

Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

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

Original article

Determination of fungal diseases in bean seeds in the Western Black Sea Region

Batı Karadeniz Bölgesi'nde fasulye tohumlarında bulunan fungal hastalıkların belirlenmesi

Sirel CANPOLAT^a, Salih MADEN^b

^aDirectorate of Plant Protection Central Research Institute, Gayret Mah., Fatih Sultan Mehmet Bulvarı, 06172 Yenimahalle, Ankara, Turkey

^bRetired Faculty Member, Ankara, Turkey

ARTICLE INFO

Article history:

DOI: [10.16955/bitkorb.730841](https://doi.org/10.16955/bitkorb.730841)

Received : 02-05-2020

Accepted: 18-06-2020

Keywords:

Phaseolus vulgaris, seed, disease, fungi

* Corresponding author: Sirel CANPOLAT

✉ sirelozan_18@hotmail.com

ABSTRACT

This research was conducted between 2012 and 2014 in order to determine the fungal causal agents in bean seeds collected from bean cultivation areas in Zonguldak, Bartın and Karabük provinces in the Western Black Sea Region. Seed samples were collected from greenhouses in the surveyed provinces. After isolation of fungi from these seeds, isolates were identified by morphological and molecular techniques. In the result of the study, plant pathogenic fungal species, *Pseudocercospora griseola* (53%), *Stemphylium vesicarium* (14.5%), *Fusarium oxysporum* (6.5%), *Fusarium solani* (5.25%), *Stemphylium globuliferum* (4.5%), *Stemphylium herbarum* (tel: *Pleospora herbarum*) (2%), *Fusarium sambucinum* (1%), *Trichothecium roseum* (0.75%) ve *Paecilomyces* sp. (2.5%), were obtained from seed samples.

GİRİŞ

Yemelik tane baklagiller, dünya üzerinde MÖ 5000 yılından beri tarımı yapılan ve insan beslenmesinin önemli bir bölümünü oluşturan en önemli besinlerimizdendir. Fasulye, bütün baklagiller içinde en çok tüketilen sebzelerden birisidir. Baklagiller familyasının *Phaseolus* cinsine bağlı olup, Orta Amerika kökenli bir bitki türüdür. Taze baklaları konserve, dondurulmuş gıda, kurutularak ve sofralık olarak kullanılmaktadır. Kuru fasulye yemeğinin geleneksel mutfak kültürünün bir parçası olması, fasulyenin Türkiye için ne kadar önemli bir bitki olduğunun göstergesidir. Fasulye, ülkemizde tüm coğrafik bölgelerde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan bir sebzedir. Baklagillerden alınan bitkisel proteinlerin ve karbohidratların, hem insan hem de hayvan beslenmesinde büyük önemi vardır. Baklagiller, tarla bitkileri yetiştiriciliğinde, ekim alanı ve üretim bakımından tahıllardan sonra gelen tane ürünüdür. Baklagiller içerisinde fasulye, dünyada 126 ülkede en fazla ekim alanına sahip bir

üründür. Daha çok Asya ve Amerika kıtalarında bulunan fasulye ekim alanları, 1980-2000 yılları arasında 25 milyon ha düzeyinde iken; son 10 yılda %12 artış göstererek 29 milyon hektara ulaşmıştır (Anonim 2017).

Dünyada 2018 yılında fasulye üretimi bir önceki yıla göre %6.6 azalışla 21.3 milyon ton, nohut üretimi %5.6 artışla 14.8 milyon ton, mercimek üretimi ise %4.9 azalışla 5.8 milyon ton olmuştur. Ülkemizde kuru fasulye üretiminde; Konya, Niğde ve Karaman illeri ön plana çıkmakta olup, üretimin yaklaşık %70'i İç Anadolu Bölgesi'nde yapılmaktadır (TÜİK 2018)

Ülkemizde son yıllarda yaşanan fasulye üretimindeki azalmalar genellikle ekim alanlarındaki azalmalara bağlı olarak ortaya çıkmıştır. Ekim alanlarındaki azalmalar, özellikle üretim girdilerinin yüksek olması, üreticinin ürününe tatmin edici düzeyde gelir elde edememesi,

ithalatçı ülkelerin kalite isteklerine uygun standart irilikte ürün yetiştirilmemesi, makineli tarımın yaygın olmayışı, sertifikalı tohum kullanımının oldukça yetersiz oluşu, yetiştirme tekniğinin tam olarak uygulanmaması, hastalık ve zararlılarla yeterli düzeyde mücadele yapılmayışı gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır. 2012-2018 yılları arasında ülkemizde fasulye ekiliş alanlarında yaşanan azalmaya rağmen üretim ve verimde azda olsa artışlar gözlenmiştir. Bakliyat sektöründe yaşanan fiyat istikrarsızlığı nedeniyle daralan ekim alanları TMO tarafından sağlanan fiyat garantisi ile son yıllarda T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından bakliyata verilen prim ve diğer desteklerdeki artışla birlikte yeniden cazip hale getirilerek bakliyat ekim alanlarında ve üretimde artış sağlanmıştır (Anonim 2019). Ülkemizde yıllara göre fasulye ekiliş, üretim, verim ve kullanım miktarlarındaki değişimler Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Ülkemizde yıllara göre fasulye ekiliş, üretim ve verimleri (Anonim 2019)

Yıllar	Ekilen Alan (Ha)	Üretim (Ton)	Verim (Kg/ Da)	Kullanım (Ton)
2012	93.174	200.000	215	237.817
2013	84.691	195.000	230	245.636
2014	91.110	215.000	236	246.679
2015	93.584	235.000	251	281.435
2016	89.820	235.000	235	284.008
2017	89.679	239.000	267	285.785
2018	84.786	220.000	259	280.000*

Kaynak: TUIK*TMO Tahminidir.

Dünyada fasulye bitkisinin ekimini ve verimini sınırlayan birçok biyotik ve abiyotik faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerden birisi funguslar ve fungus benzeri toprak kökenli patojenlerdir. Dünyada ve ülkemizde fasulye üretimindeki en önemli sorunlardan biri tohum kaynaklı fungal patojenlerdir. Bunlardan *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn., *Pythium ultimum* Trow, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary ve *Sclerotium rolfsii* Sacc. fasulyede çökerten, kök çürüklüğü ve solgunluk, kömür çürüklüğü, beyaz çürüklük ve güney yanıklığı gibi hastalıklara neden olmaktadır (Erper et al. 2008, Vural and Soylu 2012).

Hem taze hem de kuru olarak yetiştirilen fasulye bitkisinde pek çok fungusun tohum kaynaklı olduğu bilinmektedir. Türkiyede fasulyede yürütülen bazı çalışmalarda, hastalıklı fasulye tohumlarında *Isariopsis griseola*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium redolens*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium semitectum* ve *Macrophomina phaseoli* gibi fungal hastalık etmenleri tespit edilmiştir (Göbelez 1956, Maden and İren 1984, Temiz and Fesli 1974). Ayrıca fasulyede, tohum kaynaklı

patojenlerin üründe önemli verim ve kalite kayıplarına sebep olabileceği de bildirilmektedir (Maden and İren 1984). Fasulye tohumlarındaki patojenlerin biyokimyasal değişikliklere, çimlenmede azalmaya, tohumlarda ağırlık kaybına, mikotoksin oluşumuna, tohum renginde farklılaşmaya sebep olduğu bildirilmiştir (Weidenböner and Hindorf 1989).

