

The Journal of Turkish Phytopathology

An International Journal of The Turkish Phytopathological Society



Volume : 50, Number : 1, 2021



ISSN 0378 – 8024
www.fitopatoloji.org.tr

The Turkish Phytopathological Society



THE JOURNAL OF TURKISH PHYTOPATHOLOGY

An International Journal of The Turkish Phytopathological Society

EDITOR IN CHIEF

Prof. Dr. Pervin KINAY TEKSÜR
pervin.kinay@ege.edu.tr

EDITORIAL BOARD

Asist. Prof. Dr. Ümit ÖZYILMAZ
Asist. Prof. Dr. Nedim ÇETİNKAYA
Dr. Yeşim EĞERCİ
Agric. Eng. Ramazan GENCER

Vol 50 No 1 2021

THE JOURNAL OF TURKISH PHYTOPATHOLOGY

ADVISORY BOARD

| | |
|---------------------------------|--|
| Akif ESKALEN | University of California, Riverside, USA |
| F. Sara DOLAR | Ankara University, Ankara, TURKEY |
| Gehad Mohamed Desouky EL-HABBAA | Agric. Botany, Plant Pathology, EGYPT |
| Filiz ERTUNK | Ankara University, Ankara, TURKEY |
| Hatice ÖZAKTAN | Ege University, İzmir, TURKEY |
| Işık TEPE | Yüzüncü Yıl University, Van, TURKEY |
| Kadriye ÇAĞLAYAN | Mustafa Kemal University, Hatay, TURKEY |
| Kemal BENLİOĞLU | Adnan Menderes University, Aydın, TURKEY |
| Maher AL RWAHNIH | University of California, Davis, USA |
| Monika KAŁUŻNA, | Research Inst. of Pomology and Floriculture, POLAND |
| Murat SİPAHİOĞLU | İnönü University, Malatya, TURKEY |
| Semih ERKAN | Ege University, İzmir, TURKEY |
| Semra DEMİR | Yüzüncü Yıl University, Van, TURKEY |
| Sibel DERVİŞ | Mustafa Kemal University, Hatay, TURKEY |
| Suseelendra DESAI | Cent. Res. Inst. for Dryland Agric.Santoshnagar, INDIA |
| Yeşim AYSAN | Çukurova University, Adana, TURKEY |

“The Journal of Turkish Phytopathology” is an international peer-reviewed journal, hosted in DergiPark (Turkish Journal Park Academic) and abstracted/indexed in: Google Scholar, Scinapse and Asos Index.

All rights of articles published in this journal are reserved by The Turkish Phytopathological Society. Any use of the material, including reproduction in whole or in part requires permission in writing from The Turkish Phytopathological Society.

The Journal of Turkish Phytopathology, issued three times a year, is an official publication of The Turkish Phytopathological Society, and publishes original research papers, reports of new plant diseases and accomplishments.

Subscription rates: \$60 per year, surface postage and handling included

Bank Account No: Türkiye İş Bankası Kampus 3403 3693
Türkiye İş Bankası Kampus 3403 30103 381606
IBAN for Domestic: TR930006400000134030003693
IBAN for Abroad: TR240006400000273700132566

Corresponding address:

Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 35102 Bornova-İzmir/Türkiye

WEB: <https://fitopatoloji.org.tr>

Email: dernek@fitopatoloji.org.tr, dergi@fitopatoloji.org.tr, turkiyefitopatolojidernegi@gmail.com

Cover Design: Assist. Prof. Dr. İsmail Can PAYLAN

Cover Image: Dr. Berrin ALACA

Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri

87 Sok. No. 4 / A Bornova

+90 232 343 64 54 metabasim@gmail.com

İzmir, 2021

ISSN 0378 - 8024

<http://fitopatoloji.org.tr>

THE JOURNAL OF TURKISH PHYTOPATHOLOGY

TURKISH PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY

Vol 50 No 1 2021

CONTENTS

Studies on the Sensitivity Level of Some Plant Pathogenic and Saprophytic Bacteria Against Copper Based Compounds

Bazı Bitki Patojeni ve Saprofit Bakterilerin Bakırlı Bileşiklere Karşı Duyarlılık Düzeylerinin Araştırılması

Kazım EĞERCİ, Hatice ÖZAKTAN, Yeşim EĞERCİ

1-7

Determination of Fungal Pathogens Causing Root-Rot on Bean Plants in Bean Production Areas of Nevşehir Province, Turkey

Nevşehir İli Fasulye Alanlarında Kök Çürüklüğüne Neden Olan Patojenlerin Saptanması

Abdullahi İsaq OMAR, Ali ERKILIÇ, Mohammed Ahmed MOHAMMED

9-16

Effects of Some *Trichoderma* Isolates Against Charcoal Rot Disease of Melon and Plant Growth

Bazı *Trichoderma* İzolatlarının Kavunda Kömür Çürüklüğü Hastalığına ve Bitki Gelişimine Etkisi

Uğur BAYRAK, Yunus KORKOM, Ayhan YILDIZ

17-22



Studies on the Sensitivity Level of Some Plant Pathogenic and Saprophytic Bacteria Against Copper Based Compounds

Kazım EĞERCİ¹ Hatice ÖZAKTAN² Yeşim EĞERCİ³

¹Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti./Crop Science, Ege Bölge Müdürlüğü, İzmir

²Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, İzmir

³Bornova Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, İzmir

ABSTRACT

Copper based compounds have been extensively used to control of the diseases caused by plant pathogenic bacteria. However, copper resistant bacteria were isolated from various plants and spraying with copper compounds to control of the diseases have been reported to be increasingly ineffective. In this study, it was aimed for 33 plant pathogenic or saprophytic bacteria from Bacteriology laboratory stocks in Department of Plant Protection of Ege University to determine the sensitivity level against copper compounds. The reaction of bacteria against copper sulphate was tested under *in-vitro* conditions. Six isolates were recorded as the most resistant to copper sulphate considering to MIC and ED₅₀ values. Two *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*) strains, one *Acidovorax citrulli* (*Ac*) strain, two *P. syringae* pv. *syringae* (*Pss*) strains, and one *P. fluorescens* (*Pf*) strain were recorded as decreasing sensitivity to copper sulphate, showing ED₅₀ values between 0.55 µg/ml to 1.3 µg/ml, and MIC values between 0.7 mM to 2 mM. Out of six bacterial strains, that were recorded as resistant to copper sulphate were also tested against some commercial copper-based compounds. All of the tested bacterial strains were concluded as susceptible to liquid copper sulphate and nano copper formulation producing 0.1 µg/ml ED₅₀ and 0.1–0.3 mM MIC values. It was also concluded as a positive aspect for integrated pest management that antagonistic bacteria were found decreasing sensitivity to copper based chemicals.

Keywords: Plant pathogenic and saprophytic bacteria, resistance, copper-based compounds, copper resistance

ÖZ

Bazı Bitki Patojeni ve Saprofit Bakterilerin Bakırlı Bileşiklere Karşı Duyarlılık Düzeylerinin Araştırılması

Bakırlı preparatlar bitki patojeni bakterilerin neden olduğu hastalıkların mücadelesinde yoğun olarak kullanılmaktadır. Ancak çeşitli bitkilerden bakıra dayanıklı bakterilerin izole edildiği ve dayanıklılık nedeniyle bakırlı bileşiklerle ilaçlama yapmanın hastalıkların önlenmesinde giderek etkisiz olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan bitki patojeni ve saprofit olmak üzere toplam 33 bakteri izolatinin bakırlı bileşiklere karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *In-vitro* koşullarda gerçekleştirilen testlerde; bakteriler önce bakır sülfata toleransları açısından testlenmiş ve ED₅₀ değerleri 0.55 µg/ml ile 1.3 µg/ml ve MIC değerleri 0.7 mM ile 2 mM arasında saptanan 2 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (*Pst*) izolatu, 1 *Acidovorax citrulli* (*Ac*) izolatu, 2 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (*Pss*) izolatu ve 1 *Pseudomonas fluorescens* (*Pf*) izolatu olmak üzere 6 bakteri izolatinin, bakır sülfata duyarlılıklarının azaldığı belirlenmiş ve bunlar ticari bakırlı preparatlara karşı testlenmiştir. ED₅₀ ve MIC değerlerine bakıldığında, sıvı bakır sülfat ve nano bakır preparatlarına karşı bakteriyel patojenlerin oldukça duyarlı olduğu (ED₅₀: 0.1 µg/ml, MIC: 0.1–0.3 mM) saptanmıştır. *In-vitro* testlerde, bazı antagonist bakterilerde bakırlı preparatlara karşı duyarlılık azalışı gözlenmesi, özellikle entegre mücadele açısından olumlu bir yaklaşım olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Bitki patojeni ve saprofitik bakteriler, dayanıklılık, bakırlı preparatlar, bakıra dayanıklılık

GİRİŞ

Dünyada 1600 kadar bakteri türünün varlığı bilinmektedir. Bunların büyük bir çoğunluğu saprofitik karaktere sahip olup, organik artıkların parçalanmasında büyük rol oynamaktadır. Bazı türleri insan ve hayvanlarda önemli hastalıklara neden

olmaktadır. Bakterilerin önemli bir bölümü ise bitkilerde hastalık oluşturmaktadır. Bitki patojeni bakteriler ile mücadelede genel olarak etkin bir kimyasal veya biyolojik mücadele yöntemi olmadığı için bitki bakteriyel hastalıkları ile mücadele etmek çok zordur (Benlioğlu, 2012).

Bitkileri hastalandıran bakteriyel etmenlere karşı mücadelede en yoğun kullanılan kimyasallar; bakır, maneb ve mancozeb gibi ağır metal içeren preparatlardır. Bordo bulamacı ilk keşfedildiği 1922 yılından beri, yaklaşık 100 yıldır bakteriyel bitki hastalıklarının mücadelesinde önerilmekte ve başarıyla kullanılmaktadır (Stall ve ark., 1986). Ancak, çeşitli

Article Info / Makale Bilgileri

Corresponding author e-mail: kazimegerci@hotmail.com

Received: September 27, 2020 Accepted: April 1, 2021

ORCID ID's of Authors in order:

0000-0003-0253-1705, 0000-0001-9971-6508

0000-0002-3864-4958

İlk yazının Yüksek Lisans tezi ürünüdür.

bitkilerden bakıra dayanıklı bitki patojeni ve saprofitik bakterilerin izole edildiği (Adaskaveg ve Hine, 1985; Bender ve ark., 1990; Cooksey, 1990a; Marco ve Stall, 1983; Ritchie ve Dittapongpitch, 1991; Sundin ve ark., 1989) ve bakıra dayanıklı bu bakteriler nedeniyle bakırlı bileşiklerle ilaçlama yapmanın hastalıkların önlenmesinde giderek etkisiz olduğu bildirilmektedir (Adaskaveg ve Hine, 1985; Cooksey, 1990b; Marco ve Stall, 1983; Özaktan ve Bora, 1991; Benlioğlu ve Benlioğlu, 1998; Sabet ve ark., 2000). Bakır iyonlarına karşı duyarlılık azalışının genetik açıdan bakteriyel kromozom ya da plazmid tarafından yönetildiği yönünde yayınlara rastlanılmaktadır (Cooksey, 1987; Cooksey, 1993).

Bitki patojeni bakteriyel hastalıklara karşı kullanılan bakırlı bileşikler 5 tip formülasyondan oluşmaktadır. Bunlar; bakır oksit, bakır oksiklorür, bakır amonyum kompleksi, bakır hidroksit ve bakır sülfattır. Bütün bu bakır formülasyonları değişen çözünürlükleri, partikül büyüklükleri ve tutunma özellikleri gibi farklı özelliklere sahiptir. Bu özellikler ürünün biyolojik etkinliğini de etkilemektedir. Çözünürlük özelliğine göre formülasyonlar incelendiğinde, en az çözünmenin bakır oksit, en çok çözünenin ise bakır sülfat olduğu belirtilmektedir. Küprik sülfat ya da bakır sülfat olarak da denilen bakır (II) sülfat, kimyasal formülü $CuSO_4$ olan kimyasal bileşiktir. Bu tuzun hidrasyon derecelerine bağlı olarak bir dizi farklı bileşikler mevcuttur. Oktahedral moleküler geometriye ve paramanyetik özelliğe sahip olan bakır sülfat ekzotermik olarak suda çözünerek $[Cu(H_2O)_6]^{2+}$ kompleksini oluşturmaktadır (Yazan ve ark, 1972; Anonim, 2020). Bakır sülfat "mavi vitriyol", "göztaşı" ve "göktaşı" olarak da bilinmektedir. Bakır sülfat pentahidrat bir fungusit ve aynı zamanda bakterisittir. Bununla birlikte, bazı bakteriler yüksek düzeydeki bakır iyonlarına uyum sağlayabilir. Kireç ile karıştırıldığında bordo bulamacı, sodyum karbonat ile karıştırıldığında ise burgonya bulamacı; özellikle bağ ve meyve ağaçlarında hastalıklara neden olan fungal ve bakteriyel etmenlerin kontrolünde kullanılmaktadır. Bakteriyel hastalıklara karşı tarla ve sera koşullarında bitkiler üzerinde yoğun miktarda bakır kullanımı söz konusudur (Yazan ve ark, 1972; Türküsay ve Tosun, 2005). Bahçe bitkileri yetiştiriciliğinde fidelerdeki çökerten hastalığına karşı bakır sülfat ve amonyum karbonat karışımı kullanılmaktadır. Ayrıca, tohumla taşınan bazı bakteriyel hastalık etmenlerinin mücadelesinde, örneğin bakteriyel benek hastalık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı tohum yataklarında bakırlı bileşikler ile kontrol gerçekleştirilmektedir (Çalış ve Çelik, 2011). Bakırlı preparatlar bitkide koruyucu olarak kullanılmakta, çeşitli fungusitler ile beraber kullanımı ile sinerjistik etki göstererek fungal etmenlere karşı koruyucu bir etki de yapabilmektedir (Agrios, 1997). Genellikle bakteriyel etmenlerle mücadele zor olduğu

için kültürel önlemlere ve sanitasyon uygulamalarına çok dikkat edilmelidir (Loh ve Martin, 1995).

