımda olan çok değerli aileme ve eşime, bana göstermiş oldukları sonsuz özveri ve sabır için de teşekkürlerimi sunarım.

Duygu MERMER DOĞU

**ÇANAKKALE ÖRTÜALTINDA YETİŞEN MARULLARDAN İZOLE
EDİLEN *Sclerotinia sclerotiorum* POPULASYONLARINDA
VARYASYONLARIN SAPTANMASI**

ÖZET

Bu çalışma, Çanakkale’de seralarda yetiştirilen marullarda yumuşak çürüklük hastalığı oluşturan etmen, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary populasyonundaki varyasyonların saptanması amacıyla 2005-2008 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Öncelikle araştırma alanında bulunan seralarda infekteli bitkiler not edilmiş ve hastalıklı bitkilerden tesadüfi olarak sklerot toplanmıştır. Sörveyler Ocak-Mart aylarında gerçekleştirilmiştir. Toplanan 116 izolatin, *in vitro*’da izolasyonları yapılmış ve izolatlar arasında miselyal uyum gruplarının (MUG) saptanması amacıyla birbirleri ile eşleştirilerek ikili kombinasyon şeklinde, içerisinde kırmızı gıda boyası bulunan patates dekstroz agar (PDA) ortamında geliştirilmiştir. Kolonilerin PDA’da gelişimleri sonucu petride birbirleri ile birleştikleri bölgede eğer bir boşluk ve kırmızı bir bant oluşmuşsa bu iki koloninin uyumsuz olduğu, eğer birleşme noktasında, bir bant oluşmamış fakat sklerot oluşumu varsa uyumlu olduğu kaydedilmiştir. Eşleştirmeleri sonucu toplam 46 adet MUG tanımlanmıştır; bazı izolatlar yalnızca kendilerine uyumlu bulunurken MUG’ların çoğunda ikiden fazla izolat yer almıştır. Aynı MUG’da yer alan izolatlar aynı serada olabildiği gibi, farklı seralardan toplanan izolatların da aynı MUG’da yer aldığı saptanmıştır. Bir seradan toplanan izolatlar arasında birden fazla MUG elde edilebilmiştir. Ayrıca izolatlar besi ortamında oluşturdukları sklerot sayı ve ağırlıkları bakımından gözlenmiş, aralarındaki farklar tespit edilmiştir. MUG ve morfolojik karakterler bakımından izolatlar arasında farklar olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma ile Çanakkale’de marullardan elde edilen *S. sclerotiorum* populasyonunda izolatlar arasında vejetatif ve morfolojik farkların olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Sclerotinia sclerotiorum*, MUG, Çanakkale, marul

*Hazırlanan bu Yüksek Lisans Tezi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi BAP tarafından 2006-08 nolu proje ile desteklenmiştir.

INVESTIGATION OF THE VARIATION AMONG THE *Sclerotinia sclerotiorum* POPULATION ISOLATED FROM LETTUCE IN GREENHOUSE IN ÇANAKKALE

ABSTRACT

This research was, to determine the variation of the population of *Sclerotinia sclerotiorum*, which is a agent of soft rot disease in lettuce growing in greenhouse in Çanakkale, done between 2005 and 2008. Primarily, plants, which were infected, were noted and sclerot were collected by chance from infected lettuce in greenhouses. Surveys were done between January and March. The isolation of 116 isolates, obtained from lettuce, were done in *in vitro* and isolates were paired together in potato dextrose agar (PDA) amended with red food colour to determine mycelial compatible groups (MCG) among them. As a result of the growing of the colonies in PDA, pairings were scored as mycelial compatible if sclerot formed in the interaction zone, pairings were scored as mycelial incompatible if a red line and a gap occured in the interaction zone. The result of pair of isolates, 46 MUG were described. Some of the isolates were found only selfcompatible when more than two isolates placed most of MCGs. Isolates, which were in the same MCG, could be in the same greenhouses, it could be different greengouses. More than one MCG were obtained among isolates, were collected in same greenhouses. Furthermore, isolates were wachted in respect of sclerot number and weight formed in PDA and the variation was determined between the isolates. Differents were determined between the isolates for MCGs and morphological characters. It was determinated, vegetative and morphologic different were being among isolates in *S. sclerotiorum* population ontained from lettuce in Çanakkale, with this study.

Keywords: *Sclerotinia sclerotiorum*, MCG, Çanakkale, lettuce

*The present M.Sc thesis was supported by Çanakkale Onsekiz Mart University BAP under the project no of 2006-08.

İÇERİK

Sayfa

| | |
|--------------------------------|-----|
| TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ | ii |
| TEŞEKKÜR | iii |
| ABSTRACT | iv |
| ÖZET | v |

BÖLÜM 1 – GİRİŞ

| | |
|---|----------|
| 1.1. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>'un Tanımı | 1 |
| 1.2. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>'un Biyolojisi | 2 |
| 1.3. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>'un Konukçu Sınırı, Dağılımı ve Hastalık Belirtileri | 4 |
| 1.4. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>'un Sklerotal Gelişimi | 4 |
| 1.5. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ile Mücadele | 6 |
| 1.6. Marul Yumuşak Çürüklük Hastalığı | 7 |

BÖLÜM 2 – ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

BÖLÜM 3 – MATERYAL VE YÖNTEM

| | |
|---|-----------|
| 3.1. Materyal | 16 |
| 3.2. Yöntem..... | 16 |
| 3.2.1. Sörvey Çalışması | 16 |
| 3.2.2. Fungal İzolatların İzolasyonu | 16 |
| 3.2.3. İzolatlar Arasında MUG'un Saptanması..... | 17 |
| 3.2.4. İzolatların Morfolojik Özellikleri | 19 |
| 3.2.5. İzolatların Virülenslik Oranlarının Saptanması..... | 19 |

BÖLÜM 4 – BULGULAR

| | |
|--|-----------|
| 4.1. Sörvey Çalışması..... | 20 |
| 4.2. İzolatlar Arasında Miselyal Uyum Grupları | 22 |
| 4.3. Sera İçi Populasyonlarda Miselyal Uyum Grupları | 25 |
| 4.4. Bölgelere Göre Miselyal Uyum Gruplarının Saptanması..... | 26 |

| | |
|--|----|
| 4.5. İzolatların Morfolojik Özellikleri..... | 27 |
| 4.6. İzolatların Virülenslik Oranları..... | 33 |

BÖLÜM 5 – SONUÇ VE TARTIŞMA36

| | |
|---------------------------|-------------|
| Kaynaklar | I |
| Tablolar | VIII |
| Şekiller..... | IX |
| Yaşam Öyküsü | X |

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary bitki patojenleri arasında en polifag olanları arasında yer alır. Bu patojene karşı 64 familyaya bağlı 225 cins ve bu cinslere bağlı 400'den fazla bitki türü duyarlı olarak saptanmıştır (Purdy, 1979; Boland ve Hall, 1994). Bitkilerde oluşturduğu hastalıkların isimlendirilmesinde 60'tan fazla isim kullanılmaktadır: Örneğin beyaz küf, çiçek çürüklüğü, gövde çürüklüğü, yumuşak sulu çürüklük vb. (Melvin ve ark., 2006).

Fungus sklerotları sayesinde uzun yıllar toprakta canlılığını sürdürebilmektedir (Coley-Smith ve Cooke, 1971) ve seksüel olarak (askospor oluşturarak) ya da aseksüel olarak (sklerot) etrafa dağılmaktadır. *S. sclerotiorum* coğrafik olarak kozmopolittir ve ekolojik olarak çok geniş bir yayılma göstermektedir.

Etmenin hastalık oluşturduğu bitkilerin büyük çoğunluğunu dikotiledon bitkiler oluşturmakla birlikte, tarımsal anlamda önemli monokotilon bitkiler de bu patojenin geniş konukçu dizisi içinde yer almaktadır. Patojen üzerinde süregelen çalışmalar bu fungusun bu denli geniş konukçuda hüküm sürmesi, yüksek konukçu dayanıklılığının bulunmayışı ve mücadelesinin genelde zor oluşundan ileri gelmektedir (Melvin ve ark., 2006).

1.1. *Sclerotinia sclerotiorum*'un Tanımı

S. sclerotiorum nekrotrofik, homotallik bir patojendir (Melvin ve ark., 2006). Hifleri renksiz, bölmeli, dallanmış ve çok çekirdekli olan beyaz pamuğumsu miselyuma sahiptir (Laemmlen, 1998). Miselyum kitleleri birleşerek daha sonra siyah, sert ve uygunsuz koşullara dayanıklı sklerotları oluşturur (Melvin, 2006).

S. sclerotiorum, PDA besi ortamında genelde koloninin kenarlarında, bazen ise bir kaç halka iç içe olacak şekilde ve 1-2 cm çaplı sklerotlar oluşturur. Sklerotları besi ortamında yüzeysel oluşturmaktadırlar (Singleton ve ark., 1992).

S. sclerotiorum, Ascomycota şubesi, Discomycetes sınıfında yer alan bir fungusdur. Fungusun eşeyssel üremesini sağlayan olgun apotesyumlarda silindir şeklinde ascuslar bulunur. Ascuslardaki askosporları eliptik, uniform ve iki çekirdeklidir (Singleton ve ark., 1992).

1.2. *Sclerotinia sclerotiorum*'un Biyolojisi

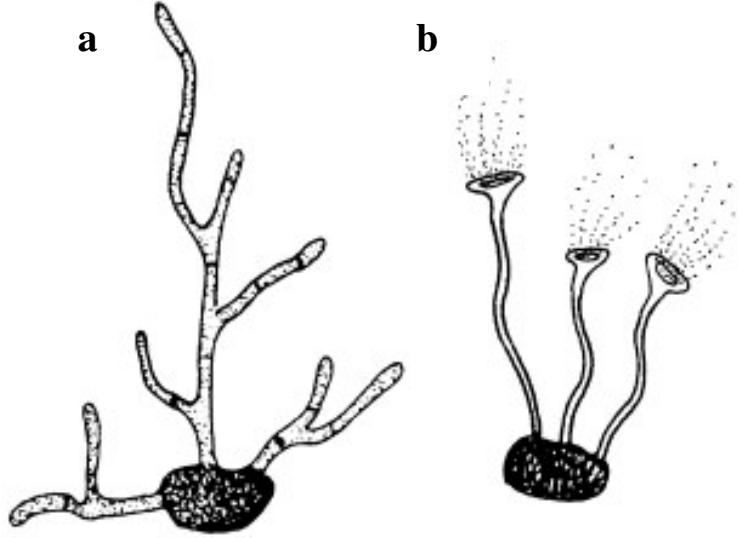
S. sclerotiorum'un temel olarak yaşamını devam ettirme ve kışı geçirme organı sklerotlarıdır. Sklerotlar tarlaya yüzey sulama veya yağmurlarla taşınabilir. Bulaşık tohum ya da makinelerle de giriş yapabilir. Sklerot ile bulaşık toprak ya da bitki artıklarının taşınması da bulaşıklık oluşturan etkenlerdendir. En yaygın olanı ise bulaşık tarladaki kalıntılarda üretilen askosporların hassas ürünleri ve yabancı otları enfekte etmesi ve bu bitkilerde fungusun sklerotlarını oluşturup ve bu sklerotların hasat sırasında toprağa düşmeleridir (Nelson, 1998).

Hastalık döngüsünün başlatan sklerotlar iki biçimde çimlenebilirler. Yaygın olarak carpogenic çimlenme sonucu oluşan apotesyumlardan salınan askosporlar ya da diğer çimlenme, myceliogenic çimlenme sonucu oluşan hifler ve nihayetinde oluşan miselyum enfeksiyonu başlatır (Şekil 1.1.; Şekil 1.2.) (Nelson, 1998).

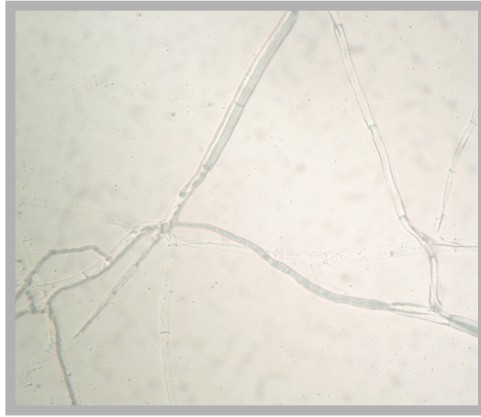
Apotesyum, sklerotdan çıkan bir sap ve üstünde içbükey bir hymenial tabakadan (2-10mm) oluşur. Bir sklerotdan bir ya da daha fazla apotesyum oluşabilir (Melvin, 2006). Apotesyumdan havaya dağılan askosporlar bitkilerin toprak üstü aksamında enfeksiyon oluşturur. Carpogenic çimlenme ile apotesyum oluşumu için 10-20°C sıcaklık gereklidir. Apotesyumlardan serbest kalan askosporlar uygun koşullar altında 3-6 saatte canlı olmayan konukçu dokularında çimlenirler. Daha sonra miselyum gelişimi olur ve bitkinin sağlıklı dokularını enfekte eder (Anonim, 2007).

Myceliogenic çimlenmede gelişen miselyum direk bitki dokusunu enfekte edebilir (Le Tourneau, 1979). Miselyum konukçu kütikulayı direk enzimlerle penetre edebilir ya da penetrasyon gerçekleşmezse stomalarda apresoryum ile mekanik bir güç uygular (Lumsden ve Dow, 1973; Lumsden, 1979). Miselyum ile oluşan

enfeksiyonlar toprak altı ya da toprak seviyesinde gerçekleşir ve sklerottan 2 cm uzaklıktaki bitkiyi enfekte edebilir (Anonim, 2007).



Şekil 1.1. *Sclerotinia sclerotiorum* sklerotlarının çimlenmesi; a. Myceliogenic çimlenme sonucu oluşan hifler. b. Carpogenic çimlenme sonucu oluşan apotesyum ve salınan askosporlar (Anonim 2007c).



Şekil 1.2. *Sclerotinia sclerotiorum*'un mikroskofta 40x büyütmede hiflerinin görünümü.

Bitkilerin enfeksiyonundan sonra gelişen miselyumlardan bitki dokularının içersinde ya da üzerinde yüzeysel sklerotlar oluşur. Daha sonra bu sklerotların toprağa geri düşmesi ile bunlar uzun bir süre toprakta canlı olarak kalabilir. Uygun koşullar bulduğunda bu sklerotlar yeniden çimlenerek yeni enfeksiyonlar başlatır (Anonim, 2007).

1.3. *Sclerotinia sclerotiorum*'un Konukçu Sınırı, Dağılımı ve Hastalık Belirtileri

Sclerotinia türlerinin oluşturdukları bitki hastalıkları geçit bölgelerinde bulunmaktadır. Ama bazı raporlarda dünyanın hemen tamamında bulunduğu bildirilmektedir. Serin ve nemli ortamları etmenin gelişimi için optimum koşullar olmakla birlikte, çok sıcak ve soğukta gelişim göstermemektedirler (Singleton ve ark., 1992). Dünyada, tarla ve depo koşullarında *S. sclerotiorum*'dan etkilenen birçok bitki rapor edilmiştir. Ana ürünler ayçiçeği, kolza, fasulye, lahana, turunçgiller ve maruldur (Boland ve Hall, 1994).