Ayrıca Batı Karadeniz Bölgesi Zonguldak, Bartın ve Karabük illerinde fasulyede yürütülen bazı çalışmalarda da fasulyede tohumla taşınan en önemli hastalıklardan birinin *Pseudocercospora griseola*'nın neden olduğu Köşeli yaprak lekeli hastalığı olduğu bildirilmiştir (Canpolat and Maden 2020, Ozan 2009, Ozan and Maden 2010). Köşeli yaprak lekeli hastalığının en önemli inokulum kaynağının ise hastalıklı tohumlar ile hastalıklı bitki artıkları olduğu belirtilmiştir (Canpolat and Maden 2017a, 2020, Ozan and Maden 2010, 2014).

Nikaragua'da fasulye üretimi yapılan 4 ana üretim alanındaki 4 depoda sürveyler yürütülmüş, örnekler alınmış ve izolasyonlar yapılarak 133 fungal etmen bulunmuştur. *Fusarium* spp. (*F. chlamyosporum*, *F. equiseti*, *F. incarnatum*), *Lasiodiplodia theobromae*, *M. phaseolina* ve *Penicillium citrinum* tohumda bulunan en zararlı ve yaygın türler olmuştur. Bu fungal etmenler hem morfolojik hem de moleküler olarak tanımlanmıştır (Marcenaro and Valkonen 2016). Hırvatistan Cumhuriyeti'nde fasulye tohumlarındaki tohum kaynaklı fungal etmenleri ve bunların okratoksin A (OTA) üretimi ile ilişkisini tanımlamak için tasarlanan çalışmada, izole edilen en yaygın fungal etmen *Cladosporium* spp. (%98) olmuştur. Bunu *Alternaria* spp. (%75), *Aspergillus* spp. (%73), *Rhizopus* spp. (%73), *Penicillium* spp. (%69), *Fusarium* spp. (%38), *Botrytis* spp. (%27), *Trichothecium* spp. (%24) ve *Chaetomium* spp. (%18) izlemiştir (Domijan et al. 2005).

Etiyopya'da fasulye tohumlarındaki fungal patojenlerin araştırıldığı çalışmada *C. lindemuthianum*, *Phaeoisariopsis griseola* ve *Ascochyta phaseolorum*'un fasulye tohumlarındaki en yaygın ve zararlı tohum kaynaklı fungal patojenler olduğu tespit edilmiştir (Yesuf and Sangchote 2005). Yine Mısır'da fasulyede tohum kaynaklı fungal etmenleri belirlemek için yürütülen 2 farklı çalışma sonunda *Aspergillus flavus* (*As. flavus*), *Aspergillus niger* (*As. niger*), *Aspergillus ochraceus* (*As. ochraceus*), *Penicillium digitatum* (*Pe. digitatum*), *Penicillium italicum* (*Pe. italicum*), *Alternaria alternata* (*Al. alternata*), *Botrytis faba*, *Sefalosporium* sp., *Cladosporium cladosporioides* (*Cl. cladosporioides*), *Epicoccum nigrum*, *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *Fusarium verticillium*, *R. solani*, *Rhizopus stolonifer* (*Rh. stolonifer*), *Stemphylium globuliferum* (*St. globuliferum*), *Trichothecium roseum* (*T. roseum*), *Verticillium dahliae*, *Helminthosporium* sp., *Penicillium* spp. fungal etmenleri tespit edilmiştir (Elwakil et al. 2009, Sabry et al. 2013).

Bu çalışmanın amacı, Batı Karadeniz Bölgesi'nin Zonguldak, Bartın ve Karabük illerinde fasulye ekiliş alanlarından toplanan fasulye tohumlarında zarar oluşturan hastalık etmenlerinin belirlenmesidir.

MATERYAL VE METOT

Tohum enfeksiyon oranının belirlenmesi

Zonguldak, Bartın ve Karabük illerinde yapılan surveys sırasında kullanılan yerel fasulye genotipleri belirlenerek, bu genotiplerin her birinden 250 g tohum örneği alınmıştır. Daha sonra fungal enfeksiyon oranlarını belirlemek için tohumlar, laboratuvar koşullarında hem stereomikroskop altında hem de makroskobik olarak incelenmiştir. Tohumlar belirti şekillerine göre gruplandırılıp (Şekil 1), WA (Su Agarı), PDA (Patates Dekstroz Agar), SNA (Sentetik Nutrient Agar), MEA (Malt Ekstrakt Agar), V-8 agar (V-8 sebze suyu agar) besi ortamlarına ve nemli hücreye (Blotter) ekimleri yapılarak tohumda hastalık etmeninin varlığı araştırılmıştır.



Şekil 1. Farklı lezyon tiplerine göre gruplandırılan tohumlar

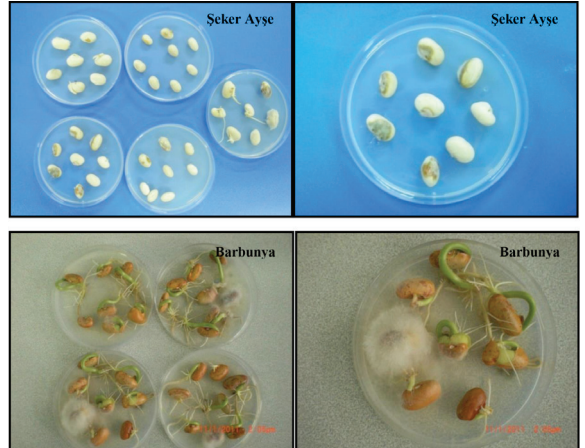
Tohum enfeksiyon oranlarını belirlemek için hastalığın görüldüğü seralardan hastalıklı baklalar toplanmış ve laboratuvara getirilerek tohumları çıkarılmıştır. Perikarp üzerinde farklı yerlerde lezyonlara sahip tohumlar gruplandırılarak her belirti grubundan 400 adet tohum olacak şekilde 2-5 hafta süre ile laboratuvar koşullarında kurutulup depolanmıştır. Daha sonra tohumlar, %1'lik NaOCl'de 3 dk yüzeysel dezenfeksiyona tabi tutularak iki seri saf sudan geçirilip steril kurutma kâğıtları üzerinde kurutulmuştur. 450 x 350 mm boyutundaki steril kurutma kâğıtları, birkaç kat olacak şekilde üst üste yerleştirilmiş ve steril saf su ile

nemlendirilmiştir. Hastalık belirtisi gösteren tohumlar, bu kâğıtların arasına koyulup rulo şeklinde sarılmış ve 20 °C sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 2). Kontrolde ise perikarp üzerinde hiçbir hastalık belirtisi olmayan tohumlar, aynı şekilde nemlendirilmiş kurutma kâğıtları arasında işleme tabi tutulmuştur. İnkübasyondan 7-14 gün sonra tohumlar, olası fungal hastalık etmenleri yönünden değerlendirilmiştir (ISTA 1996, Sengooba and Mukiibi 1986).