Bu çalışmada; Ege Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan bir dizi bitki patojeni ve saprofitik/antagonistik bakteri izolatının bakırlı bileşiklere karşı duyarlılık düzeyleri açısından *in-vitro* koşullarda farklı yoğunlukta bakır içeren besi yerinde kültüre alma yoluyla araştırılması amaçlanmıştır. Bakır iyonlarına karşı duyarlılık azalışı saptanan bakteriyel izolatlar daha sonra bakırlı bileşiklerin farklı formülasyonlarının farklı dozları ile yine *in-vitro*'da karşı karşıya getirilerek, bakteriyel etmenlerin farklı bakırlı preparatlara verdiği reaksiyon da değerlendirilmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmada bakteriyel patojen ve saprofitik/antagonistik bakteri olarak, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan 33 adet izolat (Çizelge 1) kullanılmıştır. Çalışma kapsamında denemeye alınan farklı etki maddeli bakır formları, çeşitli bakteriyel hastalıkların mücadelesinde kullanılan ticari preparatları çalışmada kullanılmak üzere ele alınmıştır. "Bakır Sülfat" referans bakır olarak kullanılmıştır. Çalışma kapsamında; bakır hidroksit (Champ Formula 2 Flowable, %36 SC, Lances Link), bakır oksiklorür (Cupravit ob 21, %50 WP, Bayer), bakır sülfat pentahidrat (Mastercop SC, %6.6, SC, Agrikem), bakır oksit (Nordox 75 WG, %75, WG, Nordox AS), bakır sülfat (Okey, %3, SC, United Chemical Co.) ve nano bakır (Servalesa, %7, SC) ticari bakırlı bileşikler kullanılmıştır.

Çalışmada, besi yeri olarak bakırlı ortam hazırlanmasında NA (Nutrient Broth Agar) (1 litre için; Nutrient Broth: 8 g, Merck agar: 16 g, saf su 1000 ml) kullanılmıştır. Bakteriyel testlerde kullanılmak üzere yeni bakteri kültürünün elde edilmesi için, King B kültür besi ortamı (1 litre için; Bacto pepton: 20 g, Gliserol: 10 ml, K_2HPO_4 : 1.5 g, $MgSO_4 \cdot H_2O$: 1.5 g, Merck agar: 18 g, saf su 1000 ml) kullanılmıştır (King ve Raney, 1954).

Yöntem

Bakterilerin bakıra toleransları açısından *in-vitro*'da testlenmesi

In-vitro testlerde; ilk olarak bakteriyel izolatların bakır sülfat'ın farklı doz serilerinde gelişme durumuna bakılmıştır. Bakırın farklı dozlarına tolerans gösteren bakteriyel izolatlar daha sonra farklı bakır formlarını ve formülasyonlarını içeren ticari bakırlı preparatların farklı doz serileriyle *in-vitro* koşullarda testlenmiştir.

İlaçlı besi yeri hazırlığında Nutrient Agar besi yeri kullanılmıştır. Her bir doz serisi ayrı erlende

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan test bakterilerine ilişkin bilgiler

| İzolat no | İzolatın adı | İzolatın türü | İzole edildiği konukçu | İzole edildiği yer |
|-----------|----------------------|--|------------------------|--------------------|
| 1 | 24K | <i>Acidovorax citrulli</i> | Karpuz | TOTEM* |
| 2 | 29 Yaprak | <i>P. syringae</i> pv <i>tomato</i> | Domates | Aydın |
| 3 | 29 Gövde | <i>P. syringae</i> pv <i>tomato</i> | Domates | Aydın |
| 4 | 30 Gövde | <i>P. syringae</i> pv <i>tomato</i> | Domates | Aydın |
| 5 | Psl (CFBP 2262) | <i>P. s. pv lachrymans</i> | Hıyar | INRA, Fransa |
| 6 | Acidovorax1 | <i>A. citrulli</i> | Karpuz | TOTEM |
| 7 | Acidovorax2 | <i>A. citrulli</i> | Karpuz | TOTEM |
| 8 | Pst Re-izolasyon | <i>P. syringae</i> pv <i>tomato</i> | Domates | |
| 9 | Erwinia | <i>Erwinia amylovora</i> | Ayva | Bursa |
| 10 | Ateş yanıklığı armut | <i>E. amylovora</i> | Armut | Bayındır |
| 11 | P 39/2 şeftali çiçek | <i>P. syringae</i> pv <i>syringae</i> | Şeftali | |
| 12 | Badem | <i>P. syringae</i> pv <i>syringae</i> | Badem | Yalova |
| 13 | Badem Yalova | <i>P. syringae</i> pv <i>syringae</i> | Badem | Yalova |
| 14 | P11/2 | <i>P. syringae</i> pv <i>syringae</i> | Şeftali | Aydın |
| 15 | P29/2 | <i>P. syringae</i> pv <i>syringae</i> | Şeftali | Manisa |
| 16 | P40/3 | <i>P. syringae</i> pv <i>syringae</i> | Şeftali | Çanakkale |
| 17 | P23/2-b | <i>P. syringae</i> pv <i>syringae</i> | Şeftali | Manisa |
| 18 | Da3(1) | <i>P. syringae</i> pv <i>syringae</i> | Kiraz | İzmir |
| 19 | Da3(2) | <i>P. syringae</i> pv <i>syringae</i> | Kiraz | İzmir |
| 20 | P.ago USA E 325 | <i>Pantoea agglomerans</i> | | A.B.D |
| 21 | P.vagans C9-IRS | <i>P. vagans</i> | | A.B.D |
| 22 | PF A506 | <i>P. fluorescens</i> | | A.B.D |
| 23 | C2 (Xaj BAN) | <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>juglandis</i> | Ceviz | |
| 24 | C3 (Xaj BAN) | <i>X. axonopodis</i> pv. <i>juglandis</i> | Ceviz | |
| 25 | C1 (Xaj BAN) | <i>X. axonopodis</i> pv. <i>juglandis</i> | Ceviz | |
| 26 | XAJ 2528 | <i>X. axonopodis</i> pv. <i>juglandis</i> | Ceviz | Fransa/INRA |
| 27 | C10 | <i>X. axonopodis</i> pv. <i>juglandis</i> | Ceviz | |
| 28 | C18 | <i>X. axonopodis</i> pv. <i>juglandis</i> | Ceviz | |
| 29 | Harward (Xaj BAN) | <i>X. axonopodis</i> pv. <i>juglandis</i> | Ceviz | |
| 30 | C34 | <i>X. axonopodis</i> pv. <i>juglandis</i> | Ceviz | |
| 31 | C28 | <i>X. axonopodis</i> pv. <i>juglandis</i> | Ceviz | |
| 32 | Ayva bursa 2 | <i>E. amylovora</i> | Ayva | Bursa |
| 33 | Ayva bursa | <i>E. amylovora</i> | Ayva | Bursa |

*Ege Üniversitesi Tohum Teknolojisi Araştırma ve Uygulama Merkezi

hazırlanmış, otoklavda sterilize edilmiş ve 40 °C'ye soğutulmuş 100'er ml NA'a ihtiyaç duyulmuştur. Daha sonra stok çözeltileri (bakırlı preparat) belirlenen oranlarda erlenlere ilave edilerek steril petrilere dökülerek katılaşmaları beklenmiştir.

Bakteriyel testlerde kullanılmak üzere 24 saatlik taze bakteri kültürünün elde edilmesi için, King B besi ortamı kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan test bakterileri besi ortamında geliştirilerek, sayılabilecek yoğunluktaki seyreltme basamakları belirlenmiştir.

Bakır sülfat ile yapılan *in-vitro* testler

Çalışmada; bakteriyel etmenlerin bakıra tolerans düzeylerini belirlemek için, öncelikle saf bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)'ın farklı konsantrasyonlarına (0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.5 ve 2 mM) karşı reaksiyonu *in-vitro*'da kültüre alarak belirlenmiştir. İstenilen fungusit dozlarını elde edebilmek için yüksek dozda hazırlanan (100000 ppm / 10000 ppm / 5000 ppm) stok solüsyonlarından seyreltmeler yapılmıştır. *In-vitro* testlerde Nutrient Agar (NA) besi yeri kullanılmıştır. Testlenen saf bakır sülfatın farklı doz

serileri hazırlanarak ve her bir doz serisi 40 °C'e soğutulmuş besi yerine verilerek 9 cm çaplı plastik petrilere dökülmüştür. Sayılabilecek yoğunlukta bakteri süspansiyonu (10^7 CFU/ml yoğunlukta hazırlanan bakteri süspansiyonu, en az 10^{-4-5-6} basamağına kadar seyreltilmiştir) seyreltme işlemi ile petri yüzeyine birbirinden eşit uzaklıkta 4 noktaya 10 µl olacak şekilde besi yeri üzerine damlatılmıştır. *In-vitro* testlerde her bir doz serisi testlenen her bakteri izolatu için 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 4 nokta olmak üzere değerlendirilmiştir. Uygulama gören petrilere 48–72 saat süreyle 24 °C'de inkubasyona bırakılmış, inokulasyon noktalarında gelişen bakteriyel koloniler sayılarak bakır sülfatın farklı doz serilerindeki minimal inhibisyon konsantrasyonu (MIC) ve bakteriyel gelişimi %50 engelleyen doz (ED_{50}) değerleri saptanmıştır. ED_{50} değerleri, kontrole göre yüzde gelişim değerlerinin log-probit kâğıda uygulanması ile bulunmuştur (Georgopoulos ve Dekker, 1982; Beevere ve ark., 1989). Böylece, testlenen bakteriyel izolatların bakıra tolerans düzeyleri belirlenmiştir.

Çizelge 2. Bakır sülfat için elde edilen ED₅₀ (µg/ml) ve MIC (mM) değerleri

| İzolatlar | Türü P/S* | ED ₅₀ (µg/ml) | MIC (mM) |
|-----------|-----------|--------------------------|----------|
| 1 Ac | P | 0.56 | 1 |
| 2 Pst | P | 0.68 | 2 |
| 3 Pst | P | 0.65 | 2 |
| 4 Pst | P | 0.59 | 2 |
| 5 Psl | P | 0.41 | 0.5 |
| 6 Ac | P | 0.55 | 0.7 |
| 7 Ac | P | 0.48 | 0.7 |
| 8 Pst | P | 0.6 | 1 |
| 9 Ea | P | 0.12 | 0.2 |
| 10 Ea | P | 0.17 | 0.3 |
| 11 Pss | P | 1.3 | 2 |
| 12 Pss | P | 0.29 | 0.7 |
| 13 Pss | P | 0.61 | 0.9 |
| 14 Pss | P | 0.65 | 0.7 |
| 15 Pss | P | 0.12 | 0.7 |
| 16 Pss | P | 0.82 | 1 |
| 17 Pss | P | 0.16 | 1.5 |
| 18 Pss | P | 0.23 | 0.5 |
| 19 Pss | P | 0.34 | 0.5 |
| 20 Pa | S | 0.41 | 0.5 |
| 21 Pv | S | 0.22 | 0.5 |
| 22 Pf | S | 0.72 | 1.5 |
| 23 Xaj | P | 0.2 | 0.5 |
| 24 Xaj | P | 0.19 | 0.5 |
| 25 Xaj | P | 0.21 | 0.5 |
| 26 Xaj | P | 0.23 | 0.5 |
| 27 Xaj | P | 0.18 | 0.5 |
| 28 Xaj | P | 0.16 | 0.5 |
| 29 Xaj | P | 0.17 | 0.5 |
| 30 Xaj | P | 0.14 | 0.5 |
| 31 Xaj | P | 0.21 | 0.5 |
| 32 Ea | P | 0.34 | 0.5 |
| 33 Ea | P | 0.15 | 0.3 |

*P: patojen, S: saprofit

Bakır sülfat ile yapılan *in-vitro* testler sonucunda 0.5 mM ve üzerindeki bakır dozlarında koloni gelişimi gösteren bakteriyel izolatlar seçilerek farklı bakırlı formülasyonlar içeren preparatların testlenmesinde kullanılmıştır.

Ticari bakırlı preparatlar ile yapılan *in-vitro* testler

Bakır sülfatın farklı doz serilerinde gelişerek bakıra tolerans gösterdiği saptanan bakteriyel izolatlar, farklı bakırlı preparatların farklı doz serilerinde (0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.5 ve 2 mM) gösterdiği reaksiyon açısından *in-vitro* koşullarda "Bakır Sülfat ile yapılan *in-vitro* testler" bölümünde belirtildiği gibi testlenmiş ve doz serilerindeki minimal inhibisyon konsantrasyonu (MIC) ve bakteriyel gelişimi %50 engelleyen doz (ED₅₀) değerleri saptanmıştır. ED₅₀ değerleri, kontrole göre yüzde gelişim değerlerinin log-probit kâğıda uygulanması ile bulunmuştur. Böylece, testlenen bakteriyel izolatların bakıra tolerans düzeyleri belirlenmiştir.

Bu testler sonucunda bakteriyel izolatların bakıra tolerans düzeylerinin yanı sıra, farklı bakır formülasyonlarının bakterilerin bakıra tolerans düzeyleri üzerine etkisi de değerlendirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bakterilerin bakıra toleransları açısından *in-vitro*'da testlenmesi

Bakır sülfat ile yapılan *in-vitro* testler

Bakteriyel izolatlar bakır sülfat ile *in-vitro* koşullarında testlenmiştir. Bakır sülfatta ED₅₀ değerlerine bakıldığında; izolatların %33.3'ü (11 adet) 0.1–0.2 µg/ml arasında, %33.3'ü (11 adet) 0.2–0.5 µg/ml arasında, %24.24'ü (8 adet) 0.5–0.7 µg/ml arasında, %6.06'sı (2 adet) 0.7–1 µg/ml arasında ve %3.03'ü (1 adet) 1–2 µg/ml arasında bulunmuştur. Bakır sülfat için MIC değerlerine bakılacak olursa; izolatların %9.09'u (3 adet) 0.1–0.3 mM arasında, %45.45 (15 adet) 0.3–0.5 mM arasında, %15.15'i (5 adet) 0.5–0.7 mM arasında, %12.12'si (4 adet) 0.7–1 mM arasında ve %18.18'u (6 adet) 1–2 mM arasında bulunmuştur (Çizelge 2).