S. sclerotiorum geniş konukçu dizisine sahip olması dolayısıyla bitkilerde farklı simptomlara neden olmaktadır (Melvin ve ark., 2006). En yaygın simptomlar bitkinin üst aksamında oluşan düzensiz şekilli ıslak lezyonlarıdır. Bu lekeler genişleyerek üzerinde beyaz miselyum gelişimi gözlenir. Patojen doku içine yayılır, bitki yumuşak, sulu bir görünüm alır ve fungus birçok sklerot oluşturur. Fungus ıslak lezyonlar yerine gövde, sap ve dallarda kuru lezyon oluşturabilir. Bu lezyon genişleyerek dokuları kuşatır ve bitkinin diğer kısımları sararıp kahverengileşir ve bitki ölür (Ferreira ve Boley, 1992).

1.4. *Sclerotinia sclerotiorum*'un Sklerotal Gelişimi

Fungusun uzun yıllar toprakta kalan ve kışlayan yapıları sklerotlardır (Şekil 1.3.). Sklerot sert bir yapıdır. Siyah kabuk (rind) denilen bir dış kısım ve açık renkli medulla denilen bir iç kısımdan oluşur (Şekil 1.4.). Kabukta bozulmalara karşı koruyucu olan melanin pigmenti bulunmaktadır. İç kısımda ise glukan ve proteinli fungal hücreler bulunur (Nelson, 1998). Sklerotların boyutu konukçusuna ve izolatin genetik yapısına bağlı olarak değişebilir (Melvin, 2006).

Sklerotal gelişimin üç aşaması mevcuttur (Şekil 1.5.) (Townsend, 1954):

a) Başlangıç dönemi: Hif kitlelerin bir araya gelerek sklerotal başlangıç denilen beyaz kitleye dönüşümü,

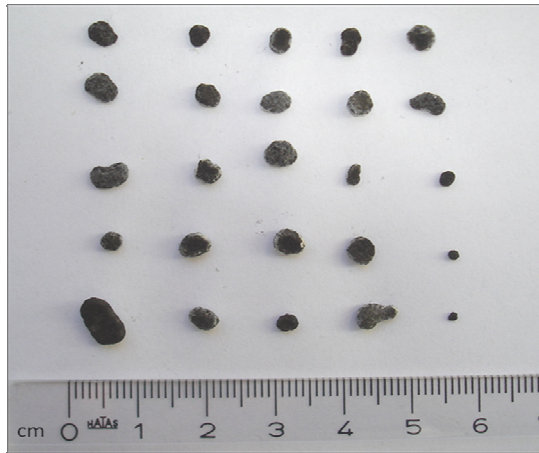
b) Gelişme dönemi: Hif gelişimi ve artan boyut,

c) Olgunlaşma dönemi: Yüzey deliminasyonu, periferik kabuk hücrelerinde melanin birikimi ve içsel birleşim.

Fungus genelde besin eksikliği nedeniyle sklerot oluşturur (Christias ve Lockwood, 1973). Besin ortamında ise pH sklerot oluşumunda önemli bir faktördür (Rollins ve Dickman, 2001).

Sklerotlar, çevresel şartlar, toprak tipi, mikrobiyal ayrışma gibi yaşamını etkileyen birçok faktörün etkisi altındadır. faktörler vardır. Bu faktörlerin nasıl ve ne derece etkili oldukları tam olarak bilinmemektedir (Nelson, 1998). Ancak toprakta 8 yıldan fazla canlı kaldığı rapor edilmiştir (Adams ve Ayers, 1979).

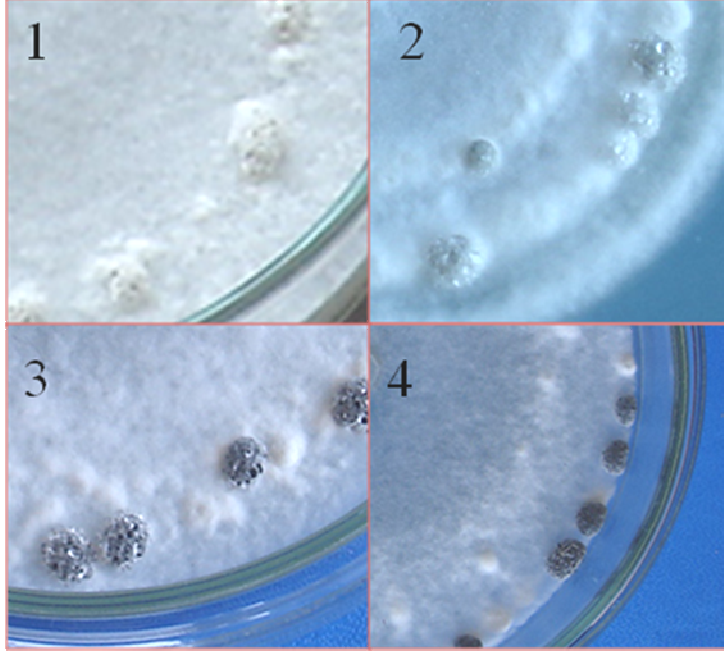
Mikrobiyal ayrışma sklerot popülasyonunun azalmasında önemli bir etkidir. Toprakta sklerotları parazitleyen ya da karbon kaynağı olarak kullanan birçok bakteri, fungus ve toprak organizmaları mevcuttur (Nelson, 1998).



Şekil 1.3. İnfekteli marulda *Sclerotinia sclerotiorum*'un oluşturduğu düzensiz, farklı büyüklükteki sklerotlar.



Şekil 1.4. Sklerotun iç görünümü.



Şekil 1.5. Sklerotal gelişim safhaları.

1.5. *Sclerotinia sclerotiorum* ile Mücadele

S. sclerotiorum savaşımı zor olan bir hastalık etmenidir. Birçok bitkide hastalık oluşturabilmekte ve çok önemli zararlara neden olabilmektedir (Subbarao, 1998). Kültürel savaşım, kimyasal savaşım, biyolojik mücadele ve dayanıklı çeşit

kullanımı, *S. sclerotiorum* etmeni ile mücadelede kullanılan yöntemlerdendir (Yanar, 2005).

S. sclerotiorum ile kimyasal savaşım programlarında iprodine, procymidone, benomyl ve PCNB önerilmektedir (Yücer, 2007).

S. sclerotiorum'a karşı antagonistik etki gösteren otuzdan fazla bakteri ve fungus mevcuttur (Huang ve ark., 1993; Yuen ve ark. 1991). Fakat birçok biyolojik etmen laboratuvar koşullarında başarı göstermiş, fakat pratikte etkin olamamıştır. McQuilken ve ark. (1995)'e göre *Coniothrium minitans* toprakta bulunan sklerot oranını düşürürken, hastalık şiddetinde önemli bir etkide bulunmamaktadır.

Solarizasyon yöntemi topraktaki sklerot oranını düşüren bir yöntemdir. Solarizasyon uygulaması ile toprak sıcaklığında meydana gelen artış, sklerot canlılığında azalmaya sebep olmaktadır (Yanar, 2005).

1.6. Marul Yumuşak Çürüklük Hastalığı

Açıkta ve örtü altında yetiştiriciliği yapılabilen, tek yıllık, serin iklim sebzesi marul (*Lactuca sativa*) dünyada ve ülkemizde çok fazla üretilen ve tüketilen sebzeler arasındadır (Aybak, 2002). Araştırmamızın çalışma alanını oluşturan Çanakkale ili 973,700 ha alan yüzölçümüne sahiptir. Bu alanın 330,337 ha'lık kısmı işlenebilir araziye oluşturmakta ve 20,975 ha'lık alanda sebze üretimi yapılmaktadır. Marul yetiştiriciliğinden ise 142 ha alanda, 1,532 ton üretim ile 10,789 kg verim alınmaktadır (Anonim, 2002) (Şekil 1.6.).

Sebze yetiştiriciliğinde karşılaşılan hastalık ve zararlılar marul yetiştiriciliğinde de sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Sebzelerin de içinde bulunduğu, birçok bitki türünde ciddi zararlar meydana getirebilen *S. sclerotiorum*, marulda sap çürüklüğü (beyaz ya da yumuşak çürüklük) meydana getirmekte ve sera, tarla ve taşıma esnasında büyük zararlar oluşturmaktadır.

Etmenin, marul bitkisinde oluşturduğu hastalık, bitkinin toprak yzeyine yakın gvdesinde başlar ve yaş urkluk hızla gelişir. Bitkide kök dahil tamamında urkluk meydana gelir. Bitkide etmenin beyaz miselyumları gelişir ve sklerot oluşumu gerçekleşir.



şekil 1.6. anakkale'de marul yetiştirilen seralar.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Fungusun ekolojisi ve biyolojisi konusunda literatürde çok fazla çalışma mevcuttur (Price ve Calhoun, 1975; Boland ve Hall, 1988; Wegulo ve ark., 1998); fakat populasyon biyolojisi ile ilgili çalışmalar 1990'lı yıllarda başlamıştır. *S. sclerotiorum*'un populasyon biyolojisi çalışmaları daha çok miselyal uyum gruplarının (MUG) saptanması ve moleküler polimorfizm yolları ile saptanmaktadır. Miselyal uyumsuzluk, yapay besin ortamında iki izolatın bir koloni oluşturmak üzere birleşmemesi anlamına gelmektedir. Miselyal uyumsuzluk iki uyumsuz koloni arasında ölü hücrelerden oluşan bir baraj olarak; farklı strainlerin bir koloni oluşturamaması ve birleşmemesi olarak tanımlanmaktadır (Kohn ve ark., 1990). Populasyondaki heterojenliği saptamada ise farklı moleküler yöntemler kullanılmaktadır.

Doğal olarak oluşan *S. sclerotiorum* populasyonları, genetik olarak birbirinden izole olmuş farklı klonlardan meydana gelir. DNA sekans analizlerine bakıldığında, evrimleşme sürecinde klonal dominant bir gelişme olduğu ve farklı izolatlar arasında genetik değişim veya rekombinasyonun olmadığı saptanmıştır (Kohn ve ark., 1991; Anderson ve Kohn, 1995; Cubeta ve ark., 1997). MUG, izolatlar arasındaki uyumun makroskopik olarak tanımlanmasını sağlar. MUG her ne kadar vejetatif uyum gruplandırmasına benzerse de (ki bunlarda uyumlu iki izolat arasında nükleus hareketi söz konusudur), PDA (Patates Dekstrozu Agar) üzerinde uyumlu olarak görülen hifler arasında nükleusun hareketleri farklılıklar gösterebilir (Leslie, 1993). Her ne kadar MUG sistemi mitotik olarak propagüle oluyorsa da, bu onların klonal olduğunu göstermez. Çünkü yapılan çalışmalar MUG gruplarının bir yada birkaç DNA fingerprint ile bağlantılı olduğunu göstermiştir (Cubeta ve ark., 1997; Hambleton ve ark., 2002).

Dünyada *S. sclerotiorum*'un populasyonundaki heterojenliği saptamada birkaç genetik çalışmalar yapılmıştır. *S. sclerotiorum* izolatları arasındaki genetik farklılık daha çok moleküler markörler kullanılarak karakterize edilmektedir.

Bunlardan en sık kullanılanı ‘DNA parmakizi’ tekniğidir. Bu teknik kullanılarak, Kanada’da kolzada ve ABD’de lahana tarlalarında *S. sclerotiorum*’un izolatları arasında genetik varyasyonlar saptanmıştır (Kohli ve ark.1996; Cubeta ve ark., 1997). Simple Sequence repeats (SSR) veya microsatellite markörleri de bir populasyonda genetik yapının saptanmasında başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Hedrick, 1999; Vanderkoornhuyse ve ark., 2001; Balloux ve Lugon-Moulin, 2002; Mert-Türk ve ark., 2007). Sun ve ark. (2005), farklı bölge (Çin, Kanada, Polonya ve Slovakya) ve farklı konukçulardan (kolza, havuç, ayçiçeği) elde ettikleri izolatları random amplified polymorphic DNA (RAPD) tekniğini kullanarak *S. sclerotiorum* populasyonunun genetik yapısını ortaya koymuşlardır. *S. sclerotiorum* izolatlarının genetik farklılıklarını tanımlamada RAPD markerları etkili olmuş ve izolatlar arasında yüksek derecede polimorfizm saptanmıştır (Sun ve ark., 2005).

Birçok bitkide hastalık oluşturan *S. sclerotiorum*’un populasyon biyolojisi ile ilgili çalışmalar dünyanın çeşitli bölgelerinde araştırmacılar tarafından farklı ürünlerden toplanan izolatlarla gerçekleştirilmiştir. Türkiye’de ise çok fazla olmamakla birlikte son yıllarda yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar daha çok örtüaltı yetiştiriciliğindeki ürünlerde yoğunlaşmıştır.

2.1 Dünyada Yapılmış Önceki Çalışmalar

Cubeta ve ark. (1997), Kuzey Karolina’daki lahana yetiştirilen alanlardan elde ettikleri 84 *S. sclerotiorum* izolatı ile DNA fingerprint ve MUG testi uygulamışlardır. Seksen dört izolat içerisinde 41 MUG ve 50 DNA fingerprint tanımlamışlardır. Bu çalışmada bir MUG içerisinde yer alan bazı izolatların farklı fingerprint’e sahip olduğu bulunmuştur.

Yanar (1997), Amerika’da, biberden elde ettiği 123 *S. sclerotiorum* izolatı ile yapmış olduğu eşleştirmeler sonucu 13 MUG belirlemiştir.

Carpenter ve ark. (1999), Yeni Zelanda’dan elde ettikleri 75 *S. sclerotiorum* izolatında, DNA fingerprint tekniği kullanarak genetik varyasyon araştırmışlar. Kırkyedi farklı DNA fingerprint oluşumu hem populasyonlar arası hem de içinde

yüksek oranda varyasyon olduğunu göstermiştir. Fingerprint benzerliklerine bakıldığında izolatların lokal dağılımını göstermekte fakat geniş alanda az bir kanıt vermektedir. Birbiriyle benzemeyen DNA fingerprint izolatları uyumsuz reaksiyon verirken aynı yada çok benzer olan DNA fingerprint çiftleri uyumlu reaksiyon vermektedir. Yeni Zelanda'daki *S. sclerotiorum* populasyonlarında yüksek oranda gözlemlenen varyasyon ile bu patojenin sebep olduğu hastalıkların kontrolü ile ilişkilidir. Çünkü mücadelede kullanılacak methodun patojenin bu varyasyonuna karşı etkili olması gerekmektedir.

Durman ve ark. (2001), Arjantin'de 1998-2000 yıllarında farklı tarımsal ürünlerden 140 *S. sclerotiorum* izolatı toplamışlardır. İzolatlar arasında 27 tanesi iki yada daha fazla izolat içeren ve 23 tanesi sadece kendileri ile uyumlu olan toplam 50 adet MUG ayırmışlardır. Bu çalışma Arjantin'deki tarımsal ürünlerde *S. sclerotiorum* izolatları arasındaki ilk MUG çalışması olmuştur.