Şekil 2. Steril kurutma kâğıtları arasında 7-14 gün boyunca inkübasyona bırakılan fasulye tohumları

Ayrıca depolanan Şeker Ayşe ve Barbunya çeşidi fasulye tohumlarından 400 adedi, EPPO tarafından önerilen prosedüre göre fungal enfeksiyon açısından değerlendirilmiştir. Bu amaçla 400 x 340 mm boyutundaki steril kurutma kâğıtları, birkaç kat olacak şekilde üst üste Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Müdürlüğü'nden temin edilen tohum test kaplarına koyulmuş ve steril saf su ile nemlendirilmiştir. Tohumlar kâğıtların arasına koyulup rulo şeklinde sarılmış ve 20°C sıcaklıkta karanlıkta 48 s süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra tohumlar, içinde %1'lik MEA besi ortamı bulunan petri kaplarına aktarılmış ve 20-24°C sıcaklıkta 7-14 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3). Kontrol olarak tohum kabuğu üzerinde hiçbir hastalık belirtisi olmayan sağlıklı tohumlar kullanılmıştır. Aynı şekilde nemlendirilmiş kurutma kâğıtları arasında tohumlar inkübasyona bırakılmış sonra alınıp %1'lik MEA besi ortamı bulunan petrilere ekilmiştir. İnkübasyondan 7-14 gün sonra tohumlar, olası fungal hastalık etmenleri yönünden değerlendirilmiştir (EPPO 1991).



Şekil 3. MEA besi ortamında inkübasyona bırakılan Barbunya ve Şeker Ayşe tohumları

Petri kaplarında gelişen farklı fungal kültürler, PDA, SNA, V-8 agar ve MEA besi ortamlarına aktarılarak 24°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 7-10 günlük inkübasyondan sonra petrilerdeki gelişmeler kontrol edilmiştir.

Gelişen fungal kültürlerin tanı işlemleri, hem morfolojik hem de moleküler yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Fungal türlerin morfolojik karakterizasyonu güncel tanı referansları tarafından önerilen kriterlere göre yapılmıştır (Booth 1971, Crous et al. 2006, Nelson et al. 1983, Simmons 1969, 1985, Summerbell et al. 2011). Fungal türlerin moleküler tanısı için besi ortamında geliştirilen etmenlerin misellerinden 250 mg alınarak sıvı azot içine koyulmuş, dondurulup muamele edildikten sonra DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN Inc. Valencia, CA) kullanılarak fungal izolatlardan DNA ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İzole edilen DNA'nın fungusların farklı korunmuş bölgelerine ait ITS1 ve ITS4 genel primerleri kullanılarak PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiş ve DNA sekansları GENOKS (Ankara) firmasına yaptırılmıştır. *Pseudocercospora griseola* (*Ps. griseola*) için ise ITS, Actin ve Calmodulin gen bölgeleri kullanılmıştır. PCR karışımı toplamda 50 µl olacak şekilde hazırlanmış ve PCR'da kullanılmıştır. Uygulanan PCR döngü programı aşağıda belirtilmiştir;

1. 93°C'de 2 dk..... 1 döngü
2. 92°C'de 2 dk..... 40 döngü
3. Primerin uygulanan yapışma sıcaklığı 1 dk..... 40 döngü
4. 72°C'de 2 dk..... 40 döngü
5. 72°C'de 10 dk..... 1 döngü

Ps. griseola'nın PCR döngüsü

96°C→ 5 dk ön denatürasyon

96°C→ 30 sn DNA'nın çift iplikçığının ayrılması (denatürasyon)

55°C→ 30 sn primer bağlanması (annealing)

72°C→ 90 sn yeni iplikçığın yazılımı (extension)

72°C→ 7 dk son yazılım

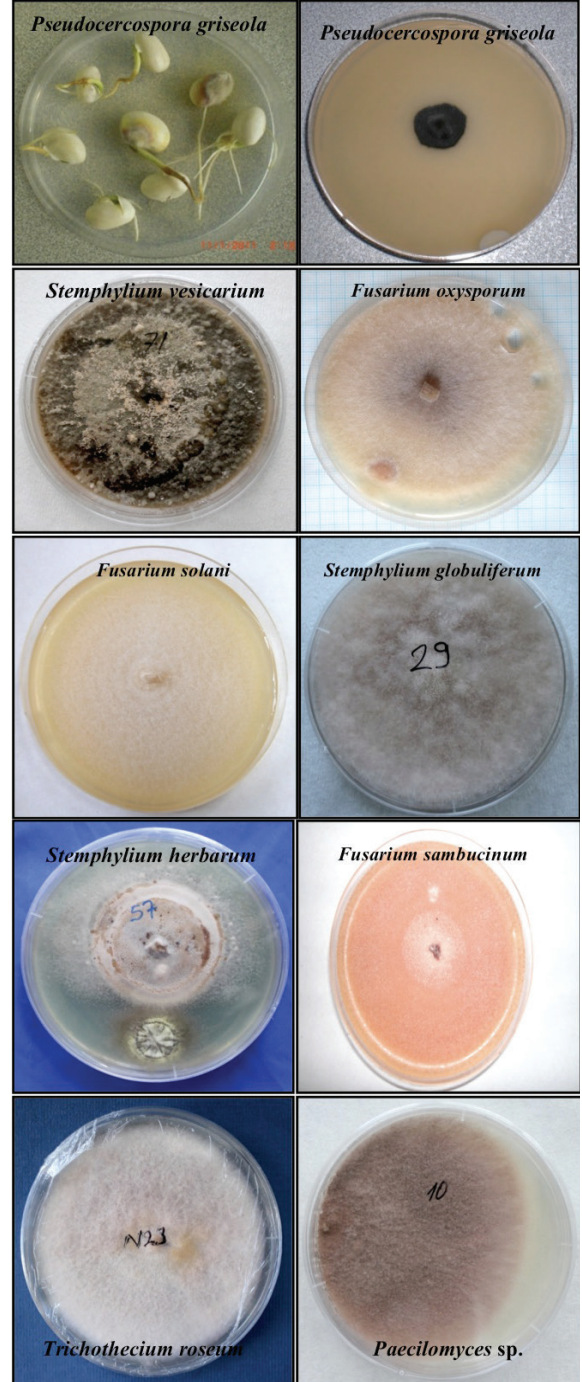
Elde edilen PCR ürünleri, %1.5'lük agaroz jele yüklenmiş 1X TBE (40 mM Tris-borate, 1 mM EDTA, pH 8.0) buffer içerisinde 100 voltta elektroforez işlemine tabi tutulmuş ve görüntülenmiştir. Ayrıca ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünleri DNA nükleotid dizileri, NCBI (National Center for Biotechnology Information) BLAST veri tabanındaki kayıtlı DNA nükleotid dizileri ile karşılaştırılarak en yüksek olasılıklı türe karar verilmiştir.