Bakır sülfata karşı en çok dayanıklılık gösterdiği belirlenen 6 izolat MIC ve ED₅₀ değerlerine bakılarak saptanmıştır. Buna göre; 2 (Pst) nolu izolat (ED₅₀: 0.68 µg/ml, MIC: 2 mM), 3 (Pst) nolu izolat (ED₅₀: 0.65 µg/ml, MIC: 2 mM), 6 (Ac) nolu izolat (ED₅₀: 0.55 µg/ml, MIC: 0.7 mM), 11 (Pss) nolu izolat (ED₅₀: 1.3 µg/ml, MIC: 2 mM), 16 (Pss) nolu izolat (ED₅₀: 0.82 µg/ml, MIC: 1 mM) ve 22 (Pf) nolu izolat (ED₅₀: 0.72 µg/ml, MIC: 1.5 mM) ticari bakırlı preparatlara karşı testlenmek üzere seçilmiştir. Bakıra tolerans gösteren izolatlar bakıldığında, *Pseudomonas* grubu bakterilerde, diğer türlere göre dayanıklılığın daha fazla olduğu görülmektedir. Aynı şekilde, yoğun bakır kullanılan fide firmalarından gelen karpuz fide örneklerinden izole edilen *A. citrulli*'nin de bakıra duyarlılığının azaldığı görülmektedir. Bu durum çeşitli araştırmacılar tarafından da saptanmıştır (Bender ve Cooksey, 1986; Bender ve Cooksey, 1987; Cha ve Cooksey, 1991). Bunun nedeninin, tarla ve seralarda yoğun bakır kullanılmasından kaynaklandığı, özellikle bu alanlardan izole edilen *P. syringae* pv. *tomato* ve *P. syringae* pv. *syringae* izolatlarının bakıra karşı dayanıklılık kazandığı düşünülmüştür.

Cooksey (1990b), sert ve yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında bakteriyel kanser etmeni *P. syringae* pv. *syringae*'nin de bakıra karşı tolerans gösterdiğini yaptığı çalışmada belirtmiştir. Benzer şekilde, domateste bakteriyel benek etmeni *P. syringae* pv. *tomato*'nun da bakırlı bileşiklere karşı dayanıklılık kazandığı da 1980'li yıllardan beri bilinmektedir (Bender ve Cooksey, 1986; Bender ve Cooksey, 1987; Cooksey, 1987). Ayrıca; *P. cichorii*, *P. fluorescens*, *P. putida* gibi bazı saprofitik *Pseudomonas* türleri arasında da benzer şekilde bir bakır dayanıklılığı olduğu Cooksey ve ark. (1990) tarafından bildirilmiştir. Türkiye'de ise; Pst izolatlarında bakıra karşı duyarlılık azalışını Özaktan ve ark. (1991)

Çizelge 3. Bakteri izolatlarının ED₅₀ değerlerine (µg/ml) göre sayısal ve oransal (%) dağılımları

| Kimyasal maddeler | İzolat sayısı | Dozlar ve ED ₅₀ değerlerine (µg/ml) göre sayısal ve oransal (%) dağılımları* | | | | |
|--------------------------|---------------|---|--------------|--------------|--------------|------------|
| | | <0.1 (mM) | 0.1-0.2 (mM) | 0.2-0.5 (mM) | 0.5-0.7 (mM) | 0.7-1 (mM) |
| Bakır hidroksit | 6 | – | 1 (16.7) | 4 (66.7) | – | 1 (16.7) |
| Bakır oksiklorür | 5 | – | 3 (60) | 1 (20) | 1 (20) | – |
| Bakır sülfat pentahidrat | 6 | – | 6 (100) | – | – | – |
| Nano bakır | 6 | – | 6 (100) | – | – | – |
| Bakır oksit | 6 | – | 1 (16.7) | 4 (66.7) | 1 (16.7) | – |
| Sıvı bakır sülfat (Okey) | 6 | 6 (100) | – | – | – | – |

*Parantez içindeki rakamlar (%) oransal dağılımları göstermektedir.

Çizelge 4. Bakteri izolatlarının MIC değerlerine (mM) göre sayısal ve oransal (%) dağılımları

| Kimyasal maddeler | İzolat sayısı | Dozlar ve MIC değerlerine (mM) göre sayısal ve oransal (%) dağılımları* | | | | |
|--------------------------|---------------|---|--------------|--------------|------------|----------|
| | | 0.1-0.3 (mM) | 0.3-0.5 (mM) | 0.5-0.7 (mM) | 0.7-1 (mM) | 1-2 (mM) |
| Bakır hidroksit | 6 | – | 3 (50) | – | 2 (33.3) | 1 (16.7) |
| Bakır oksiklorür | 5 | – | 3 (60) | 1 (20) | 1 (20) | – |
| Bakır sülfat pentahidrat | 6 | 4 (66.7) | 1 (16.7) | 1 (16.7) | – | – |
| Nano bakır | 6 | 4 (66.7) | 2 (33.3) | – | – | – |
| Bakır oksit | 6 | – | 4 (66.7) | 1 (16.7) | – | 1 (16.7) |
| Sıvı bakır sülfat (Okey) | 6 | 6 (100) | – | – | – | – |

*Parantez içindeki rakamlar (%) oransal dağılımları göstermektedir.

ve Benlioğlu ve Benlioğlu (1998) yaptıkları çalışmalarında saptamışlardır.

Ticari bakırlı preparatlar ile yapılan *in-vitro* testler

Bakır sülfat ile testlenip duyarlılık azalışı gözlenen 6 izolat, ticari bakırlı preparatlar ile denemeye alınmıştır. Çizelge 3'te ED₅₀ değerlerine (µg/ml) göre sayısal ve oransal (%) dağılımları, Çizelge 4'te ise MIC (mM) değerlerine göre sayısal ve oransal (%) dağılımları özetlenmiştir.

Çizelge 3'e göre, bakır hidroksit için ED₅₀ değerleri, izolatların %16.7'sinin (1 adet) 0.1–0.2 µg/ml arasında, %66.7'sinin (4 adet) 0.2–0.5 µg/ml arasında ve %16.7'si ise (1 adet) 0.7–1 µg/ml arasında bulunmuştur. Bakır oksiklorür için; izolatların %60'ı (3 adet) 0.1–0.2 µg/ml, %20'si (1 adet) 0.2–0.5 µg/ml arasında ve %20'si 0.5–0.7 µg/ml arasında saptanmıştır. Bakır sülfat pentahidrat için, izolatların %100'ü (6 adet) 0.1–0.2 µg/ml arasında bulunmuştur. Nano bakır için; izolatların %100'ü (6 adet) 0.1–0.2 µg/ml arasında bulunmuştur. Bakır oksit için; izolatların %16.7'si (1 adet) 0.1–0.2 µg/ml arasında, %66.7'si (4 adet) 0.2–0.5 µg/ml arasında ve %16.7'si (1 adet) 0.5–0.7 µg/ml arasında bulunmuştur. Sıvı bakır sülfat için; izolatların %100'ünün (6 adet) ED₅₀ değerleri <0.1 µg/ml olarak saptanmıştır.

Çizelge 4'e göre, bakır hidroksit için MIC (mM) değerleri, izolatların %50'si (3 adet) 0.3–0.5 mM arasında, %33.3'ü (2 adet) 0.7–1 mM arasında ve %16.7'si (1 adet) 1–2 mM arasında bulunmuştur. Bakır oksiklorür için, izolatların %60'ı (3 adet) 0.3–0.5 mM arasında, %20'si (1 adet) 0.5–0.7 mM arasında ve %20'si (1 adet) 0.7–1 mM arasında bulunmuştur. Bakır sülfat pentahidrat için, izolatların %66.7'si (4 adet)

0.1–0.3 mM arasında, %16.7'si (1 adet) 0.3–0.5 mM arasında ve %16.7'si (1 adet) 0.5–0.7 mM arasında bulunmuştur. Nano bakır için izolatların %66.7'si (4 adet) 0.1–0.3 mM arasında ve %33.3'ü (2 adet) 0.3–0.5 mM arasında bulunmuştur. Bakır oksit için, izolatların %66.7'si (4 adet) 0.3–0.5 mM arasında, %16.7'si (1 adet) 0.5–0.7 mM arasında ve %16.7'si (1 adet) 1–2 mM arasında bulunmuştur. Sıvı bakır sülfat için, izolatların %100'ü (6 adet) 0.1–0.3 mM arasında bulunmuştur.

Ticari bakırlı preparatlarla *in-vitro* koşullarda yapılan testlerde, ED₅₀ değerlerine göre en etkili bulunan preparatlar sırasıyla; sıvı bakır sülfat, nano bakır, bakır sülfat pentahidrat, bakır oksiklorür, bakır oksit ve bakır hidroksit olarak saptanmıştır. MIC değerlerine göre en etkili bulunan preparatlar ise sırasıyla; sıvı bakır sülfat, nano bakır, bakır sülfat pentahidrat, bakır oksit, bakır oksiklorür ve bakır hidroksittir. Bu sonuçlar, bakırın farklı formları ve formülasyonlarının etkililikte payı olduğunu düşündürmektedir. Paulin ve Lachaud (1984) ve Burr ve Norelli (1984) değişik bakır formlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında, sülfat formundaki bakırın, hidroksit, oksiklorür veya amonyaklı bakır sülfat formundan daha etkili olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca, bakırlıların etkisinin Cu iyonunun konsantrasyonuna bağlı olduğunu da bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmada, *in-vitro* testlerde bakır hidroksit ve bakır oksiklorür, bakteriyel patojenlere karşı en etkisiz bulunan preparatlar olmuştur. Zeller ve ark. (1984) bakır oksikloridi çiçek ve sürgün yanıklığına karşı kullanarak %46–66 arasında etkili bulmuşlardır. Buna karşın, Paulin ve ark. (1987) armut çiçek enfeksiyonlarına karşı bordo bulamacı ve bakır hidroksiti başarısız bulmuşlar ve bunu soğuk ve nemli hava nedeniyle bakırlıların aktivite gösterememesine

bağlamışlardır. Benlioğlu ve Benlioğlu (1998) bazı bakır oksiklorür, bakır oksit, bakır hidroksit ve ethylenebisdithiocarbamate'lı fungusitlerin (maneb, mancozeb) bakıra dayanıklı *Pst* izolatlarına karşı tek başlarına ve birlikte uygulandıklarında *in-vitro* ve sera testlerinde etkisiz olduğunu saptamışlardır. Özakant ve ark. (1991) yaptıkları çalışmalarında, *Pst* izolatları arasında bakırlı bileşiklerin etkililiğinde farklılıklar saptanmasının, bakırlı bileşiklerin eriyebilirliklerinin birbirinden farklı olmasından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, antagonist bakterilerin de bakırlı preparatlara karşı duyarlılığının azaldığı saptanmıştır. Bakırlı preparatlara dayanıklılık konusu bitki patojeni bakterilerle mücadelede olumsuzluk yaratmaktadır. Ancak bitki patojeni bakterilerle biyolojik mücadelede kullanılan bakteriyel antagonistlerin bazılarının da bakırlı preparatlara dayanıklı bulunması önem taşımaktadır. Bu özellikle entegre mücadele (IPM) açısından olumlu sonuçlar doğurmaktadır. Cooksey ve ark. (1990), *P. fluorescens*, *P. putida* gibi bakteriler arasında da benzer şekilde bir bakır dayanıklılığı olduğunu belirtmişlerdir. Bu dayanıklılığın, plazmid kaynaklı bakıra dayanıklılık genleri ile idare edildiği düşünülmektedir (Cooksey, 1993).

Sonuç olarak çalışmada elde verilere göre; bitki patojeni ve saprofit bakteri izolatlarının bakırlı bileşiklere olan tolerans düzeyleri araştırılmış ve 6 tanesinde duyarlılık azalışı olduğu saptanmıştır. Duyarlılık azalışı gözlenen izolatlar arasında bir antagonist bakteri de bulunmaktadır. Bu durum bitki patojeni bakterilerin savaşımında olumlu sonuçlar doğurmakta, özellikle entegre mücadele (IPM) açısından önem taşımaktadır. Duyarlılığı azalan bakteri izolatlarının sıvı bakır sülfat ve nano bakıra karşı duyarlı oldukları saptanmıştır. Bu sonuca bakılarak, bakteriyel patojenlerde bakır dayanıklılığı ile başa çıkmada, bakır sülfat ile dönüşümlü olarak kullanılmaları önerilebilir. Dayanıklılık sorununa karşı önlem olarak farklı bakırlı formülasyonların kullanılması, bakırlıların yanı sıra "zararsız kimyasallar" olarak bilinen bazı alternatif mücadele yöntemlerine başvurulması gereklidir.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Adaskaveg, J.E. and Hine, R.B. 1985. Copper tolerance and zinc sensitivity of Mexican strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Disease* 69:993-996.
- Agrios, G.N. 1997. *Plant pathology*. Fourth edition Academic press, London.
- Anonim 2020. <https://tr.wikipedia.org>. Erişim tarihi: 29.07.2020.
- Beevere, R.E., Laracy, E.P. and Park, H. 1989. Strains of *B. cinerea* Resistant to dicarboximide and benzimidazole Fungicides in New Zealand Vineyards. *Plant Pathology* 39: 427-437.
- Bender, C.L. and Cooksey, D.A. 1986. Indigenous plasmids in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*: conjugative transfer and role in copper resistance. *Journal of Bacteriology* 165:534-541.
- Bender, C.L. and Cooksey, D.A. 1987. Molecular cloning of copper resistance genes from *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. *Journal of Bacteriology* 169:470-474.
- Bender, C.L., Malvick, D.K., Conway, K.E., George, S. and Pratt, P. 1990. Characterization of pXV10A, a copper resistance plasmid in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Applied and Environmental Microbiology* 56:170-175.
- Benlioğlu, K. 2012. Bitki patojeni bakteriler. *Bitki Koruma Ders Notları*, ADÜ Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 1-13.
- Benlioğlu, K. and Benlioğlu, S. 1998. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* 'ya karşı bakır dayanıklılığı üzerinde çalışmalar. 8. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 52.
- Burr, T.J. and Norelli, J.L. 1984. Recent progress in chemical control fire blight. *Acta Horticulturae* 151:155-164.
- Cha, J.S. and Cooksey, D.A. 1991. Copper resistance in *Pseudomonas syringae* mediated by periplasmic and outer membrane proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88:8915-8919.
- Cooksey, D.A. 1987. Characterization of a copper resistance plasmid conserved in copper-resistant strains of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. *Applied and Environmental Microbiology* 53:454-456.
- Cooksey, D.A. 1990a. Plasmid-determined copper resistance in *Pseudomonas syringae* from *impatiens*. *Applied and Environmental Microbiology* 56:13-16.
- Cooksey, D.A. 1990b. Genetics of bactericide resistance in plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 28:201-219.
- Cooksey, D.A. 1993. Copper uptake and resistance in bacteria. *Molecular Microbiology* 7(1):1-5.
- Cooksey, D.A., Azad, H.R., Cha, J.S. and Lim, C.K. 1990. Copper resistance gene homologs in pathogenic and saprophytic bacterial species from tomato. *Applied and Environmental Microbiology* 56:431-435.
- Çalış, Ö. and Çelik, D. 2011. Bakteriyel benek hastalığı etmenine (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* dc3000) karşı kültür domateslerinde hassas ve dayanıklı hatların belirlenmesi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 4 (2):7-11.
- Georgopoulos, S.G. and Dekker, L. 1982. Detection and Measurement of Fungicide Resistance. *General Principles*, FAO Method. FAO Plant Bot. Bull. 30: 39-42.
- King, E.O. and Raney, D.E. 1954. Two simple media for the demonstration for pyocyanin and *fluorescens*. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 44:103-307.
- Loh, Y.T., and Martin, G.B. 1995. The disease resistance gene *Pto* and the fenthion-sensitivity gene *Fen* encode closely related functional protein kinases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92:4181-4184.
- Marco, G.M. and Stall, R.E. 1983. Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. *Plant Disease* 67:779-781.
- Özakant, H. and Bora, T. 1991. Domates bakteriyel solgunluğu (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.) ile savaşım olanakları

- üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi Doktora Tezi, 99 s, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Özaktan, H., Öden, S. and Delen, N. 1991. Domates bakteriyel benek hastalığı etmeni (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)'ne bazı bakırlı preparatların etkililikleri üzerinde araştırmalar. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, No:6:291-294.
- Paulin, J.P. and Lachaud, G. 1984. Comparison of the efficiency of some chemicals in preventing fire blight blossom infections. *Acta Horticulturae* 151:209-214.
- Paulin, J.P., Lachaud, G. and Chartier, R. 1987. Results of spray experiments on the control of fire blight *Acta Horticulturae* 217:239-243.
- Ritchie, D.F. and Dittapongpitch, V. 1991. Copper and streptomycin resistant strains and host differentiated races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in North Carolina. *Plant Disease* 75:733-736.
- Sabet, K.K., Mostafa, M.A., El-Said, S.I. and El-Gamal, N.G. 2000. Biological and chemical control of root diseases of tomato plants. International Conference on Pests and Diseases, Brighton, England, 1-3: 1043-1048.
- Stall, R.E., Loschke, D.C. and Jones, J.B. 1986. Linkage of copper resistance and avirulence loci on a self-transmissible plasmid in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology* 76:240-243.
- Sundin, G.W., Jones, A.L. and Fulbright, D.W. 1989. Copper resistance in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* from cherry orchards and its associated transfer in vitro and in planta with a plasmid. *Phytopathology* 79:861-865.
- Türküsay, H. and Tosun, N. 2005. Hidrojen Peroksit Uygulamalarının Domates Bakteriyel Solgunluk ve Kanser Hastalığı (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* (Smith) Davis et al)'na Etkileri. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 42(2):45-56.
- Yazan, H.A., Akar, A. and Özmerih, L. 1972. Bakır ve bakır ürünleri kullanım alanları. *Bilimsel Madencilik Dergisi* 44-47.
- Zeller, W., Masfeller, D. and Krebs, E. 1984. Further experiments to control fire blight in Federal Republic of Germany. *Acta Horticulturae* 151:165-172.



Determination of Fungal Pathogens Causing Root-Rot on Bean Plants in Bean Production Areas of Nevşehir Province, Turkey

Abdullahi Isaq OMAR¹ Ali ERKILIÇ¹ Mohammed Ahmed MOHAMMED¹

¹Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana

ABSTRACT

The current study was conducted with the aim of determining fungal pathogens that cause root-rot disease on bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Yazılıyüyük and Suvermez districts, Nevşehir province, Turkey. Field surveys, molecular characterizations, and pathogenicity tests were carried out during the growing season of 2018. The most prevalent isolates obtained from the bean cultivation areas were *Fusarium* (62.5%) followed by *Rhizoctonia* (27.5%) and *Rhizopus* (4.8%). The lowest mean frequency rates were found for *Epicoccum* (0.7%), *Penicillium* (2.1%), and *Alternaria* (2.4%). *Fusarium oxysporum* (Y1A) had the highest virulence followed by *Fusarium solani* (Y1B) and *Rhizoctonia solani* AG-4 (Y8). The pathogenicity test on all bean varieties revealed that the disease severity rates of *F. oxysporum*, *F. solani* and *R. solani* AG-4 were ranging from 48.3%–91.7%, 33.3%–95.0%, and 26.7%–50%, respectively. Overall, the Adzuki bean cultivar was the most susceptible to the three pathogens followed by İspir, Gezin/Elaziğ-1 and Kidney Bean cultivars.

Keywords: Fungus, *Fusarium* spp., Pathogenicity, *Phaseolus vulgaris*, root-rot, Turkey

ÖZ

Nevşehir İli Fasulye Alanlarında Kök Çürüklüğüne Neden Olan Patojenlerin Saptanması

Nevşehir ilindeki (*Phaseolus vulgaris* L.) Yazılıyüyük ve Suvermez köylerinde fasulye bitkisinde kök çürüklüğüne neden olan fungal patojenlerin saptanması amacıyla 2018 yılında survey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Fasulye yetiştirme alanlarından elde edilen en yüksek izolatlar *Fusarium*'dur (%62.5). Bunu takiben *Rhizoctonia* (%27.5), *Rhizopus* (%4.8), *Alternaria* (%2.4), *Penicillium* (%2.1) ve *Epicoccum* (%0.7) elde edilmiştir. En yüksek virülensliğe sahip izolatların (Y1A, Y1B ve Y8) patojenite testinde kullanılan *F. oxysporum*, *F. solani* ve *R. solani* izolatlarına sırasıyla ait olduğu bulunmuştur. Patojenite testlerinin sonuçları olarak, tüm fasulye çeşitlerinde, *F. oxysporum*'un hastalık şiddeti oranı %48.3 ile %91.7 arasında değişen olarak belirlenmiştir. *F. oxysporum* izolatının tüm fasulye çeşitlerinde ortalama hastalık şiddeti oranı %72.8 olarak hesaplanmıştır. *F. solani* izolatı, hastalık şiddeti oranları %33.3 ile %95.0 arasında değişen olarak belirlenmiştir. Tüm fasulye çeşitlerinde *F. solani* izolatının ortalama hastalık şiddeti oranı %70.6 olarak hesaplanmıştır. *R. solani* AG-4 izolatı, test edilen tüm fasulye çeşitlerinde ortalama %49.4 hastalık şiddeti oranı ile en düşük olarak hesaplanmıştır.

Anahtar kelimeler: Fasulye, fungus, *Fusarium* spp., kök çürüklüğü, patojenite, Türkiye

INTRODUCTION

Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is among the most important leguminous crops worldwide owing to its high commercial value, consumer use, extensive production, and nutritional value (vitamins, minerals, carbohydrates, and proteins) (Suárez-Martínez et al., 2015; Ntatsi et al., 2018). The crop is a basic staple food crop in many developing countries where it serves as an important plant protein source for urban and rural areas (Dursun et al., 2010). In Turkey, beans are the third most important crops among legumes after chickpea and lentils in terms of production area with 84,804 ha of land producing 220,000 tons of dry

beans in 2018 (TSI 2019). Nevşehir is ranked fourth among Turkish provinces with an estimated total area of 8,119 ha and 24,001 tons of production which accounts for about 10% of total bean production in the country (TSI 2019).

Bean plants are mainly affected by several biotic and abiotic factors. They are extremely prone to diseases and pests which can result in severe yield reduction (Allen et al., 1998; Graham and Vance, 2003). About 200 pathogens were reported to attack beans; some of which cause significant economic losses (Schoonhoven and Voysest 1991). Among 61 described pathogenic diseases of bean plants, 31 of them are caused by fungal organisms (Hall et al., 2005). Root-rot is one of the most prevalent soil-borne diseases of bean crops which is primarily associated with southern blight (caused by *Sclerotium rolfsii*), *Fusarium* root-rot (*Fusarium solani*), *Pythium* root-rot (several species of *Pythium*), *Rhizoctonia* root-rot

Article Info / Makale Bilgileri

Corresponding author e-mail: malable90@gmail.com

Received: January 4, 2021 Accepted: February 24, 2021

ORCID ID's of Authors in order:

0000-0001-7679-6189, 0000-0003-0159-2039

0000-0001-9200-3409

İlk yazının Yüksek Lisans tezi ürünüdür.

Table I. Location, area size, and number of samples taken during the field survey in Nevşehir Province, Turkey

| Field name | Isolate code | Area of the field in decare (da) | Number of samples |
|------------|--------------|----------------------------------|-------------------|
| Yazihüyük | Y1-MT | 30 | 17 |
| | Y2-KA | 50 | 21 |
| | Y3-AK | 40 | 13 |
| | Y4-HK | 30 | 23 |
| | Y5-MÇ | 35 | 11 |
| | Y6-İB | 100 | 21 |
| | Y7-MK | 40 | 13 |
| | Y8-ÖY | 20 | 20 |
| | Y9-GK | 30 | 10 |
| | Y10-SÇ | 30 | 19 |
| Suvermez | S1 | 50 | 18 |
| | S2 | 70 | 9 |
| | S3 | 30 | 27 |
| | S4 | 80 | 26 |
| | S5 | 100 | 30 |
| | S6 | 80 | 24 |

(*Rhizoctonia solani*), and *Aphanomyces* root-rot (*Aphanomyces euteiches*) (Singh and Schwartz, 2010; Porch *et al.*, 2014). These pathogens may act individually or often as complex combinations depending on soil and environmental conditions (Rusuku *et al.*, 1997). The interaction of root-rot pathogens may cause higher degree of disease severity than when they act independently; such examples of combinations can be seen in *F. solani* f.sp. *phaseoli* occurring concurrently with either *Thielaviopsis basicola* or *Pythium* species (Pieczark and Abawi 1978; Hatat and Özkoç 1997).

Identifying disease-causing pathogens and determining the disease incidence are important steps towards planning an effective control measure. In Turkey, various studies have been conducted to determine different disease-causing organisms on bean plants (Hatat and Özkoç 1997; Eken and Demirci 2004; Kirbağ and Turan 2006; Erper *et al.*, 2011). However, there is no information for Nevşehir province which is one of the most important areas in terms of bean production in Turkey. This study was conducted with the aim of filling this gap of information through determining fungal pathogens that cause root-rot diseases on common bean in Nevşehir province.

MATERIALS and METHODS

Survey area

The survey area of the study was determined based on bean production statistics of 2018 which were obtained from Nevşehir Directorate of the Ministry of Agriculture. Based on the data, villages where bean crops are cultivated in over 1000 ha of land, were chosen as survey areas.

Collecting plant samples

Bean plants were randomly collected from fields located in Yazihüyük and Suvermez districts of Nevşehir Province during the growing season of 2018 (Table I, Figure 1). A total of 350 plants with symptoms of root rot diseases were collected from bean fields during June–August 2018. Isolations were made from discolored or necrotic lesions on roots. Four or more randomly selected diseased plants per field were carefully uprooted from the soil to retain most of their root systems. The plant materials were brought to the laboratory and kept in the refrigerator until use for isolations.

Pathogen

At the end of the survey and molecular characterization, the obtained pathogens from isolates such as *Fusarium oxysporum*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium solani*, *Fusarium equiseti*, *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia solani* AG-4 were used in a preliminary pathogenicity test in greenhouse condition. In the main and last pathogenicity test, the pathogens used were *F. oxysporum*, *F. solani* and *R. solani* AG-4.

Isolation and identification of fungal pathogens from infected bean plants

In each of the surveyed areas, individual plants were collected from each field and the plants were examined for disease severity. The plants were marked as insulated for isolation and were placed in a refrigerator with labels indicating the number of the area in which the sampling was carried out. In the isolation process, the initial diagnosis was based on symptoms in roots that are usually associated with specific root rot pathogens. In all isolations, bean roots showing symptoms were first washed with running tap water

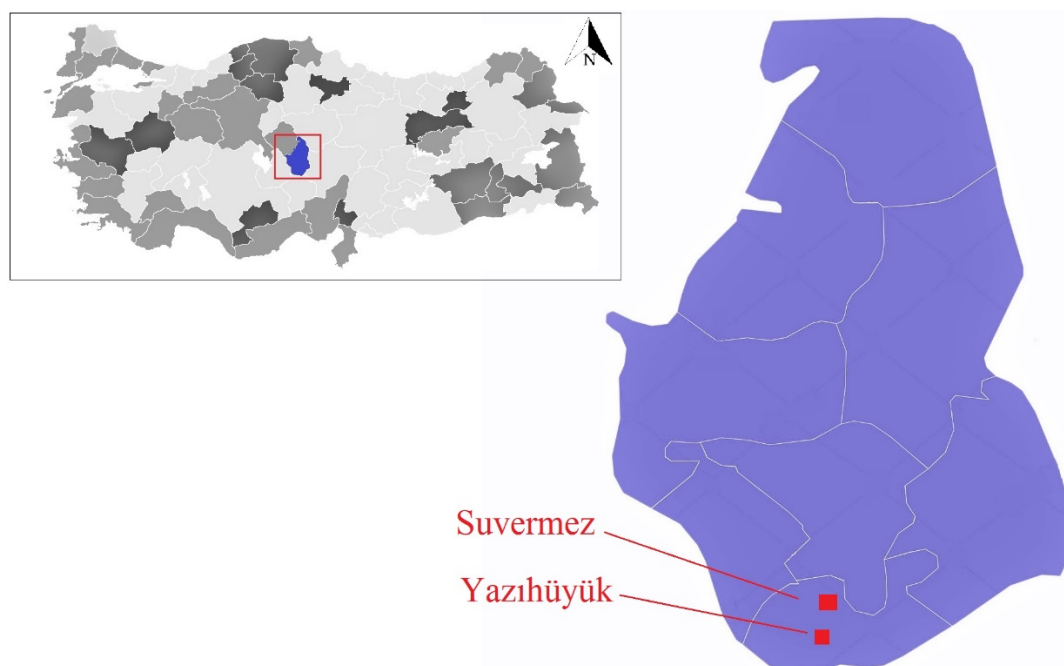


Figure 1. Location of survey and sampling area in Yazıhüyük and Suvermez districts, Nevşehir, Turkey

and cut into approximately 1-cm portions. They were then surface sterilized in 2% NaOCl for 2min, double rinsed in sterile distilled water, blot dried between sterile paper towels. Potato Dextrose Agar (PDA) medium was used in isolation. The medium was sterilized for 15 minutes at 121 °C and 1 atm pressure, and then cooled to 50 °C in a water bath, with the addition of streptomycin sulfate as an antibiotic at a dose of 200 mg/L and poured into an 8 cm diameter petri dish. The superficially sterilized plant tissues were cultured on this medium after which the plates were incubated at 25 °C under dark conditions. The isolates were examined after 2 to 15 days to determine fungi associated with the various symptoms observed. Pure cultures were obtained by sub-culturing and identification of fungi was based on colony characteristics and reproductive structures by using a binocular microscope (Domsch *et al.*, 1980; Barnett and Hunter 1987). Fungal structures of identified fungi were screened by means of a trinocular microscope and photographed by a digital camera.

