



Anastomosis Groups and Pathogenicity of *Rhizoctonia* Species Isolated from Bean Pods in Erzincan Province

Zehra AKARCA¹ Erkol DEMİRCİ²

¹İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Erzincan

²Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Trabzon

ABSTRACT

This study was carried out to determine the anastomosis groups (AG) and pathogenicity of *Rhizoctonia* isolates that cause web blight on the aerial parts of bean plants in Erzincan province. At the result of the study, totally, 38 *Rhizoctonia* isolates were obtained from bean pods, and their anastomosis groups were identified using classical and molecular techniques. Thirty-four *Rhizoctonia solani* isolates were identified as AG-1 IB (1 isolate), AG-2-I (4 isolates), AG-4 (24 isolates belonging to HGI, HGII and HGIII subgroups) and AG-5 (5 isolates); binucleate *Rhizoctonia* isolates were identified as AG-E (2 isolates) and AG-K (2 isolates). In pathogenicity test on bean leaves, the most virulent group was determined as AG-1 IB, it was followed AG-4 and AG-5 isolates, respectively. On bean pods, the virulence of AG-1 IB and AG-4 isolates was found to be high. On the other hand, isolates belonging to other anastomosis groups generally did not cause infection on leaves or pods. In Turkey, the anastomosis groups of *Rhizoctonia* isolates obtained from the aerial parts of bean plants in fields were determined for the first time in this study.

Keywords: Bean, Web blight, *Rhizoctonia*, Anastomosis group, rDNA-ITS region, Pathogenicity

ÖZ

Erzincan İlinde Fasulye Baklalarından İzole Edilen *Rhizoctonia* Türlerinin Anastomosis Grupları ve Patojenisitesi

Bu çalışma, Erzincan ilinde fasulye bitkilerinin toprak üstü kısımlarında ağ yanıklığı hastalığına neden olan *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis gruplarını (AG) ve patojenisitelerini belirlemek amacı ile yapılmıştır. Yapılan izolasyonlar sonucu fasulye baklalarından 38 *Rhizoctonia* izolatı elde edilmiş olup, klasik ve moleküler tanı yöntemleri ile anastomosis grupları belirlenmiştir. Elde edilen 34 *Rhizoctonia solani* izolatının AG-1 IB (1 izolat), AG-2-I (4 izolat), AG-4 (HGI, HGII ve HGIII alt gruplarına ait 24 izolat) ve AG-5 (5 izolat); iki çekirdekli *Rhizoctonia* izolatlarının ise AG-E (2 izolat) ve AG-K (2 izolat) olduğu saptanmıştır. Fasulye yapraklarında yapılan patojenisite testinde AG-1 IB'nin en virulent grup olduğu, AG-4 ve AG-5 izolatlarının sırasıyla onu takip ettiği belirlenmiştir. Baklada ise AG-1 IB ve AG-4'e ait izolatların virülenliğinin yüksek olduğu görülmüştür. Diğer anastomosis gruplarına ait izolatlar ise yaprakta veya baklada genellikle enfeksiyon oluşturmamıştır. Türkiye'de bugüne kadar tarla şartlarında fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında *Rhizoctonia* tür ve anastomosis gruplarının belirlenmesine yönelik yapılan ilk çalışmadır.

Anahtar kelimeler: Fasulye, Ağ yanıklığı, *Rhizoctonia*, Anastomosis grup, rDNA-ITS bölgesi, Patojenisite

GİRİŞ

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) içerdiği mineral maddeler, vitaminler, proteinler ve karbonhidratlar bakımından oldukça zengin bir besin kaynağı olup, insanların protein ihtiyacının karşılanmasında önemli bir yeri vardır. Taze, kuru, konserve veya dondurularak insan gıdası olarak kullanılan fasulye, ekim alanı ve üretim yönünden yemeklik tane baklagiller içerisinde ilk sırada yer almaktadır. Fasulye iklim ve toprak isteği

bakımından seçici olmadığından Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde olduğu gibi Erzincan ilinde de taze ve kuru fasulye olarak yetiştirilmektedir.

Fasulye bitkilerinde çok sayıda fungus, virüs, bakteri ve diğer etmenler hastalık oluşturarak farklı düzeylerde verim kayıplarına neden olmaktadır. Fungal hastalıklar içerisinde toprak kaynaklı ve çok sayıda konukçuya sahip bir patojen olan *Rhizoctonia solani* Kühn (Eşeyli dönem: *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk) fasulye bitkilerinin hipokotil ve köklerini enfekte ederek farklı büyüklüklerde lezyonlar oluşturmakta, şiddetli enfeksiyonlarda bitki gelişmeden geri kalmakta ve olgunlaşmadan ölmektedir (Hagedorn, 1994). Patojen özellikle nemli dönemlerde fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarını oluşturan yaprak, yaprak sapı, çiçek veya baklada lezyonlar oluşturmakta, baklayı enfekte etmesi durumunda tohumlara da geçmektedir

Article Info / Makale Bilgileri

Corresponding author e-mail: drerkol@hotmail.com

Received: July 5, 2022 Accepted: September 2, 2022

ORCID ID's of Authors in order:

0000-0001-8437-8489, 0000-0002-7176-1654

BAP-2011/186 nolu Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi projesince desteklenmiştir. İlk yazarın Yüksek Lisans tezi ürünüdür.

(Schwartz, 1994). Fasulye bitkilerinin toprak altı aksamlarının *Rhizoctonia* izolatlarınca enfeksiyonu sonucu kök ve hipokotil çürüklüğü, toprak üstü aksamlarının enfeksiyonu sonucu ise ağ yanıklığı hastalığı oluşmaktadır.

Rhizoctonia solani izolatları 13 anastomosis grubuna (AG-1, AG-2, AG-3, AG-4, AG-5, AG-6, AG-7, AG-8, AG-9, AG-10, AG-11, AG-12 ve AG-13) ayrılmış olup, bunlar içerisinde AG-1 altı (IA, IB, IC, ID, IE ve IF), AG-2 beş (2-1, 2-2, 2-3, 2-4 ve 2-B1), AG-3 iki (PT, TB ve TM), AG-4 üç (HGI, HGII ve HGIII) ve AG-6 beş (HG-I, Gv1, Gv2, Gv3 ve Gv4) alt gruba ayrılmıştır (Sneh ve ark., 1991; Carling ve ark., 1994; 1999; 2002; Carling, 1996; Ogoshi, 1996; Sharon ve ark., 2006; Godoy-Lutz ve ark., 2008; Misawa ve ark., 2020). İki çekirdekli (binucleate = BN) *Rhizoctonia* (Eşeyli dönem: *Ceratobasidium* Rogers) izolatları ise 19 anastomosis grubuna (AG-A, AG-B, AG-C, AG-D, AG-E, AG-F, AG-G, AG-H, AG-I, AG-K, AG-L, AG-O, AG-P, AG-Q, AG-R, AG-S, AG-U, AG-V ve AG-W) ayrılmıştır (Sharon ve ark., 2008; Yang ve ark., 2015; Dong ve ark., 2017; Misawa ve Kurose, 2019).