SONUÇLAR

Tohumla taşınan fungal etmenler ve bulunma oranları

Klasik yöntemlerle belirlenen etmenler

Zonguldak, Bartın ve Karabük illerinde yürütülen sürveyler sırasında yetiştiriciliği yapılan yerel genotipler, Şeker Ayşe ve Barbunya olarak tespit edilmiştir. Bu genotiplerin tohumlarındaki fungal enfeksiyon oranlarını belirlemek için EPPO prosedürüne göre incelenen 400 tohumun %53'ünde



Şekil 4. Tohumlardan izole edilen etmenlerin besi ortamındaki koloni gelişimleri

Ps. griseola, %14.5'inde *Stemphylium vesicarium* (*St. vesicarium*), %6.5'inde *F. oxysporum*, %5.25'inde *F. solani*, %4.5'inde *St. globuliferum*, %2'sinde *Stemphylium herbarum* (*St. herbarum*), %1'inde *F. sambucinum*, %0.75'inde *T. roseum* ve %2.5'inde ise *Paecilomyces* sp. tespit edilmiştir (Şekil 4). Ayrıca tohum kabuğunda ve hilumda lezyon görülen fasulye tohumlarından, köşeli yaprak lekeli etmeni *Ps. griseola* izole edilmiştir. İzole edilen fungal etmenlerin morfolojik teşhisleri Prof. Dr. Salih MADEN tarafından yapılmıştır.

Tohum enfeksiyon oranlarını belirlemek için ISTA (1996) ve Sengooba and Mukiibi (1986)'ye göre 400 tohum, *Ps. griseola* varlığı açısından analiz edilmiş ve bunların 164'ünde *Ps. griseola* (%41) tespit edilmiştir.

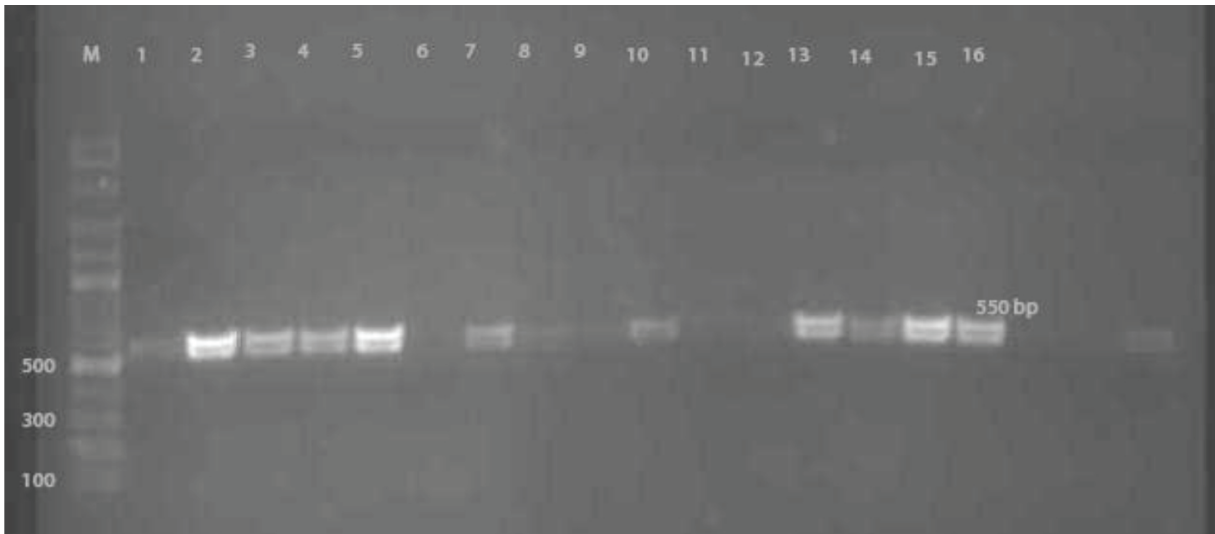
Moleküler olarak tanımlanan fungal türler

Tohumlardan izole edilen fungal etmenlerden DNA ekstraksiyonu yapılmış ve PCR ürünlerinin amplifikasyonu sonucunda, ITS için 500-560 bp büyüklüğünde DNA bantları elde edilmiştir (Şekil 5). PCR ürünlerinin nükleotid dizi analizleri sonucu, NCBI BLAST veri tabanında kayıtlı diziler ile karşılaştırılmış, %99-%100 arasında benzerlik göstermiştir. Bu izolatlar *St. vesicarium* (%100), *F. oxysporum* (%99), *F. solani* (%99), *St. globuliferum* (%100), *Pleospora herbarum* (%99), *F. sambucinum* (%99), *T. roseum* (%100) olarak tanımlanmış olup, morfolojik tanı sonuçlarını doğrulamıştır. *Ps. griseola* için ITS 500-560 bp, Calmodulin 300-350 bp ve Actin 200-300 bp büyüklüğünde DNA bantları elde edilmiştir. PCR ürünlerinin nükleotid dizi analizleri sonucu NCBI BLAST veri tabanında kayıtlı diziler ile karşılaştırılmış ve %100 benzerlik göstermiştir.

TARTIŞMA VE KANI

Batı Karadeniz Bölgesi'nin Zonguldak, Bartın ve Karabük illerinde 2012-2014 yılları arasında fasulye ekili alanlarında sürvey çalışmaları yürütülmüş olup, bu illerden toplanan hastalıklı fasulye tohumlarında zarar oluşturan fungal hastalık etmenleri belirlenmiştir. Bu çalışmada fasulye tohumlarında hem *Ps. griseola*'nın varlığı hem de tohum kaynaklı fungal hastalık etmenlerinin varlığı araştırılmıştır. Bu amaçla Köşeli yaprak lekeli hastalığı açısından tohum enfeksiyon oranını belirlemek için yapılan testlerde kullanılan tohumlar, hastalık şiddetinin yüksek seyrettiği seralardaki enfekteli baklalardan alınmasına rağmen lekeli tohumların hepsinden *Ps. griseola* elde edilememiştir. Dhingra and Kushalappa (1980), Saettler and Correa (1988) tarafından yapılan çalışmalarda da şiddetli enfeksiyonlu baklalardan alınan tohumlarda enfeksiyon oranı %9 bulunmuştur. Ayrıca tohum enfeksiyonunu sadece tohum kabuğunun birleşme noktasına yerleşen lezyonlardan tespit ettikleri için tohum enfeksiyonunun hilum (tohum göbeği, tohum kabuğunun tohuma bağlandığı yer) boyunca yer alabileceğini bildirmişlerdir (Dhingra and Kushalappa 1980, Sengooba and Mukiibi 1986).

