

Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

<http://dergipark.gov.tr/bitkorb>

Original article

Characterization and prevalence of disease agents of root rot and wilt disease on sweet almond trees grown in Diyarbakır province

Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarında sorun olan kök çürüklüğü ve solgunluk hastalık etmenlerinin karakterizasyonu ve yaygınlığı

Zekiye Ceren AKTAN^a, Soner SOYLU^{b*}, Osman ÇİFTÇİ^a, Şahimerdan TÜRKÖLMEZ^c

^aDiyarbakır Plant Protection Research Institute, Silvan Karayolu 7. km., PK.115 21110 Sur, Diyarbakır, Turkey

^bHatay Mustafa Kemal University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Antakya, Hatay, Turkey

^cGAP Agricultural Research Institute, Paşabağı Mah., Recep Tayyip Erdoğan Bulvarı, No:106 PK:75 63040 Haliliye, Şanlıurfa, Turkey

ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.561427](https://doi.org/10.16955/bitkorb.561427)

Received : 07.05.2019

Accepted : 02.12.2019

Keywords:

sweet almond, *Fusarium*,
Ceratobasidium, *Macrophomina*,
Sclerotinia

* Corresponding author: Soner SOYLU

✉ soylu@mku.edu.tr

ABSTRACT

Sweet almond (*Prunus dulcis* L.) is one of the most important nut fruit growing in South East Anatolia region of Turkey. It has been reported that root rot and wilt diseases of almond are caused by soil originated fungal disease agents which cause significant losses in almond production throughout the world. Root rot and wilt disease of almond may be caused by or a combination of several common soil-borne fungal species. During the spring of 2017, almond orchards and nurseries located in Diyarbakır province were surveyed to evaluate the prevalence and incidence of the fungal disease agent(s) causing root-foot rot and wilt diseases on randomly selected sweet almond trees/seedlings. Several root and crown tissues were collected from suspicious almond trees/seedlings showing poor growth, yellowing, and wilting and death symptoms. All isolates were subjected to pathogenicity test and all were identified according to morphological and molecular methods. According to the results of fungal isolations from roots, crowns and stems collected from suspicious almond plants indicated that the most frequently encountered soil-borne fungal disease agent isolated and characterised in surveyed districts was *Fusarium oxysporum* (*Fusarium* wilt disease agent) with the 28.9% prevalence and 38.0% incidence which was followed by *Macrophomina phaseolina* (Charcoal rot disease agent) with the 24.6% prevalence and 21.5% incidence, *Sclerotinia sclerotiorum* (white mold disease agent) with 19.3% prevalence and 11.3% incidence and *Ceratobasidium* sp. (*Ceratobasidium* root rot disease agent) with the 16.7% prevalence and 18.3% incidence. To the best of our knowledge, this is the first report of *Ceratobasidium* sp., *F. oxysporum*, *M. phaseolina* and *S. sclerotiorum* causing almond root rot and wilt diseases in Turkey.

GİRİŞ

Dünya kabuklu meyve yetiştiriciliğinde önemli bir yere sahip olan tatlı bademin (*Prunus dulcis* Mill.), ülkemizde

başlangıçta sadece Ege, Akdeniz ve Doğu Anadolu Bölgeleri ile sınırlı iken doğa şartlarına adaptasyon yeteneğinin yüksek

olmasının yanısıra pazardaki talebin artmasıyla son yıllarda yetiştiriciliği ülkemizde giderek yaygınlaşmaktadır (Aslantaş and Gülyüz 1999). Son yıllarda, özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde badem yetiştiriciliği yapılan alanların arttığı gözlenmektedir.

Dünya badem üretimi 3.214.303 ton olup, en fazla badem üretimi yapan ülkelerin başında sırasıyla ABD, İspanya, İran, Fas, Suriye ve Türkiye yer almaktadır (Anonymous 2018). Ülkemizde 2018 yılı itibarıyla 90 bin ton badem üretimi gerçekleşmiş olup, Diyarbakır ilinin ülkemizdeki badem üretimine katkısı 3.080 tondur (TÜİK 2018).

Badem üretim alanlarında verimi ve kaliteyi etkileyen faktörler içerisinde hastalık ve zararlılar önemli yer tutmaktadır. Toprak kökenli fungal hastalık etmenleri ülkemizde olduğu gibi tarım yapılan dünyanın tüm ülkelerinde mücadelesi zor olan hastalıklardır (Martin 2003). Dünyanın önemli badem yetiştiriciliği yapılan bölgelerinde yapılan survey çalışmalarında badem ağaçlarında kök ve kökboğazı çürüklüğüne toprak kökenli fungal hastalık etmenlerinden *Phomopsis amygdali* (Martins et al. 2002), *Phytophthora* spp. (Browne 2017, Wicks et al. 1997), *Fusarium* spp. (Beck et al. 2008 a,b, Gouk 2014), *Verticillium dahliae* (Gouk 2014) etmenlerinin neden olduğu bildirilmiştir. Ülkemizde badem alanlarında önemli verim kayıplarına neden olan toprak kökenli fungal hastalıklar ve etmenleriyle ilgili ise oldukça sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ege, İç Anadolu ve Doğu Anadolu Bölgeleri'nde gerçekleştirilen survey çalışmalarında, badem ağaçlarında dal ve sürgün kurumalarına *Phomopsis* sp. ve *Cytospora* sp.'nin yanısıra *Phytophthora* spp.'ye ait oomycete izolatlarının neden olduğu; badem fidanlarının kök ve kökboğazı bölgelerinde çürüklük belirtileri oluşturduğu bildirilmiştir (Çeliker ve Poyraz 2007, Çiftçi et al. 2016, Kurbetli and Değirmenci 2010, Kurbetli and Değirmenci 2011, Kurbetli and Yılmaz 2015, Türkölmez et al. 2016).