Çeşitli ülkelerde yapılmış çalışmalarda fasulye bitkilerinin kök veya hipokotillerinden *R. solani*'nin AG-1, AG-2 (2-2, 2-3 ve 2-B1 alt grupları), AG-4 (HGI alt grubu) ve AG-5 ile BN *Rhizoctonia*'nin AG-A ve AG-F grupları (Galindo ve ark., 1982; Bolkan ve Ribeiro, 1985; Muyolo ve ark., 1993; López-Olmos ve ark., 2005; Nerey, 2010), ağ yanıklığı hastalığının görüldüğü bitkilerin toprak üstü aksamlarından yapılan izolasyonlarda *R. solani*'nin AG-1 (IA, IB, IC, ID, IE ve IF alt grupları), AG-2 (2-2 alt grubu) ve AG-4 (HGI alt grubu) ile BN *Rhizoctonia*'nin AG-P grubu (Galindo ve ark., 1982; Bolkan ve Ribeiro, 1985; Muyolo ve ark., 1993; Godoy-Lutz ve ark., 2003; Yang ve ark., 2007; Godoy-Lutz ve ark., 2008; Gonzalez ve ark., 2012; Mora-Umaña ve ark., 2013), tohumdan ise *R. solani*'nin AG-1 (IB alt grubu), AG-2 (2-2 alt grubu), AG-4 (HGI ve HGIII alt grupları) ve AG-7 grupları (Bolkan ve Ribeiro, 1985; Godoy-Lutz ve ark., 1996; Spedaletti ve ark., 2017) izole edilmiştir.

Türkiye'de fasulye bitkisinin özellikle toprak altı aksamından elde edilen *R. solani* ve BN *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis gruplarının ve patojenisitelerinin belirlenmesine yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre fasulye kök ve/veya hipokotillerinden *R. solani*'nin AG-1, AG-2 (2-1 ve 2-2 alt grupları), AG-3, AG-4 (HGI ve HGII alt grupları), AG-5, AG-6, AG-9, AG-10 ve AG-11 ile BN *Rhizoctonia*'nin AG-A, AG-B, AG-E, AG-F, AG-G, AG-I, AG-K ve AG-P grupları izole edilmiştir (Tuncer ve Erdiller, 1990; Demirci ve Döken, 1995; Karaca ve ark., 2002; Eken ve Demirci, 2004; Kılıçoğlu ve Özkoç, 2010; Erper ve ark., 2011; Çebi Kılıçoğlu, 2012; Demirer Durak ve ark., 2017; Yıldırım ve Erper, 2017). Fasulye tohumlarından ise *R. solani* AG-1 ve AG-

4 (Demirci ve Döken, 1995; Demirci ve Çağlar, 1998) grupları elde edilmiştir.

Türkiye'de tohum hariç fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında *Rhizoctonia* tür ve anastomosis gruplarının belirlenmesine yönelik bir çalışma bulunmamaktadır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda fasulye tohumlarından *R. solani* AG-1 ve AG-4 gruplarına ait izolatların elde edilmiş olması, farklı ülkelerde yapılan çeşitli çalışmalarda fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında etmenin ağ yanıklığı hastalığını oluşturduğunun bildirilmesi, *Rhizoctonia* izolatlarının Erzincan ilinde fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarında da hastalık oluşturabileceği hipotezinden hareketle bu çalışma planlanmıştır. Bu çalışma ile fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarından *Rhizoctonia* izolatlarının elde edilmesi, anastomosis gruplarının belirlenmesi ve patojenisite testleri ile de bu gruplara ait izolatların virülensliklerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Sürvey çalışmaları

Erzincan iline ait Merkez, Çayırlı, Üzümlü, Refahiye ve Tercan ilçelerinden alınan fasulye yaprak ve bakla örnekleri ile elde edilen *Rhizoctonia* izolatları çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Sürvey için arazi çalışmaları 2010 yılında Eylül ayı ortasından Ekim ayı sonuna kadar, 2011 yılında ise Mayıs ayı sonundan Ekim ayı ortasına kadar yapılmıştır. Tarlaların büyüklükleri dikkate alınarak her tarladan 10-15 adet hastalık simptomsu gösteren bitki örneği toplanmıştır. Bitki örnekleri polietilen torbalara konularak buz kutusu içinde laboratuara getirilmiş ve izolasyon aşamasına kadar buzdolabında 5°C'de muhafaza edilmiştir.

Rhizoctonia izolatlarının elde edilmesi

Hastalıklı bitki örneklerinden *Rhizoctonia* spp.'nin izolasyonu için her bitkinin yaprak ve/veya bakla kısımlarından hastalıklı ve sağlıklı kısmı içerecek şekilde yaklaşık 1 cm² ebadında doku parçaları kesilmiştir. Bu parçalar %1'lik NaOCl'de 1 dakika yüzeysel dezenfeksiyona tabi tutularak 3 kez steril saf sudan geçirilmiş ve takiben steril kurutma kağıtları arasında fazla suları alınmıştır. Kurutulan bu bitki parçaları 50 mg l⁻¹ streptomycin sülfat içeren %1.5 su agarına (SA) alınıp, 25 °C'de 48-72 saat karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. *Rhizoctonia* hifinin geliştiği kolonilerden hif ucu izolasyon yöntemi kullanılarak SA veya Patates Dekstroze Agar (PDA)'da 25 °C'de 48-72 saat karanlıkta tutularak saflaştırılan kültürler PDA içeren test tüplere transfer edilerek 5 °C'de saklanmıştır.

Rhizoctonia izolatlarının anastomosis gruplarının saptanması

Rhizoctonia cinsinin vejetatif hifinin temel karakteristik özelliklerini (Ogoshi, 1975) gösteren izolatların anastomosis grupları, klasik ve moleküler yöntemler

kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen *Rhizoctonia* izolatları ile kültür koleksiyonumuzda bulunan *R. solani* ve BN *Rhizoctonia* test izolatları (Eken ve Demirci, 2004) PDA'da 25 °C'de 7 gün geliştirildikten sonra %1.5'lik SA'da eşleştirilmişlerdir. Grubu bilinmeyen izolat ve test izolatından alınan misel parçaları 9 cm çapındaki petrilere aralarında 5-6 cm mesafe olacak şekilde karşılıklı olarak yerleştirilip, 48-72 saat süresince 25 °C'de inkübe edildikten sonra karşılaşma hattı phase-contrast mikroskopunda incelenmiştir (Parmeter ve ark., 1969). Eşleştirilen iki izolatın hifleri arasında anastomosis gözlenmiş ise bu izolatlar aynı AG olarak tanımlanmıştır (Demirci ve Döken, 1992).