Molecular characterization of isolates of fungal pathogens from infected bean plants

To confirm the species of the fungal isolates all 16 isolates were subjected to molecular techniques for verification as described by Xu and Leslie (1996). Genomic DNA was extracted using a standard CTAB method. One gene location was amplified for species-level identification of 16 isolated root rot causing pathogens on beans. An ITS4 and ITS5 for PCR amplification reaction was prepared manually for each isolate by adding 10 × Green Buffer (Thermo Scientific,

EP0712) 40 µL, dNTPs 16 µL, Forward primer 8 µL, reverse primer 8 µL (ITS4 and ITS5), Taq polymerase 2 µL, nuclease-free water 310 µL (Thermo Scientific™) and the target DNA 2 µL. Amplification was done in a thermal cycler (Applied Biosystems®, Veriti® 96 Well Thermal Cycler) using the following program: initial denaturation at 95 °C for 3 min, followed by 35 cycles of denaturation at 95 °C for 1 min, annealing at 53 °C for 1:15 min, extension at 72 °C for 1:30 min, and a final extension at 72 °C for 7 min and hold at 4 °C. Reaction products were analyzed by electrophoresis on 1% agarose gels. The annealing temperature was optimized to efficiently amplify ITS4 and ITS5. The polymerase chain reaction (PCR) conditions, optimum annealing temperature, and reagents concentrations were optimized for effective amplification of ITS4 and ITS5. The NCBI BLAST was performed for the 16 isolates and sequences were submitted to NCBI GenBank.

Preparation of inoculations used in experiments

Fungal inoculations used in all experiments in greenhouse and climate chamber were prepared based on by colonizing fungi in wheat seeds that were boiled in water (Killebrew *et al.*, 1988). Primarily, wheat grains are boiled in water; the boiled grains were filtered and drained off the water and then dried on clean newspaper and filled into half autoclavable 1 liter glass bottles with a screw cap. These bottles were then placed in an autoclave at 121 °C and sterilized for 60 minutes at 1 atm pressure (Figure 2). After the autoclave process, after cooling of the grains

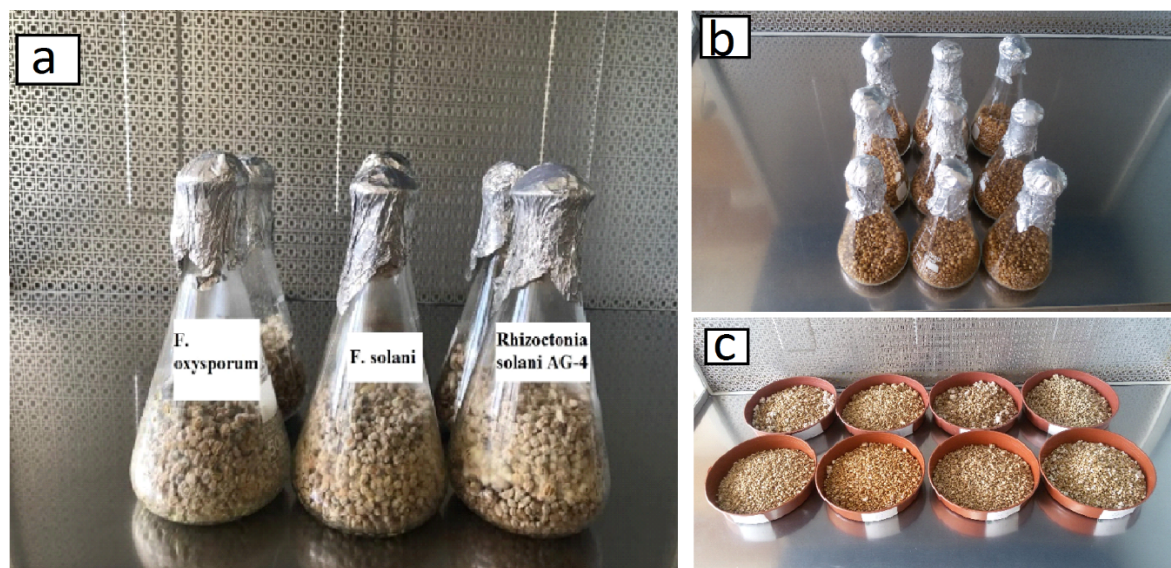


Figure 2. Inoculum preparation: (a) Autoclaved grains were prepared by pathogen colonization (b) Colonized grains (c) Ready-to-use pathogen wheat inoculum

sufficiently, 5 mm agar plates were cut from fresh fungal cultures in 5–6 days developed in PDA medium, and 6–7 pieces were put for each of these bottles. During the incubation period of 15 days at 24 °C, the grains in the bottles were shaken once every 2 days starting from the 5th day, thus ensuring homogenous colonization of all grains. At the end of the 15th day of the incubation, all wheat grains were emptied from the bottles and aired in clean plastic cuvettes for 15–20 hours in the fume hood and then stored at 4 °C.

Pathogenicity test

In order to determine the pathogenicity of fungal pathogens isolated from diseased root bean plants, a preliminary pathogenicity test was conducted by randomly selecting 14 isolates among the isolates of each species, and assessed twice in two different experiments. The bean variety “Albert Canada”, which is one of the most cultivated bean varieties in the region, was used in the preliminary pathogenicity test. The experiments were arranged in a completely randomized design (CRD) with 5 replications, and disease severity ratings were based on the pre-determined scale of 0–3, as described below.

Scale

Infection rating

| | | |
|---|-----|--|
| 0 | – | Healthy seedling |
| 1 | + | Very little superficial lesions in roots |
| 2 | ++ | Severe root rot |
| 3 | +++ | Complete root rot |

Based on the results of preliminary pathogenicity tests, three fungal isolates with higher virulence of disease (*F. oxysporum*, *F. solani* and *R. solani* AG-4) were selected for use in the main pathogenicity test (Table 2.) Pathogenicity of three fungal isolates on beans was

assessed in the final experiment under a climate chamber. Four replications were used for each treatment and each replicate was inoculated by the fungal isolate. Treatment units that are not inoculated were used as control. A total of 13 different cultivars of beans were used for the pathogenicity test. The widely used wheat grain culture for soil-borne fungi which was previously recommended by Killebrew *et al.* (1988) was used in this study.

Host plant

Host plant rearing was conducted in mid-March, 2018. Bean plants were grown in pots containing a mixture of sandy loam soil and manure in a greenhouse (20–26 °C) located at Research and Application Site of the Department of Plant Protection, Cukurova University. About five seeds were sown to a depth of 2 cm in each pot. After reaching their seedling stage, plants were inoculated by placing 10 mg colonized wheat grains in contact with each seedling. After 7 weeks from inoculation, plants were uprooted, washed and disease severity ratings were determined based on the scales described above.

Data analysis

Disease severity data were subjected to analysis of variance (ANOVA) to determine the significance of the difference in lesions, and means were compared using Fisher’s Least Significance Difference Test (LSD) at 5% significance level using Microsoft® Excel (2016).

RESULTS and DISCUSSION

Survey results

A total of 302 different isolates were obtained from 350 bean plants collected in the 2018 growing season from bean production areas in Yazihüyük and

Table 2. Isolates used in this study, the gene regions sequenced, and their respective Genbank accession numbers

| Division | Genus | Species | Isolate code | Percent identity (%) | Disease severity (%) | GenBank accession numbers of the reference sequences |
|---------------|--------------------|--------------------|--------------|----------------------|----------------------|--|
| Basidiomycota | <i>Cerrana</i> | <i>unicolor</i> | Y-2 | 100.00 | 100.00 | MK581063 |
| Ascomycota | <i>Fusarium</i> | <i>accumunatum</i> | Y-1 | 100.00 | 73.30 | MK432763 |
| Ascomycota | <i>Fusarium</i> | <i>equiseti</i> | Y-4B | 100.00 | 100.00 | MK780235 |
| Ascomycota | <i>Fusarium</i> | <i>equiseti</i> | Y-10 | 100.00 | 91.10 | MK168567 |
| Ascomycota | <i>Fusarium</i> | <i>oxysporum</i> | S-2A | 99.81 | 82.20 | MK416124 |
| Ascomycota | <i>Fusarium</i> | <i>oxysporum</i> | S-2B | 99.62 | 64.40 | MK673880 |
| Ascomycota | <i>Fusarium</i> | <i>oxysporum</i> | S-5 | 96.53 | 86.70 | MK510889 |
| Ascomycota | <i>Fusarium</i> | <i>oxysporum</i> | Y-9 | 99.81 | 100.00 | MK790099 |
| Ascomycota | <i>Fusarium</i> | <i>oxysporum</i> | Y-1A | 100.00 | 68.90 | MK416124 |
| Ascomycota | <i>Fusarium</i> | <i>solani</i> | Y-1B | 99.46 | 91.10 | MK734064 |
| Basidiomycota | <i>Rhizoctonia</i> | <i>solani</i> | Y-6 | 100.00 | 75.60 | MH483966 |
| Basidiomycota | <i>Rhizoctonia</i> | <i>solani</i> AG-4 | Y-8 | 99.85 | 100.00 | MH172669 |
| Ascomycota | <i>Trichoderma</i> | <i>hamatum</i> | Y-4A | 100.00 | 100.00 | MK322702 |
| Ascomycota | <i>Trichoderma</i> | <i>hamatum</i> | Y-7 | 100.00 | 100.00 | MK890773 |

Suvermez villages of Nevşehir province. The findings of the current study showed that root-rot disease of beans was widespread in bean growing areas of Nevşehir province. Overall, root rots were detected in bean plants in all surveyed fields. According to the results of frequency analysis of fungal pathogens in the surveyed areas, the most frequently obtained isolate from bean cultivation areas was *Fusarium* with a mean frequency rate of 62.5% followed by *Rhizoctonia* and *Rhizopus* with a mean frequency of 27.5% and 4.8%, respectively (Figure 3). *Alternaria* and *Penicillium* had a mean frequency of respectively 2.4% and 2.1% while the least isolate was *Epicoccum* with a mean frequency

rate of 0.7%. Disease severity was high in all surveyed fields. Soil-borne pathogens that cause root-rot disease in the common bean are a major constraint to bean production in Turkey as well as in the world (Hatat and Özkoç 1997; Román-Avilés and Kelly 2005; Cichy et al., 2007; Naseri 2008; Erper et al., 2011; Nzungize et al., 2012).

PCR results of the fungal isolates

The results of the ITS gene sequence show that different pathogenic fungi composed of two divisions with nine different species of fungi were obtained (Table 2). These were: *Cerrana unicolor*, *Fusarium*

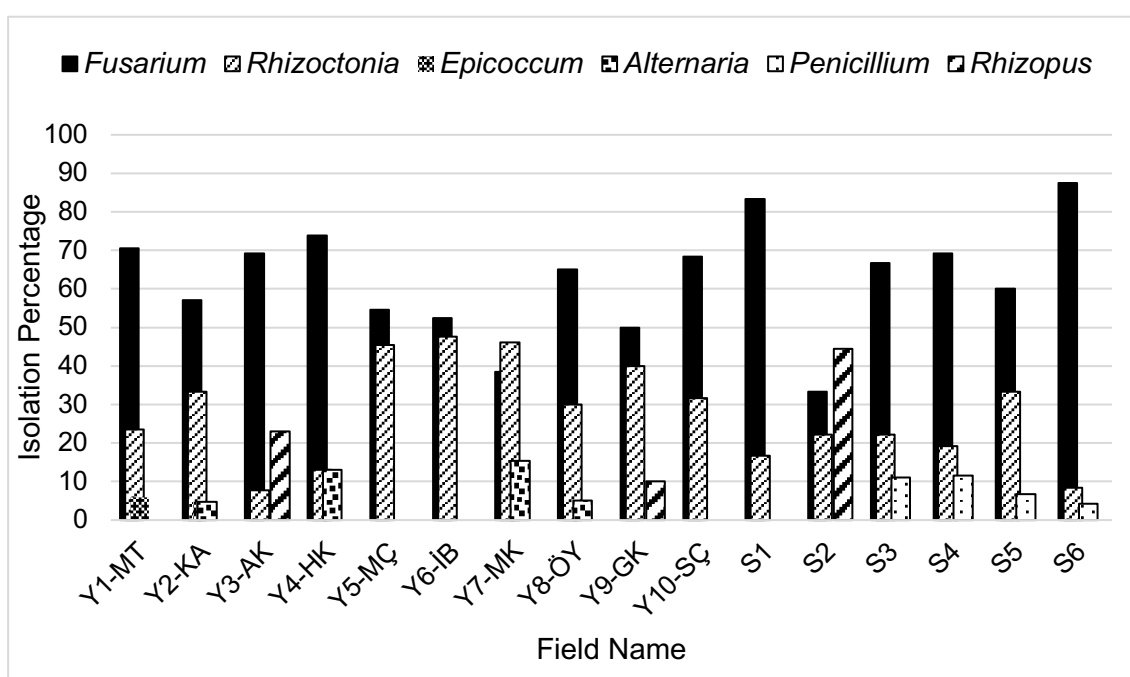


Figure 3. Percentage of fungal pathogens isolated from samples collected from fields in Yazihüyük and Suvermez districts, Nevşehir Province, Turkey