Yapılan bu çalışmada, Diyarbakır ilinin önemli badem yetiştiriciliği yapılan alanlarında ve fidanlıklarındaki bademlerde kurumalara neden olan toprak kökenli fungal hastalık etmenlerinin teşhisleri ve yaygınlık oranları belirlenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Badem fungal kök çürüklük hastalık etmenlerinin surveyi

Badem fidan ve genç ağaçlarında kurumalara neden olan hastalık etmenlerinin belirlenmesine yönelik survey, 2016 yılı Tarım İl Müdürlüğü verileri göz önünde alınarak planlanmıştır. Diyarbakır ilinde badem yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı alanlarda 2017 yılı üretim sezonunda

surveyle yapılmak suretiyle hastalık belirtileri gösteren ağaç, fidan ve çöğürlerden örnekler alınmıştır (Şekil 1). Toplanan şüpheli bitki örnekleri, kağıt torbalara konulup etiketlenmiş, daha sonra hastalık teşhisi için laboratuvara getirilmiş ve izolasyonlar yapıncaya kadar +4 °C'de saklanmıştır.



Şekil 1. Fungal hastalık etmenleri *Fusarium oxysporum*, *Ceratobasidium* sp., *Macrophomina phaseolina* ve *Sclerotinia sclerotiorum* etmenlerinin izole edildiği solgunluk, kök ve kökboğazı çürüklüğü belirtileri gösteren badem çöğürleri

Fungal hastalık etmenlerinin izolasyonu

Laboratuvara getirilen hastalıklı bitki örnekleri çeşme suyunda yıkanarak kaba kalıntılarından arındırılmış, enfekteli doku parçaları, sağlam dokuyu da içerecek şekilde 3-5 mm büyüklükte kesilerek, %1'lik NaOCl'de birkaç dakika yüzey sterilizasyonu yapılmış, 5 kez steril distile suda yıkandıktan sonra steril kurutma kağıtları üzerinde, tamamen kuruyuncaya kadar, steril kabin içerisinde bekletilmiştir. Bu doku parçaları içerisinde 50 µg ml⁻¹ streptomisin sülfat içeren standart Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck, Darmstadt, Germany) besiyeri veya seçici besiyeri içeren Petri kaplarına, her Petriye 5 parça olacak şekilde, yerleştirilmiştir. Ekimi yapılan Petriyerler 24 °C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Besi yerleri üzerine ekimi yapılan dokulardan gelişen fungal izolatların, uç kısmından alınan misel parçaları yeni besi yerlerine aktarılacak suretiyle saflaştırmalar yapılmıştır.

Patojenite testleri

Hastalıklı bitkilerden elde edilen *Macrophomina phaseolina*, *Ceratobasidium* sp., *Fusarium oxysporum* ve *Sclerotinia sclerotiorum* izolatları PDA besiyeri üzerinde 7 gün boyunca gelişmeye bırakılmıştır. Fungusların inokulum süspansiyonu, besiyeri yüzeylerinin fungus misel/sporları ile kapladığı 5 Petri içeriğinin 500 ml steril saf suda düşük hızda (200 rpm) 1 dk. karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanan

süspansiyonun konsantrasyonu *F. oxysporum* için 10^5 spor/ml, *M. phaseolina*, *Ceratobasidium* sp. ve *S. sclerotiorum* için 10^5 propagül/ml olacak şekilde ayarlanmıştır.

Patojenisite çalışmalarında kullanılacak 1 yaşındaki badem çöğürlerinin kök bölgeleri makasla tıraşlanarak yaralandıktan sonra, kökleri hazırlanan spor/propagül süspansiyonuna daldırılmış ve içerisinde 5 dk. bekletilmiştir. Kökleri hastalıkla bulaştırılmış olan çöğürler daha önceden steril edilmiş torf : toprak : çiftlik gübresi (1:1:1) karışımı doldurulmuş 3 kg'lık fidan tüplerine şaşırtılmıştır. Diğer bir inokulasyon şeklinde ise sağlıklı bir şekilde gelişme gösteren badem çöğürlerinin kök boğazı bölgesinde veya gövde üzerinde steril kürdan veya bistüri ile açılan 1 mm büyüklüğünde yaraların içerisine fungus kültüründen alınan besi ortamı misel parçacıkları doğrudan yerleştirilmiş ve üzerleri parafilm ile sarılmıştır. İnokulasyonu yapılmış çöğürler 16:8 aydınlık/karanlık fotoperiyotta, 20-24 °C sıcaklığa ayarlanmış iklim odalarında 4 hafta süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Hastalığın teşviki için çöğürler gün aşırı sulanarak topraklarının su ile doygun olarak kalması sağlanmıştır.

Çöğürler inokulasyondan 4 hafta sonra sökülmüş, kök boğazı seviyesinden kesilmek suretiyle kök ve iletim demetlerindeki renk değişimleri ve nekroz gibi belirtiler esas alınarak hastalık oluşumu değerlendirilmiştir. Hastalık etmenleri inokulasyon noktalarında ortaya çıkan belirtilerden tekrar izole edilmiş ve orijinal izolatlarla karşılaştırılmıştır. Orijinal izolatlara benzeyen re-izolatlara, benzer teşhis yöntemleri uygulandıktan sonra, türleri teyit edilen izolatlar denemelerde kullanılmış ve stok olarak +4 °C'de PDA besi yerlerinde korunmuştur.