Hoyte ve ark. (2001), Yeni Zelanda'nın kivi bahçelerinde önemli kayıplara yol açan *S. sclerotiorum*'un 38 (38 izolat: Populasyon A) izolatını 1997 yılında dört farklı bölgesinden hastalıklı dokulardan elde etmişlerdir. Ayrıca topladıkları 40 izolatlık Populasyon B mevcuttur. Bu izolatlar MPM (Modified Peterson Medium) besi yerinde eşleştirilerek MUG'ları belirlenmiş ve Kohn ve ark.'nın (1991) tarif ettiklerine göre DNA fingerprintleri belirlenmiş, Carbone ve Kohn (2001)' e göre DNA dizi verileri analiz edilmiştir. Populasyon A'da 29 MUG ve 25 izolatın ise sadece kendine uyumlu olduğu, Populasyon B'de 22 MUG ve 14 tanesinin sadece kendine uyumlu olduğu bulunmuştur. Populasyon A, IGS (Inter Gen Specific) bölgesinden DNA dizilimine göre 3 ayrı genetik populasyona ayrılmıştır.

Hambleton ve ark. (2002) tarafından 213 *S. sclerotiorum* izolatında 21 MUG ve 41 DNA fingerprint tanımlanmıştır. MUG'ların büyük çoğunluğu yalnızca tek bir izolat içerirken, 21 MUG'un 5 tanesi izolatların büyük çoğunluğunu içermiştir. İzolatların %60'ı benzer fingerprint göstermiştir.

Atallah ve ark. (2004), 2000 ve 2001 yıllarında 4 farklı alandan topladıkları 167 *S. sclerotiorum* izolatu için MUG çalışması yapmış ve Sirjunsingh ve Kohn'un (2001) geliştirdiği 25 mikrosatelit primerle genetik farklılıkları saptamışlardır. İzolatlar arasında 82 MUG belirlemiştirler. Moleküler analizlere göre 167 izolat arasında %92 oranında bir farklılık olduğu saptanmıştır. MUG'a göre seçtikleri bazı izolatlar, patates bitkisinde oluşturdukları lezyon genişliği ve sayısı bakımından incelenmiş ve aralarında önemli bir fark bulunmamıştır.

Irzyowski ve ark. (2004), Çin'de ve Avrupa'dan topladıkları birçok izolatu RAPD kullanarak karakterize etmişlerdir. Hem Çin'den elde edilen popülasyonun kendi arasında, hem de Çin ve Avrupada'ki popülasyonda genetik varyasyon olduğunu rapor etmişlerdir. Ancak Çin'deki popülasyonun büyük çoğunluğu bir cluster'a dahil olurken, uzak bölgelerden toplanan izolatların birbirinden farklılık gösterdiği bulunmuştur.

Zimenej ve ark. (2004) tarafından mikrosatelit markör, AFLP ve MUG yöntemleri kullanılarak, Kuzeybatı Pasifik'teki bezelye alanlarında *S. sclerotiorum* popülasyon yapısı tanımlanmıştır. Elde edilen 50 izolatta 2 AFLP primerinden birincisinde 45 farklı fingerprint, ikincisinde ise 50 fingerprint tanımlanmıştır. Makroskobik çalışmalarda 26 MUG gözlenmiş ve AFLP ve MUG'a göre 4 klon belirlenmiştir. Bazı izolatlar birden fazla MUG'da yer almıştır. Kullanılan 4 mikrosatelit primer seti ile 9 mikrosatelit profili tanımlanmıştır. Bu çalışmada, bu bölgedeki diğer çalışmalara kıyasla beklenenin daha üstünde bir genetik farklılık belirlenmiştir.

Kull ve ark. (2004), soya fasulyesinde gövde çürüklüğü oluşturan ana etmen *S. sclerotiorum*'un popülasyon varyasyonu MUG ve izolat virülensliklerinin karşılaştırılması ile tespit etmişlerdir. Toplam 299 izolat arasında 42 MUG tanımlanmıştır. Araştırmacılar ayrıca izolatlar arasındaki virülenslik derecelerinin çeşitlilik gösterdiğini saptamışlardır.

Irzyowski ve ark. (2005), çoğunluğu Rusya ve Polonya'daki hastalıklı kolzalardan elde ettikleri toplamda 108 *S. sclerotiorum* izolatından RAPD kullanarak 83 grup tespit etmişlerdir. İzolatlar arasında yüksek genetik farklılıklar tespit edilmiş ve bu varyasyon daha çok coğrafi bölgeler ve farklı konukçulara göre daha fazla farklılıklar gösterdiği saptanmıştır.

Sun ve ark. (2005), Kanada (havuç), Polonya (kolza), Slovenya (ayçiçeği) ve Çin (kolza) olmak üzere 4 bölgede, farklı ürünlerden toplamış oldukları 24 izolattan oluşan *S. sclerotiorum* populasyonunun, RAPD metodu (20 primer çifti ile) ile genetik farklılık ve yapısını araştırmışlardır. İzolatlar arasındaki polimorfizmin yüksek oranda olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca izolatların morfolojik bakımdan PDA'daki miselyal gelişim hızları, koloni rengi, oluşturdukları sklerot sayısı ve ağırlıkları izlenmiştir. Beyaz renkli 18 izolat görülürken, diğerleri bej renkli gelişim göstermiştir. Beyaz renklilerin birçoğu hızlı gelişim göstermiş ve oluşturdukları sklerotların ağırlıklarının daha fazla olduğu saptanmıştır.

Sexton ve ark. (2006), Avustalya kolza alanlarından 55 adet gövde lezyonlarından ve 50 adet ascosporların enfekte ettiği petallerden izolat elde etmişlerdir. İzolatlardan 51 tek haplotip tanımlanmışlardır.

Wu ve Subbarao (2006), Kaliforniya'daki ticari marul yetiştirilen alanlarda gerçekleştirdikleri sörveylerde hastalık yoğunluğu, patojen türü ve MUG belirlemişlerdir. Sörveyler esnasında yüzeyden damla sulama gerçekleştirilen alanlarda hastalığın daha az olduğunu kaydetmişlerdir. Kaliforniya'nın San Joaquin Valley'de %63,5 ve Salmas Valley'de %13,6 hastalık yoğunluğu belirlemişlerdir. Topladıkları 89 *S. sclerotiorum* izolatının oluşturduğu populasyonda 37 MUG tanımlamışlardır. Belirlenen MUG'ların 30 tanesinde tek bir izolat dahil olurken, en fazla izolat içeren MUG'un 16 izolatı içerdiği rapor edilmiştir.

Zandoki ve ark. (2006) topladıkları 40 *S. sclerotiorum* izolatı arasında çoğunun yalnızca 2 izolat içerdiği 13 MUG saptamışlardır. Bir MUG içerisinde genelde aynı tarladan toplanan izolatlar bulunmaktadır. Bununla birlikte izolatlarda

miselyal gelişim, sklerot üretimi ve ayçiçeği bitkisindeki virülenslikleri bakımından farklılıklar göstermektedirler. Fakat bu morfolojik karakterlerle MUG arasında bir ilişkinin olmadığı rapor edilmiştir.

Winton ve ark. (2006), Alaska'daki *S. sclerotiorum* populasyonunu, mikrosatellit ve rDNA markörlere göre klonal olarak belirlemişlerdir.

Ghasolia ve Shivpuri (2007), Hindistan'daki farklı bölgelerdeki hardal ve kolzadan hastalıklı bitkilerden elde ettikleri 38 *S. sclerotiorum* izolatlarını morfolojik karakterler (koloni rengi, sklerot sayısı, dizilimi) bakımından incelemiş ve izolatlar arasında farklılıklar tespit etmişlerdir ve 9 gruba ayırmışlardır. Bütün gruplar denenen 10 kolza genotipine karşı virülens olmakla birlikte, virülenslik dereceleri birbirinden farklı olduğu belirlenmiştir.

Malvarez ve ark. (2007), marul (Kaliforniya ve Ontario), bezelye (Washington) ve mercimekte (Washington) 194 izolat elde etmişlerdir. Ontario ve Washington'daki populasyonun klonal olduğu, Kaliforniya'dakinin ise yüksek varyasyon gösterdiği saptanmıştır. Üç bölgeden elde edilen izolatlar arasında ortak DNA fingerprintin bulunmadığı rapor edilmiştir.

2.2. Ülkemizde Yapılmış Önceki Çalışmalar

Mert-Türk ve Mermer (2005), Çanakkale bölgesinde örtü altında yetiştirilen marullarda gerçekleştirdikleri sorveyde marul yumuşak çürüklük hastalığının bölgede oldukça yoğun olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan sorveyler elde edilen izolatlar arasındaki genetik varyasyon MUG ile belirlenmiştir. Elde edilen 14 *S. sclerotiorum* izolatu içerisinde 2 ayrı MUG, 5 adet *S. minor* izolatu içerisinde herhangi bir MUG'a rastlanmamıştır.

Mert-Türk ve ark. (2007), morfolojik ve moleküler markörler kullanarak Çanakkale'de hastalıklı kolza bitkilerindeki *S. sclerotiorum* populasyonu içerisindeki genetik varyasyonu belirlemişlerdir. Toplam 36 izolat içerisinde 19 MUG

tanımlamışlar ve ayrıca mikrosatalit markörler kullanarak yapılan DNA analizinde populasyon içinde 23 farklı klon olduğunu rapor etmişlerdir. İzolatların koloni rengi ve farklı sıcaklıklardaki gelişim hızlarını gözlemleyerek morfolojik bakımdan varyasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Farklı izolatların kolonilerdeki renk oluşumunda da beyaz, kahve ve bej renkli olmak üzere farklılıklar görülmüştür.

Onaran ve Yanar (2007), Tokat ve Amasya illerinde seralarda yetiştirilen hastalıklı hıyarlardan elde ettikleri toplam 235 *S. sclerotiorum* izolatında MUG çalışması gerçekleştirmişlerdir. İzolatlarda her biri ikiden fazla izolatu içeren 5 MUG tanımlamışlar ve 87 izolatın ise sadece kendi ile uyumlu olup diğerleri ve 5 MUG'la uyumlu olmadığını belirlemişlerdir.

Tok ve Kurt (2007), Akdeniz Bölgesi örtü altı domates bitkilerindeki *S. sclerotiorum* populasyonundaki MUG'u belirlemişlerdir. Sörveylerden elde ettikleri 58 izolat arasında 17 farklı MUG tespit etmişlerdir.

Mermer-Doğu ve ark. (2007), ise Çanakkale'de lahanagil üretimi yapılan parsellerde hastalıklı bitkilerden topladıkları *S. sclerotiorum* izolatları arasında MUG'un belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada bazı izolatların sadece parseller arasında değil, aynı parsel içerisinde de uyumsuz olduğu belirlenmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çanakkale marul seralarındaki hastalıklı marul bitkilerinden toplanan sklerotlar bu çalışmanın canlı materyalini oluşturmuşlardır.

3.2. Yöntem

3.2.1 Sörvey Çalışması

Sörvey çalışmaları Çanakkale ili marul seralarını kapsamıştır. Sörvey çalışmaları 2006 yılı marul yetiştirme döneminde, Ocak, Şubat ve Mart aylarında gerçekleştirilmiştir. Çanakkale Merkez, Lapseki, Sarıcaeli, Tuzla ve Bayramiç'te seralarda bulunan toplam bitki sayısı ile hastalıklı bitki sayıları not edilerek, hastalık oranı (%) tespit edilmiştir. Sörveyler esnasında hastalık simptomsu gösteren bitkilerden, her bir bitkiden alınan sklerotlar bir izolatu temsil etmek üzere, sklerot örnekleri ependorf tüplere alınmış ve etiketlenerek mikoloji laboratuvarına getirilmiştir. Toplanan izolatlarn orijinleri ve numaraları Tablo 3.1.'de verilmiştir. Bir sera içerisindeki polimorfizmi saptamak üzere mümkün olduğunca çok izolatu toplanmıştır.

3.2.2 Fungal İzolatların İzolasyonu

Laboratuara getirilen her bir sklerot önce çeşme suyunda yıkanmış ve oda sıcaklığında iki hafta kurumaları sağlanmıştır. Kurutulan sklerotlar ependorf tüplere aktararak kullanılıncaya kadar soğutucuda muhafaza edilmişlerdir.

Her bir izolatu temsil eden sklerotun, Singleton ve ark.(1992)'e göre izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Sklerotlar önce %1'lik NaHCl solüsyonunda 1 dakika tutulmuş ve steril saf sudan geçirilerek steril kurutma kağıtlarında kurutulmuştur. Daha sonra bistüri yardımıyla kesilerek içerisinde patates dekstrozu agar (PDA; Merck) bulunan petrilere ekilmiş, 22°C'de inkübatörde muhafaza edilerek gelişimleri sağlanmıştır. Her bir sklerottan oluşan kolonilerin en uç

noktalarından alınan hif parçası yeni PDA ortamına aktarılmış ve oluşan sklerotlar yeni bir tüpe konularak bir izolatu temsil etmek üzere çalışmalarda kullanılmışlardır. Bu çalışmalarda steril kabinde gerçekleştirilmiştir.