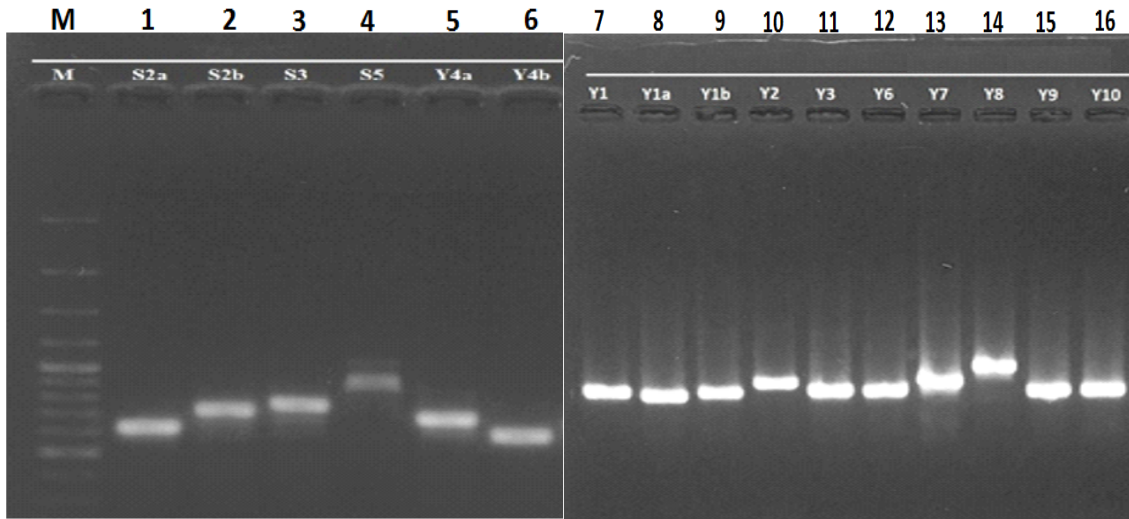


Figure 4. Electrophoretic separation of PCR amplicons of fungal isolates obtained from ITS4 and ITS5 primer pairs. Isolate origin: lanes 1–4= isolates from Suvermez; lanes 5–16= isolates from Yazihüyük

accuminatum, *Fusarium brachygibbosum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia solani* AG-4, and *Trichoderma hamatum* (Figure 4).

Disease severity

Our study provides detailed information on fungi organisms that are associated with root-rot disease and their overall effects on common bean plants in the surveyed fields of Nevşehir province, Turkey. In general, the mean disease severity of root-rot pathogens isolated from root samples varied slightly by field location. In this study, 13 different cultivars of common beans were used for pathogenicity testing and there was no resistant common bean cultivar

against *F. oxysporum*, *F. solani*, and *R. solani* AG-4. *F. oxysporum* and *F. solani* were found to be highly aggressive against all tested beans when compared to *R. solani* AG-4 under laboratory conditions. According to the results of the pathogenicity tests, *F. oxysporum* isolate had the highest rate of disease severity (91.7%) on kidney bean cultivar (Table 3). In most of the fields, examined plant roots had lesions of varying degrees. Stunting, chlorosis, superficial lesions in roots, lesions on hypocotyls and taproot, complete root rot, and seedling death were some of the symptoms observed on bean plants in this study. Similarly, Jensen *et al.* (2002) reported that root-rot diseases caused symptoms such as defoliation of leaves and chlorosis,

Table 3. Disease severity rate (%) of root-rot \pm SE of mean in green and dry bean cultivars

| Cultivar name | Disease severity (%) \pm SE [†] | | | |
|---------------------------|--|---------------------------|------------------------|--------------------------------|
| | Green bean cultivars | <i>Fusarium oxysporum</i> | <i>Fusarium solani</i> | <i>Rhizoctonia solani</i> AG-4 |
| Çilli Ayşe | | 71.7 \pm 11.1 ab* | 93.3 \pm 7.70 b | 46.7 \pm 3.1 a |
| Miray | | 66.7 \pm 11.3 ab | 90.0 \pm 2.22 b | 50.0 \pm 13.2 a |
| Simbo | | 86.7 \pm 10.9 b | 83.3 \pm 16.78 b | 40.0 \pm 17.5 a |
| Sarı kız | | 48.3 \pm 7.9 a | 80.0 \pm 11.33 b | 26.7 \pm 8.31 a |
| Alman Ayşe | | 90.0 \pm 6.7 b | 60.0 \pm 16.3 ab | 33.3 \pm 3.14 a |
| Turşuluk Sırık | | 65.0 \pm 10.6 ab | 36.7 \pm 16.2 a | 31.7 \pm 3.69 a |
| Dry bean cultivars | | | | |
| Ahlat/Bitlis | | 73.3 \pm 13.7 a | 63.3 \pm 13.5 abc | 26.7 \pm 13.33 a |
| Gezin/Elazığ 1 | | 83.3 \pm 14.6 a | 68.3 \pm 17.0 bcd | 65.0 \pm 8.53 bc |
| Gezin/Elazığ 2 | | 70.0 \pm 8.0 a | 33.3 \pm 5.4 a | 60.0 \pm 8.31 b |
| İspir | | 71.7 \pm 13.5 a | 80.0 \pm 14.7 cd | 75.0 \pm 11.5 bc |
| Kanada Alberta | | 53.3 \pm 19.1 a | 90.0 \pm 6.7 cd | 25.0 \pm 3.69 a |
| Kidney Bean | | 91.7 \pm 3.7 a | 45.0 \pm 5.8 ab | 78.3 \pm 4.84 bc |
| Adzuki Bean | | 75.0 \pm 11.1 a | 95.0 \pm 5.8 d | 83.3 \pm 4.97 c |
| Mean | | 72.8 a | 70.6 a | 49.4 b |

[†]. The standard error of the mean for percent disease severity

*. Different letters within the same column and different letters for mean values within the same row denote statistically the significant difference (LSD, $p < 0.05$).

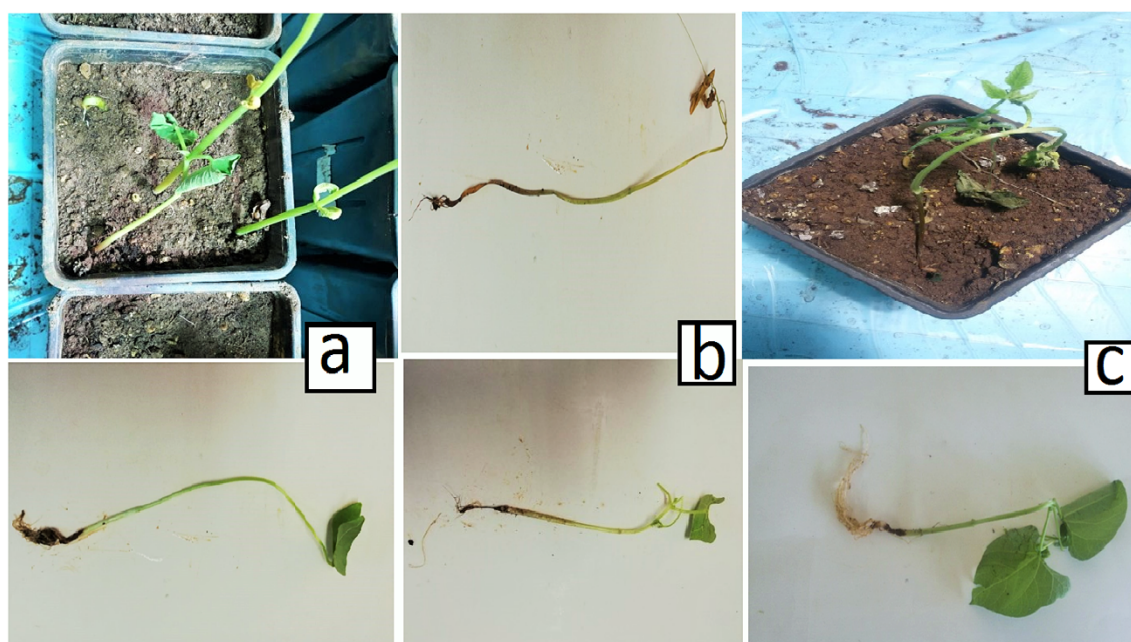


Figure 5. Symptoms of root-rot and wilting on bean seedlings (a) *Rhizoctonia solani* (b) *Fusarium solani* (c) *Fusarium oxysporum* YIA isolate

reduced biomass, plant stunting, and seedling death which finally resulted in reduced seed yield.

On the other bean varieties, the disease severity rate of *F. oxysporum* was in the range of 48.3% and 90.0%, and the average rate of disease severity of this isolate on all bean varieties was determined as 72.8%. The highest disease severity rate (95.0%) for *F. solani* isolate was determined on adzuki bean cultivar. This isolate was also associated with symptoms such as stunting, lesions on hypocotyls and taproot, and complete root rot on bean plants in comparison to control plants. The disease severity rates by this pathogen on other bean varieties were ranged from 33.3% to 93.3% with an average rate of 70.6% disease severity on all bean varieties.

The highest disease severity rate (83.3%) caused by *R. solani* AG-4 isolate was determined on adzuki bean cultivar with the lowest value of 25% recorded on Kanada Alberta cultivar. In addition, this isolate had the lowest mean value of disease severity (49.4%) when compared to the other isolates. While there was no significant difference between the mean disease severity rate of *F. oxysporum* and *F. solani*, the mean value for *R. solani* was statistically different from that of *F. oxysporum* and *F. solani*. However, even though the symptoms differ in their rate of severity, similar disease symptoms on the bean varieties such as wilting, stunting, chlorosis, superficial lesions in roots, lesions on hypocotyls and taproot, and complete root rot were observed for *R. solani* AG-4, *F. oxysporum* and *F. solani* (Figure 5). Overall, Adzuki Bean was the most susceptible cultivar to the three pathogens followed by İspir, Gezin/Elazığ-1 and Kidney Bean.

Overall, when the green and dry bean cultivars are compared with each other, it was observed that the latter were more susceptible to *F. oxysporum* and *R. solani*, whereas green bean cultivars showed higher susceptibility to *F. solani* than the dry bean cultivars. This may indicate that root rot pathogens may exhibit different virulence potential to different form of bean seeds (green or dry).

The frequency of root-rot isolates in plant samples showed that the disease was mainly caused by two or more fungi, and this supports previous reports that soil pathogens often act as complex combinations to cause severe plant damage (Piecark and Abawi 1978; Hatat and Özkoç 1997; Rusuku et al., 1997). Similar to our study, Hatat and Özkoç (1997) reported that *Fusarium* spp. and *R. solani* were the most common fungi isolated from bean plants. Erper et al. (2011) also found that *R. solani* AG-4 was the most abundant group found in common bean plants in Samsun, Turkey. In addition, they reported that the highest disease severity among other *Rhizoctonia* group was determined for the AG-4 group on common bean and soybean plants. This may show that *R. solani* AG-4 is the most predominant *Rhizoctonia* group in the bean fields of Turkey. Meanwhile, *Pythium* spp. were the most frequently isolated fungi in common bean plants of Rwanda, East Africa (Rusuku et al., 1997). *F. solani* was the most abundant fungus in Iranian bean fields followed by *R. solani*, *M. phaseolina*, and *F. oxysporum* (Naseri 2008). The most prevalent fungi isolated from common bean plants in Puerto Rico were *F. solani*, followed by *M. phaseolina*, and *Sclerotium rolfsii* (Porch et al., 2014). Based on the findings of the present study, it can be concluded that the root-rot disease of beans is an

important problem in Nevşehir. As it was perceived during personal communications with the local farmers in the survey area, growers generally pay less attention to a disease until it causes a total death of the plants. Hence, we recommend that farmers should implement control measures as early as possible before higher rates of disease severity occur. The findings of this study can serve as an input for farmers and pest managers in order to develop management strategies for fungal root-rot diseases in common bean growing areas of Turkish.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by Cukurova University Scientific Research Projects Center, Project No: FYL-2019-11541. The authors gratefully thank lab and greenhouse staff members for their kind collaborations during the conduction of the study.