Hastalık etmenlerin tanılanması

Patojenisite testleri sonucu elde edilen re-izolatların morfolojik yönden teşhisleri misel, sklerot ve spor gibi aseksüel yapılarının mikroskop altında incelenmesiyle *Ceratobasidium* sp.'nin teşhisi Sneh et al., 1991; *S. sclerotiorum*'un teşhisi Mordue and Holliday (1976); *M. phaseolina*'nın teşhisi Holliday and Punithalingam (1970); *F. oxysporum*'un teşhisi Nelson et al. (1983)'e göre yapılmıştır. *Fusarium* türlerinin teşhislerinde PDA besiyerinin (koloni morfolojileri, pigmentasyon ve büyüme oranları baz alınmış) yanısıra, klamidospore, mikro ve makrokonidilerin teşvik edildiği Karanfil Yaprak-Parçacık Agar (Carnation Leaf-Piece Agar, CLA), besiyeri kullanılmıştır (Nelson et al. 1983).

Elde edilen fungal izolatlardan *M. phaseolina*, *Ceratobasidium* sp., *F. oxysporum*'un moleküler teşhisi, ITS-4 ve ITS-6 primer çifti ile rDNA'nın ITS bölgesi, NL1 ve NL4 primer çifti ile LSU rDNA gen bölgesi çoğaltıldıktan sonra, nükleotid sekansları kullanarak BLAST analizi ile doğrulanmıştır. Bu amaçla,

re-izolatların besi ortamından alınan miselleri (300 mg) toplam genomik DNA izolasyonu yapmak için, sıvı nitrojen içeren steril havanlar içerisinde toz haline getirilmiştir. Bu misellerden genomik DNA izolasyonu, DNeasy Mini Kiti (Qiagen, Valencia, CA) kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokollere göre yapılmıştır. İzolatların rDNA'larının ITS bölgeleri ITS-6 (5' GAAGGTGAAGTCGTAACAAGG 3') ve ITS-4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') (White et al. 1990) primerleri; LSU rDNA gen bölgesi ise NL1 (5' GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG 3') ve NL4 (5' GGTCCGTGTTTCAAGACGG 3') primerleri (Baten et al. 2015, O'Donnell 1993) ile daha önceden bildirilen PCR yöntemleri kullanılarak çoğaltılmıştır. PCR koşulları ve programı Camele et al. (2005)'e göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre, 94 °C'de 2 dk. denatürasyondan sonra, 94 °C'de 30 sn, 55-58 °C'de 30 sn, 72 °C'de 30 sn'den oluşan 35 döngü ve 72 sn'de 10 dk. amplifikasyon koşulları uygulanmıştır. PCR ürünleri, %1-1.5'lük agaroz jel ile elektroforeze tabi tutulmuş ve EtBr ile boyanarak jel görüntüleme sisteminde oluşan bantlar görüntülenmiştir. Sekanslar BLAST analizi yapılarak GenBankasında (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) yer alan sonuçlar ile kıyaslanmıştır.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Badem kök ve kökboğazı çürüklük hastalık etmenlerinin izolasyonu ve tanılanması

2017 yılında Diyarbakır ili badem fidanlıklar ve bahçeleri ve toprak kökenli hastalık etmenlerinin tespitine yönelik arazi çalışmaları yapılmış olup bölgede yapılan sürvey çalışmaları sonucunda 3'ü fidanlıklar 45'i bahçe olmak üzere toplam 48 yetiştirme alanında yapılan sürveylerde hastalık belirtisi gösteren fidan/ağaçlardan toplam 95 bitki örneği alınmıştır (Çizelge 1). Sürvey yapılan ilçelerde solgunluk (tek yanlı kuruma veya sararma, gelişmede durgunluk, yaprakların küçük, seyrek ve erkenden sararak dökülmesi, geriye doğru ölüm ve ağaçların tamamen kuruması vs.) ve kök ve kökboğazı çürüklüğü belirtisi gösteren ağaç/fidanlarla Dicle ilçesinde daha fazla sıklıkla karşılaşılmış olup, hastalığın görüldüğü diğer ilçeler sırasıyla Eğil, Ergani, Merkez, Bismil, Kocaköy ve Çınar ilçeleri olmuştur. Hastalığın gözlemlendiği alanlardan alınan şüpheli örneklerden (Şekil 1) izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Her örneğin, besi yerlerinde gelişen farklı morfolojik yapıya sahip izolatlarından saflaştırmaya gidilmek suretiyle hastalık etmen(ler)inin izolasyonları sağlanmıştır (Şekil 2). Saf tek spor ve/veya miselden elde edilen izolatlar çöğürlere tekrar inoküle edilmiş ve inokulasyondan 4 hafta sonra sökülerek kök boğazı seviyesinden kesilmek suretiyle kök ve iletim demetlerindeki renk değişimleri ve nekroz gibi belirtiler esas alınarak hastalık oluşumu değerlendirilmiştir. Hastalık etmenleri inokulasyon noktalarında ortaya çıkan

belirtilerden tekrar izole edilmiş ve orijinal izolatlarla karşılaştırılmıştır. Patojenite testleri sonucunda patojen olduğu belirlenen re-izolatların genel ve seçici besi yerlerindeki morfolojik özellikleri kullanılarak teşhisleri yapıldıktan sonra, ITS4/ITS6 primer çifti ile rDNA'nın ITS bölgesi, NL1 ve NL4 primer çifti ile LSU rDNA gen bölgeleri amplifiye edilmiş olup, sonuçta 600-700 bp arasında fragmentler elde edilmiştir. Elde edilen patojenik izolatlara ait nükleotid sekansları NCBI GenBankasında bulunan sekanslar ile BLAST analizi ile karşılaştırılarak moleküler tür teşhisleri teyit edilmiştir. Bu izolatların nükleotid dizileri NCBI gen bankasına kaydedilmiştir.