Dhingra and Kushalappa (1980) tarafından Köşeli yaprak lekeli etmeninin sebep olduğu tohum enfeksiyonu ve hastalık şiddeti arasındaki ilişki araştırılmıştır. Fasulyede *Ps. griseola*'nın baklada %8-17.9 hastalık şiddetine sebep olduğu ancak %31-63.8 oranında Köşeli yaprak lekeli hastalığının çıktığı bildirilmiştir. *Ps. griseola*'nın neden olduğu tohum enfeksiyonu açısından bakla enfeksiyon oranı %1-50 arasında değişen 5 fasulye çeşidinin tohumları testlenmiştir. Köşeli yaprak lekeli hastalık etmeni *Ps.*



Şekil 5. ITS primerleri kullanılarak yapılan PCR çoğaltım ürünlerinin agaroz jel görüntüsü M:100 bp DNA ladder, ITS (500-550 bp). *Stemphylium vesicarium* (2), *Stemphylium globuliferum* (3), *Paecilomyces* sp. (4), *Stemphylium herbarum* (5), *Fusarium sambucinum* (7), *Trichothecium roseum* (10), *Pseudocercospora griseola* (13,14), *Fusarium oxysporum* (15) ve *Fusarium solani* (16)

griseola açısından testlenen 3832 fasulye tohumundan yalnızca 72'sinde hastalık etmeni (%1.87) bulunabilmiştir. Tohum üzerindeki enfeksiyon oranı ile bakkallardaki hastalık şiddeti arasında bir korelasyon bulunamamıştır. Tohum enfeksiyonunun öncelikle hilumda olduğu ve sadece sütür üzerindeki lekelerin altında etmenin yerleştiğini bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada da hem EPPO (1991) hem de ISTA (1996)'a göre testlenen 400 tohumdan sırasıyla *Ps. griseola* %53 ve %41 oranlarında tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada da Köşeli yaprak lekesi hastalığı etmeni *Ps. griseola* hem tohum kabuğunda hem de hilumda lezyon görülen fasulye tohumlarından izole edilmiş olup bakkallardan etmenin izolasyonu ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Hastalıklı tohumların tohum kabuğunda renk farklılığı olduğu Orozco-Sarria et al. (1959) tarafından tespit edilmiş olup, yürütülen bu çalışmada da *Ps. griseola*'nın tohum kabuğunda renk değişimlerine neden olduğu tespit edilmiştir. Saettler and Correa (1988) tarafından yürütülen başka bir çalışmada ise köşeli yaprak lekesi etmeninin 1982 yılında %40, 1983 yılında ise %10 oranlarında tohumla taşındığı bildirilmiş olup, tohum üzerinde hastalık yerinin çeşitlere göre değiştiği bildirilmiştir. Enfeksiyon yerinin farklılık gösterdiği ve bazı çeşitlerde hilumda, diğerlerinde ise hem hilum hem de tohum kabuğunda gözlemlendiği tespit edilmiştir.

İnokulum kaynaklarının belirlenebilmesi için enfekteli tohumlarla ve enfekteli bitki artıkları ile denemeler kurularak yapılan çalışmada; denenen metotların her ikisinde de saksılardaki fasulye bitkilerinin tamamında hastalık çıkışı gözlemlendiği bildirilmiştir. Tüm bitkilerde hastalık etmeni şiddetli enfeksiyonlara neden olmuş, etmen fasulye yapraklarında genellikle yaprak damarlarıyla sınırlı kahverengi köşeli lekelerle neden olmuştur. Yaprak lekelerinin zamanla birleşerek yaprağı tamamen kapladığı, yapraklarda kurumalara ve dökülmelere neden olduğu tespit edilmiştir (Canpolat and Maden 2017a, 2017b). Yürütülen çalışma sonuçlarına göre hastalık etmeninin, çalışmanın yapıldığı bölgede iki tane önemli inokulum kaynağı olduğu tespit edilmiştir. Bu inokulum kaynaklarından birinin hastalıklı tohumlar, diğerinin de hastalıklı bitki artıkları olduğu bildirilmiştir. Yine farklı araştırmacılar tarafından yürütülen iki çalışmada da bitki artıkları ve enfekteli tohumların hastalık etmenin inokulum kaynakları oldukları bildirilmiştir (Frison et al. 1990, Saettler and Correa 1988). Ayrıca CABI/EPPO (1997)'da tohum, hastalıklı bitki artıkları ve kendi gelen bitkilerin etmenin inokulum kaynakları olduğu bildirilmektedir.

EPPO prosedürüne göre yapılan testlerde *Ps. griseola* 400 tohumda %53, ISTA (1996) ve Sengooba and Mukiibi

(1986)'ye göre yapılan testlerde ise %41 oranında tespit edilmiştir. EPPO ve ISTA metotları etmenin tohumdan tespitinde kullanılacak en uygun metotlardır. Etmen EPPO metodunda tohumdan besi ortamına aktarılarak, ISTA metodunda ise tohum üzerindeki gelişmelerden preparat yapılarak teşhis edilmiştir. EPPO metodunda etmen ISTA'ya göre daha yüksek oranda elde edilebilmiştir. Ayrıca fasulye tohumlarından izole edilen diğer etmenlerin DNA ekstraksiyonu yapılmış, ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak PCR işlemi yürütülmüş ve ITS için 500-560 bp'de bantlar elde edilmiştir. PCR ürünlerinin DNA dizileri NCBI'da bulunan diziler ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen izolatlar GenBank'ta kayıtlı izolatlar ile %99-100 arasında benzerlik göstermiştir. Bu izolatlar *St. vesicarium*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *St. globuliferum*, *P. herbarum*, *F. sambucinum*, *T. roseum*'dur. Maden and İren (1984), tarafından yapılan fasulyede tohumla taşınan etmenlerin belirlendiği çalışmada da fasulye tohumlarından *Stemphylium botryosum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. sambucinum* ve *T. roseum*'un izole edildiği bildirilmiştir.

Göbelez (1956) tarafından Orta Anadolu Bölgesi'nde fasulye tohumlarında bulunan etmenleri belirleyebilmek için yapılan çalışmada *Isariopsis griseola*, *Gleosporium lindemuthianum* (*C. lindemuthianum*) ve *Dothiorella phaseoli* (*M. phaseolina*) saptanmış olup, mevcut çalışmamızda benzer olarak fasulye tohumlarında sadece *Ps. griseola* tespit edilmiştir.