LITERATURE CITED

- Allen, D.J., Buruchara, R.A. and Smithson, J.B. 1998. Pages 179–265 Diseases of common bean. in: The pathology of food and pasture legumes. D.J. Allen and J.M. Lenné, eds. CAB International, Wallingford, UK.
- Barnett, H.L., Hunter, B.B. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi (3rd Edition). APS Press, Minnesota.
- Cichy, K.A., Snapp, S.S. and Kirk, W.W. 2007. *Fusarium* root rot incidence and root system architecture in grafted common bean lines. *Plant Soil*, 300:233–244.
- Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T.H. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Volume 1, Academic Press, London.
- Dursun, A., Haliloglu, K. and Ekinci, M. 2010. Characterization of breeding lines of common bean as revealed by RAPD and relationship with morphological traits. *Pak. J. Bot.* 42:3839–3845.
- 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 I, Karaca G. and Ozkoc I. 2011. Identification and pathogenicity of *Rhizoctonia* species isolated from bean and soybean plants in Samsun, Turkey. *Arch Phytopathol Plant Protec.* 2011: 44:78–84.
- Graham, P.H. and Vance, C.P. 2003. Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiology*. 131:872–877.
- Hall, R., Schwartz, H.F., Steadman, J.R. and Forster, R.L. 2005. *Compendium of bean diseases* (2nd Edition). APS Press, Minnesota.
- Hatat, G. and Özkoç, İ. 1997. Bean root-rot disease incidence and severity in Samsun and fungi associated with bean roots and soils. *J. Agr. Forest.* 21:593–597.
- Jensen, E.C., Percich, J.A. and Graham, P.H. 2002. Integrated management strategies of bean root rot with *Bacillus subtilis* and *Rhizobium* in Minnesota. *Field Crop Res.* 74:107–115.
- Killebrew, J.F., Roy, K.W., Lawrence, G.W., McLean, K.S. and Hodges, H.H. 1988. Greenhouse and field evaluation of *Fusarium solani* pathogenicity to soybean seedlings. *Plant Dis.* 72:1067–1070.
- Kirbağ, S. and Turan, N. 2006. Fungal agents that cause root-rot in some vegetables grown in Malatya. *Firat U. J. Eng. Sci.* 18:159–164.
- Naseri, B. 2008. Root rot of common bean in Zanjan, Iran: major pathogens and yield loss estimates. *Australas. Plant Pathol.* 37:546–551.
- Ntatsi, G., Gutiérrez-Cortines, M., Karapanos, I., Barros, A., Weiss, J., Balliu, A., et al. 2018. The quality of leguminous vegetables as influenced by preharvest factors. *Sci. Hortic.* 232:191–205.
- Nzungize, J.R., Lyumugabe, F., Busogoro, J.P. and Baudoin, J.P. 2012. *Pythium* root rot of common bean: biology and control methods. *Biotech Agron. Soc. Environ.* 16:405–413.
- Pieczarka, D.J. and Abawi, G.S. 1978. Effect of interaction between *Fusarium*, *Pythium* and *Rhizoctonia* on severity of bean root rot. *Phytopathol.* 68:403–408.
- Porch, T.G., Valentin, S., Jensen, E.C. and Beave, J.S. 2014. Identification of soil borne pathogens in a common bean root rot nursery in Isabela. *Puerto Rico J. Agric. U. P. R.* 98:1–14.
- Román-Avilés, B. and Kelly, J.D. 2005. Identification of quantitative trait loci conditioning resistance to *Fusarium* root rot in common bean. *Crop Sci.* 45:1881–1890.
- Rusuku, G., Buruchara, R.A. and Gatabazi, M., 1997. Pastor-Corrales MA. Occurrence and distribution of soil borne fungi pathogenic to the common bean. *Plant Dis.* 81:445–449.
- Schoonhoven, A. and Voysest, O. 1991. *Common beans: Research for crop improvement*. CAB International, Cali, CIAT, Oxon.
- Singh, S.P. and Schwartz, H.F. 2010. Breeding common bean for resistance to diseases: A review. *Crop Sci.* 50:199–223.
- Suárez-Martínez, S.E., Ferriz-Martínez, R.A., Campos-Vega R., Elton-Puente J.E., Carbot K.T. and García-Gasca, T. 2016. Bean seeds: leading nutraceutical source for human health. *CyTA – J. Food.* 14:131–137.
- Turkish Statistical Institute (TSI). 2019. Crop production statistics. (<http://www.turkstat.gov.tr>) (Date Accessed: November 2020).
- Xu, J.R. and Leslie, J.F. 1996. A genetic map of *Gibberella fujikuroi* mating population A (*Fusarium moniliforme*). *Genetics*, 143:175–189.



Effects of Some *Trichoderma* Isolates Against Charcoal Rot Disease of Melon and Plant Growth

Uğur BAYRAK¹ Yunus KORKOM¹ Ayhan YILDIZ¹

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Aydın

ABSTRACT

This study was aimed to evaluate the biological control effectiveness of *Trichoderma* isolates against charcoal rot disease in melon (*Cucumis melo* cv. Kırkağaç-637). *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. is soilborne fungal pathogen that causes for considerable damages in melon production. In the study, the effectiveness of six previously known *Trichoderma* isolates on seed germination, plant growth and against *M. phaseolina* of melon in *in-vitro* and *in-vivo* was determined. As a result of the seed germination of melon tests carried out *in-vitro* condition, the seed germination occurred 80–100% on *Trichoderma* isolates, while 70% on control plates. In *in-vivo* study, when growth of plant was compared in treatments, the isolate of Tr28 was encouraged the fresh weight increase (77.68%) and root growth (177%) in comparison with the negative control. When Tr28+Mp15, Tr138B+Mp15 and R+Mp15 treatments increased the fresh weight, Tr28+Mp15, R+Mp15, Tr138B+Mp15, Tr55+Mp15 isolates increased the root weight in plants inoculated with *M. phaseolina*, and these applications showed the best effect compared to the positive control. The plant growth and effectiveness on *M. phaseolina* in 12.5 g/l Fludioxonil + 5 g/l Metalaxyl (Cebir) treatment, it was lower than Tr28+Mp15, Tr138B+Mp15 treatments.

Keywords: Biocontrol, *Cucumis melo*, *Macrophomina phaseolina*, seed germination

ÖZ

Bazı *Trichoderma* İzolatlarının Kavunda Kömür Çürüklüğü Hastalığına ve Bitki Gelişimine Etkisi

Bu çalışma *Trichoderma* izolatlarının kavunda (*Cucumis melo* cv. Kırkağaç-637) kömür çürüklüğü hastalığına karşı biyolojik mücadele olanaklarının değerlendirilmesi amacıyla yürütülmüştür. *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. kavun üretiminde önemli kayıplara neden olan toprak kaynaklı fungal patojendir. Çalışmada etkinliği önceden bilinen altı *Trichoderma* izolatının kavunda tohum çimlenmesi, bitki gelişimi ve *M. phaseolina*'ya karşı etkinliği *in-vitro* ve *in-vivo*'da belirlenmiştir. *In-vitro* kavun tohum çimlenme testi sonucunda *Trichoderma* izolatlarında %80–100 tohum çimlenmesi gerçekleşirken, kontrolde ise %70 oranında olmuştur. *In-vivo* çalışmasında; uygulamaların bitki gelişimine olan etkisi ele alındığında, Tr28 izolatı negatif kontrole göre %77.68 bitki yaş ağırlık artışı sağlayan ve %177 oranında kök gelişimini teşvik eden en iyi izolat olmuştur. *M. phaseolina* ile inokule edilen bitkilerde Tr28+Mp15, Tr138B+Mp15 ve R+Mp15 uygulamaları yaş ağırlık artışında, kök ağırlık artışında ise Tr28+Mp15 ve R+Mp15, Tr138B+Mp15 ve Tr55+Mp15 uygulamaları pozitif kontrole göre en iyi etkiyi göstermiştir. 12.5 g/l Fludioxonil + 5 g/l Metalaxyl (Cebir) uygulaması ise Tr28+Mp15, Tr138B+Mp15 göre bitki gelişimi ve *M. phaseolina*'ya karşı etkisi daha düşük olmuştur.

Anahtar kelimeler: Biyokontrol, *Cucumis melo*, *Macrophomina phaseolina*, tohum çimlenmesi

GİRİŞ

Kavun (*Cucumis melo* L.) Cucurbitaceae familyasında yer alan önemli bir kültür bitkisidir. 2018 yılı dünyadaki yaklaşık 27.5 milyon ton kavun üretiminin 1,753,942 ton ile Türkiye Çin'den sonra ikinci sırada yer almaktadır (FAO, 2020). Örtüaltı ve açıkta kavun yetiştiriciliğinde, ekolojik koşullara bağlı olarak ekonomik önemi yüksek kültür bitkilerin monokültür tarımının yapılması nedeniyle toprak yorgunluğu ve toprak kaynaklı hastalıklar gerek ülkemizde gerekse

dünyada ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (Tüzel ve Gül, 2008; de Sousa Linhares ve ark., 2020). Dünyada kavunlarda solgunluğa ve kurumalara neden olan fungal patojenler arasında; *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*, *Fusarium solani*, *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Phomopsis sclerotioides*, *Verticillium dahliae*, *Monosporascus cannonballus*, *Myrothecium roridum* ve *Rhizoctonia solani* bulunmaktadır (Blancard ve ark., 1994; Dantas ve ark., 2013). *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Botryosphaeriaceae familyasında yer alan kavun yetiştiriciliğini etkileyen aynı zamanda toprakta veya bitki artıklarında mikrosklerot olarak 15 yıla kadar canlı kalabilen en önemli toprak kaynaklı patojenlerden biridir (Tezcan ve Yıldız, 1993; Manici ve ark., 1995; Cohen ve ark., 2016; Nascimento ve ark., 2018). *M. phaseolina* 500'den fazla kültür bitkisi ve yabancı ot

Article Info / Makale Bilgileri

Corresponding author e-mail: yunus.korkom@adu.edu.tr

Received: January 16, 2021 Accepted: January 31, 2021

ORCID ID's of Authors in order:

0000-0002-0854-9466, 0000-0001-5859-9026

0000-0001-9443-2362

İlk yazının Lisans tezi ürünüdür.

türlerinde ekonomik kayıplara, kömür çürüklüğüne, çökertene, kök çürüklüğüne neden olmaktadır (Su ve ark., 2001). Etmen ülkemizde ilk kez 1942 yılında İzmir ve Ankara'da pamuk, anason, susam, tütün, patates, biber ve patlıcanda saptandığını bildirmiştir (Karaca, 1974). Daha sonra yapılan çalışmalarda etmenin kavunla birlikte ayçiçeği, soya fasulyesi, fasulye ve tütünde yaygın olarak hastalık yaptığı bildirilmiştir (Yıldız ve ark., 1994). Erincik ve ark. (2017) Urla yarımadasında Çeşme kavunu yetiştirilen alanlarda yürüttükleri sörvey çalışması sonucu; arazinin tümünde kavunda kurumalar gözlemlenmiştir. Toplam 17 adet tarlada hastalık bulunma oranı $>50\%$ tespit edilmiştir. Kuruyan bitkilerden yapılan izolasyon sonucunda *Fusarium oxysporum* (%52), *Macrophomina phaseolina* (%24), *Fusarium* spp. (%24) izolatu elde edilmiştir. Patojenite testlerinde, *M. phaseolina* izolatlarının tamamı, *F. oxysporum* izolatlarının %68'i kavunda patojen olduğu belirlenmiştir. Son yıllarda, tarımsal üretimde birim alandan alınan verimin artırılması amacıyla kimyasal girdilerin yoğun ve kontrolsüz kullanımı insan ve çevre sağlığı açısından tehdit oluşturmaya başlamıştır. Bu durum, günümüzde fide verimi ve kalitesi yanında bitki koruma uygulamaları da ekolojik dengeyi koruyan, çevre dostu teknikler önem kazanmaktadır (Sivritepe ve ark., 2015; Kushwaha ve ark., 2017). Biyolojik mücadele, bitki hastalıklarının kontrolünde kimyasal pestisitlere bir alternatif yöntemdir. *Trichoderma* türleri, birçok fungal bitki patojeninin, özellikle de toprak kaynaklı patojenlerin kontrolünü sağlayan aynı zamanda bitki gelişimini teşvik eden, bitki savunma sistemini uyarmak suretiyle bitki dayanıklılığını arttıran önemli biyolojik mücadele ajanı olarak bilinmektedir (Elad, 2000; Harman ve ark., 2004; Shores ve ark., 2005; Vinale ve ark., 2008; Keswani ve ark., 2014; Singh ve ark., 2018). *Trichoderma* spp. ile kavunda *M. phaseolina*'nın mücadelesine yönelik yürütülen çalışma sayısının çok fazla olmadığı görülmektedir.

Bu çalışmanın amacı; kavunda önemli kayıplara neden olan *M. phaseolina* etmenine karşı, *Trichoderma* izolatlarının *in-vitro* ve *in-vivo* koşullar altında biyokontrol etkinliğini araştırmaktır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışmada daha önceki çalışmalarda *M. phaseolina*'ya karşı antagonistik özellikleri (ikili kültür testi, uçucu bileşiklerin miselyal gelişimine ve mikrosklerot oluşumuna etkisi, uçucu olmayan bileşiklerin miselyal gelişime etkisi) bilinen altı *Trichoderma* izolatu ve Aydın ili çilek üretim alanlarından izole edilmiş virülensliği yüksek *M. phaseolina* izolatu (AMp2) kullanılmıştır. Her iki izolat Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı Mikoloji Laboratuvarı stoklarından temin edilmiştir. Ayrıca sertifikalı Kırkağaç-637 çeşidi kavun tohumu kullanılmıştır. Çalışmada karşılaştırma ilacı

olarak *T. asprellum* ırk ICC012+*T. gamsii* ırk ICC080 (Remedier) biyopreparatu ve 12.5 g/l Fludioxonil + 5 g/l Metalaxyl (Cebir) kullanılmıştır. Bu çalışma 2019-2020 yılında yürütülmüştür.

In-vitro koşullarda *Trichoderma* izolatlarının tohum çimlenmesine etkisinin belirlenmesi

Ticari olarak satılan sertifikalı Kırkağaç-637 çeşidi ilaçsız kavun tohumlarını %1'lik sodyum hipokloritte (NaOCl) 5 dk. bekletildikten sonra steril saf sudan iki kez geçirilmiş ve steril kurutma kağıtları arasında steril kabin içerisinde kurumaya bırakılmıştır (Jain ve ark., 2013). Altı adet *Trichoderma* izolatu Potato Dextrose Agar (PDA)'da 25 ± 2 °C'de 7 gün geliştirildikten sonra koloni yüzeyini kaplayacak şekilde %1 Tween80 içeren steril saf su ilave edilmiş ve steril cam baget yardımıyla tüm yüzeye homojen bir şekilde yayılarak sporların suya geçmesi sağlanmıştır. Daha sonra süspansiyon steril tülbenkten süzülerek spor yoğunluğu Thoma lam yardımıyla hesaplanmıştır (Korkom ve Yıldız, 2020). Her bir *Trichoderma* izolatına ait süspansiyon 2×10^7 spor/ml (Jain ve ark., 2013) olacak şekilde yaklaşık 10 ml olacak şekilde steril cam petrinin içerisinde bulunan 30 adet yüzey dezenfeksiyonu yapılmış tohumların üzerine eklenmiştir. Tohumlar süspansiyonların içinde 45 dakika bekledikten sonra steril kurutma kağıtlarında kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra tohumlar 90 mm steril cam petrilerin içerisine yerleştirilen steril kurutma kağıtlarının üzerine her petriye 10 adet tohum olacak şekilde çimlenmeye bırakılmıştır. Kontrol grubunda ise yüzey dezenfeksiyonu yapılan tohumlar 90 mm steril petrilerin içerisine yerleştirilen steril kurutma kağıtlarının üzerine her petriye 10 adet tohum olacak şekilde yerleştirilmiştir. Çalışma 25 ± 2 °C'deki inkubatörde yürütülmüştür. Çimlenen tohum sayısı 24 saat aralıklarla kaydedilmiştir. Çimlenme testi sonunda çimlenme oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır; Çimlenme oranı (%) = $[\text{Çimlenen tohum sayısı} / \text{Toplam tohum sayısı}] \times 100$ (Özbay ve ark., 2018)

Trichoderma izolatlarının *in-vivo* koşullarda *Macrophomina phaseolina*'ya ve bitki gelişimine etkisinin değerlendirilmesi

Kavun tohumlarının ekimi içerisinde 550 g (steril kum + torf (1:1)) yetiştirme ortamı bulunan saksılara yapılmıştır. *Trichoderma* spor süspansiyonu *in-vitro*'da gerçekleştirilen tohum çimlenme çalışmasında belirtildiği gibi hazırlanmış ve her bir *Trichoderma* izolatına ait spor süspansiyonu 4×10^8 spor/ml (Korkom ve Yıldız, 2020) toprağa içirme şeklinde her saksıya 50 ml olarak tohum ekimi esnasında uygulanmıştır.