Bölgede yapılan survey çalışmaları sonucunda hastalık belirtisi gösteren fidanlar/ağaçlardan elde edilen ve teşhisi yapılan fungal etmenlerin dağılımı Çizelge 2'de verilmiştir. Kök boğazında incelmeler ve kızarma/kararmaların gözlemlendiği bitkilerden yapılan izolasyon sonucunda en fazla sıklıkla karşılaşılan fungal etmen, bitkilerde solgunluk hastalığı olarak bilinen ve geniş konukçu dizilimine sahip olan *F. oxysporum*'dur. *F. oxysporum* surveyi yapılan 3 fidanlıktan toplanan şüpheli örneklerden %33.3 ila %36.4 rastlanma sıklığında, 44 bahçenin ise 8'inden toplanan şüpheli örneklerden %30 ila %50 rastlanma sıklığında olmak üzere il genelinde %28.9 yaygınlık oranında tespit edilmiştir (Çizelge 2). Kök çürüklüğü belirtisi gösteren bitki örneğinden elde

Çizelge 1. Diyarbakır ilinde survey yapılan badem alanlarında kök çürüklüğü ve solgunluk hastalık(lar)nın yaygınlığı ve rastlanma sıklıkları (%)

	Survey Yapılan İlçeler						
	Merkez	Bismil	Çınar	Kocaköy	Eğil	Dicle	Ergani
SYBS	7	4	3	5	12	10	7
SYTBA	95	150	150	55	850	800	250
HGBS	3	2	1	2	5	6	4
HY (%) ^a	42.8	50.0	33.3	40	41.6	60	57.1
HRS (%) ^b	8-31	15-27	23	11-29	14-37	10-35	17-26

^a Hastalığın survey alanındaki yaygınlığı, hastalığın gözlemlendiği bahçe sayısının bölgede toplam survey yapılan bahçeye oranı ile belirlenmiştir (%).

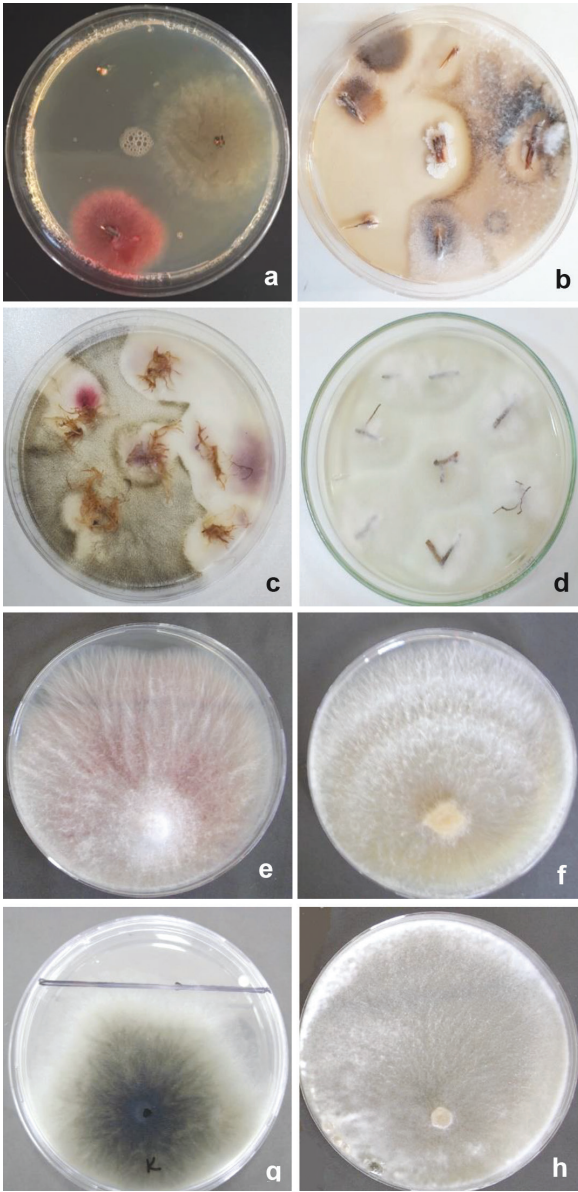
^b Hastalığın gözlemlendiği bahçelerde en az 100 bitki kontrol edilmiş olup, değerler hastalığın gözlemlendiği bahçelerde en düşük ve en yüksek kayıt edilen şüpheli bitki sayısını gösterir.