Çalışmada elde edilen *Rhizoctonia* izolatlarının tamamı ribozomal DNA (rDNA)-ITS (Internal Transcribed Spacer) gen bölgesi (ITS1, 5.8, ITS2) kullanılarak moleküler olarak da tanımlanmıştır. Bu amaçla PDA'da 48-72 saat süresince 25 °C'de inkübe edilen izolatlar, 100 ml'lik Patates Dekstrose Broth (PDB) içeren erlanmayerlere aktarılarak 4-7 gün 25 °C karanlıkta inkübasyona bırakılmış, takiben gelişen miseller hasat edilmiş ve steril ependorf tüplere aktarılmıştır. *Rhizoctonia* izolatlarından genomik DNA izolasyonu, ITS1 ve ITS4 primerleri (White ve ark., 1990) kullanılarak rDNA-ITS bölgesinin PCR amplifikasyonu ile baz dizi analizi REFGEN (Ankara Üniversitesi Teknokent, Ankara, Türkiye) firması tarafından yapılmıştır. Elde edilen baz dizileri NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanında BLAST analizi ile sorgulanmış, izolatların tür, AG ve/veya alt grup tayini yapılırken %95 ve üzeri sekans benzerlikleri göz önünde bulundurulmuştur. Her izolata ait baz dizileri BioEdit (Sürüm 7) yazılımı ile düzenlenmiş (Hall, 1999) ve Clustal W algoritması kullanılarak hizalanmıştır (Thompson ve ark., 1994). NCBI veri tabanından baz dizileri elde edilen referans izolatlar (Sharon ve ark., 2008) ve uzak tür olarak da *Sclerotinia minor* kullanılarak MEGA (Sürüm 6) yazılımında (Tamura ve ark., 2013) uygulanan Neighbor-Joining yöntemi ve Maximum Composite Likelihood modeli (Saitou ve Nei, 1987) kullanılarak 1000 bootstrap değeri ile filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Bu çalışmada elde edilen *Rhizoctonia* izolatlarının baz dizileri NCBI veri tabanına yüklenmiş ve erişim numaraları alınmıştır.

Yaprakta patojenisite testi

Yaprakta patojenisite testi için yörede en fazla yetiştiriciliği yapılan Yalancı Dermason fasulye genotipi kullanılmıştır. Anastomosis gruplarına ait izolatların virülensliğini tespit etmek amacıyla 23 *Rhizoctonia* izolatı ile patojenisite testi kurulmuştur. Her izolat ve kontrol için 3 adet üç yaprakçıklı gerçek yaprak kullanılmış ve deneme iki kez tekrarlanmıştır.

Bitki yetiştirmek amacı ile fasulye tohumları %1'lik NaOCl'de 1 dakika tutularak yüzeysel olarak dezenfekte edilmiştir. Daha sonra tohumlar steril saf

sudan geçirilerek steril kurutma kağıtları arasında fazla suları alınmıştır. Saksı toprağı olarak 121 °C'de 1 saat otoklavda steril edilmiş hazır çiçek toprağı kullanılmıştır. Her saksıya bir tohum ekilmiş, 25 °C'de 14 saat ışık 10 saat karanlıkta 15 gün geliştirilen fasulye bitkilerinden alınan üç yaprakçıklı gerçek yapraklar steril petrilere yerleştirilmiştir. İnokulum hazırlamak amacı ile *Rhizoctonia* izolatları PDA'da 3 gün 25 °C'de geliştirilmiş ve kolonilerin kenarlarından alınan 5 mm'lik misel diskleri yaprakların ortasına gelecek şekilde yerleştirilerek inokulasyonlar gerçekleştirilmiştir (Galindo ve ark., 1982). Kontrol bitkilerine ise 5 mm'lik steril PDA diski yerleştirilmiştir. Takiben ortamda %100'e yakın nem oranını sağlamak için petrilere alüminyum kaplar içine konulmuş, yaprak sapı steril su ile nemlendirilmiş pamukla sarılmış ve polietilen poşetler içerisine yerleştirilerek poşetin ağız kısmı kapatılmıştır. Alüminyum kaplar 4 gün 27 °C'de 14 saat ışık 10 saat karanlıkta bırakılmıştır. Bu süre sonunda yapraklardaki hastalık şiddeti 1-9 skalasına (1 = simptom yok; 3 = yaprak yüzeyinin %5-10'u enfekte olmuş; 5 = yaprak yüzeyinin %20-30'u enfekte olmuş; 7 = yaprak yüzeyinin %40-60'ı enfekte olmuş; 9 = yaprak yüzeyinin %80'inden fazlası enfekte olmuş) göre değerlendirilmiştir (Van Schoonhoven ve Pastor-Corrales, 1987). Her yapraktan reizolasyon sonucu elde edilen izolatlar başlangıçta kullanılan izolatla SA'da eşleştirilerek anastomosis grupları teyit edilmiştir.

Baklada patojenisite testi

Anastomosis gruplarının baklada virülensliğini belirlemek amacıyla yapılan patojenisite testinde taze fasulye baklaları ve yaprakta patojenisite testinde kullanılan izolatlar kullanılmıştır. Her izolat ve kontrol için her tekerrürde 3 adet bakla kullanılmış, toplam üç tekerrür yapılmış ve deneme iki kez tekrarlanmıştır.

Misel inokulumu hazırlamak amacı ile *Rhizoctonia* izolatları PDA'da 3 gün 25 °C'de geliştirilmiş, gelişen kolonilerin kenarlarından alınan bir adet 5 mm'lik misel diski 300 ml'lik erlanmayerlerde hazırlanan 100 ml'lik PDB'a aktarılarak 10 gün 25 °C karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen miseller hasat edilmiş ve bisturi yardımıyla parçalanarak 100 ml steril su ile karıştırılıp süspansiyon haline getirilmiştir. Her bir baklaya 4 ml bu süspansiyondan püskürtülmüş ve her bir petriye de üçer adet bakla konularak alüminyum kaplara yerleştirilmiştir. Ortamda %100 yakın nemi sağlamak için alüminyum kaplar polietilen poşetler içerisine yerleştirilerek poşetin ağız kısmı kapatılmıştır. Alüminyum kaplar 7 gün 27 °C'de 14 saat ışık 10 saat karanlıkta tutulmuştur. Süre sonunda baklalardaki hastalık şiddeti 1-5 skalasına (1 = simptom yok; 3 = bakla yüzeyinde 5 mm'den küçük lezyonlar; 5 = bakla yüzeyinde 5 mm'den büyük lezyonlar) göre değerlendirilmiştir. Her bakladan yapılan reizolasyon sonucu elde edilen izolatlar başlangıçta kullanılan izolatla SA'da eşleştirilerek anastomosis grupları teyit

edilmiştir. Patojenisite testlerinin sonuçları SPSS istatistik analiz programı kullanılarak Duncan çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir ($P < 0.05$).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Hastalığın tarla koşullarında tanımı

Fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamalarında ağ yanıklığı hastalığının tipik semptomlarına çalışmanın yapıldığı alanlarda sadece baklalarda rastlanılmıştır. Bu hastalığa yakalanmış fasulye baklalarında, yuvarlağa yakın ve kırmızımsı kahverengi koyu sınırlar ile çevrili düzensiz, çökük ve merkez kısmı açık kahverengi nekrotik lekeler oluşmaktadır (Şekil 1a). Farklı boyutlarda olabilen ve ilerleyen dönemde birbirleri ile birleşip düzensiz bir şekil alan lezyonlar bakla yüzeyinin büyük bir kısmını da kaplayabilmektedir (Şekil 1b). *Rhizoctonia* grubu funguslar, dünyanın birçok bölgesinde çok sayıda bitki türünde ekonomik olarak ürün kaybına neden olan toprak kökenli patojenlerdir (Ogoshi, 1996). *Rhizoctonia* izolatları fasulye bitkilerinin toprak altı aksamalarında kök ve hipokotil çürüklüğü oluşturmasına karşın, özellikle nemli dönemlerde toprak üstü aksamalarını da enfekte ederek ağ yanıklığı hastalığına neden olmaktadır (Hagedorn, 1994; Schwartz, 1994). Ağ yanıklığı hastalığı fasulye yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyip, verim ve kalite düşüklüğüne neden olmaktadır.