Demirci ve Çağlar (1998) tarafından 1995 yılında Erzurum ilinin dört farklı ilçesinden 57 adet fasulye tohumu toplanmış ve laboratuvara getirilerek incelenmiştir. Tohumlarda görülen funguslar besiyerine ekilerek izolasyonlar ve teşhisler yapılmıştır. İncelemeler sonucunda, tohum örneklerinde 18 fungus belirlenmiştir. İncelenen tohum örneklerinin, %50.9'unun *A. alternata*, %47.4'ünün *Aspergillus* spp., %3.5'inin *Botrytis cinerea*, %63.2'sinin *Cladosporium* spp., %10.5'inin *C. lindemuthianum*, %1.8'inin *F. acuminatum*, %50.9'unun *F. equiseti*, %3.5'inin *Fusarium proliferatum*, %1.8'inin *F. verticillioides*, %91.2'sinin *Penicillium* spp., %1.8'inin *Phoma glomerata*, %1.8'inin *Phoma medicaginis*, %12.3'ünün *R. solani*, %96.5'inin *Rhizopus stolonifer*, %7.0'sinin *Stemphylium botryosum*, %5.3'ünün *Trichoderma* spp., %5.3'ünün *T. roseum* ve %5.3'ünün *Ulocladium atrum* ile bulaşık olduğu saptanmış olup, mevcut çalışmamızda bu patojenlerle benzer olarak *T. roseum*, farklı olarak da *Fusarium* ve *Stemphylium* cinslerine ait *S. globuliferum*, *S. vesicarium*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *P. herbarum* ve *F. sambucinum* bulunmuştur.

Hırvatistan Cumhuriyeti'nin 13 ilinde yetiştirilen fasulye (*P. vulgaris* L.) tohumlarındaki tohum kaynaklı fungal etmenleri ve bunların okratoksin A (OTA) üretimi ile

ilişkinini tanımlamak için tasarlanan çalışmada, izole edilen en yaygın fungal etmen *Cladosporium* spp. (%98) olmuştur. Bunu *Alternaria* spp. (%75), *Aspergillus* spp. (%73), *Rhizopus* spp. (%73), *Penicillium* spp. (%69), *Fusarium* spp. (%38), *Botrytis* spp. (%27), *Trichothecium* spp. (%24) ve *Chaetomium* spp. (%18) izlemiştir (Domijan et al. 2005). Yaptığımız bu çalışmada ise testlenen fasulye tohumlarından *F. oxysporum* %6.5, *F. solani* %5.25 ve *T. roseum* ise %0.75 oranında izole edilmiştir.

Etiyopya'da fasulye yetiştirme alanlarından toplam 245 tohum örneği toplanmıştır. Etiyopya'nın önemli fasulye yetiştirme bölgelerinden toplanan tohum örneklerinden farklı cinsten 13 tohum kaynaklı fungal patojen tanımlanmıştır. *C. lindemuthianum*, *Ps. griseola* ve *A. phaseolorum*'un fasulye tohumlarındaki en yaygın ve zararlı tohum kaynaklı fungal patojenler olduğu tespit edilmiştir (Yesuf and Sangchote 2005). Yapılan mevcut çalışmada da *Ps. griseola* fasulye tohumlarından izole edilen en yaygın hastalık etmeni olmuştur.

Mısır'ın farklı yerlerinden toplanan 6 adet bakla çeşidine ait 26 tohum örneği incelenmiş ve tohum kaynaklı fungal etmenleri belirlemek için izolasyonlar yapılmıştır. Çalışma sonunda 13 cins'e ait 20 fungal tür tanımlanmıştır. Bunlar *A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *P. digitatum*, *P. italicum*, *A. alternata*, *B. faba*, *Sefalosporium* sp., *C. cladosporioides*, *E. nigrum*, *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. verticillioides*, *R. solani*, *R. stolonifer*, *S. globuliferum*, *T. roseum*, *Verticillium dahliae*'dir (Elwakil et al. 2009). Yürüttüğümüz çalışmada da *F. oxysporum*, *F. solani*, *S. globuliferum* ve *T. roseum* etmenleri fasulye tohumlarından izole edilmiştir.

Chen et al. (2013) *C. lindemuthianum*'un neden olduğu Fasulye antraknozu hastalığının, fasulyenin (*P. vulgaris*) en önemli tohum kaynaklı hastalığı olduğunu bildirmiştir. Fasulye tohumlarında *C. lindemuthianum*'un saptanması için real-time PCR bazlı bir teşhis metodu geliştirebilmek için çalışmalar yürütülmüş ve real-time PCR testinin, Fasulye antraknozu etmeninin saptanması için geleneksel testlerden veya diğer PCR prosedürlerinden daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Yürütülen mevcut çalışmada ise fasulye tohumlarından yapılan izolasyonlarda *C. lindemuthianum*'a rastlanmamıştır.

Liamngee Kator et al. (2016) tarafından Nijerya Makurdi'de yapılan çalışmada pazarlardan toplanan fasulye (*P. vulgaris*) tohumlarında tohum kaynaklı fungusların izolasyonu ve teşhisleri yapılmıştır. Fasulye örneklerinden *A. niger*, *A. flavus*, *F. oxysporum* ve *Botryodiplodia theobromae* olmak üzere toplam dört fungus izole edilmiştir. Bu çalışmayla benzer olarak mevcut çalışmada da fasulye tohumlarından

F. oxysporum izole edilmiştir.

Kolombiyada Parsa et al. (2016) tarafından 11 adet Kolombiya fasulye çeşidine (*P. vulgaris*) ait 582 fasulye tohumunda fungal endofit araştırması gerçekleştirilmiştir. Araştırmada, ITS primerleri ile yapılan DNA sekans analizine göre 42 taksona ait 394 endofitik izolat tespit edilmiştir. Tohum örneklerinden izole edilen en baskın endofit %46.7 oranıyla *Aureobasidium pullulans* olmuştur. *F. oxysporum* %13.4, *Xylaria* sp. %11.7 ve *C. cladosporioides*'de %7.6 oranında bulunmuştur. Yürütülen mevcut çalışmada da 400 adet fasulye tohumunun %6.5'inde *F. oxysporum* tespit edilmiştir.

Marcenaro and Valkonen (2016) Nikaragua'da fasulye üretimi yapılan 4 ana üretim alanındaki 4 depoda sürveyler yürütmüş, örnekler almış ve izolasyonlar yaparak 133 fungal etmen bulmuşlardır. Bulunan 87 izolatin fidelede, renk değişikliği, nekrotik lezyonlar, kanserler, çürüklükler ve ölümcül nekrozlar gibi şiddetli hastalık belirtilerine neden olduğu bildirilmiştir. Patojenik izolatlar besi ortamındaki karakteristik gelişmelerine ve morfolojik özelliklerine dayanarak fenotipik olarak ayırt edilebilir sekiz gruba ayrılmış ve ITS1 ve ITS2 primerleri kullanılarak DNA sekans analizi ile tanımlanmışlardır. Patojenik izolatlar sekiz cins'e ayrılmış olup, *Fusarium* spp. (*F. chlamydosporum*, *F. equiseti*, *F. incarnatum*), *L. theobromae*, *M. phaseolina* ve *Penicillium citrinum* tohumda bulunan en zararlı ve yaygın türler olmuştur. Ayrıca *Corynespora cassicola*, *Colletotrichum capsisi*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *A. flavus* ve *Diaporthe* sp. (*Phomopsis*)'nin fasulyede tohumla taşındıklarını ve patojen olduklarını tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmada da hastalıklı fasulye tohumlarından izole edilen fungal etmenler hem morfolojik hem de moleküler olarak teşhis edilmişlerdir.