SYBS = Survey Yapılan Bahçe Sayısı; SYTBA = Survey Yapılan Toplam Bahçe Alanı (da); HGBS= Hastalık Gözlenen Bahçe Sayısı; HY= Hastalık Yaygınlığı; HRS= Hastalık Rastlanma Sıklığı

Çizelge 2. Diyarbakır ilinde survey yapılan badem alanlarından toplanan şüpheli bitki örneklerinden izole edilip teşhis edilen kök çürüklüğü ve solgunluk hastalık etmenlerinin yaygınlığı ve rastlanma sıklıkları (%)

İlçeler	SYB	HGBS	HBÖS	<i>F. oxysporum</i>		<i>Ceratobasidium sp</i>		<i>M. phaseolina</i>		<i>S. sclerotiorum</i>	
				BHY(%)	HRS(%)	BHY(%)	HRS(%)	BHY(%)	HRS(%)	BHY(%)	HRS(%)
Merkez	7	3	12	28.6	33.3	14.3	25.0	14.3	16,7	14,3	8,3
Bismil	4	2	8	25.0	37.5	50.0	25.0	0.0	0,0	50,0	25,0
Çınar	3	1	5	33.3	40.0	0.0	0.0	66.7	40,0	0,0	0,0
Kocaköy	5	2	10	40.0	50.0	20.0	20.0	40.0	30,0	20,0	10,0
Eğil	12	5	20	16.7	30.0	8.3	15.0	16.7	20,0	16,7	10,0
Dicle	10	6	22	30.0	36.4	10.0	31.8	20.0	27,3	20,0	9,1
Ergani	7	4	18	28.6	38.9	14.3	11.1	14.3	16,7	14,3	16,7
İl Genel Ortalaması				28,9	38,0	16,7	18,3	24.6	21.5	19.3	11.3

SYB = Survey Yapılan Bahçe Sayısı; HGBS= Hastalık Gözlenen Bahçe Sayısı; HBÖS= Hastalık Belirtili Örnek Sayısı; BHY=Bölgedeki Hastalık Yaygınlığı (%); HRS: Hastalığın izolasyonda Rastlanma Sıklığı (%)



Şekil 2. Hastalık belirtisi gösteren bitkilerin kök, kökboğazı ve gövdelerinden izole edilen fungal türler (a-d). Çalışmada belirlenen *Fusarium oxysporum* (e), *Ceratobasidium* sp. (f), *Macrophomina phaseolina* (g) ve *Sclerotinia sclerotiorum* (h) etmenlerinin besi yerleri üzerindeki koloni gelişimleri

edilen tipik izolatin PDA ve CLA besiyerinde gelişen kolonisi, pembe pigmentasyonlu açık beyaz renktedir. Fungusun miselleri bölmeli, şeffaf yapıda olup, klamidosporlarını tek tek veya çiftli olarak oluşturmaktadır. Yoğun şekilde oluşturulan makrokonidiler 3-5 bölmeli, uzun, ince duvarlı, hafif kıvrık ve fasulye şeklindedir. Makrokonidilerin genelde 3 bölmeli olanı daha yaygın şekilde görülmüştür. Fungusun morfolojik özelliklerinin belirlendiği mikroskopik gözlemlere ilaveten yapılan moleküler çalışmalarla fungusun genomik DNA'sının yukarıda bildirilen primerler ile çoğaltılan bölgelerinin

sekans analizleri sonucu izolatomuz %100 benzerlikle *F. oxysporum* ile eşleşmiş olup, izolatomuzun elde edilen sekansları GenBankasına yüklenmiştir (GenBank erişim No: MH071983, MH071984, MH071985, MH071986). Hastalık etmeninin ülkemizde genç badem fidanlarında kök çürüklüğüne neden olduğu ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir. Hastalığın badem fidanlarında solgunluk etmeni olarak varlığı Akbar (2005) tarafından İran'ın farklı illerindeki badem ağaçlarında yapılan sürveyler sonucunda bildirilmiştir. Benzer şekilde Beck et al. (2008 a,b), hastalık etmenini solgunluk belirtisi gösteren meyve ağaçlarındaki badem kabuklarından elde etmişler ve *F. oxysporum* izolatomuzun diğer toprak kökenli fungal hastalık etmenleri ile birlikte genç badem ağaçlarında sorun oluşturan hastalık etmeni olarak belirlemişlerdir.

Kök boğazında incelmeler ve kızarma/kararmaların gözlemlendiği bitkilerden yapılan izolasyon sonucunda elde edilen bir diğer fungal etmen ise bitkilerde kömür çürüklüğü hastalığı olarak bilinen fungal etmen *M. phaseolina*'dır. *M. phaseolina* sürveyi yapılan 3 fidanlığın birinden toplanan şüpheli örneklerden %16.7 rastlanma sıklığında, 44 bahçenin ise 9'undan toplanan şüpheli örneklerden %16.7 ila %40 rastlanma sıklığında izole edilmiş olup, hastalık etmeninin il genelinde yaygınlık oranı %24.6 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). Kök çürüklüğü belirtisi gösteren bitki örneğinden elde edilen tipik izolatin genç hifleri renksiz ve fazlaca dallanmış ve her dal birbirine paralel yapıda dallanma göstermiştir. Yaşlı hifler tipik olarak ince bölmeli ve dik dallanma şeklinde bir gelişme sergilemiştir. Bu hifler üstünde 24 °C 'de 2-3 gün içinde siyah 70-100 µm çapında düz, parlak, siyah ve şekilsiz mikro sklerotlar oluşmuştur. Fungusun genomik DNA'sının yukarıda bildirilen primerler ile çoğaltılan bölgelerinin sekans analizleri sonucu izolatomuz %100 benzerlikle *M. phaseolina* ile eşleşmiş olup, izolatomuzun elde edilen sekansları GenBankasına yüklenmiştir (GenBank erişim No: MH071987, MH071988, MH071989, MH071990). Hastalık etmeninin ülkemizde genç badem fidanlarında kök çürüklüğüne neden olduğu ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir.