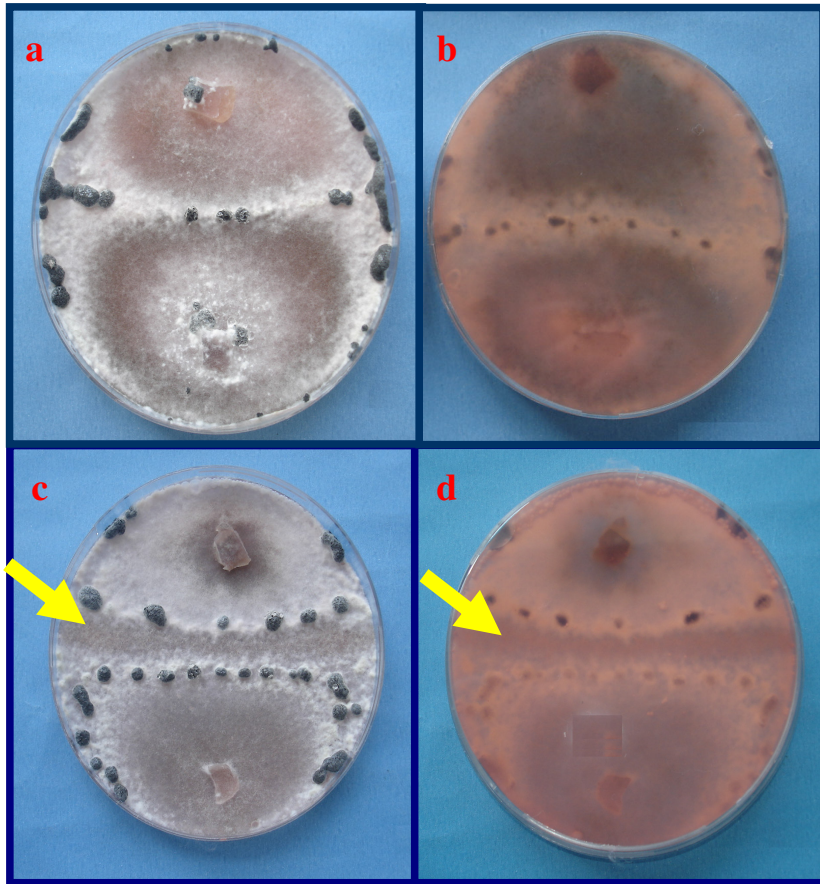
Tablo 3.1. *Sclerotinia sclerotiorum* izolatlarının orijinleri, sayıları ve numaraları

| Bölge | Sera No | İzolat Sayısı | İzolat No |
|-------------|---------|---------------|--|
| Saricaeli | 1 | 12 | M1,M2,M3,M4,M5,M6,M7,M8,M9,M10,M11,M12 |
| | 2 | 2 | M13,M14 |
| | 3 | 10 | M15,M16,M17,M18,M19,M20,M21,M22,M23,M24 |
| | 4 | 12 | M25,M26,M27,M28,M29,M30,M31,M32,M33,M34, M35,M36 |
| | 5 | 11 | M37,M38,M39,M40,M41,M42,M43,M44,M45,M46,M47 |
| | 6 | 5 | M48,M49,M50,M51,M52 |
| | 7 | 2 | M53,M54 |
| | 8 | 3 | M60,M61,M62 |
| Bayramiç | 1 | 5 | M65,M66,M67,M68,M69 |
| | 2 | 12 | M70,M71,M72,M73,M74,M75,M76,M77,M78,M79,M80,M81 |
| | 3 | 4 | M82,M83,M84,M85 |
| | 4 | 1 | M86 |
| Tuzla | 1 | 6 | M87,M88,M89,M90,M91,M92 |
| | 2 | 1 | M93 |
| | 3 | 17 | M94,M95,M96,M97,M98,M99,M100,M101,M102,M103, M104,M105,M106,M107,M108,M109,M110 |
| | 4 | 6 | M111,M112,M113,M114,M115,M116 |
| Ç.kale Mrk. | 1 | 1 | M55 |
| | 2 | 4 | M56,M57,M58,M59 |
| Lapseki | 1 | 2 | M63,M64 |

3.2.3. İzolatlar Arasında MUG'un Saptanması

Bir önceki bölümde belirtilen yöntemle geliştirilen 116 izolat arasında makroskopik uyumun saptanması için her bir izolatu kendisi ve birbiri ile eşleştirilmek üzere olası tüm ikili kombinasyonları çalışılmıştır. İkili kültür

çalışmalarında izolatlar, içerisinde %0.25 oranında kırmızı pasta boyası (Super cook) ihtiva eden PDA içeren petrilere ekilmiştir (Kohn ve ark., 1990; Powell ve Vargas, 2001). Kùltürler 22°C'de inkübasyona bırakılmış, miselyal gelişimleri gözlemlenmiştir. Ekimlerden 7-14 gün sonra gerçekleştirilen gözlemlerde eğer iki koloninin çarpıştığı yerde kırmızı ve sürekli bir kırmızı bant oluşmuşsa, bu iki koloninin miselyal olarak uyumsuz olduğu, eğer iki koloni birleşir ve birleşme noktasında sklerot oluşumu gözlenmişse, o iki koloninin uyumlu olduğu not edilmiştir (Kohn ve ark., 1990; Powell ve Vargas, 2001) (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. *Sclerotinia sclerotiorum* izolatları arasında miselyal uyum gruplarının saptanması; a ve b uyumlu, c ve d uyumsuz iki koloni.

3.2.4. İzolatların Morfolojik Özellikleri

Daha önce PDA’da geliştirilmiş 4 günlük izolatların her birinden kork borer yardımıyla 9 mm’lik fungal diskler alınarak 9 cm’lik petrilere PDA ortamına ekilerek morfolojik gelişimleri gözlenmiştir. İnkübatörde 22°C’de geliştirilen izolatlarda 15 gün sonunda oluşan sklerot sayıları, sklerot ağırlıkları, sklerotların petri içerisindeki dizilimleri ve gelişen kolonilerin renkleri gözlemlenerek not edilmiştir. Deneme 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Elde edilen veriler SAS paket programında tesadüf blokları deneme desenine uygun varyans analiz modeli (ANOVA) kullanılarak analiz edilmiştir (SAS, 1999).

3.2.5. İzolatların Virülekslik Oranlarının Saptanması

Virülekslik çalışması “0,55 kıvrıkcık” marul çeşidinde yapılmıştır. İçerisinde toprak ve torf (2:1) karışımı bulunan viyollere ekilen marul tohumları, seraya şaşırtılarak, 0,5X0,3 m sıra arası sıra üzeri dikim sıklığı ile dikilerek bitkilerin gelişimleri sağlanmıştır. Bitkiden alınan yapraklar saf suda yıkanmış ve kurutulduktan sonra içerisinde steril kurutma kağıdı bulunan ve nemlendirilmiş petrilere konulmuştur. İzolatlar arasında daha önce belirlenen populasyon büyüklüğüne göre her bir populasyondan temsili izolatlar (1-3 adet arası) seçilmiştir. Seçilen izolatlar PDA’da 7 günlük gelişimden sonra kork borer yardımıyla alınan 8 mm lik fungal diskler marul yapraklarına konularak 3 gün sonunda yaprak lezyon çapları ölçülmüştür. Her bir izolat için deneme 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. SAS paket programında tesadüf blokları deneme desenine uygun varyans analiz modeli (ANOVA) kullanılarak veriler analiz edilmiştir (SAS, 1999).

BÖLÜM 4 BULGULAR

4.1. Sörvey Çalışması

Çanakkale İli örtüaltında marul yetiştirilen bölgelerde yapılan sörvey çalışması sonucunda, 5 bölgede toplamda 19 sera incelenmiştir. *S. sclerotiorum* ile enfekteli, hastalık belirtisi gösteren marullardan sklerotlar toplanmış, her bir bitkiden olan sklerotlar bir izolatu temsil etmek üzere toplam 116 izolatu elde edilmiştir (Şekil 4.1., Şekil 4.2.)



Şekil 4.1. Çanakkale İlinde *Sclerotinia sclerotiorum* sörveyi gerçekleştirilen örtüaltı marul yetiştirilen bölgeler (Foto: Anonim, 2007b).



Şekil 4.2. Seralarda *Sclerotinia sclerotiorum* ile enfekteli marul bitkileri.

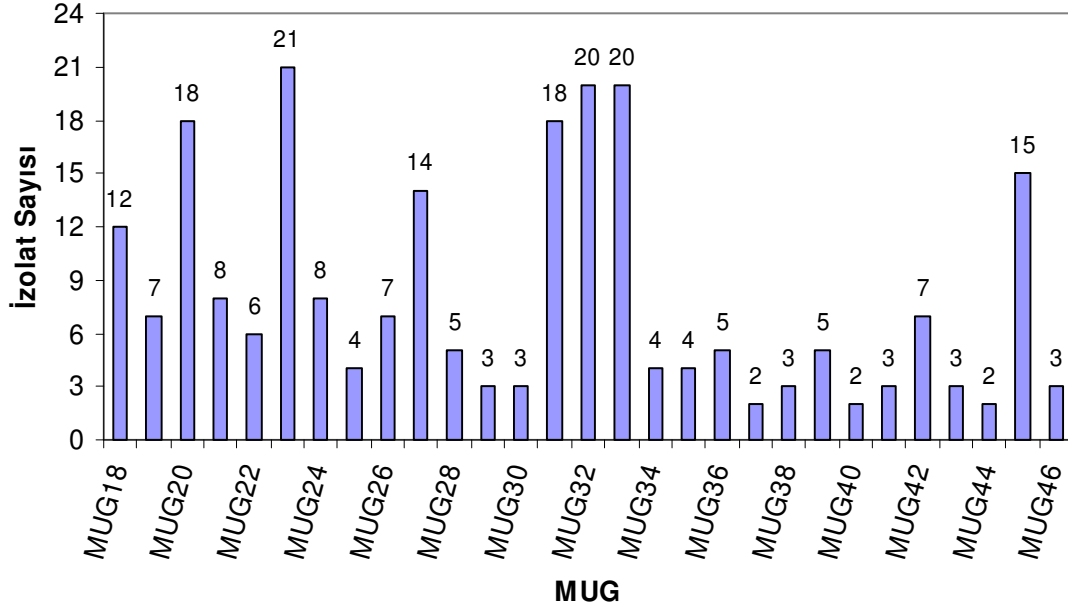
Sörvey çalışması esnasında hastalıklı ve sağlıklı bitkiler sayılmış ve en yüksek hastalık yaygınlığının sahip bölgenin Çanakkale Merkez olduğu tespit edilmiştir. Bakılan iki serada da hastalık bulunmaktadır. Bu bölgeyi hastalık yaygınlığı bakımından Tuzla takip etmektedir (%80,0). Sarıcaeli, Bayramiç ve Lapseki’de ise hastalık yaygınlığı sırasıyla %66,6, %50 ve %40 olarak belirlenmiştir.

4.2. İzolatlar Arasında Miselyal Uyum Grupları

Arazi örneklemesinde toplanan 116 izolat laboratuara getirilerek izole edilmiştir. Bu izolatların olası bütün kombinasyonlar uygulanarak birbirleri ile eşleştirilmeleri sonucu, en az iki izolattan oluşan 29 adet MUG olmak üzere 46 adet MUG tespit edilmiştir. İzolatların ikili kombinasyonlarında uyumluluk, iki izolatın petride karşılaştığı yerde bir bant oluşturmaması ve birleşme çizgisinde sklerotların oluşumu şeklinde gerçekleşmiştir. Uyumsuzluk durumunda izolatların karşılaştıkları yerde boşluk şeklinde bir bant ve kırmızı çizgi meydana gelmiştir. Her bir izolatın kendisiyle eşleştirilmesi sonucu, tümünün kendine uyumlu olduğu bulunmuştur.

Her bir izolatın birbiri ile eşleştirilmesi sonucu 17 izolat yalnızca kendine uyumlu olup başka bir izolatla uyumlu bulunmamıştır. Tablo 4.1.’de görüldüğü gibi kendine uyumlu izolatlar, M4, M17, M53, M55, M66, M68, M69, M71, M74, M87, M88, M91, M109, M110, M112, M113 ve M115 olarak bulunmuştur.

Tespit edilen 46 MUG grubunda 17 adet kendine uyumlu olan izolatlardan oluşan MUG dışında, en az iki adet izolattan oluşan 29 MUG tanımlanmıştır. MUG 23 (21 izolat), MUG 32 (20 izolat) ve MUG 33 (20 izolat) en fazla izolat içeren gruplar olmuşlardır (sırasıyla izolatların %18, %17 ve %17’sini içermektedirler). MUG 37, MUG 40 ve MUG 44 ise yalnızca iki izolat içermektedir ve en az izolata sahip gruplar olarak not edilmişlerdir (Tablo 4.1.; Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Miselyal Uyum Gruplarının içerdikleri izolat sayıları.

MUG 25 ve 28 hariç, 18 ile 34 arasındaki MUG'lar sadece Sarıcaeli'ndeki izolaları içermektedir. MUG 39, 40, 41 ve 42 ise yalnızca Bayramiç'ten elde edilen izolaları içermektedirler. Aynı şekilde MUG 44, 45 ve 46 Tuzla izolalarını, MUG 37 Lapseki izolalarını ve MUG 35 sadece Çanakkale Merkez izolalarını içermektedirler.

Yalnızca kendine uyumlu izolalar dışında 29 MUG'da bulunan izolalar içerisinde bazı izolalar birden fazla MUG'da yer almıştır. Birden fazla MUG'da bulunan bu izolalar köprü izolatlardır. M20, M23, M33, M45, M47 ve M48 en fazla MUG'da bulunan köprü izolatlardır. Köprü izolatlar dışındaki yani sayı bakımından büyük çoğunluğu oluşturan izolalar ise yalnızca 1 adet MUG'da bulunmuş, 116 izolat içerisinde kendine uyumlu izolalar hariç 52 adet izolat sadece bir MUG'da yer almıştır. MUD'da köprü izolat içermeyen gruplara bakıldığında ise, toplam olarak tespit edilen 29 MUG'dan sadece MUG 34 ve MUG 37'de bulunan izolaların hepsi yalnızca kendi grubunda bulunmuştur. Diğer MUG'da en az bir adet köprü izolat yer almıştır.

4.3. Sera İçi Populasyonlarda Miselyal Uyum Grupları

Marul yetiştirilen 19 serada yapılan sörvey sonucu her bir seradan elde edilen izolatlar bir önceki bölümde Tablo 3.1.'de verilmiştir. Bir sera içerisinden toplanan izolatların kendi aralarındaki MUG'ı saptanmıştır. Çanakkale Merkez'in Kurşunlu Beldesinde incelenen seradan tek bir izolat (M55) elde edilmiştir. Tuzla Beldesinde ikinci seradan bir izolat (M93) ve yine Bayramiç İlçesindeki dördüncü seradan bir izolat (M86) elde edilmiştir. Dolayısıyla bu üç serada en az 2 izolat içeren bir MUG aranmamıştır. Ancak diğer seralardan en az iki ya da daha fazla izolat toplanmıştır (Tablo 4.1.).

Sarıcaeli'nde incelenen 8 seradan ilk seraya bakıldığında, M1 ile M12 izolatları arasında olmak üzere toplam 12 izolat bulunmaktadır ve bunlar arasında yapılan MUG'dan 4 adet MUG bulunmaktadır. Bu izolatlardan M4 nolu izolatu diğerleri ile uyumlu olmayıp yalnızca kendi ile uyumlu olduğu belirlenmiştir (MUG3). M1, M5, M10 ve M11 (MUG1) nolu izolatların kendi aralarında uyumlu olduğu, M2, M3, M6, M8, M9 ve M10 (MUG2) nolu izolatların kendi aralarında uyumlu olduğu ve yine M7 ve M12 (MUG4) nolu izolatların kendi aralarında uyumlu olduğu saptanmıştır. Bu seradaki M10 nolu izolat köprü izolatu olup 2 MUG'da (MUG1 ve MUG2) yer almaktadır. M13 ve M14 nolu izolata sahip ikinci serada ikisi birbiri ile uyumlu olup tek bir MUG bulunmuştur. M17, M19 ve M24 nolu izolatları yalnızca kendine uyumlu olan üçüncü seradaki 10 izolat arasında, 5 MUG saptanmıştır. Bu bölgedeki dördüncü seradaki populasyondaki miselyal uyum gruplarına bakıldığında, 12 izolat arasında 4 MUG bulunmuş ve M26 yalnızca kendine uyumlu olarak belirlenmiştir. M27, M28, M31, M33 ve M35 iki MUG'da bulunan köprü izolatlarıdır. Beşinci seradan 11 izolat elde edilmiştir ve 2 MUG belirlenmiştir. Beş izolata sahip altıncı serada da M52 nolu izolat kendine uyumlu olmakla birlikte 2 MUG bulunmaktadır. M53 ve M54 kendine uyumlu olarak bulunmuş, dolayısıyla yedinci serada 2 MUG belirlenmiştir. Bölgedeki son serada, 3 izolatteki eşleştirmeler sonucu üç izolatu da birbiri ile uyumlu olmadığı görülmüştür (Tablo 4.1.).