Ekilen tohumların kalitesi, ürünün hastalıklara karşı dayanıklı olması, verim ve kalite potansiyelini tam olarak gerçekleştirme yeteneği üzerinde kritik bir etkiye sahiptir. Yüksek tohum kalitesi standartlarını sağlamak için tohumun üretimi, hasadı, işlenmesi, depolanması ve ekimini içeren karmaşık bir teknoloji gereklidir. Bu süreç boyunca bitkiyi ve tohumu, mekanik yaralanmalardan, olumsuz çevresel koşullardan, zararlılardan ve hastalıklardan korumak için çok dikkatli olunması şarttır. Tohum kalitesinin korunması açısından hiçbir faktör diğerinden daha önemli değildir, ancak sağlıklı tohum elde edebilmek için bitkilerde hastalık kontrolü mutlak gereklidir. Tohum patolojisinin ilk araştırmalarından bu yana küresel tohum endüstrisinde bazı önemli değişiklikler meydana gelmiştir. Bu değişimlerde tohum kalite programlarında tohumla bulaşan patojenler her zaman daha büyük öneme sahip olmuştur. Bunu tohum ihracatı için uluslararası bitki sağlığı sertifikalarına yönelik artan talepler izlemiştir,

patojenlerin tohum ile yayılmasıyla ilgili endişeler artmış, gelişmiş tohum işleme teknolojisi ve biyoteknolojinin tohumla taşınan hastalıkların kontrolünde uygulanması çalışmaları takip etmiştir (Denis 1995).

Yapılan çalışmaların sonuçlarına göre hastalıklı fasulye tohumlarında Köşeli yaprak lekesi etmeni *Ps. griseola*'nın en yaygın hastalık etmeni olduğu belirlenmiş ve bu hastalık etmeninin Zirai Mücadele Teknik Talimatı ve Standart İlaç Deneme Metodu hazırlanmıştır. Ayrıca fasulye tohumlarından izole edilen fungal izolatlar ile Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, Ankara mikroorganizma kültür koleksiyonuna da materyal sağlanmıştır.

Yapılan bu çalışma sonucunda, Zonguldak, Bartın ve Karabük illeri fasulye üretim alanlarından toplanan hastalıklı tohumlarda Fasulye köşeli yaprak lekesi etmeni *P. griseola*'nın en yaygın hastalık etmeni olduğu ve bu hastalıkla mücadele edilmesi gerekliliği ortaya konulmuştur. Hastalıkla mücadelede kültürel önlemler başta olmak üzere kimyasal ve biyolojik mücadele metotları ile entegre mücadele uygulanmalıdır. Bundan sonraki çalışmalarda, fasulye tohumlarında yaygın olarak görülen önemli hastalık etmenlerinin kimyasal mücadelesine alternatif yöntemleri geliştirmek amacıyla, biyolojik mücadele etmenlerinin etkinliklerinin belirlenmesine yönelik bazı çalışmaların da yapılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu makale, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Bölümü Anabilim Dalı'nda "Batı Karadeniz Bölgesinde Örtü Altında Yetiştirilen Fasulyelerde Köşeli Yaprak Lekesi Etmeni (*Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & Braun)'nin Moleküler Yöntemler Kullanılarak Gruplarının Tespiti, İnokulum Kaynaklarının ve Bazı Fasulye Çeşitlerinin Bu Etmene Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi" adlı doktora çalışmasının bir kısmıdır. Bu Doktora çalışması, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından TAGEM-BS-/10/10-01/02-05 proje numarası ile desteklenmiştir.

ÖZET

Bu çalışma Batı Karadeniz Bölgesi'nde Zonguldak, Bartın ve Karabük illerinde fasulye ekiliş alanlarından toplanan fasulye tohumlarında görülen fungal hastalık etmenlerinin belirlenmesi amacıyla 2012-2014 yılları arasında yürütülmüştür. Tohum örnekleri survey yapılan illerdeki seralardan toplanmıştır. Bu tohumlardan funguslar izole edildikten sonra, izolatlar hem morfolojik hem de moleküler olarak teşhis edilmiştir. Çalışma sonucunda tohum örneklerinden, *Pseudocercospora griseola* (%53), *Stemphylium vesicarium* (%14.5), *Fusarium oxysporum*

(%6.5), *Fusarium solani* (%5.25), *Stemphylium globuliferum* (%4.5), *Stemphylium herbarum* (tel: *Pleospora herbarum*) (%2), *Fusarium sambucinum* (%1), *Trichothecium roseum* (%0.75) ve *Paecilomyces* sp. (%2.5) bitki patojeni fungal türler elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Phaseolus vulgaris*, tohum, fungal hastalıklar

KAYNAKLAR

Anonim 2017. Kuru fasulye ürün raporu, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, <https://arastirma.tarim.gov.tr/tepge> (erişim tarihi: 25.02. 2020).

Anonim 2019. Bakliyat sektör raporu, Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü. www.tmo.gov.tr (erişim tarihi: 15.03.2020).

EPPO 1991. Quarantine procedure/methode de quarantaine, *Phaeoisariopsis griseola*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 21, 263-264.

Booth C., 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Agricultural Bureaux, Kew, Surrey, England, 237.

CABI/EPPO 1997. Quarantine Pests for Europe, 2nd edition. CAB International, Wallingford, UK. 145 p.

Canpolat S., Maden S., 2017a. Determination of angular leaf spot caused by *Pseudocercospora griseola*, on common beans seeds in Western Black Sea Region of Turkey. 2nd International Balkan Agriculture Congress, 16-18 May 2017, Tekirdağ, Turkey, 93 p.

Canpolat S., Maden S., 2017b. Fasulye köşeli yaprak lekesi (*Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & Braun) hastalığının inokulum kaynaklarının belirlenmesi. Bitki Koruma Bülteni, 57 (1), 39-47.

Canpolat S., Maden S., 2020. Reactions of some common bean cultivars grown in Turkey against some isolates of angular leaf spot disease, caused by *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun. Plant Protection Bulletin, 61 (2), 45-54 p.

Carbone I., Kohn L.M., 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous Ascomycetes. Mycologia, 91, 553-556.

Chen Y.Y., Conner R.L., Gillard C.L., McLaren D.L., Boland G.J., Balasubramanian P.M., Stasolla C., Zhou Q.X., Hwang S.F., Chang K.F., Babcock C., 2013. A quantitative real-time PCR assay for detection of *Colletotrichum lindemuthianum* in navy bean seeds. Plant Pathology, 62, 900-907.