Elde edilen *Rhizoctonia* spp. izolatları ve anastomosis grupları

Erzincan ilinden örnek alınan 5 ilçede fasulye yaprak ve baklalarından yapılan izolasyonlarda yapraklardan *Rhizoctonia* izolatı elde edilememiş, baklalardan yapılan izolasyonlarda 3 ilçeden (Merkez, Çayırli ve Üzümlü) toplam 38 *Rhizoctonia* izolatı elde edilmiştir (Çizelge 1). Refahiye ve Tercan ilçelerinden ise izolat elde edilememiştir. Fasulye baklalarından elde edilen *Rhizoctonia* izolatının anastomosis grupları test izolatları ile eşleştirme yöntemi kullanılarak klasik yöntemle belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen 38 izolatın 34 adedi *R. solani* AG-1, AG-2, AG-4 ve AG-5'e; 4 adedinin ise BN *Rhizoctonia* AG-E ve AG-K'a ait olduğu saptanmıştır (Çizelge 1). *Rhizoctonia* izolatlarının

toplandıkları yer ve tarih bilgileri ise Çizelge 2'de verilmiştir.

Rhizoctonia grubu fungusların gruplandırılması temelde hifler arasındaki anastomosis dayanmaktadır (Cubeta ve Vilgalys, 1997). *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis gruplarının klasik yöntemle tespit edilmesi geçerli ve yaygın olarak kullanılmasına rağmen bazı kısıtlamalar içermektedir. DNA polimorfizimlerine dayanan moleküler metotlar *Rhizoctonia* izolatlarının tür, AG ve/veya alt gruplarının belirlenmesi için yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Vilgalys ve Cubeta, 1994; Sharon ve ark., 2006; 2008).



Şekil 1. Tarla şartlarında bakla üzerinde *Rhizoctonia*'nın oluşturduğu lezyonlar.

Çizelge 1. Erzincan ilinde fasulye baklalarından izole edilen *Rhizoctonia* türlerinin ve anastomosis gruplarının ilçelere göre izolat sayıları

Tür/ Anastomosis Grubu (AG)	İLÇELER					TOPLAM
	Merkez	Üzümlü	Çayırli	Refahiye	Tercan	
<i>Rhizoctonia solani</i>						
AG-1	-	1	-	-	-	1
AG-2	2	2	-	-	-	4
AG-4	9	14	1	-	-	24
AG-5	2	3	-	-	-	5
İki çekirdekli <i>Rhizoctonia</i>						
AG-E	2	-	-	-	-	2
AG-K	1	1	-	-	-	2
TOPLAM	16	21	1	-	-	38

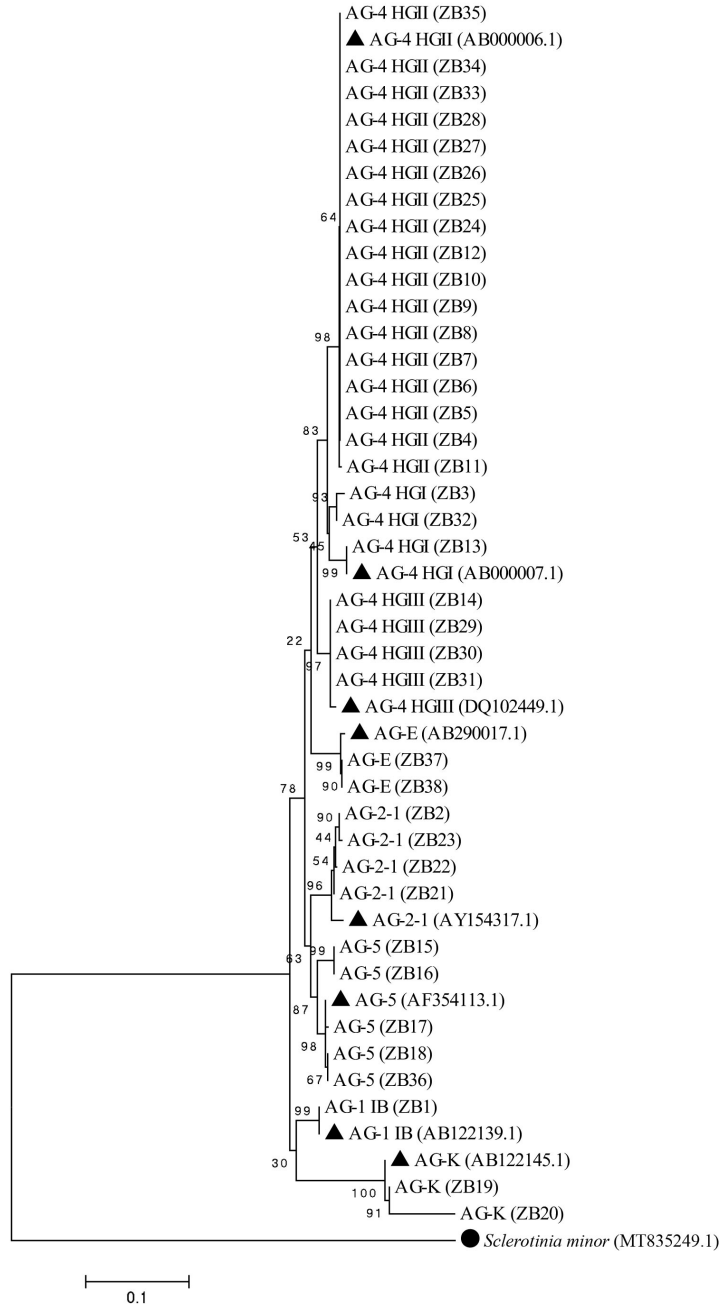
Yapılan çalışmalarda rDNA'nın ITS bölgelerindeki sekans farklılıklarının tanılamada önemli polimorfizimler sağladığı bildirilmektedir (Gonzalez ve ark., 2001).