Çanakkale Merkezdeki seradan alınan 4 izolat birbiri ile uyumlu bulunmuştur. Dolayısıyla 1 adet MUG belirlenmiştir. Lapseki'deki seradan alınan M63 ve M64 nolu izolatlarda da uyumlu bulunmuştur (Tablo 4.1.).

Bayramiç ilçesinde toplam 4 adet seradan, ilk seradan toplanan 5 izolatta 4 MUG belirlenmiş ve M66, M68 ve M69 kendine uyumlu olarak tespit edilmiştir. Toplam 12 izolat elde edilen ikinci serada M71 ve M74 kendine uyumlu bulunmuş ve 7 MUG belirlenmiştir. Bu seradaki izolatlarda da M72, M79 ve M80 köprü izolat olarak bulunmuştur. Sonuç olarak üçüncü seradaki 4 izolattın hepsi birbiri ile uyumludur.

Tuzla beldesindeki ilk seradan elde edilen izolatlardan sayısı 6'dır ve M90 ve M92 birbiri ile uyumlu, diğerleri yalnızca kendine uyumlu olarak bulunmuştur. Toplamda 5 MUG belirlenmiştir. Tuzla 3. serada, M94 nolu izolattan başlayıp M110 nolu izolata kadar 17 izolata sahip populasyon arasında, 3 MUG belirlenmiştir. Bu izolatlardan M109 ve M110 yalnızca kendine uyumlu olup diğer izolatlardan hepsi aynı MUG'da bulunmuşlardır. Dördüncü serada ise 6 adet izolatta 4 adet MUG belirlenmiş ve M112, M113 ve M115 izolatlarda sadece kendileri ile uyumlu olup herhangi başka bir izolatla uyum göstermemişlerdir (Tablo 4.1.).

4.4. Bölgelere Göre Miselyal Uyum Gruplarının Saptanması

Sarıcaeli, Bayramiç, Lapseki, Tuzla ve Çanakkale Merkez'den toplanan *S. sclerotiorum* populasyonlarındaki izolat sayısı sırasıyla 57, 22, 2, 30 ve 5'tir. Bölgeler bazındaki populasyonlarda miselyal uyum gruplarına bakıldığında ise Sarıcaeli'ndeki 57 izolatta 20 MUG, Bayramiç'te 12 MUG, Lapseki'de 1 MUG, Tuzla'da 14 MUG ve Çanakkale Merkez'de 2 adet MUG'a rastlanmıştır.

Bölgeler arası miselyal uyum gruplarına bakıldığında, Lapseki bölgesinin diğer bölgeler ile uyumlu izolatu bulunmamaktadır. Diğer bölgelerin birbirleri arasındaki uyumun fazla olmadığı görülmüştür. Sarıcaeli ve Tuzla bölgelerinde MUG 25'de bulunan M89 nolu Tuzla bölgesine ait izolattın Sarıcaeli'ndeki diğer 3

izolatla uyumlu olduğu görülmüştür. Yine benzer şekilde Sarıcaeli-Bayramıç (MUG28), Çanakkale Merkez-Tuzla (MUG36) ve Bayramıç-Tuzla (MUG38, 43) bölgeleri birbirleri ile uyumlu izolatlara sahip olmuşlardır. Ancak bu bölgeler arasında uyumlu bu izolatların sayısının çoğu sadece bir izolattır. MUG’da bölgeler arasında izolatların geçişi yaygın bir durum görülmemiştir (Tablo 4.1.).

4.5. İzolatların Morfolojik Özellikleri

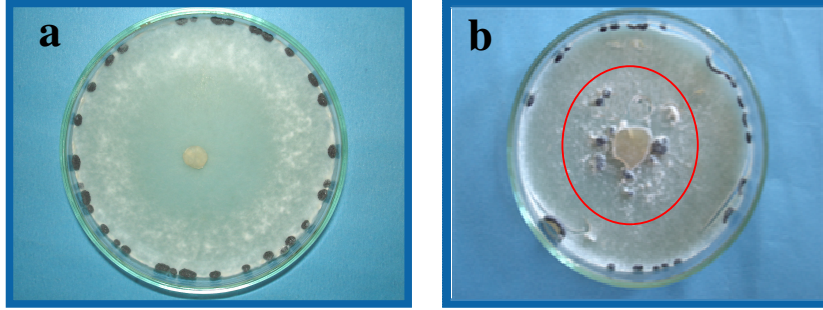
Çalışmada kullanılan 116 izolat arasındaki morfolojik özelliklerin karşılaştırılması bakımından, izolatların yapay besi ortamı PDA’daki gelişimleri sonucu oluşturmuş oldukları sklerot sayıları, sklerot ağırlıkları ve koloni renkleri incelenmiştir.

Morfolojik özellikler bakımından elde edilen sonuçlarla göre izolatlar arasında istatistiki farklılıklar bulunmuştur (Tablo 4.2.). *S. sclerotiorum* yapay besi ortamında daha çok koloninin uç kısmından, petrinin kenarına doğru, koloninin yüzeyinde sklerot oluşturur. Maruldan elde edilen sklerotlar arasında büyük çoğunluğu koloni kenarında tek sıra sklerot oluşturmuşlardır (Şekil 4.4.). İzolatların oluşturdukları sklerot sayısı 9 ile 53 arasında değişmiş, oluşan sklerotların ağırlıkları ise 110 mg/petri ile 770 mg/petri arasında bulunmuştur (Şekil 4.6. ve 4.7.). Kolonilerde hakim olan rengin beyaz olduğu gözlenmiştir. Toplam 116 izolat arasında 56’sı beyaz renkli koloni oluşturmuştur. Diğerleri ise bej yada kahverenkli koloni oluşturma özelliğinde görülmüştür (Şekil 4.5.).

Ayrıca bölgesel ve bir sera içerisindeki popülasyonlarda da farklılıklar göze çarpmıştır. Sarıcaeli’nden elde edilen popülasyona ait 57 izolat oluşturdukları sklerot sayısı bakımından değişkenlik gösterirken, sklerot ağırlıklarında değişkenlikler bulunsa da çoğu izolatta birbirine daha yakın bulunmuştur. Yine bu bölgedeki her bir serada bulunan popülasyon içinde aynı şekilde sonuçlar bulunmuştur. Bayramıç’teki 4 serada 22 izolattan oluşan popülasyonda, izolatların oluşturdukları sklerot sayıları ve sklerot ağırlıkları Sarıcaeli’nden farklı olmadıkları, değişkenlik gösterdikleri

görülmüştür. Şekil 4.6. ve 4.7.'de görüldüğü gibi Tuzla, Çanakkale Merkez ve Lapseki popülasyonlarında da aynı durum söz konusu olmuştur.

Bölgesel ve bir sera içerisindeki popülasyonda morfolojik karakterler bakımından gözlemlenmiş farklılıklar, aynı miselyal uyum grubuna dahil olan izolatlar yönünden de aynı durumu sergilemiştir. Bir çok köprü izolata sahip MUG 18'de bulunan 12 izolata bakıldığında, sklerot sayısı ve sklerot ağırlığı bakımından istatistiki farklılıklar bulunmuştur. İçerisinde köprü izolat bulunmayıp yalnızca kendi MUG grubunda bulunan M37, M38, M39 ve M52 nolu izolatların oluşturduğu MUG 34'te, 4 izolatın sklerot sayıları ve sklerot ağırlıkları istatistiki olarak birbirinden farklı tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. *Sclerotinia sclerotiorum*'un kolonide oluşturduğu sklerotlar; a. Tek sıra, b. Çift sıra.

Tablo 4.2. *Sclerotinia sclerotiorum* izolatlarının morfolojik özellikleri

| İzolat No | MUG ¹ | SS ² | SA ³ (mg) | SD ⁴ | KR ⁵ | İzolat No | MUG ¹ | SS ² | SA ³ (mg) | SD ⁴ | KR ⁵ |
|-----------|-------------------|-----------------|----------------------|-----------------|-----------------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------|-----------------|
| M1 | 18 | 42.667ae | 365.00ek | T ⁶ | K ⁸ | M59 | 35,36 | 36.000ak | 470.00aı | T | B |
| M2 | 19 | 24.667dp | 425.00bk | T | J ⁹ | M60 | 22,24,26 | 46.000ad | 435.00bk | T | K |
| M3 | 19 | 27.667dp | 405.00ck | T | B ¹⁰ | M61 | 19 | 20.000fp | 295.00gk | T | J |
| M4 | 1 | 16.667hp | 250.00ık | T | B | M62 | 23,33 | 26.000dp | 310.00fk | T | B |
| M5 | 18 | 26.667dp | 150.00 | Ç ⁷ | J | M63 | 37 | 26.333dp | 356.67ek | T | B |
| M6 | 19 | 26.667dp | 540.00 | T | B | M64 | 37 | 17.000hp | 355.00ek | T | B |
| M7 | 20 | 23.000ep | 375.00ek | T | B | M65 | 38 | 25.667dp | 365.00ek | T | B |
| M8 | 19 | 22.667ep | 300.00fk | T | J | M66 | 5 | 51.000ab | 250.00ık | Ç | B |
| M9 | 19 | 18.667hp | 295.00k | T | J | M67 | 38 | 19.667kp | 340.00ek | T | B |
| M10 | 18,19,21 | 31.667an | 405.00ck | T | K | M68 | 6 | 15.667jp | 110.33k | T | K |
| M11 | 18,21,22 | 38.000aı | 380.00ek | T | J | M69 | 7 | 27.000dp | 260.00ık | T | B |
| M12 | 20,23 | 27.667dp | 445.00aj | T | J | M70 | 39 | 24.000ep | 295.00gk | Ç | B |
| M13 | 18,21,24 | 42.667ae | 416.00bk | Ç | K | M71 | 8 | 35.667al | 650.00ae | Ç | B |
| M14 | 18,22,24 | 29.667cp | 300.00fk | T | K | M72 | 39,40 | 34.667am | 500.00aı | T | J |
| M15 | 18,24 | 21.667ep | 345.00ek | T | J | M73 | 39 | 17.667hp | 375.00ek | T | J |
| M16 | 25 | 31.667an | 360.00ek | T | B | M74 | 9 | 25.333dp | 383.33ek | T | J |
| M17 | 2 | 31.667an | 740.00ab | T | B | M75 | 41 | 31.667an | 390.00ek | T | B |
| M18 | 18,21,24,26 | 53.00a | 620.00ak | Ç | B | M76 | 42 | 29.333cp | 406.67ck | T | K |
| M19 | 20 | 34.667am | 455.00aı | T | K | M77 | 42 | 13.667mp | 460.00aı | T | J |
| M20 | 18,21,22,24,26,28 | 41.667af | 350.00ek | T | K | M78 | 43 | 27.333dp | 403.33ck | T | K |
| M21 | 25,29 | 34.000am | 413.33bk | T | B | M79 | 39,41 | 21.667ep | 396.67dk | T | B |
| M22 | 18,,22,24,26,28 | 30.333bp | 323.33ek | T | K | M80 | 40,41 | 24.000ep | 263.33ık | T | B |
| M23 | 18,21,22,24,26,28 | 31.333ao | 390.00ek | T | K | M81 | 39 | 14.333kp | 273.33ık | T | J |
| M24 | 21,30 | 20.000fp | 360.00ek | T | J | M82 | 42 | 28.000dp | 490.00aı | T | J |
| M25 | 23,27,31 | 24.000ep | 450.00aı | T | K | M83 | 42 | 33.000am | 385.00ek | T | B |
| M26 | 18,26,28 | 38.667ah | 380.00ek | T | K | M84 | 42 | 22.667ep | 440.00bj | T | B |
| M27 | 23,27,31,32 | 17.667hp | 323.33ek | T | J | M85 | 42 | 20.667fp | 300.00fk | T | B |
| M28 | 20,27,32,33 | 23.333ep | 280.00hk | T | J | M86 | 28,42 | 31.667an | 360.00ek | T | B |
| M29 | 25,29,30 | 23.333ep | 370.00ek | T | B | M87 | 10 | 32.667am | 470.00aı | T | B |
| M30 | 20,21,23,32,33 | 18.667hp | 330.00ek | T | J | M88 | 11 | 17.333hp | 343.33ek | T | K |
| M31 | 20,23,27,31,32 | 9.000p | 415.00bk | T | B | M89 | 25 | 20.000fp | 305.00fk | T | B |
| M32 | 20,23,27,32,33 | 21.667ep | 346.67ek | T | K | M90 | 36 | 31.667an | 405.00ck | T | B |
| M33 | 20,23,27,31,32,33 | 21.333ep | 390.00ek | T | K | M91 | 12 | 23.333ep | 383.33ek | T | K |
| M34 | 20,23,27,32,33 | 18.000hp | 340.00ek | T | K | M92 | 36 | 28.667dp | 423.33bk | T | B |
| M35 | 20,23,31,32,33 | 40.667ak | 627.67af | T | B | M93 | 44 | 14.000lp | 240.00ık | T | B |
| M36 | 29,30 | 21.000ep | 430.00bk | T | B | M94 | 45 | 21.667ep | 343.33ek | T | B |
| M37 | 34 | 37.000aj | 770.00a | T | J | M95 | 45 | 19.333kp | 296.67gk | T | B |
| M38 | 34 | 15.667jp | 120.00jk | Ç | B | M96 | 45 | 25.333dp | 360.00ek | T | J |
| M39 | 34 | 29.667cp | 395.00dk | T | J | M97 | 44,45 | 16.333lp | 273.33ık | T | B |

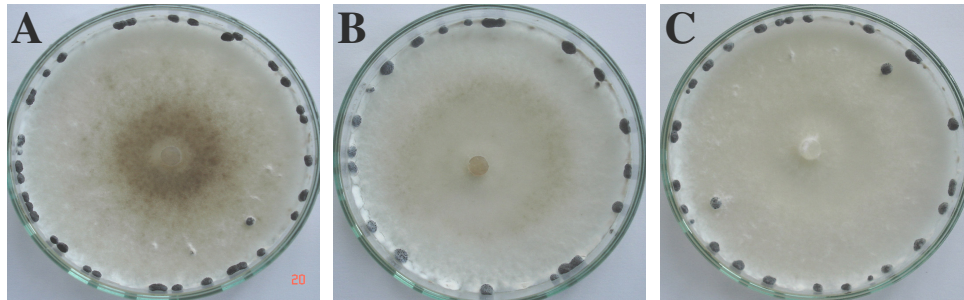
| | | | | | | | | | | | |
|------------|----------------|----------|----------|---|---|------------|----|----------|----------|---|---|
| M40 | 23,27,31,32,33 | 18.000hp | 370.00ek | T | J | M98 | 45 | 51.667ab | 605.00ah | T | B |
| M41 | 20,23,31,32,33 | 21.000ep | 390.00ek | T | J | M99 | 45 | 26.333dp | 440.00bj | T | J |