- Crous P.W., Lienbenberg M.M., Braun U., Groenewald J.Z., 2006. Re-evaluating the taxonomic status of *Phaeoisariopsis griseola*, the causal agent of angular leaf spot of bean. *Studies in Mycology*, 55 (1), 163-173.
- Demirci E., Çağlar A., 1998. Erzurum ilinde fasulye tohumlarından izole edilen funguslar. *Bitki Koruma Bülteni*, 38 (1-2), 91-97.
- Denis C.McGee., 1995. Epidemiological approach to disease management through seed technology. *Annual Review of Phytopathology*, 33, 445-466
- Dhingra O.D., Kushalappa A.C., 1980. No correlation between angular leaf spot intensity and seed infection in bean by *Isariopsis griseola*. *Fitopatologia Brasileira*, 5 (2), 149-152.
- Domijan A.M., Peraica M., Zlender V., Cvjetkovic B., Jurjevic Z., Topolovec-Pintaric S., Ivic D., 2005. Seed-borne fungi and ochratoxin A contamination of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Republic of Croatia. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 427-432.
- Elwakil M.A., El-Refai I.M., Awadallah O.A., El-Metwally M.A., Mohammed M.S., 2009. Seed-borne pathogens of faba bean in Egypt: detection and pathogenicity. *Plant Pathology Journal*, 8 (3), 90-97.
- Erper İ., Karaca G.H., Özkoç İ., 2008. Root rot disease incidence and severity on some legume species grown in Samsun and the fungi isolated from roots and soils. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 41 (7), 501-506.
- Frison E.A., Bos L., Hamilton R.I., Mathur S.B., Taylor J.D., 1990. FAO/IBPGR technical guidelines for the same movement of legume germplasm. Rome, Italy, 88 p.
- Göbelez M., 1956. Orta Anadolu'nun bazı illerinde yetiştirilen kültür bitkilerinde tohumla geçen bakteri ve mantari hastalıkların türleri, yayılış alanları ve bunların takribi zarar derecelerinin tespiti üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 107, 111-131.
- ISTA (International Seed Testing Association) 1996. *International Rules for Seed Testing*. Seed Science and Technology, 21 (Supplement): 1-288 p.
- Liamngee K., Aondo T.O-O., Akinyemi B.K., 2016. Isolation and identification of seed borne fungi of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from selected markets in Makurdi. *International Journal of Applied Agricultural Sciences*, 2 (5), 75-78.
- Maden S., İren S., 1984. Fasulyelerde tohumla geçen bazı önemli fungal hastalık etmenlerinin tanımlanması, taşınma şekilleri ve mücadele yöntemleri üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yayınları*, BK 2, 1-15.
- Marcenaro D., Valkonen J.P.T., 2016. Seedborne pathogenic fungi in common bean (*Phaseolus vulgaris* cv. INTA Rojo) in Nicaragua. *PLOS ONE*, 11 (12), e0168662. doi:10.1371/journal.pone.0168662.
- Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O., 1983: *Fusarium Species: An illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State University Press, University Park, 193.
- Orozco-Sarria S.H., Cardona-Alvarez C., 1959. Evidence of seed transmission of angular leaf spot of bean. *Phytopathology*, 49, 159.
- Ozan S., 2009. Batı Karadeniz Bölgesinde örtü altında fasulyelerde köşeli yaprak lekisine neden olan *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris (= *Isariopsis griseola* Sacc.)'nın tespiti. *Türkiye 3. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri*, 15-18 Temmuz 2009, Van, 227 s.
- Ozan S., Maden S., 2010. Batı Karadeniz Bölgesinde örtü altında yetiştirilen fasulyelerde köşeli yaprak lekisi etmeni *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Ferraris (= *Isariopsis griseola* Sacc.)'nın izolasyonu. *Bitki Koruma Bülteni*, 50 (2), 65-72.
- Ozan S., Maden S., 2014. Occurrence of angular leaf spot caused by *Pseudocercospora griseola*, on common beans in Western Black Sea Region of Turkey. *Agribalkan, Balkan Agriculture Congress Book of Abstracts*, 8-11 September, Edirne, 93 p.
- Parsa S., Garcia-Lemos A.M., Castillo K., Ortiz V., Lopez-Lavalle L.A.B., Braun J., Vega F.E., 2016. Fungal endophytes in germinated seeds of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. *Fungal Biology*, 120 (5), 783-790. <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2016.01.017>.
- Sabry Y.M.M., Hossey M.H., El-Shaikh K.A.A., Obiadalla A.H.A., Mohamed Y.A., 2013. Seed borne fungal pathogens associated with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds and their impact on germination. *Journal of Environmental Studies, [JES]*, 11, 19-26.
- Saettler A.W., Correa F.J., 1988. Transmission of *Phaeoisariopsis griseola* by bean seed. *Journal of Seed Technology*, 12 (2), 133-142 p.
- Sengooba T.N., Mukiibi J., 1986. Studies on inoculum sources of angular leaf spot of beans caused by *Phaeoisariopsis griseola* in Uganda. *Tropical Pest Management*, 32 (4), 286-291.
- Simmons E.G., 1969. Perfect states of *Stemphylium*. *Mycologia*, 61, Vol: I, 1-26 p.
- Simmons E.G., 1985. Perfect states of *Stemphylium* II. *Sydowia*, Vol: 38, 284-293 p.

Summerbell R.C., Gueidan C., Schroers H-J., De Hoog G.S., Starink M., Arocha Rosete Y., Guarro J., Scott J.A., 2011. *Acremonium* phylogenetic overview and revision of 46 *Gliomastix*, *Sarocladium*, and *Trichothecium*. *Studies in Mycology*, 68, 139-162.

Temiz K., Fesli S., 1974. Ege Bölgesi'nde yetiştirilen sebze türlerine ait çeşitlerde tohumla geçen fungal hastalık etmenlerinin tesbiti üzerinde araştırmalar (Cilt I ve Cilt II). TÜBİTAK, Tarım Ormancılık Araştırma Grubu, Proje No, TOAG-120.

TÜİK 2018. Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri. www.tuik.gov.tr (erişim tarihi: 25.02.2020).

Vural Ç., Soylu S., 2012. Prevalence and incidence of fungal disease agents affecting bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Research on Crops*, 13, 634-640.

Yesuf M., Sangchote S., 2005. Occurrence and distribution of major seedborne fungi associated with *Phaseolus* bean seeds in Ethiopia. *The Kasetsart Journal (Natural Science)*, 39, 216-225.

Weidenbörner M., Hindorf H., 1989. Fungi isolated from protein enriched seeds and pods with special emphasis on the genus *Aspergillus*. *Seed Science and Technology*, 17, 383-390.

White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J., (Eds). Academic Press, San Diego, California, 315-322.

Cite this article: Canpolat, S. (2020). Determination of fungal diseases in bean seeds in the Western Black Sea Region. *Plant Protection Bulletin*, 60-4. DOI: 10.16955/bitkorb.730841

Atf için: Canpolat, S. (2020). Batı Karadeniz Bölgesi'nde fasulye tohumlarında bulunan fungal hastalıkların belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 60-4. DOI: 10.16955/bitkorb.730841