Bu çalışmada fasulye baklalarından izole edilen ve klasik yöntemle anastomosis grupları belirlenen 38 izolatin ITS gen bölgesine göre moleküler yöntemle doğrulanması ve tanısı gerçekleştirilerek tür, AG ve/veya alt grupları belirlenmiştir (Çizelge 2). Çalışmada *Rhizoctonia* izolatlarından elde edilen baz dizilerinin NCBI veri tabanında BLAST analizi yapılmış ve izolatların baz dizileri gen bankasına kaydedilerek erişim numaraları alınmıştır (Çizelge 2). Elde edilen baz dizileri ile veri tabanında yapılan sorgulamalarda izolatların tür, AG ve/veya alt grup tayini yapılırken %95 ve üzeri sekans benzerlikleri göz önünde bulundurulmuştur. Bu çalışmada elde edilen izolatların ve referans izolatlarının sekans verileri arasındaki ilişkiyi

ortaya çıkarmak ve izolatları karşılaştırmak için filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Şekil 2). Nitekim gruba bilinmeyen *Rhizoctonia* izolatlarının baz dizisi %95-100 benzerlik aralığındaysa ve konumu belirli bir AG veya alt grubun bir kümesi içerisinde bulunuyor ise bu izolatın bu AG veya alt gruba ait olma olasılığının yüksek olduğunu gösterdiği, moleküler yöntemlerin *Rhizoctonia* izolatlarının kesin olarak tanımlanması için gereken laboratuvar çalışmalarını kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Sharon ve ark., 2006; 2008). Bu sonuçlara göre, *R. solani* AG-I izolatının IB (1 izolat), AG-2 izolatlarının I (4 izolat), AG-4 izolatlarının HGI (3 izolat), HGII (17 izolat) ve HGIII (4 izolat) alt gruplarına ait olduğu saptanmıştır. Alt grubu bulunmayan anastomosis gruplarına ait izolatların *R. solani* AG-5 (5 izolat), BN *Rhizoctonia* AG-E (2 izolat) ve AG-K (2 izolat)'a ait olduğu da teyit edilmiştir. Bu çalışmada elde

Çizelge 2. Erzincan ilinde fasulye baklalarından elde edilen *Rhizoctonia* izolatlarının moleküler yöntemle tanılanması sonucu belirlenen anastomosis grupları ve alt grupları, toplandıkları yer, tarih ve gen bankası kayıt bilgileri

İzolat Kodu	Anastomosis Grubu (AG)	Alt Grup	Örnek Alınan Yer	Örneğin Alındığı		Gen Bankası Kayıt No
				Tarih		
ZB1	AG-1	IB	Üzümlü 3 (Merkez)	16.10.2010		ON873900
ZB2	AG-2	I	Üzümlü 3 (Merkez)	16.10.2010		ON873901
ZB3	AG-4	HGI	Merkez (Keklikkayası)	16.10.2010		ON873902
ZB4	AG-4	HGII	Merkez (Keklikkayası)	16.10.2010		ON873903
ZB5	AG-4	HGII	Merkez (Keklikkayası)	16.10.2010		ON873904
ZB6	AG-4	HGII	Merkez (Keklikkayası)	16.10.2010		ON873905
ZB7	AG-4	HGII	Merkez (Keklikkayası)	16.10.2010		ON873906
ZB8	AG-4	HGII	Üzümlü 1 (Merkez)	16.10.2010		ON873907
ZB9	AG-4	HGII	Üzümlü 1 (Merkez)	16.10.2010		ON873908
ZB10	AG-4	HGII	Üzümlü 6 (Merkez)	23.10.2010		ON873909
ZB11	AG-4	HGII	Üzümlü 5 (Merkez)	23.10.2010		ON873910
ZB12	AG-4	HGII	Üzümlü 5 (Merkez)	23.10.2010		ON873911
ZB13	AG-4	HGI	Üzümlü 5 (Merkez)	23.10.2010		ON873912
ZB14	AG-4	HGIII	Üzümlü 2 (Merkez)	16.10.2010		ON873913
ZB15	AG-5		Merkez (Bahçeliköy2)	16.10.2010		ON873914
ZB16	AG-5		Merkez (Bahçeliköy1)	16.10.2010		ON873915
ZB17	AG-5		Üzümlü 2 (Merkez)	16.10.2010		ON873916
ZB18	AG-5		Üzümlü 3 (Merkez)	16.10.2010		ON873917
ZB19	AG-K		Merkez (Bahçeliköy1)	16.10.2010		ON873918
ZB20	AG-K		Üzümlü 1 (Merkez)	16.10.2010		ON873919
ZB21	AG-2	I	Üzümlü 7 (Merkez)	09.10.2011		ON873920
ZB22	AG-2	I	Merkez (Bahçeliköy 3)	15.10.2011		ON873921
ZB23	AG-2	I	Merkez (Bahçeliköy 3)	15.10.2011		ON873922
ZB24	AG-4	HGII	Merkez (Bahçeliköy 2)	15.10.2011		ON873923
ZB25	AG-4	HGII	Merkez (Bahçeliköy 2)	15.10.2011		ON873924
ZB26	AG-4	HGII	Merkez (Akyazi 1)	09.10.2011		ON873925
ZB27	AG-4	HGII	Merkez (Elmalıköy1)	22.09.2011		ON873926
ZB28	AG-4	HGII	Üzümlü 4 (Merkez)	09.10.2011		ON873927
ZB29	AG-4	HGIII	Üzümlü 6 (Merkez)	07.09.2011		ON873928
ZB30	AG-4	HGIII	Üzümlü 6 (Merkez)	07.09.2011		ON873929
ZB31	AG-4	HGIII	Üzümlü 6 (Merkez)	07.09.2011		ON873930
ZB32	AG-4	HGI	Üzümlü 6 (Merkez)	07.09.2011		ON873931
ZB33	AG-4	HGII	Üzümlü 7 (Merkez)	09.10.2011		ON873932
ZB34	AG-4	HGII	Üzümlü 9 (Merkez)	09.10.2011		ON873933
ZB35	AG-4	HGII	Çayır1 2 (Çelikli)	08.09.2011		ON873934
ZB36	AG-5		Üzümlü 5 (Merkez)	07.09.2011		ON873935
ZB37	AG-E		Merkez (Yalnızbağ)	22.09.2011		ON873936
ZB38	AG-E		Merkez (Yalnızbağ)	22.09.2011		ON873937



Şekil 2. ITS gen bölgesine göre bu çalışmada elde edilen ve gen bankasından seçilen izolatlar ile Neighbor-Joining yöntemi kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç. ▲: Referans izolatlar, ●: Uzak tür

edilen izolatların 34 adedinin *R. solani* ve 4 adedinin ise BN *Rhizoctonia*'a ait olduğu, toplam izolatların %2.63'ünün AG-1 IB, %10.53'ünün AG-2-1, %63.16'sının AG-4 (HGI, HGII ve HGIII alt grupları), %13.16'sının AG-5, %5.26'sının AG-E ve %5.26'sının AG-K olduğu saptanmıştır. *Rhizoctonia solani* AG-4, 24 adet izolat ile sayıca en fazla izolat elde edilen grubu oluşturmuştur.