Tablo 4.2.'nin devamı

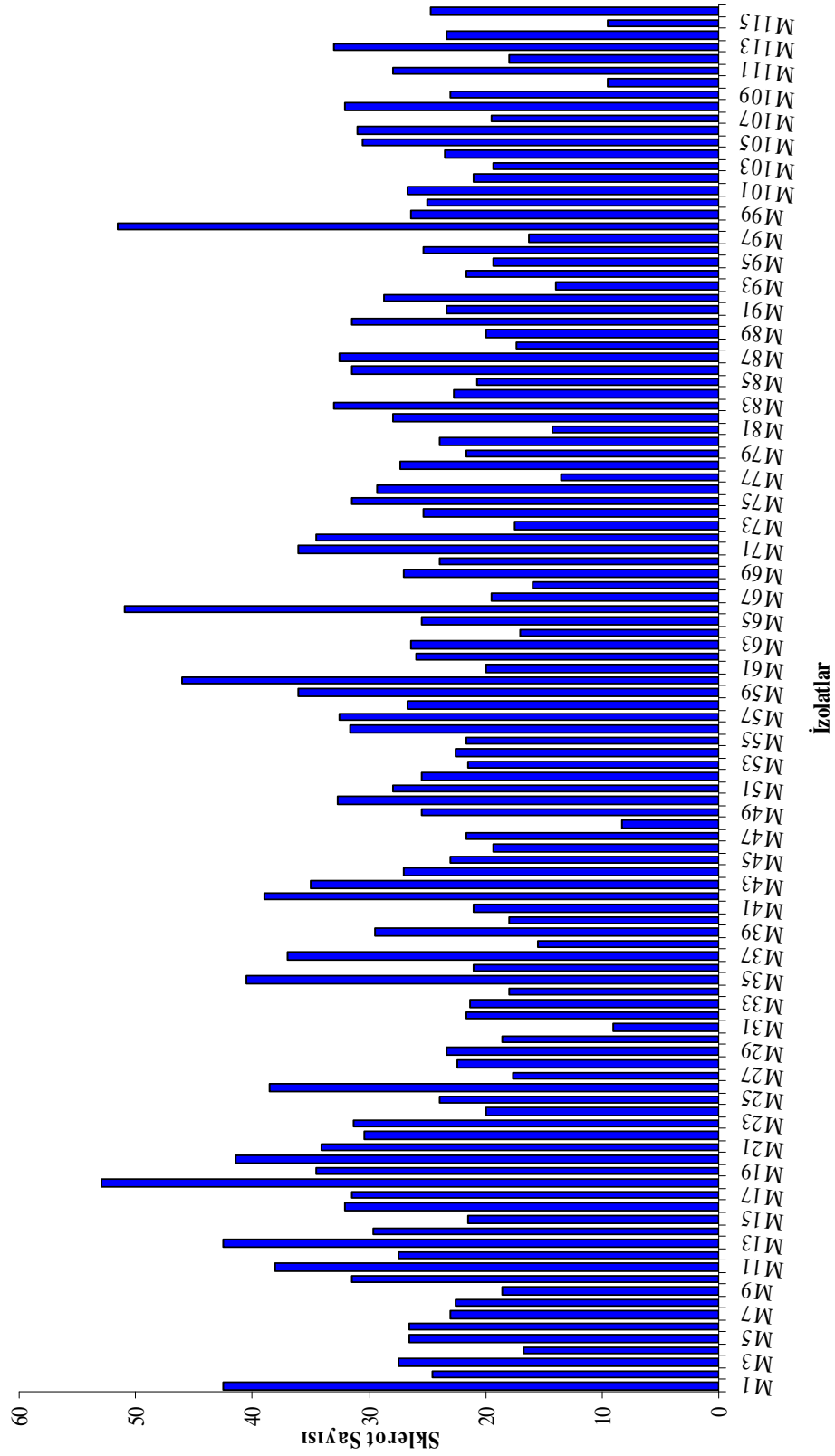
| | | | | | | | | | | | |
|------------|-------------------|----------|----------|---|---|-------------|-------|----------|----------|---|---|
| M42 | 20,23,31,32 | 38.667ah | 480.00ai | T | B | M100 | 45 | 25.000dp | 286.67hk | T | K |
| M43 | 20,23,32,33 | 35.000am | 730.00ac | T | B | M101 | 45 | 26.667dp | 353.33ek | T | B |
| M44 | 27,31,32,33 | 27.000dp | 406.67ck | T | K | M102 | 45 | 21.000ep | 286.67hk | T | B |
| M45 | 20,23,27,31,32 | 23.000ep | 436.67bk | T | J | M103 | 45 | 19.333Kp | 263.33ik | T | B |
| M46 | 20,23,31,33 | 19.333kp | 270.00ik | Ç | B | M104 | 45 | 23.667ep | 365.00ek | T | J |
| M47 | 20,23,27,31,32,33 | 21.667ep | 416.67bk | T | K | M105 | 45 | 30.667bp | 720.00ad | T | J |
| M48 | 20,23,27,31,32,33 | 9.000p | 273.33ik | T | B | M106 | 45 | 31.000bo | 550.00ai | T | B |
| M49 | 27,31,32,33 | 25.667dp | 276.67hk | T | B | M107 | 45 | 19.667kp | 265.00ik | T | K |
| M50 | 23,31,32,33 | 32.667am | 510.00ai | T | K | M108 | 45 | 32.000an | 383.33ek | T | B |
| M51 | 23,31,32,33 | 28.000dp | 400.00dk | T | K | M109 | 13 | 23.000ep | 250.00ik | Ç | B |
| M52 | 34 | 25.667dp | 410.00ck | T | K | M110 | 14 | 10.333np | 110.00k | T | K |
| M53 | 3 | 21.667ep | 330.00ek | T | K | M111 | 46 | 28.000dp | 266.67ik | T | B |
| M54 | 20,23,31,33 | 22.667ep | 425.00bk | T | J | M112 | 15 | 18.000hp | 500.00ai | T | B |
| M55 | 4 | 21.667ep | 376.67ek | Ç | J | M113 | 16 | 33.000am | 405.00ck | T | J |
| M56 | 35 | 31.667an | 406.67ck | T | B | M114 | 46,43 | 23.333ep | 443.33aj | T | B |
| M57 | 35,36 | 32.667am | 420.00bk | T | B | M115 | 17 | 9.667op | 335.00ek | Ç | B |
| M58 | 35,36 | 26.667dp | 310.00fk | T | B | M116 | 46 | 24.667dp | 400.00dk | T | B |

SAS Tukey

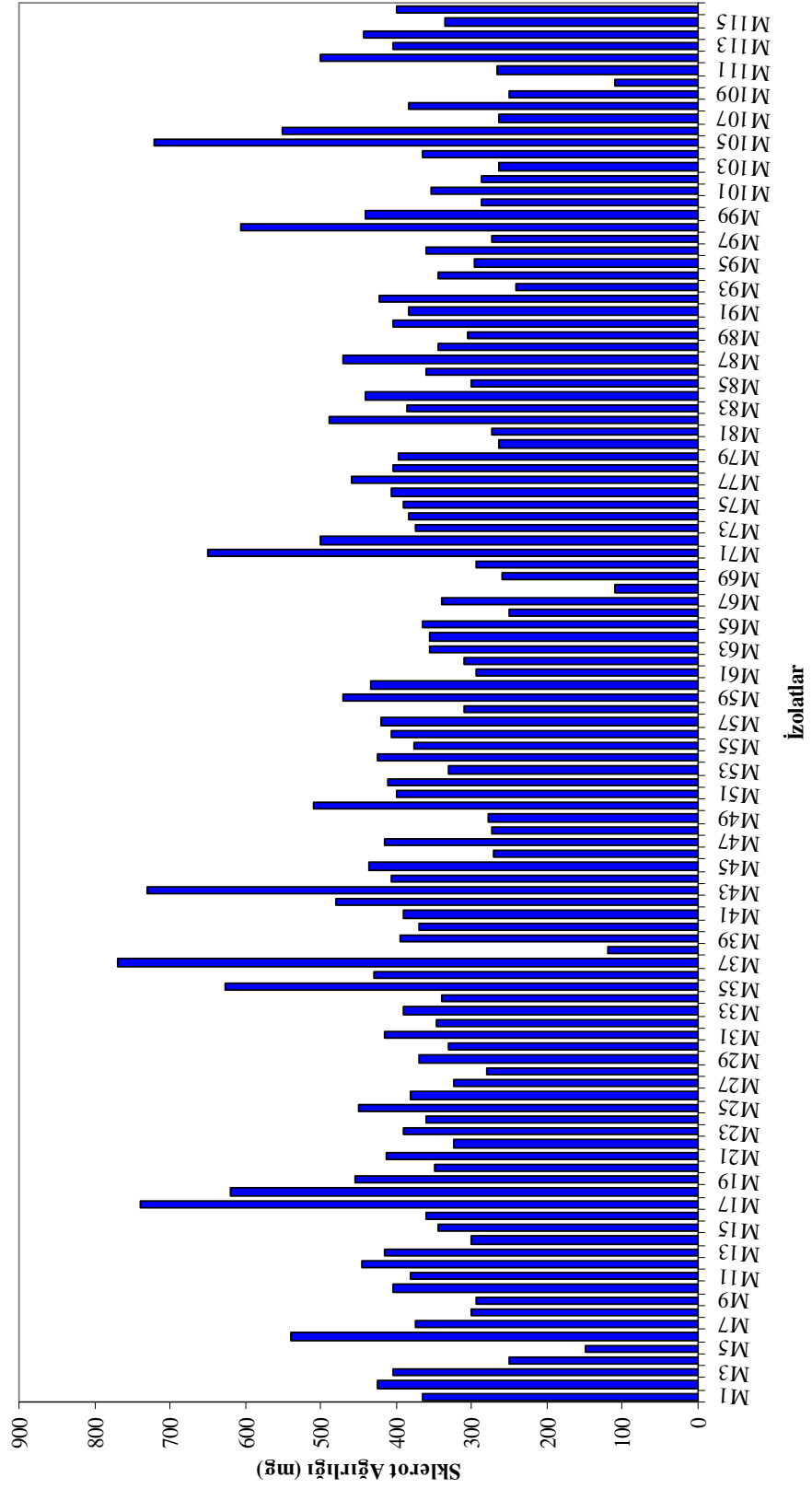
¹ Miselyal Uyum Grubu ² Sklerot Sayısı ³ Sklerot Ağırlığı ⁴ Sklerot Dizilimi ⁵ Koloni Rengi ⁶ Sklerotların petride tek sıra dizilimi; ⁷ Sklerotların petride çift sıra dizilimi ⁸ Kahverenkli koloni ⁹ Bej renkli koloni ¹⁰ Beyaz renkli koloni .



Şekil 4.5. *Sclerotinia sclerotiorum* kolonilerinin oluşturduğu renkler; (A) Kahverenkli koloni, (B) Bej renkli koloni ve (C) Beyaz renkli koloni.



Şekil 4.6. *Sclerotinia sclerotiorum* izolatlarının yapay besi ortamında oluşturdukları sklerot sayıları.



Şekil 4.7. *Sclerotinia sclerotiorum* izolatlarının yapay besi ortamında oluşturdukları sklerot ağırlıkları.

4.6. İzolatların Virülenslik Oranları

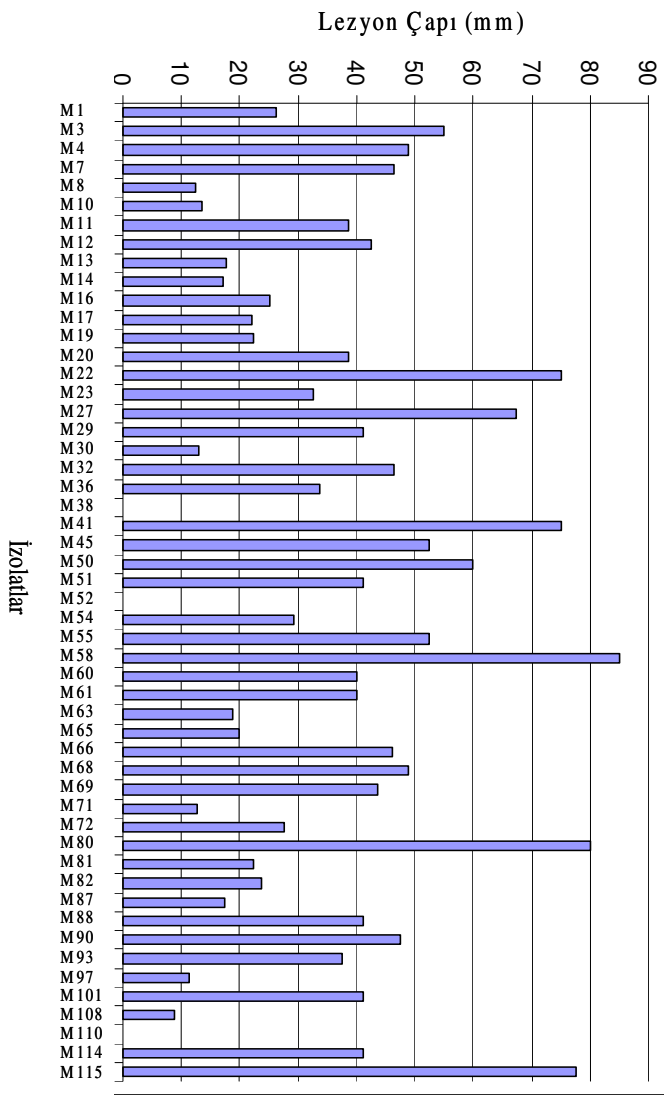
Virülenslik çalışması için, daha önce belirlenen MUG'daki populasyon dağılımına göre 52 adet izolat seçilmiştir (Tablo 4.3.). Bu izolatların "0.55 Kıvırcık" marul çeşidinde gelişimleri sonucu oluşturmuş oldukları lezyon çapları Şekil 4.8.'de verilmiştir (Şekil 4.9.).

Şekil 4.8.'de görüldüğü gibi M110 ve M52 nolu izolatlarda 3 gün sonunda yapraklarda lezyon gelişimi görülmemiştir. Lezyon çapları 20 mm ile 85 mm arasında değişiklik göstermekle birlikte izolatların her birinin oluşturdukları lezyon çapları arasında farklılıklar bulunmaktadır (Tablo 4.4.). En fazla gelişim gösteren M58 (85mm) ve M80 (80mm) sırasıyla MUG 35, MUG 36 ve MUG 40, MUG 41, MUG 43'da bulunmaktadır.

Tablo 4.3. Virülenslik çalışmasında kullanılan izolatlar ve dahil oldukları MUG'lar.

| İzolat No | MUG* | İzolat No | MUG | İzolat No | MUG | İzolat No | MUG |
|-----------|-------------------|-----------|-------------------|-----------|----------|-----------|-------|
| M1 | 18 | M23 | 18,21,22,24,26,28 | M60 | 22,24,26 | M93 | 44 |
| M3 | 19 | M27 | 23,27,31,32 | M61 | 19 | M97 | 44,45 |
| M4 | 1 | M29 | 25,29,30 | M63 | 37 | M101 | 45 |
| M7 | 20 | M30 | 20,21,23,32,33 | M65 | 38 | M108 | 45 |
| M8 | 19 | M32 | 20,23,27,32,33 | M66 | 5 | M110 | 14 |
| M10 | 18,19,21 | M36 | 29,30 | M68 | 6 | M114 | 43,46 |
| M11 | 18,21,22 | M38 | 34 | M69 | 7 | M115 | 17 |
| M12 | 20,23 | M41 | 20,23,31,32,33 | M71 | 8 | | |
| M13 | 18,21,24 | M45 | 20,23,26,27,31,32 | M72 | 39,40 | | |
| M14 | 18,22,24 | M50 | 23,31,32,33 | M80 | 40,41,43 | | |
| M16 | 25 | M51 | 23,31,32,33 | M81 | 39 | | |
| M17 | 2 | M52 | 34 | M82 | 42 | | |
| M19 | 20 | M54 | 20,23,31,32,33 | M87 | 10 | | |
| M20 | 18,21,22,24,26,28 | M55 | 4 | M88 | 11 | | |
| M22 | 18,22,24,26,28 | M58 | 35,36 | M90 | 36 | | |

*Virülenslik çalışmasında kullanılan izolatların dahil oldukları miselyal uyum grupları.