Kök boğazında incelmeler ve kızarma/kararmaların gözlemlendiği bitkilerden yapılan izolasyon sonucunda elde edilen bir diğer toprak kökenli fungal etmen ise bitkilerde *Ceratobasidium* kök çürüklüğü hastalığına neden olduğu bildirilen *Ceratobasidium* sp.'dir. *Ceratobasidium* sp. sürveyi yapılan 3 fidanlığın 2'sinden alınan şüpheli örneklerde %15.0 ila %25.0 rastlanma sıklığında, 44 bahçenin ise 5'inden alınan örneklerde %11.1 ila %32.7 rastlanma sıklığında olmak üzere il genelinde ortalama %16.7 yaygınlık oranında tespit edilmiştir (Çizelge 2). *Rhizoctonia solani*'nin anaformik

dönemi olan ve *Ceratobasidium* sp. olarak teşhis edilen fungal izolat tarafından oluşturulan hastalık belirtisinin, başlangıçta gövde veya toprak seviyesine yakın yerlerdeki kök ve kök boğazında ortaya çıktığı, genellikle fide döneminde yıkıcı hasarlara neden olduğu gözlenmiştir. Hastalığın en çarpıcı belirtisi tohumların çimlenmesini takiben toprak üstüne çıkmadan ya da çıktıktan sonra ölmesi ya da fidelerin yana devrilmesi ile karakterize edilmiştir. Hastalık etmeninin gelişimi, PDA besiyerinde, *R. solani*'nin gelişimine benzer şekildedir. Oluşturduğu misellerin başlangıçta şeffaf, vakuollü ve çok nükleuslu yapıda olduğu belirlenmiştir. İnkübasyonun ileri döneminde yaşlanmaya bağlı olarak hiflerin rengi hafif sarı-kahverengine dönüşmüştür. İzolatların yan hifleri, ana hiflerden tipik olarak 90° dik açı oluşturacak şekilde dallanma göstermiştir. Dallanma noktasına yakın yerlerde bölmelerin olduğu gözlenmiştir. Fungusun genomik DNA'sının yukarıda bildirilen primerler ile çoğaltılan bölgelerinin sekans analizleri sonucu izolatımızın %100 benzerlikle *Ceratobasidium* sp. ile eşleştiği belirlenmiş olup, sekanslar GenBankası'na yüklenmiştir (GenBank erişim No: MH071975, MH071976, MH071977, MH071978). Hastalık etmeninin dünyada ve ülkemizde badem ağaçlarında hastalık etmeni olarak varlığı ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir (Aktan et al. 2020).

Hastalık etmeninin son zamanlarda farklı bitkiler üzerinde hastalık oluşturduğuna ilişkin bildirimlere rastlanmıştır. Binükleat yapıda *Rhizoctonia*-benzeri yapıda *Ceratobasidium* sp.'nin Çin'de tıbbi bitkilerden *Atractylodes macrocephala* (Asteraceae) ve *Dendrobium officinale* (Orchidaceae) üzerinde (You et al. 2013, Zhou et al. 2017), Hindistan'da çilek ve *Tagetes erecta* bitkisinde (Baiswar and Ngachan 2018, Saroj et al. 2013), Meksika'da karpuz bitkisinde (Meza-Moller et al. 2014) kök ve kökboğazı çürüklüğü hastalığına neden olduğu bildirilmiştir. Schroeder and Paulitz (2012)'nin ABD'de yapmış olduğu çalışmada, hastalık etmeninin varlığı kanola bitkisinde rapor edilmiştir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada, kanola bitki kök çürüklüğü belirtisi gösteren örneklerden elde edilen izolatın *R. solani*'nin anastomosis grup I (AG-I) benzeri yapıda olduğunu, patojenisite çalışmalarında kanola bitkisinin yanısıra bezelye, buğday, nohut ve mercimek gibi bitkilerin enfekteli topraklardan çıkışlarını da önemli düzeyde baskıladığını, hastalığın test edildiği bitkilerde tipik olarak kök ve kökboğazında incelmeler, kararmalar şeklinde çürümelere neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

Bölgeden toplanan şüpheli örneklerden yapılan izolasyon sonucunda elde edilen bir diğer fungal etmen, bitkilerde beyaz küf, kök çürüklüğü hastalığı olarak bilinen ve geniş konukçu dizilimine sahip olan *S. sclerotiorum*'dur. *S.*

sclerotiorum sürveyi yapılan 3 fidanlığın 2'sinden alınan hastalıklı örneklerde %8.3-10 rastlanma sıklığında, 44 bahçenin ise 7'sinden alınan şüpheli örneklerde %9.1 ila %25 rastlanma sıklığında olmak üzere il genelinde %19.3 yaygınlık oranında tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Şüpheli bitkilerden izole edilen hastalık etmeni *S. sclerotiorum*, besiyerinde şeffaf, bölmeli yapıda hifler şeklinde gelişme göstermiş olup, besiyeri üzerinde beyaz renkte miselyal koloniler oluşturmuştur. Ekim yapıldıktan bir hafta sonra besiyeri üzerinde gelişen miselyal koloniler üzerinde ve genellikle petrinin kenarlarından başlamak üzere dağınık şekilde ve sayıda, düzensiz yapıda 3-20 mm çaplarında içi krem-beyaz, dış kısmı siyah renkte sklerotlar oluşmuştur. Hastalık etmeninin fidanlarda kurumalara neden olduğu badem bitkisinin yanısıra birçok sert çekirdekli bitki (kayısı, erik, kiraz vb.) üzerinde "yeşil meyve çürüklüğü" olarak adlandırılan hastalığa neden olduğu bildirilmiştir (Horst 2008, Ogawa and English 1991). Hastalık etmeninin ülkemiz badem fidanlarında kök çürüklüğü hastalığına neden olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Sonuç olarak, hastalıklı bitkilerden yapılan izolasyonlar, patojenisite testi, morfolojik ve moleküler teşhis çalışmaları sonucunda badem bitkilerinde kök ve kök çürüklüğü belirtilerine toprak kökenli fungal hastalık etmenlerinden *F. oxysporum*, *Ceratobasidium* sp., *M. phaseolina* ve *S. sclerotiorum*'un neden olduğu tespit edilmiştir. Hastalık etmenlerinden *M. phaseolina*, *Ceratobasidium* sp., *F. oxysporum* ve *S. sclerotiorum*'un bademde hastalık oluşturduğu ülkemiz için ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Zekiye Ceren Aktan'ın yüksek lisans tez çalışmasının bir parçası olup, çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından finansal olarak desteklenmiştir (Proje Numarası: BAP-16444).