Erzincan'da fasulye yetiştirilen ilçelerde yapılan sürveyler sonucunda ağ yanıklığı hastalığının belirtilerine sadece baklalarda rastlanılmış, yapraklardan yapılan izolasyonlarda fungus elde edilememiştir. Baklalardan

elde edilen 38 adet *Rhizoctonia* izolatı arasında BN *Rhizoctonia*'ya göre *R. solani* izolatlarının daha fazla çıkması, bu türün ağ yanıklığı hastalığının esas etmeninin olduğu fikrini vermektedir. Nitekim ağ yanıklığı hastalığının görüldüğü bitkilerin toprak üstü aksamlarından yapılan izolasyonlarda *R. solani*'nin AG-1 (IA, IB, IC, ID, IE ve IF alt grupları), AG-2 (2-2 alt grubu) ve AG-4 (HGI alt grubu) ile BN *Rhizoctonia*'nın AG-P grubu (Galindo ve ark., 1982; Bolkan ve Ribeiro, 1985; Muyolo ve ark., 1993; Godoy-Lutz ve ark., 2003; Yang ve ark., 2007; Godoy-Lutz ve ark., 2008; Gonzalez ve ark., 2012; Mora-Umaña ve ark., 2013),

Çizelge 3. *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis gruplarına göre yaprakta ve baklada patojenisite sonuçları

Anastomosis Grubu (AG)	Alt Grup	İzolat Kodu	Skala Değeri	
			Yaprak*	Bakla**
AG-1	IB	ZB1	9.00	3.60
		Ortalama	9.00 a***	3.60 a
AG-2	I	ZB2	1.00	1.10
		ZB21	1.00	1.00
		ZB22	1.00	1.10
		ZB23	3.00	1.00
		Ortalama	1.50 c	1.05 b
AG-4	HGI	ZB13	5.50	3.80
		ZB32	7.40	4.50
		ZB4	5.80	1.40
	HGII	ZB6	6.50	4.50
		ZB12	7.50	3.70
		ZB27	5.40	1.40
	HGIII	ZB34	6.30	1.70
		ZB30	6.20	3.30
		ZB31	5.10	3.00
Ortalama	6.19 b	3.03 a		
AG-5		ZB15	5.45	1.00
		ZB16	4.65	1.00
		ZB17	5.80	1.00
		ZB18	4.95	1.05
		ZB36	4.55	1.00
		Ortalama	5.08 b	1.01 b
AG-E		ZB37	2.90	1.00
		ZB38	1.00	1.00
		Ortalama	1.95 c	1.00 b
AG-K		ZB19	1.00	1.00
		ZB20	1.00	1.00
		Ortalama	1.00 c	1.00 b
Kontrol			1.00 c	1.00 b

*: Yapraklar 1-9 skalası (1 = simptom yok; 3 = yaprak yüzeyinin %5-10'u enfekte olmuş; 5 = yaprak yüzeyinin %20-30'u enfekte olmuş; 7 = yaprak yüzeyinin %40-60'ı enfekte olmuş; 9 = yaprak yüzeyinin %80'inden fazlası enfekte olmuş) kullanılarak değerlendirilmiştir (Van Schoonhoven ve Pastor-Corrales, 1987).

** : Baklalar 1-5 skalası (1 = simptom yok; 3 = bakla yüzeyinde 5 mm'den küçük lezyonlar; 5 = bakla yüzeyinde 5 mm'den büyük lezyonlar) kullanılarak değerlendirilmiştir.

***: Aynı sütun içerisinde farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 seviyesinde önemlidir (P < 0.05).

tohumdan ise *R. solani*'nin AG-1 (IB alt grubu), AG-2 (2-2 alt grubu), AG-4 (HGI ve HGIII alt grupları) ve AG-7 grupları (Bolkan ve Ribeiro, 1985; Godoy-Lutz ve ark., 1996; Spedaletti ve ark., 2017) izole edilmiştir. Türkiye'de tohumlardan elde edilen *R. solani* izolatlarının da AG-1 ve AG-4 gruplarına ait olduğu belirlenmiştir (Demirci ve Döken, 1995; Demirci ve Çağlar, 1998). Çeşitli çalışmalarda fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamlarından izole edilen *R. solani*'nin anastomosis grupları bu çalışmada baklalardan elde edilen anastomosis grupları ile nispeten benzerlik göstermiştir. Ayrıca bu çalışmada baklalardan elde edilen *Rhizoctonia* izolatlarının belirlenen anastomosis gruplarının tamamının, bugüne kadar yapılan çeşitli çalışmalarda fasulye bitkilerinin kök ve hipokotillerinden elde edilen *R. solani*'nin AG-1, AG-2 (2-1, 2-2, 2-3 ve 2-B1 alt grupları), AG-3, AG-4 (HGI ve HGII alt grupları), AG-5, AG-6, AG-9, AG-10 ve

AG-11 ile BN *Rhizoctonia*'nın AG-A, AG-B, AG-E, AG-F, AG-G, AG-I, AG-K ve AG-P grupları (Galindo ve ark., 1982; Bolkan ve Ribeiro, 1985; Tuncer ve Erdiller, 1990; Muyolo ve ark., 1993; Demirci ve Döken, 1995; Karaca ve ark., 2002; Eken ve Demirci, 2004; López-Olmos ve ark., 2005; Kılıçoğlu ve Özkoç, 2010; Nerey, 2010; Erper ve ark., 2011; Çebi Kılıçoğlu, 2012; Demirer Durak ve ark., 2017; Yıldırım ve Erper, 2017) içerisinde yer aldığı da görülmüştür. Bölgesel farklılıklar da dikkate alındığında toprak kaynaklı bir patojen için bu sonuçların büyük oranda beklentiler içerisinde kaldığı söylenebilir.

Yaprakta ve baklada patojenisite testi

Enfekteli baklalardan elde edilen ve anastomosis gruplarını temsil eden seçilen 23 *Rhizoctonia* izolatının virülensliklerini belirlemek amacıyla yaprak ve baklalarda yapılan patojenisite test sonuçları Çizelge



Şekil 3. Patojenisite testi sonucunda çeşitli anastomosis gruplarına ait *Rhizoctonia* izolatlarının yaprak ve bakladaki farklı virülenslik düzeyleri. a) AG-1, b) AG-5, c) AG-K, d) AG-1, e) AG-4, f) AG-E

3'te verilmiş olup, 4. günde yaprakta ve 7. günde baklada yapılan değerlendirme sonuçlarına göre virülenslik açısından anastomosis grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir. Yapraktaki patojenisite sonuçlarına göre AG-1 IB'ye ait bir izolatın en yüksek hastalık şiddetini oluşturduğu, AG-4 ve AG-5'e ait izolatların orta derecede, AG-2-1, AG-E ve AG-K'a ait izolatların ya çok düşük virülensliğe sahip olduğu veya enfeksiyon oluşturmadığı görülmüştür. Bakladaki patojenisite sonuçları değerlendirildiğinde ise AG-1 IB ve AG-4'e ait izolatların virülensliğinin yüksek olduğu, diğer gruplara ait izolatların ise baklada genellikle enfeksiyon oluşturmadığı görülmüştür. Kontrol uygulamalarında ise yaprak ve baklalarda herhangi bir hastalık belirtisine

rastlanmamıştır. Patojenisite testi sonucunda çeşitli anastomosis gruplarına ait *Rhizoctonia* izolatlarının yaprak ve bakladaki virülenslik düzeylerini gösteren bazı örnekler Şekil 3'de verilmiştir.