Şekil 4.8. *Sclerotinia sclerotiorum* izolatlarının marul yapraklarında oluşturdukları lezyon çapları.



Şekil 4.9. *Sclerotinia sclerotiorum* ile inokule edilmiş marul yapraklarını üç günlük gelişim sonunda oluşturdukları lezyonlar.

Tablo 4.4. *Sclerotinia sclerotiorum* izolatlarının marul yapraklarında oluşturdukları lezyon çapları

| İzolat No | LÇ¹ (mm) | İzolat No | LÇ (mm) | İzolat No | LÇ (mm) | İzolat No | LÇ (mm) |
|------------------|----------------------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|
| M1 | 26.333go | M20 | 39.000el | M52 | 0.000o | M80 | 80.000ab |
| M3 | 55.000bf | M22 | 53.333bg | M54 | 29.333fl | M81 | 22.667io |
| M4 | 49.000c1 | M23 | 32.667en | M55 | 52.667bh | M82 | 24.000io |
| M7 | 46.333dj | M27 | 68.000ad | M58 | 85.000a | M87 | 18.000ko |
| M8 | 12.667lo | M29 | 41.333dk | M60 | 40.000el | M88 | 41.333dk |
| M10 | 13.667lo | M30 | 13.000lo | M61 | 40.000el | M90 | 48.000c1 |
| M11 | 39.000el | M32 | 53.000bg | M63 | 19.000jo | M93 | 38.000em |
| M12 | 42.667dj | M36 | 34.000en | M65 | 20.000jo | M97 | 11.333mo |
| M13 | 18.000ko | M38 | 0.000o | M66 | 46.333ej | M101 | 41.333dk |
| M14 | 17.000ko | M41 | 75.333ac | M68 | 49.000c1 | M108 | 9.000no |
| M16 | 25.333ho | M45 | 53.000bg | M69 | 44.000dk | M110 | 0.000o |
| M17 | 22.333io | M50 | 60.000ae | M71 | 13.000lo | M114 | 41.333dk |
| M19 | 22.667io | M51 | 41.333dk | M72 | 27.667fn | M115 | 78.000ab |

¹ İzolatların marul yapraklarında oluşturdukları lezyon çapları

BÖLÜM 5

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışma, Çanakkale İli örtü altı marul yetiştiriciliği yapılan alanlarda *S. sclerotiorum* etmeni ile bulaşık olan bitkilerden elde edilen izolatlar arasındaki varyasyonu saptamak amacıyla 2005–2007 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla *S. sclerotiorum* izolatları arasındaki miselyal uyum yada uyumsuzluklar ve izolatların morfolojik özellikleri araştırılmıştır.

S. sclerotiorum dünyada ılıman iklimin hakim olduğu bölgeler başta olmak üzere hemen her yerde görülen bir patojendir ve çeşitli çalışmalarda etmenin oluşturduğu hastalığın değişen oranlarda görüldüğü bildirilmektedir. Uygun koşullar altında etmen %100'e oluşan ürün kayıplarına neden olmaktadır (Purdy 1979). İngiltere'de marulda (*Lactuca sativa*) sclerotinia çürüklüğü en önemli hastalıktır (Subbaro, 1998). Uygun iklim koşullarında Sclerotinia çürüklüğü, özellikle seralarda pek çok üründe kayıplara neden olmaktadır (Aksay ve ark., 1986). Çanakkale bölgesinde yetiştirilen marullarda ise etmenin yaygınlığının % 82,6 olduğu rapor edilmiştir (Mert-Türk ve Mermer, 2005). Bu çalışmada gezilen seralardaki verilere göre de hastalık yaygınlığı ortalama %67,32 olarak kaydedilmiştir.

S. sclerotiorum etmeni polifag bir etmen olup, aynı zamanda uzun yıllar canlılığını sürdürebilen bir fungustur. Etmen üzerinde süregelen yoğun çalışmalar, fungusun bu özellikleri ile birlikte mücadelesinin de zor oluşundan ileri gelmektedir. Bu sebeplerden dolayı, etmenin populasyon biyolojisi çalışmaları önem kazanmaktadır. Bu tip çalışmalar değişik patojenlerde morfolojik ve moleküler kriterlere göre yapılabilmektedir. Moleküler analizler hem genetik izolatları sınıflandırmak hem de patojen populasyonları içindeki varyasyonu ölçmek için oldukça yaygın kullanılmaktadır. *S. sclerotiorum* ile yapılan çalışmalarda, populasyon hakkında bilgi sağlamak için, makroskopik bir yöntem olan miselyal uyum yada uyumsuzluğu tanımlama (MUG belirleme) yada moleküler yöntemler kullanılmaktadır (Kohn ve ark., 1990-1991). Daha öncede belirtildiği gibi MUG, kültür ortamında iki koloninin birleşme yada birleşememe durumuna göre belirlenen

bir gruplama sistemidir. Uyumsuzluk farklı izolatların birleşip bir koloni oluşturamamasıdır (Kohn ve ark., 1990-1991). DNA fingerprint, mikrosatellit markörler, RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) *S. sclerotiorum*'da kullanılan moleküler yöntemlerdendir (Malvarez ve ark. 2007; Iryzowski ve ark., 2005; Mert-Türk ve ark., 2007).

Çalışmada ele alınan bölge Çanakkale'de marul yetiştirme döneminde yapılan sürveyler sonucu hastalıklı bitkilerden toplanan sklerotlar ile toplam 116 izolat elde edilmiştir. Laboratuvar ortamında yapay besi yerinde birbirleri ile eşleştirilmeleri sonucu 17 adetinin yalnızca kendine uyumlu olmasıyla beraber toplam 46 MUG tanımlanmıştır. Ayrıca izolatlar PDA'da oluşturdukları sklerot sayısı, sklerot ağırlığı, sklerot dizilimi ve koloni rengi gibi morfolojik karakterler bakımından gözlemlenmiş ve aralarındaki farklar tespit edilmiştir.

Birbiri ile uyumsuz olan izolatlar muhtemelen genetik olarak farklıdır. Belirlenen 48 adet MUG'un her biri içinde yer alan izolatlar klon olarak kabul edilse de, DNA analizinde farklı sonuçlar nadir de olsa alınabilmektedir. Mikrosatellit markör kullanılarak 23 farklı klon tespit edilmiş daha önceki bir çalışmada, aynı MUG'a sahip izolatlar genellikle özdeş mikrosatelit haplotiplerine sahip olarak bulunmuştur (Mert-Türk ve ark., 2007). Bu çalışmada, Çanakkale'de kolzadaki izolatlar arasında yüksek genetik varyasyondan söz etmek mümkündür. Bu izolatlar hem MUG hem de moleküler yöntemlerin bir arada kullanımıyla aralarındaki varyasyonun belirlendiği bir çalışmadır.

Miselyal uyum gruplarına göre Çanakkale'den elde edilen *S. sclerotiorum* popülasyonu yüksek oranda farklılık göstermektedir. Bu durum dünyada ve Türkiye'de yapılmış çalışmalara benzerlikler göstermektedir (Zandoki ve ark., 2006; Wu ve Subarro, 2006; Mert-Türk ve ark. 2005-2007; Tok ve Kurt, 2007). DNA fingerprint ve MUG kullanılarak Kanada'da kanola üzerinde *S. sclerotiorum*'un klonal dağılımı tanımlanmış ve tarla şartlarında izolatlar arasında geniş oranda genetik varyasyon bulunduğu kaydedilmiştir (Kohli ve ark., 1992). Yine yapılan bir çalışmada, soya fasulyesinde, 213 izolat arasında 21 MUG tanımlanmış ve her MUG

bir DNA fingerprintle ilişkili olarak bulunmuş, 5 MUG birden fazla DNA fingerprintle ilişkili olduğu belirlenmiştir (Hambleton ve ark., 2002). Ülkemizde benzer şekilde, Akdeniz bölgesinde domateslerden elde edilen 58 izolatın eşleştirilmesiyle 17 MUG elde edilmiş, aynı seradaki izolatlarda uyumun, farklı seralardan alınan izolatlar arasında uyumsuzluğun daha fazla olduğu, ancak aynı sera içerisindeki izolatlar arasında da uyumsuzluk olduğu rapor edilmiştir (Tok ve Kurt, 2007).

Bölgelerin kendi içerisindeki açılımı daha azdır. Kırksekiz adet MUG'a bakıldığında bölgelerdeki populasyonlarda klonal bir nesilden söz edilebilir. Ancak köprü izolatların varlığı bölge içerisindeki varyasyonu artırıcı bir özellik olmaktadır. Bu da gen geçişinin bölge içerisinde daha az olduğu, mesafelerin artmasıyla arttığı; evrimleşme sürecinde genetik çeşitlenme olabileceği düşüncesini öne çıkarmaktadır. Örnek olarak MUG 21, MUG 24, MUG 28, MUG 32, MUG 33 ve MUG 34 ele alındığında içerdiği izolatların çoğu birbirinin aynısıdır. Aralarındaki bir iki izolat fark bulunmasıyla 5 gruba ayrılmıştır. Dolayısıyla köprü izolatlar denilen geçiş izolatları ortaya çıkmıştır. Bu geçiş izolatları, heterojenliği arttıran faktörler olarak göze çarpmaktadır.

Birçok filamentöz fungusta türün kendi bireyleri arasında heterokaryon form oluşturarak aseksüel bir birleşme söz konusu olmaktadır. Bu yapıya dahil olan bireyler vejetatif olarak uyumlu olmakta ve aynı vejetatif uyumlu gruba (VCG) girmektedirler (Leslie, 1996). Ancak VCG'lerde birleşme esnasında hücreler arası çekirdek geçişi görülmektedir. Bu durum MUG için bilinmemektedir (Leslie, 1993).

MUG'ı belirlenen 116 izolat, yapay besi ortamında gelişimleri sonucu değişen sayılarda sklerot üretmişlerdir. İzolatlar arasında oluşturdukları sklerot sayıları bakımından fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (SAS varyans Tukey testi). Aynı şekilde sklerot ağırlıklarında da fark önemlidir. Ancak yapılan SAS programındaki PCC testine göre sklerot sayıları ile sklerot ağırlıkları arasında bir ilişki bulunamamıştır. Birbirine yakın ağırlıkta skleroların sayı bakımından farklı olduğu, ya da aynı sayıda sklerot üreten izolatların sklerot ağırlıklarının farklı

olabileceği görülmüştür. İzolatların büyük çoğunluğu beyaz renkli koloni oluşturmakta ve kolonilerde petrinin kenarında tek sıra sklerot oluşturma özelliğindedir. Kolzada daha önce yapılan çalışmada da benzer sonuçlar rapor edilmiştir. İzolatlarda beyaz, bej ve kahverengi renklenme görülmüş ve dahil oldukları MUG renklenme ile ilişkili bulunmamıştır (Mert-Türk ve ark. 2007). Farklı konukçu ve bölgelerden elde edilen 24 izolatın oluşturdukları sklerotların ağırlıkları, Sun ve ark. (2005)'nin çalışmasında 2-473 mg arasında değişmiştir. Toplam 116 izolattaki morfolojik karakterlerdeki varyasyon genetik çeşitliliğin bir başka göstergesidir.

Bir diğer çalışma, belirlenen MUG'larına göre 116 izolat arasından seçilen 52 izolatın marul yapraklarındaki patojenitelerinin belirlenmesidir. Deneme sonlandırıldığında hiçbir gelişim göstermeyen, dolayısıyla lezyon oluşumu gözlenmeyen iki izolat bulunmuştur. Bu izolatlardan M110, MUG 14 grubunda olup yalnızca kendine uyumlu olan bir izolattır. M38 nolu izolat ise MUG 34'da yer almaktadır. M58 ve M80 ise yaprakta en geniş lezyon oluşturma yeteneğinde olan izolatlardır. Bu izolatlar sırasıyla, MUG 35, 36 ve MUG 40, MUG 41, MUG 43'da bulunmaktadırlar. Bölgeler bazında bakıldığında da bu denemede kullanılan Sarıcaeli'ne ait 29 izolat arasında farklılıklar görülmektedir. Aynı durum Tuzla bölgesine ait izolatlarda da görülmektedir. MUG'da yalnızca kendine uyumlu olan izolatlar, yapraktaki lezyon çapı bakımından birbirinden ve diğerlerinden genelde farklı bulunmuştur. M32 ve M45 izolatları MUG 28 hariç dahil oldukları diğer MUG'lar aynı olan iki köprü izolatıdır. Bu iki izolatın oluşturmuş olduğu lezyon çapları da aynı bulunmuştur. Yine aynı şekilde aynı gruplara dahil M60 ile M20 arasında da lezyon çapı bakımından istatistiki olarak fark yoktur. Bu durum MUG ile patojenite arasında bir ilişki olabileceğini göstermektedir. Tok ve Kurt (2007)'nin çalışmalarındaki 38 izolatın oluşturduğu 17 MUG, 6 patojenik gruba ayrılmıştır. Bu gruplar arasındaki fark önemli bulunurken, yakın mesafeden alınan izolatlar genetik olarak birbirine yakın olarak kaydedilmiştir. Patojenisitede kullanılan 52 izolat ile dahil oldukları MUG'lar karşılaştırıldıklarında iki veri birbirine paralellik göstermektedir. Ancak bu durumu bozan izolatlarda mevcuttur ama bu muhtemelen köprü izolatlardan kaynaklanmaktadır.

Çanakkale yetiştiricilik bakımından ürün deseni geniş olan bir bölgedir. Patojenin konukçuya özelleşmiş olmaması izolatlar arasındaki varyasyonun artmasına sebep olabilmektedir. Tüm sonuçlar ışığında genetik çeşitlilik fazladır ve birbirine uyumsuz koloniler birbirinden ayrı muhtemel klonlardır.

Genetik varyasyon, dayanıklı konukçulara karşı artan virülenslik ve kimyasallara karşı artan dayanıklılık sorunlarını beraberinde getirmekte ve bunlarda mücadeleyi zorlaştıran etmenler olmaktadır.