ÖZET

Badem (*Prunus dulcis* L.) Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin önemli ürünlerinden biridir. Dünya genelinde bademin toprak kökenli fungal hastalık etmenlerinin kayda değer önemli kayıplara sebep olduğu bildirilmiştir. Bademlerde kök çürüklüğü ve solgunluk hastalığına, toprak kaynaklı herhangi bir veya birden fazla türün yer aldığı kombinasyon neden olabilir. Diyarbakır ilinde 2017 bahar döneminde badem bahçelerinde ve fidanlıklarında sürveyler yapılmış, rastgele seçilmiş tatlı badem ağaçları/fidanları, kök-kökboğazı çürüklüğü ve solgunluk hastalıklarına neden olan fungal hastalık etmenlerinin görülme sıklığı ve yaygınlığını

değerlendirmek için incelenmiştir. Zayıf gelişmiş, sararmış, solgunluk ve ölüm belirtisi gösteren şüpheli badem ağaçlarının/fidanlarının kök ve kökboğazlarından bitki örnekleri alınmıştır. Sürvey yapılan bölgelerden toplanan hastalık belirtisi gösteren bademlerin kök, kök boğazı ve gövdelerinden yapılan izolasyonlardan elde edilen izolatların patojenisiteleri, morfolojik ve moleküler yöntemlerle teşhisleri yapılmıştır. Şüpheli bitki örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen izolatların dağılımına göre en sık rastlanan ve karakterize edilen toprak kaynaklı fungal hastalık etmeni, %28.9 yaygınlık ve %38.0 rastlanma sıklığı ile *Fusarium oxysporum* (*Fusarium solgunluğu* hastalığı etmeni) olup, bu hastalık etmenini %24.6 yaygınlık ve %21.5 rastlanma sıklığı ile *Macrophomina phaseolina* (Kömür çürüklüğü hastalığı etmeni), %19.3 yaygınlık ve %11.3 rastlanma sıklığı ile *Sclerotinia sclerotiorum* (Beyaz küf hastalığı etmeni) ve %16.7 yaygınlık ve %18.3 rastlanma sıklığı ile *Ceratobasidium* sp., (*Ceratobasidium* kök çürüklüğü hastalığı etmeni) takip etmiştir. Bildiğimiz kadarıyla, *Ceratobasidium* sp., *F. oxysporum*, *M. phaseolina* ve *S. sclerotiorum* hastalık etmenlerinin Türkiye'de yetişen bademlerde hastalıklara neden olduğu ilk kez bu çalışmayla bildirilmiştir.

Anahtar kelimeler: badem, *Fusarium*, *Ceratobasidium*, *Macrophomina*, *Sclerotinia*

KAYNAKLAR

Anonymous, 2018. FAOSTAT. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim tarihi 02.05.2019).

Akbar D.I., 2005. Study on decline of almond trees caused by soil-borne phytopathogenic fungi. FAO, AGRIS <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IR2007000541> (Erişim tarihi: 02.05.2019).

Aktan Z.C., Soylu S., Ciftci O., Turkolmez, S., 2020. First report of root rot caused by *Ceratobasidium* sp. on sweet almond in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 102, 241–242

Aslantaş R., Güleriyüz M., 1999. Almond selection in microclimate areas of Northeast Anatolia. XI. Grempa meeting on Pistacios and Almonds, University of Harran, Faculty of AgricUlture, Pistacio Research and Application Center (1-4 September 1999, Şanlıurfa), 91 p.

Baiswar P., Ngachan S.V., 2018. First report of root and collar rot of strawberry (*Fragaria × ananassa*) caused by *Ceratobasidium* sp. AG-B(o) (Binucleate *Rhizoctonia*) in India. *Plant Disease*, 102, 1035.

Baten M.D.A., Asano T., Motohashi K., Ishiguro Y., Rahman M.Z., Inaba S., Suga H., Kageyama K., 2014. Phylogenetic relationships among *Phytophthium* species and re-evaluation

of *Phytophthium fagopyri* comb. nov., recovered from damped-off buckwheat seedlings in Japan. *Mycological Progress*, 13, 1145–1156.

Beck J.J., Higbee B.S., Merrill G.B., Roitman J.N., 2008a. Comparison of volatile emissions from undamaged and mechanically damaged almonds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88 (8), 1363-1368.

Beck J.J., Merrill G.B., Palumbo J.D., O Keeffe T.L. 2008b. Strain of *Fusarium oxysporum* isolated from almond hulls produces styrene and 7-methyl-1,3,5-cyclooctatriene as the principal volatile components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (23), 11392-11398.

Browne G.T., 2017. Resistance to *Phytophthora* species among rootstocks for cultivated Prunus species. *HortScience*, 52 (11), 1471-1476.