Bu sonuçlara göre, bir izolatı bulunan *R. solani* AG-1 IB'nin en tahripkâr grup olduğu, en çok izolat bulunan AG-4'ün ikinci tahripkâr grup olduğu, takiben ise sadece yaprakta enfeksiyon oluşturan AG-5'in geldiği belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen diğer *Rhizoctonia* anastomosis gruplarına ait izolatların ise yaprak veya baklada ya çok düşük derecede hastalık oluşturduğu veya oluşturmadığı belirlenmiştir. Fasulyede ağ yanıklığı hastalığı ile esas olarak *R. solani* AG-1, AG-2-2 veya AG-4 gruplarının ilişkili olduğu bildirilmiştir (Galindo ve ark., 1982; Bolkan ve Ribeiro,

1985; Godoy-Lutz ve ark., 1996; 2003; 2008; Gonzalez ve ark., 2012). Nitekim literatür bilgileri dikkate alındığında bu üç grup veya bunlara ait alt grupların fasulye bitkilerinin toprak üstü aksamından sıklıkla izole edilen grupları oluşturduğu görülmektedir. Fasulye bitkilerinden elde edilen *R. solani* AG-4 HGII izolatu ile yaprak inokulasyon yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada 30 fasulye çeşidinin patojene değişen derecelerde hassasiyet gösterdiği, tam dayanıklı bir çeşidin bulunmadığı bildirilmiştir (Palacioğlu ve ark., 2019). Belirtilen çalışmalarda elde edilen bulguların bu çalışmadaki patojenisite sonuçlarını destekler nitelikte olduğu, farklı olarak *R. solani* AG-5 izolatlarının da fasulye yapraklarında enfeksiyon oluşturabildiği belirlenmiştir. Ayrıca, fasulye bitkilerinin toprak altı aksamlarından elde edilen çeşitli *Rhizoctonia* anastomosis gruplarına ait izolatların test edildiği patojenisite sonuçlarına göre kök ve/veya hipokotillerde en yüksek hastalık şiddetini AG-4 ve AG-5 izolatlarının oluşturduğu, AG-1'e ait izolatların ise orta derecede virülenslik gösterdiği de belirlenmiştir (Eken ve Demirci, 2004; Erper ve ark., 2011). Bu çalışma ile Türkiye'de tarla şartlarında fasulye bitkilerinin baklalarından elde edilen *R. solani* ve BN *Rhizoctonia* izolatlarının anastomosis grupları ve virülenslikleri ilk kez belirlenmiş, özellikle *R. solani* AG-1, AG-4 ve AG-5 izolatlarının uygun iklim şartlarında fasulye bitkilerinin yaprak ve/veya baklalarında enfeksiyona neden olabildiği/olabileceği ortaya konmuştur.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Bolkan, H.A. and Ribeiro, W.R.C. 1985. Anastomosis Groups and Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* Isolates from Brazil. *Plant Dis.* 69: 599-601.
- Carling, D.E. 1996. Grouping in *Rhizoctonia solani* by Hyphal Anastomosis Reaction. Pages 37-47 *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. B. Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate and G. Dijkstra, eds, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
- Carling, D.E., Baird, R.E., Gitaitis, R.D., Brainard, K.A. and Kuninaga, S. 2002. Characterization of AG-13, a Newly Reported Anastomosis Group of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 92: 893-899.
- Carling, D.E., Pope, E.J., Brainard, K.A. and Carter, D.A. 1999. Characterization of Mycorrhizal Isolates of *Rhizoctonia solani* from an Orchid, Including AG-12, a New Anastomosis Group. *Phytopathology* 89: 942-946.
- Carling, D.E., Rothrock, C.S., MacNish, G.C., Sweetingham, M.W., Brainard, K.A. and Winters, S.W. 1994. Characterization of Anastomosis Group II (AG-II) of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 84: 1387-1393.
- Cubeta, M.A. and Vilgalys, R. 1997. Population Biology of the *Rhizoctonia solani* Complex. *Phytopathology* 87: 480-484.
- Çebi Kılıçoğlu, M. 2012. Karadeniz Sahil Şeridindeki Hastalıklı Fasulye Bitkilerinden İzole Edilen Binükleat *Rhizoctonia* Grubu Fungusların rDNA-ITS Sekansına Dayalı Filogenetik Analizi. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi. 3-7 Eylül 2012, İzmir, 1424.
- Demirci, E. and Döken, M.T. 1992. Erzurum Yöresinde Patateslerden İzole Edilen *Rhizoctonia solani* Kühn'nin Anastomosis Gruplarında Hif Birleşme Tiplerinin İncelenmesi. *Kükem Dergisi* 15: 33-38.
- Demirci, E. and Çağlar, A. 1998. Erzurum İlinde Fasulye Tohumlarından İzole Edilen Funguslar. *Bitki Koruma Bül.* 38: 91-97.
- Demirci, E. and Döken, M.T. 1995. Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* Kühn and Binucleate *Rhizoctonia* Isolates from Various Crops in Türkiye, *J.Turk. Phytopathol.* 24: 57-62.
- Demirer Durak, E., Erdinç, Ç. and Ekinçalp, A. 2017. *Rhizoctonia* Species, Anastomosis Groups and Pathogenicity Isolated from Bean in Lake Van Basin, Turkey. IV. International Multidisciplinary Congress of Eurasia. August 23-25, 2017, Roma, 324.
- Dong, W., Li Y., Duan, C., Li X., Naito, S., Conner, R.L., Yang, G. and Li, C. 2017. Identification of AG-V, a New Anastomosis Group of Binucleate *Rhizoctonia* spp. from Taro and Ginger in Yunnan Province. *Eur. J. Plant Pathol.* 148: 895-906.
- Eken, C. and Demirci, E. 2004. Anastomosis Groups and Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and Binucleate *Rhizoctonia* Isolates from Bean in Erzurum, Turkey. *J. Plant Pathol.* 86: 49-52.
- Erper, İ., Karaca, G. and Özkoç, İ. 2011. Identification and Pathogenicity of *Rhizoctonia* species Isolated from Bean and Soybean Plants in Samsun, Turkey. *Arch. Phytopathol. Plant Prot.* 44: 78-84.
- Galindo, J.J., Abawi, G.S. and Thurston, H.D. 1982. Variability Among Isolates of *Rhizoctonia solani* Associated with Snap Bean Hypocotyls and Soil in New York. *Plant Dis.* 66: 390-394.
- Godoy-Lutz, G., Arias, J., Sdeadman, R.J. and Eskridge, K.M. 1996. Role of Natural Seed Infection by the Web Blight Pathogen in Common Bean Seed Damage, Seedling Emergence, and Early Disease Development. *Plant Dis.* 80: 887-890.
- Godoy-Lutz, G., Kuninaga, S., Steadman, J.R. and Powers, K. 2008. Phylogenetic Analysis of *Rhizoctonia solani* Subgroups Associated with Web Blight Symptoms on Common Bean Based on ITS-5.8s rDNA. *J. Gen. Plant Pathol.* 74: 32-40.
- Godoy-Lutz, G., Steadman, J. R., Higgins, B. and Powers, K. 2003. Genetic Variation Among Isolates of the Web Blight Pathogen of Common Bean Based on PCR-RFLP of the ITS-rDNA Region. *Plant Dis.* 87: 766-771.
- Gonzalez, D., Carling, D.E., Kuninaga, S., Vilgalys, R. and Cubeta, M.A. 2001. Ribosomal DNA Systematics of *Ceratobasidium* and *Thanatephorus* with *Rhizoctonia* Anamorphs. *Mycologia* 93: 1138-1150.
- Gonzalez, N., Godoy-Lutz, G., Steadman, J.R., Higgins, R. and Eskridge, K.M. 2012. Assessing Genetic Diversity in the Web Blight Pathogen *Thanatephorus cucumeris* (Anamorph *Rhizoctonia solani*) Subgroups AG-I-IE and AG-I-IF with Molecular Markers. *J. Gen. Plant Pathol.* 78: 85-98.
- Hagedorn, D.J. 1994. *Rhizoctonia* Root Rot. Page 13 in *Compendium of Bean Diseases*. R. Hall, ed. APS Press, USA.

- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT, pp. 95-98.
- Karaca, G.H., Özkoç, İ. and Erper, İ. 2002. Determination of the Anastomosis Grouping and Virulence of *Rhizoctonia solani* Kühn Isolates Associated with Bean Plants Grown in Samsun/Turkey. Pak. J. Biol. Sci. 5: 434-437.
- Kılıçoğlu, M.Ç. and Özkoç, İ. 2010. Molecular Characterization of *Rhizoctonia solani* AG4 Using PCR-RFLP of the rDNA-ITS Region. Turk. J. Biol. 34: 261-269.
- López-Olmos, K., Hernández-Delgado, S. and Mayek-Pérez, N. 2005. AFLP Fingerprinting for Identification of Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* Kühn from Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Mexico. Revista Mexicana de Fitopatología 23:147-151.
- Misawa, T. and Kurose, D. 2019. Anastomosis Group and Subgroup Identification of *Rhizoctonia solani* Strains Deposited in NARO Genebank, Japan. J. Gen. Plant Pathol. 85: 282-294.
- Misawa, T., Kurose, D., Shishido, K., Toda, T. and Kuninaga, S. 2020. Characterization of a New Subgroup of *Rhizoctonia solani* Anastomosis Group 3 (AG-3 TM) Associated with Tomato Leaf Blight. J. Gen. Plant Pathol. 86: 457-467.
- Mora-Umaña, F., Barboza, N., Alvarado, R., Vásquez, M., Godoy-Lutz, G., Steadman, J.R. and Ramírez, P. 2013. Virulence and Molecular Characterization of Costa Rican Isolates of *Rhizoctonia solani* from Common Bean. Trop. Plant Pathol. 38: 461-471.
- Muyolo, N.G., Lipps, P.E. and Schmitthenner, A.F. 1993. Anastomosis Grouping and Variation in Virulence Among Isolates of *Rhizoctonia solani* Associated with Dry Bean and Soybean in Ohio and Zaire. Phytopathology 83: 438-444.
- Nerey, Y., Pannecoucq, J., Hernandez, H.P., Diaz, M., Espinosa, R., De Vos, S., Van Beneden, S., Herrera, L. and Höfte, M. 2010. *Rhizoctonia* spp. Causing Root and Hypocotyl Rot in *Phaseolus vulgaris* in Cuba. J. Phytopathol. 158: 236-243.
- Ogoshi, A. 1975. Grouping of *Rhizoctonia solani* Kühn and Their Perfect Stages. Rev. Plant Prot. Res. 8: 93-103.
- Ogoshi, A. 1996. Introduction the Genus *Rhizoctonia*. Pages 1-9 *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. B. Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate and G. Dijst, eds, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
- Palacioğlu, G., Bayraktar, H. and Özer, G. 2019. *Rhizoctonia* Ağ Yanklığı Hastalığına Karşı Bazı Fasulye Çeşitlerinin Reaksiyonları. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi, 5: 273-279.
- Parmeter, J.R., Sherwood, Jr., R.T. and Platt, W.D. 1969. Anastomosis Grouping Among Isolates of *Thanatephorus cucumeris*. Phytopathology 59: 1270-1278.
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The Neighbor-Joining method - a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol. 4: 406-425.
- Schwartz, H.F. 1994. Web Blight. Page 27 in Compendium of Bean Diseases. R. Hall, ed. APS Press, USA.
- Sharon, M., Kuninaga S., Hyakumachi M. and Sneh B. 2006. The Advancing Identification and Classification of *Rhizoctonia* spp. Using Molecular and Biotechnological Methods Compared with the Classical Anastomosis Grouping. Mycoscience 47: 299-316.
- Sharon, M., Kuninaga, S., Hyakumachi, M., Naito, S. and Sneh, B. 2008. Classification of *Rhizoctonia* spp. Using rDNA-ITS Sequence Analysis Supports the Genetic Basis of the Classical Anastomosis Grouping. Mycoscience 49: 93-114.
- Sneh, B., Burpee, L. and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species, APS Press, St. Paul, Minnesota, 133 pp.
- Spedaletti, Y., Mercado Cárdenas, G., Taboada, G., Aban, C., Aparicio, M., Rodruigero, M., Vizgarra, O., Sühring, S., Galíndez, G. and Galván, M. 2017. Molecular Identification and Pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. Recovered from Seed and Soil Samples of the Main Bean Growing Area of Argentina. Aust. J. Crop Sci. 11: 952-959.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Mol Biol Evol. 30: 2725-2729.
- Thompson, J.D., Higgins D.G. and Gibson T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22: 4673-4680.
- Tuncer, G. and Erdiller, G. 1990. The Identification of *Rhizoctonia solani* Kühn Anastomosis Groups Isolated from Potato and Some Other Crops in Central Anatolia. J. Turk. Phytopathol. 19: 89-93.
- Van Schoonhoven, A. and Pastor-Corrales, M.A. 1987. Standard System for the Evaluation of Bean Germplasm. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, 54 pp.
- Vilgalys, R. and Cubeta, M.A. 1994. Molecular Systematics and Population Biology of *Rhizoctonia*, Annu. Rev. Phytopathol. 32: 135-155.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. Pages 315-322 in: PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications. M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White, eds. Academic Press, New York, USA.
- Yang, G.H., Chen, J.Y. and Pu, W.Q. 2007. First Report of Head Rot of Cabbage and Web Blight of Snap Bean Caused by *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI. Plant Pathol. 56: 351.
- Yang, Y.G., Zhao, C., Guo, Z.J. and Wu, X.H. 2015. Characterization of a New Anastomosis Group (AG-W) of Binucleate *Rhizoctonia*, Causal Agent for Potato Stem Canker. Plant Dis. 99: 1757-1763.
- Yıldırım, E. and Erper, İ. 2017. Characterization and Pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. Isolated from Vegetable Crops Grown in Greenhouses in Samsun Province, Turkey. Biosci. J. 33: 257-267.