Fitopatojen fungus popülasyonlarında yapılan genetik çalışmalar, fungus biyolojisi, epidemiyolojisi ve evrimlerini kavramada önemli katkı sağlamakla beraber bitki hastalıklarının kontrolünde uygulanacak alternatiflerin seçiminde yarar sağlayacaktır. *S. sclerotiorum* gibi polifag, canlılık süresi uzun ve kontrolü zor bir patojenin popülasyon genetiğinin araştırılması önem taşımaktadır. Yapılan bu çalışma, dünya ve özellikle ülkemiz için buna bağlı çalışmalara bu anlamda katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu konuda daha ayrıntılı bir çalışma yapılması faydalı olacaktır. Bu bağlamda MUG'u destekleyecek moleküler çalışmaların yapılması gerekmektedir. Birkaç moleküler yöntemin bir arada kullanılması, ayrıca klonların abiyotik faktörlere olan tepkilerinin belirlenmesi daha yararlı olacaktır. Farklı konukçulardan da *S. sclerotiorum* popülasyonların toplanması ve farklı konukçularda virülensliğinin belirlenmesi daha ayrıntılı veri elde edilebilmesine olanak sağlayacak ve bölgenin popülasyon yapısı detaylı olarak saptanacak, böylece mücadele stratejilerinin belirlenmesine olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Adams, P.B. and Ayers, W.A. (1979) Ecology of *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, 69, 896–898.
- Aksay, A., Çınar, Ö. Ve Biçici, M., 1986. Beyaz çürüklük etmeni *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary'nin savaşımında solarizasyon ve biyolojik müzadele olanaklarının araştırılması. Türkiye 1. Biyolojik Mücadele Kongresi, Adana 12-14 Şubat.
- Anderson J.B. ve L.M. Kohn. 1995. Clonality in soilborne, plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 33: 369-391.
- Anonim, 2007a. <http://www.bitkisagligi.net>.
- Anonim, 2007b. <http://www.wikipedia.com>
- Anonim, 2002. <http://www.canakkale-tarim.gov.tr>
- Atallah, Z.K., Larget, B., Chen, X. ve Johnson, D.A., 2004. High genetic diversity, phenotypic uniformity and evidence of outcrossing in *Sclerotinia sclerotiorum* in the Columbia Basin of Washington State. *The American Phytopathological Society*. 94(7):737-742.
- Aybak, Ç.H., 2002. Salata/Marul yetiştiriciliği. Hasad Yayıncılık. ISBN 975-8377-20-5.
- Balloux F. ve N. Lugon-Moulin, 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Mol. Ecol.* 11 (2): 155-165
- Boland, G.J. ve R. Hall. 1988. Numbers and distribution of apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* in relationship to white mold of white bean (*Phaseolus vulgaris*). *Can. J. Bot.* 66:247-252

- Boland ve Hall, 1994. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. Can. J. Plant Pathol. 2: 93-108.
- Carpenter, M. A., Frampton, C. ve Stewart, A., 1999. Genetic variation in New Zealand populations of the plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, Vol.27: 13-21.
- Christias, C. and Lockwood, J.L. (1973) Conversion of mycelial constituents in four sclerotium forming fungi in nutrient deprived conditions. Phytopathology, 63, 602–605.
- Coley-Smith, J.R. ve R.C. Cooke. 1971. Survival and germination of fungal sclerotia. Annu. Rev. Phytopathol. 9: 65-92.
- Cubeta, M.A., B.R. Cody, Y. Kohli ve L.M. Kohn. 1997. Clonality in *Sclerotinia sclerotiorum* on infected cabbage in Eastern North Carolina. Phytopathology. 87: 1000-1004.
- Durman, S.B., Menendez, A.B. ve Godeas, A.M., 2001. Mycelial compatible groups in *Sclerotinia sclerotiorum* from agricultural fields in Argentina. The XI th International Sclerotinia Workshop, 8-12 Temmuz 2001, İngiltere. Syf;30-31.
- Ferreira, S. A. and Boley, R.A.,1992. *Sclerotinia sclerotiorum*.
- Ghasolia, R.P. ve Shivpuri, A., 2007. Morphological and pathogenic variability in rapeseed and mustard isolates of *Sclerotinia sclerotiorum*. Indian Phytopathology. 60(1): 76-81.
- Hambleton, S., C. Walker and L.M. Kohn. 2002. Clonal lineages of *Sclerotinia sclerotiorum* previously known from other crops predominate in 1999-2000 from Ontario and Quebec. Can. J. Plant Pathol. 24: 309-315.
- Hedrick, P.W. 1999. Perspective: Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. Evolution. 53: 313-318.
- Hoyte, S.M., Carbone, I. ve Kohn, M, (2001). Isolate variability amongst *Sclerotinia sclerotiorum* from New Zealand kiwifruit orchards. The XI th International Sclerotinia Workshop, 8-12 Temmuz 2001, İngiltere. Syf; 100-101.

- Huang, H.C., Yanke, L.J. ve Phillippe, R.C., 1993. Bacterial suppression of basal pod rot and end rot of dry peas caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. Can. J. Microbiol. 39:227-233.
- Irzykowski, W., JunMing, S., QiangSheng, L., Tongchun, G., Shumin, H., Agvedo, A. ve Jedryczka, M., 2004. DNA polymorphism in *Sclerotinia sclerotiorum* isolates from oilseed rape in China. Bulletin OILB/SROP. 27(10):67-74.
- Irzykowski, W., Saldatova, V., Gasich, E., Razgulaeva, N. ve Jedryczka, M., 2005. RAPD analysis of Russian and Polish isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* from crucifers. Bulletin OILB/SROP. 28(10):69-81.
- Jimenez, H., Grunwald, N., Kohn L. ve Chen, W., 2004. Population Structure of *Sclerotinia Sclerotiorum* in a Pea Field in the Pacific Northwest. Phytopathology, Abstract.
- Kohn, L.M., I. Carbone, J.B. Anderson. 1990. Mycelial interactions in *Sclerotinia sclerotiorum*. Exp. Mycol. 14: 255-267.
- Kohn, L.M., E. Stasoviski, I. Carbone, J. Royers, J.B. Anderson. 1991. Mycelial incompatibility and molecular markers identify genetic variability in field populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. Phytopathology. 81: 480-485.
- Kohli, Y. ve Kohn LM. Mitochondrial haplotypes in populations of the plant-infecting fungus *Sclerotinia sclerotiorum*: Wide distribution in agriculture, local distribution in the wild. Mol. Ecol. 5 (6): 773-783.
- Kull, L. S., Pederson, W.L. ve Hartman, G.L., 2001. Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*. The XI th International Sclerotinia Workshop, 8-12 Temmuz 2001, İngiltere. Syf:26-27.
- Kull, L. S., Pederson, W.L., Palmquist, D. ve Hartman, G.L., 2004. Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Disease. 88:325-332.

- Laemmlen, F. Sclerotinia Diseases- Symptoms, Signs and Management
<http://ucce.ucdavis.edu/files/filelibrary/2028/23062.pdf>
- Leslie, J. F., 1993. Fungal vegetative compatibility. *Annu. Rev. Phytopathology*. 31: 127-151.
- Leslie, J. F., 1996. Fungal vegetative compatibility-promises and prospects. *Phytoparasitica*, 24(1) 3-6.
- Le Tourneau, D. (1979) Morphology, cytology and physiology of *Sclerotinia* species in culture. *Phytopathology*, 69, 887–890.
- Lumsden, R.D. (1979) Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, 69, 890–896.
- Lumsden, R.D. and Dow, R.L. (1973) Histopathology of *Sclerotinia sclerotiorum* infection of bean. *Phytopathology*, 63, 708–715.
- Malvarez, G., Carbone, I. ve Grünwald, N.J., 2007. New populations of *Sclerotinia sclerotiorum* from lettuce in California, peas and lentis in Washington. *Phytopathology* 97 (4) : 470-483.
- McQuilken, M.P., Mitchell, S.J., Budge, S.P, Whipps, J.M., Fenlon, J.S. ve Archer, S.A., 1995. Effects of on sclerotial survival and apothecial production of *Sclerotinia sclerotiorum* in field-grown oilseed rape. *Plant Pathology*. 44:883-896.
- Melvin D. Bolton, Bart P. H. J. Thomma and Berlin D. Nelson, 2006. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular Plant Pathology* 7 (1), 1-16.
- Mermer-Doğu, D., Mert-Türk, F. ve Yıldırım, İ., 2007. Çanakkale Merkez’de Lahanagillerde Beyaz Çürüklük Etmeni *Sclerotinia sclerotiorum*’un Yaygınlığının ve İzolatlar Arasındaki Varyasyonun Saptanması. II. Bitki Koruma Konresi, Isparta. syf 282.

- Mert-Türk F., İpek, M., Mermer, D ve Nicholson, P., 2007. Microsatellite and morphological markers reveal genetic variation within a population of *Sclerotinia sclerotiorum* from oilseed rape in Çanakkale province of Turkey. *Journal of Phytopathology*.
- Mert-Türk, F. ve Mermer, D., 2005. Çanakkale’de örtüaltında yetiştirilen marullarda *Sclerotinia sclerotiorum*’un yaygınlığının ve miselyal uyum gruplarının saptanması. *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*. 9(1-2):1-8.
- Nelson , B., 1998. Biology of *Sclerotinia*. *Proceedings of the Sclerotinia Workshop*
- Powell, J.F. ve J.M. Vargas. 2001. Vegetative compatibility and seasonal variation among isolates of *Sclerotinia homoeocarpa*. *Plant Dis.* 85 (4): 377-381
- Price, K. ve J. Calhoun. 1975. Pathogenicity of isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Barry to several hosts. *Phytopathol. Z.* 83:232-238.
- Purdy, L.H. 1979. *Sclerotinia sclerotiorum* - history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. *Phytopathology* 69 (8): 875-880.
- Rollins, J.A. and Dickman, M.B. (2001) pH signaling in *Sclerotinia sclerotiorum*: identification of a pacC/RIM1 homolog. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 75–81.
- Saitoh, Ken-ichiro, Togashi, K. Arie, T. ve Teraoka, T, 2006. A simple method for a mini-preparation of fungal DNA. *J. Gen. Plant Pathol.*72:348-350.
- SAS Institue, 1999. *SAS/STAS User’s Guide*. SAS. Inst. Inc. Carry NC.
- Sexton, A.C., Whitten, A.R. ve Howlett,B.J., 2006. Population structure of *Sclerotinia sclerotiorum* in an Australian canola field at flowering and stem-infection stages of the disease cycle. *Genome* 49 (11) : 1408-1415.

- Singleton, L.L., Mihail, J. D., Rush, C. M., 1992. Methods For Research on Solilborne Phytopathogenic Fungi. 0-89054-127-2; 74-78.
- Subbaro, K.V., 1998. Progress toward integrated management of lettuce drop. Plant Disease. 82(10):1068-1078.
- Sun, J.M., Irzykowski, W., Jedryczka, M. and Han, F.X., 2005. Analysis of the Genetic Structure of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary Populations from Different Regions and Host Plants by Random Amplified Polymorphic DNA Markers. Journal of Integrative Plant Biology. 47 (4): 385-395.
- Townsend, B.B. and Willetts, H.J. (1954) The development of sclerotia in certain fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 37, 213–221.
- Wegulo, S. N., X. B. Yang ve C.A. Martinson. 1998. Soybean cultivar responses to *Sclerotinia sclerotiorum* in field and controlled environmental studies. Plant Dis. 82: 1264-1270.
- Winton, L.M., Leiner, R.H. ve Krohn, A.L., 2006. Genetic diversity of *Sclerotinia* species from Alaskan vegetable crops. Canadian Journal of Plant Pathology, 28 (3) : 426-434.
- Wu, B.M. ve Subbarao, K.V., 2006. Analyses of lettuce drop incidence and population structure of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotinia minor*. Phytopathology. 96 (12):1322-1329.
- Vanderkoornhuyse, P., C. Leyval ve I. Bonnin. 2001; High genetic diversity in arbuscular mycorrhizal fungi: evidence for recombination events. Heredity. 87: 243-253.
- Venette, J., 1998. *Sclerotinia* spore formation, transport, and infection. Proceedings of the *Sclerotinia* Workshop.

- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., and Zabeau M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23:4407-4414.
- Yanar, Y., 1997. Pathogenesis of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary on pepper (*Capsicum annum* L.). Doktora tezi. Ohio State Uni. 136 syf.
- Yanar, Y., 2005. Tokat iklim koşullarında *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary'un sclerotium canlılığı üzerine solarizasyonun etkisi. G.O.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi. 22(1), 15-19.
- Yuen, G.Y., Craig, M.L., Kerr, E.D. ve Steadman, S.R., 1991. Epiphytic colonization of dry edible bean by bacteria antagonistic to *Sclerotinia sclerotiorum* and potential for biological control of white mold disease. *Biol. Control.* 1:293-301.
- Yücer, M.M., 2007. Ruhsatlı Tarım İlaçları 2007. Hasad Yay. ISBN 975-8377-16-7.
- Zandoki, E., Szodi, S. ve Turoczi, G., 2006. Mycelial compatibility, aggressiveness and cultural characteristics of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Acta Agronomica Ovariensis.* 48(1):31-39.

TABLÖLAR

| | Sayfa |
|---|--------------|
| 3.1. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> izolatlarının orijinleri, sayıları ve numaraları..... | 17 |
| 4.1. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> izolatları arasındaki miselyal uyum grupları..... | 23 |
| 4.2. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> izolatlarının morfolojik özellikleri | 29 |
| 4.3. Virülenslik çalışmasında kullanılan izolatlar ve dahil oldukları miselyal uyum grupları | 33 |
| 4.4. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> izolatlarının marul yapraklarında oluşturdukları lezyon çapları | 35 |

ŞEKİLLER

| | Sayfa |
|--|--------------|
| 1.1. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> sklerotlarının çimlenmesi..... | 3 |
| 1.2 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'un mikroskopta 40x büyütmede hiflerinin görünümü.... | 3 |
| 1.3. İnfekteli marulda <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'un oluşturduğu düzensiz, farklı büyüklükteki sklerotlar..... | 5 |
| 1.4. Sklerotun iç görünümü | 6 |
| 1.5. Sklerotal gelişim safhaları | 6 |
| 1.6. Çanakkale'de marul yetiştirilen seralar..... | 8 |
| 3.1. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> izolatları arasında miselyal uyum gruplarının saptanması | 18 |
| 4.1. Çanakkale İlinde <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> sürveyi gerçekleştirilen örtüaltı marul yetiştirilen bölgeler | 20 |
| 4.2. Seralarda <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ile enfekteli marul bitkileri | 21 |
| 4.3. Miselyal Uyum Gruplarının içerdikleri izolat sayıları | 24 |
| 4.4. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'un kolonide oluşturduğu sklerotlar..... | 28 |
| 4.5. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> kolonilerinin oluşturduğu renkler | 30 |
| 4.6. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> izolatlarının yapay besi ortamında oluşturdukları sklerot sayıları..... | 31 |
| 4.7. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> izolatlarının yapay besi ortamında oluşturdukları sklerot ağırlıkları..... | 32 |
| 4.8. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> izolatlarının marul yapraklarında oluşturdukları lezyon çapları..... | 34 |
| 4.9. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ile inokule edilmiş marul yapraklarının üç günlük gelişimi sonunda oluşturdukları lezyonlar | 34 |

YAŞAM ÖYKÜSÜ

1980 yılında Ankara'da doğdu. İlkokul, ortaokul ve liseyi Ankara'da tamamladı. 1998 yılında Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nü kazandı ve 2003 yılında mezun oldu. 2005 yılında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Bölümü'nde Yüksek Lisansa başladı. Halen Bitki Koruma Anabilim dalında, araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.