Camele I., Marcone C., Cristinzio G., 2005. Detection and identification of *Phytophthora* species in southern Italy by RFLP and sequence analysis of PCR-amplified nuclear ribosomal DNA. *European Journal of Plant Pathology*, 113, 1-14.

Çeliker N.M., Poyraz D., 2007. Muğla ili Datça ilçesinde badem ağaçlarında kurumaya neden olan fungal hastalıklar üzerinde çalışmalar. Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, Isparta, 274 s.

Çiftçi O., Türkölmez Ş., Derviş S., Serçe Ç.U., 2016. First report of canker and root rot of almond caused by *Phytophthora plurivora* in Turkey. *Plant Disease*, 100, 1507.

Gouk C., 2014. Almond diseases and disorders. In: XXIX International Horticultural Congress on Horticulture: sustaining lives, livelihoods and landscapes, (IHC2014), 1109 (pp. 249-254).

Holliday P., Punithalingam E., 1970. *Macrophomina phaseolina*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, 275, 1-2.

Horst R.K., 2008. Host plants and their diseases. In: Westcott's Plant Disease Handbook. Horst R.K., (Ed.). Springer, Netherlands, 699-1145 p.

Kurbetli I., Değirmenci K., 2010. First report of root and crown rot of almond caused by *Phytophthora* spp. in Turkey. *Plant Disease*, 94 (10), 1261-1261.

Kurbetli I., Değirmenci K., 2011. First report of *Phytophthora* taxon *niederhauserii* causing decline of almond in Turkey. *New Disease Reports*, 23, 14.

Kurbetli I., Yılmaz A., 2015. First report of *Phytophthora megasperma* causing crown and root rot of almond in Turkey.

New Disease Reports, 32, 25.

Martin F.N., 2003. Development of alternative strategies for management of soilborne pathogens currently controlled with methyl bromide. Annual Review of Phytopathology, 41, 325-350.

Martins M., Sarmento D., Oliveira M.M., 2002. Search form molecular markers linked to *Fusicoccum* tolerance in almond. Proceedings of the 7th International Symposium on Plum and Prune Genetics, Breeding and Pomology, Plovdiv, Bulgaria, 20–24 August 2001, Acta-Horticulturae, No: 577, 87–90.

Meza-Moller A., Rentería-Martínez M.E., Guerra-Camacho M.A., Romo-Tamayo F., Ochoa-Meza A., Moreno-Salazar S.F., 2014. First report of root rot of watermelon caused by *Ceratobasidium* sp. in Sonora, Mexico. Plant Disease, 98 (6), 847.

Mordue J.E.M., Holliday P., 1976. *Sclerotinia sclerotiorum*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, 513.

Nelson P.E., Tousson T.A., Marasas W.F.O., 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania, 193 pp.

O'Donnel K., 1993. *Fusarium* and its near relatives. In: The fungal holomorphs: mitotic and pleomorphic speciation in fungal systematics. Reynolds D.R, Taylor J.W., (Eds.). CAB International, Wallingford, 225-233.

Ogawa J.M., English H., 1991. Diseases of temperate zone tree fruit and nut crops. UCANR Publications, No. 3345. 461 p.

Saroj A., Kumar A., Saeed S.T., Samad A., Alam M., 2013. First report of *Tagetes erecta* damping off caused by *Ceratobasidium* sp. from India. Plant Disease, 97 (9), 1251.

Schroeder K.L., Paulitz T.C., 2012. First report of root rot caused by *Rhizoctonia solani* AG-10 on canola in Washington State. Plant Disease, 96 (4), 584.

Sneh B., Burpee L., Ogoshi A., 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. APS Press, St. Paul, 133 pp.

TÜİK, 2018. Bitkisel üretim istatistikleri. <http://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Erişim tarihi: 02.05.2019).

Türkölmez Ş., Derviş S., Çiftçi O., Ulubaş Serçe Ç., 2016. First report of *Phytophthora chlamydospora* causing root and crown rot on almond (*Prunus dulcis*) trees in Turkey. Plant Disease, 100 (8), 1796.

You J.M., Lin X.M., Guo J., Zhang M.D., Liao C.L., He M.J., Sun Y.L., 2013. First report of root rot on *Atractylodes*

macrocephala (largehead *atractylodes* rhizome) caused by *Ceratobasidium* sp. in China. Plant Disease, 97 (1), 139.

Zhou H., Gao Q., Gong Q.F., Qiu S., He J.X., Huang J., He Y.Q., 2017. First report of stem and root rot of the medicinal herb *Dendrobium officinale* (Orchidaceae) caused by *Ceratobasidium* sp. AG-R in Guangxi, China. Plant Disease, 101 (9), 1679.

White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.W., 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, Inc., New York, 38, 315–322.

Wicks T.J., Lee T.C., Scott E.S., 1997. *Phytophthora* crown rot of almonds in Australia. Bulletin OEPP, 27, 501–506.

Cite this article: Aktan, Z. C., Soylu, S, Çiftçi, O , Türkölmez, Ş. (2020). Characterization and prevalence of disease agents of root rot and wilt disease on sweet almond trees grown in Diyarbakır province. Plant Protection Bulletin, 60-1.

DOI: 10.16955/bitkorb.561427

Atf için: Aktan, Z. C., Soylu, S , Çiftçi, O , Türkölmez, Ş. (2020). Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarında sorun olan kök çürüklüğü ve solgunluk hastalık etmenlerinin karakterizasyonu ve yaygınlığı. Bitki Koruma Bülteni, 60-1. DOI: 10.16955/bitkorb.561427