M. phaseolina inokulumu hazırlamak için; AMp2 izolatu PDA'da 25 ± 2 °C'de 7 gün geliştirilmiştir. Daha sonra gelişen kültürler blendırda 250 ml steril saf su+%0.05 NaOCl içinde parçalamak suretiyle mikrosklerot

süspansiyonu elde edilmiştir. Parçalanma işleminden sonra süspansiyon 212 ve 45 µm'lik eleklerden geçirilerek 45µm elek üzerinde kalan mikrosklerotlar beher içerisinde toplanmıştır (Aviles ve ark., 2009). Elde edilen süspansiyondan 10 µl alınarak 5 tekrar olacak şekilde çukur lamda mikrosklerot sayımı yapılmıştır. Mikrosklerot konsantrasyonu 1.6×10^3 ms/ml olarak hazırlanmış ve Tr spor süspansiyonu uygulandıktan 15 gün sonra toprağa içirme şeklinde uygulanmıştır. İnokulumun homojen şekilde dağılmasını sağlamak amacıyla uygulama öncesinde saksının 4 yönünde 5 mm çapında 5 cm derinliğinde delikler açılmıştır (Korkom ve Yıldız, 2020).

Çalışmada karşılaştırma ilacı olarak kullanılan *T. asprellum* ırk ICC012+*T. gamsii* ırk ICC080 (Remedier) biyopreparatı (30 g/100 lt su) ve 12.5 g/l Fludioxonil + 5 g/l Metalaxyl (Cebir) (500 ml/100 lt su) toprağa içirme şeklinde her bir saksıya 50 ml olarak uygulanmıştır.

Saksı çalışması Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre, aşağıda belirtildiği gibi 8 karakterli, 5 tekerrürlü her bir tekerrürde 1 saksı yer alacak şekilde yürütülmüştür.

- 1: Yetiştirme ortamına Tr süspansiyonu uygulandıktan 15 gün sonra Mp inokulumu uygulaması (Tr+Mp15)
- 2: Yetiştirme ortamına *T. asprellum* ırk ICC012+*T. gamsii* ırk ICC080 (Remedier) uygulamasından 15 gün sonra Mp inokulumu uygulaması (R+Mp15)
- 3: 12.5 g/l Fludioxonil+5 g/l Metalaxyl (Cebir) uygulamasından 15 gün sonra Mp inokulumunun yetiştirme ortamına uygulaması (C+Mp15)
- 4: Yetiştirme ortamına sadece *T. asprellum* ırk ICC012+*T. gamsii* ırk ICC080 (Remedier) uygulaması (R)
- 5: Yetiştirme ortamına sadece 12.5 g/l Fludioxonil + 5 g/l Metalaxyl (Cebir) uygulaması (C)
- 6: Bitki gelişimini değerlendirmek amacıyla yetiştirme ortamına sadece *Trichoderma* izolatlarına ait spor süspansiyonu uygulaması (Tr)
- 7: Yetiştirme ortamına sadece Mp inokulumunun uygulanması [Pozitif kontrol: K (+)]
- 8: Hiçbir uygulama yapılmayan [Negatif kontrol: K(-)]

Yüzey dezenfeksiyonu yapılan Kırkağaç-637 çeşidi kavun tohumları 10 adet tohum/saksı olacak şekilde ekim gerçekleştirilmiştir. Deneme 16 saat aydınlık/8 saat karanlık koşullarda 25 ± 2 °C'deki iklim odasında 8 hafta yürütülmüştür. Tohum ekimi gerçekleştirildikten sonra 14 gün süresince 24 saat aralıklarla tohumların çıkış durumu kaydedilmiştir. Çimlenme sonrası 1 fide/saksı kalacak şekilde seyreltme yapılmıştır. Ayrıca deneme sonlandırıldığında her karakterdeki bitkilerin; bitki yaş ağırlık (g), kök ağırlığı (g), bitki kuru ağırlıkları (g) tartılarak kaydedilmiştir.

Deneme süresince bitkiler 0–3 skalasına (0 = bitkide hastalık belirtisi yok; 1 = yapraklarda renk açılması ve

solgunluk; 2 = kök boğazında leke oluşumu; 3 = bitki tamamen kurumuş ve ölmüş) göre değerlendirilmiştir (Erzurum, 2000).

Çalışmada elde edilen veriler SPSS (v.21) istatistik programında tek yönlü varyans analizi ANOVA ve gruplar arasındaki fark Duncan çoklu karşılaştırma testi ile ($p=0.05$) değerlendirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Trichoderma izolatlarının bitki gelişimine etkisinin belirlenmesi

Trichoderma türlerinin tohum uygulamaları kısa ve uzun vadede bitki gelişimini teşvik etmektedir (Mastouri ve ark., 2010), ancak tohum-*Trichoderma* etkileşimi konusunda çok az çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda *Trichoderma* izolatlarının kavun tohumlarındaki çimlenme testi sonucu elde edilen veriler değerlendirildiğinde; %80–100 oranlarında tohum çimlenmesi gözlenirken, kontrolde ise tohumların %70 çimlenmiştir. Tr138B izolatu %42.86, Tr48 izolatu %32.86 oranında kontrole göre tohum çimlenmesinde artış sağlamıştır (Çizelge 1). Nitekim İspanya'da Gandalf çeşidi kavunda iki *T. saturnisporum* izolatının tohum çimlenmesine etkisinin değerlendirildiği çalışmada T1 ve T2 izolatlarında sırasıyla %93.50, %93.75, kontrolde ise %62 çimlenme oranı elde edilmiştir (Fernando ve ark., 2018).

Tohum çimlenme kabiliyetinin artırılması veya teşvik edilmesi, fide gelişimini aynı zamanda verimi doğrudan etkileyen bir faktördür. Çalışmamızın tohuma *Trichoderma* uygulama aşaması, kavunda tohum çimlenmesine olumlu etkisini ortaya koymuştur.

Çalışmamızda uygulamaların kavunda bitki gelişimine olan etkisi değerlendirildiğinde; ekimi yapılan tohumların K(-)'de %56 oranında çimlenme gözlenirken, *Trichoderma* uygulamalarının olumlu katkısıyla bu oran %58–74 düzeyinde olmuştur. *Trichoderma* uygulamalarının tamamı, bitki yaş (yeşil aksam ve kök) ağırlığını kontrole göre arttırmıştır. Tr28 izolatu 18.65 g ile K(-) (10.65 g) göre %77.68 oranında bitki yaş ağırlığında, kök ağırlığında ise %177 oranında bir artış sağlayarak bitki gelişimini teşvik eden en iyi izolat olmuştur. Karşılaştırma ilacı olarak kullanılan 12.5 g/l Fludioxonil + 5 g/l Metalaxyl (C) uygulaması ise %24.03 oranında yaş ağırlık artışı sağlamıştır. Bitki kuru ağırlık değerleri incelendiğinde yine Tr28 izolatu 2.21 g ile en yüksek kuru ağırlık değeri elde edilen izolat olmuştur (Çizelge 1).

Martínez-Medina ve ark. (2011) Arbüsküler mikorizal fungus (AMF) ve *T. harzianum* uygulamalarının kavunda bitki gelişimine olan etkisi değerlendirildiği çalışmada *T. harzianum* uygulamasının sürgün yaş ağırlığını kontrole göre %20 oranında artış sağladığı, kök ağırlığı ise kontrolde 0.67 g olarak elde edilmiştir. Sera koşullarında dört farklı *Trichoderma* türüne ait izolatın kullanıldığı çalışmada; kök kuru ağırlığında *T. viride* (3.67 g) ve *T. koningii* (3.55 g) uygulamalarının kontrole (3.40

Çizelge 1. *Trichoderma* uygulamalarının *in-vivo* koşullarda kavunda bitki gelişimine etkisi

| Karakter | <i>In-vitro</i> çimlenme oranı (%)* | Tohum çimlenme oranı (%)** | Yeşil aksam yaş ağırlık (g)** | Kök ağırlığı (g)** | Bitki yaş ağırlık (g)** | Bitki yaş ağırlık artışı (%)*** | Bitki kuru ağırlık (g)*** |
|----------|---|----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|
| Tr28 | 80 | 66 | 12.96 | 5.68 | 18.65 | 77.68 a | 2.21 a |
| Tr49 | 85 | 74 | 10.39 | 3.99 | 14.38 | 37.02 ab | 1.38 ab |
| Tr48 | 90 | 74 | 9.79 | 4.44 | 14.23 | 35.56 ab | 1.49 ab |
| Tr124 | 85 | 58 | 10.81 | 3.34 | 14.15 | 34.80 ab | 1.51 ab |
| Tr55 | 85 | 72 | 10.02 | 3.85 | 13.87 | 32.19 ab | 1.86 ab |
| C | – | 70 | 9.73 | 3.29 | 13.02 | 24.03 ab | 1.75 ab |
| Tr138B | 100 | 68 | 8.65 | 3.65 | 12.30 | 17.22 ab | 1.49 ab |
| K(-) | 70 | 56 | 8.60 | 2.05 | 10.65 | 0.00 ab | 1.04 b |
| R | – | 76 | 6.74 | 1.74 | 8.48 | -19.15 b | 0.89 b |
| F değeri | – | – | – | – | – | 1.22 (p>0.05) | 1.53 (p>0.05) |

* *In-vitro* testleri sadece *Trichoderma* izolatları ile yapılmıştır.

** Değerler 5 tekrerrüt ortalamasıdır.

*** Aynı sütunda Duncan testine göre aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur.

g) göre, sürgün kuru ağırlığında ise sadece *T. viride* (3.55 g)'nin kontrole (3.96 g) göre olumlu etkisinin olduğu belirlenmiştir (Gava ve Menezes, 2012). Topraktan izole edilen *T. harzianum* (iki izolat), *T. ghanense* ve *T. hamatum* olmak üzere dört *Trichoderma* izolatın, kavunda bitki gelişimini teşvik etme yetenekleri değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda; 7 hafta sonra *T. ghanense*, *T. hamatum* ve ticari *T. harzianum* (T-22) kök yaş ağırlığında, sürgün yaş ağırlığında ise *T. harzianum* (T-22) uygulamasının en yüksek gösterdiği belirlenmiştir (Martínez-Medina ve ark., 2014). Yapılan bir diğer çalışmada ise *T. harzianum* ve *T. viride* uygulamalarının, kavuna inokulasyondan 1 ay sonra, kontrole göre sürgün kuru ağırlığını *T. harzianum* %8.36 ve *T. viride* %7.03 oranında, kök kuru ağırlığını *T. harzianum* %10.08 *T. viride* %9.26 oranında arttırdığı belirlenmiştir (Boughalleb-M'Hamdi ve ark., 2018).

***Trichoderma* izolatlarının *in-vivo* koşullarda *Macrophomina phaseolina*'ya etkisi**

Saksı çalışması 27.01.2020 tarihinde kurulmuştur ve 8 hafta sonra deneme değerlendirilmiştir. Tohum ekiminden sonraki 14 gün çıkışları takip edilerek

çimlenen tohum sayısı kaydedilmiş ve çimlenme oranı (%) hesaplanmıştır.

Çizelge 2 incelendiğinde, saksılara ekilen tohumların çimlenme oranı K(-)'de %64 iken, AMp-2 ile inokule edilen K(+)'de bu oran %56 olmuştur. Seyreltme işlemi sonrasında bitkiler deneme süresince 0–3 skalasına göre değerlendirildiğinde K(+)'de fide ölümü gözlenirken, diğer uygulamalarda ise herhangi bir fide ölümü gözlenmemiştir. AMp-2 ile inokule edilen bitkilerde Tr28 *Trichoderma* izolatı uygulaması K(+)'de gerek fide yaş ağırlığı gerekse kök gelişimi açısından diğer uygulamalara göre olumlu katkıları olmuştur. Tr28 %154.5 (4.81 g) ve Tr138B %49.7 (2.83 g) oranlarında kök ağırlığında kontrole göre (1.89 g) en fazla artış sağlayan izolatlar olmuştur. Karşılaştırma ilacı olarak kullanılan 12.5 g/l Fludioxonil + 5 g/l Metalaxyl (C) (C+Mp15) 1.87 g ile kontrolden daha az kök oluşumu meydana gelirken, *T. asprellum* ırk ICC012+*T. gamsii* ırk ICC080 (R+Mp15) uygulamasında %15.8 olarak kök ağırlığında artış meydana gelmiştir (Çizelge 2). Kök ve kök boğazı çürüklüğü etmenleri ile mücadelede kök biyomasının artırılması bitki dayanıklılığında önemli bir yer tutmaktadır. Ayrıca fide yaş ağırlığı dikkate alındığında 14.56 g ile Tr28 izolatı

Çizelge 2. *Trichoderma* uygulamalarının *in-vivo* koşullarda *M. phaseolina*'ya etkisi

| Karakter | Skala değeri** | Tohum çimlenme oranı (%) | Yeşil aksam yaş ağırlık (g)* | Kök ağırlık (g)* | Bitki yaş ağırlık (g)** | Bitki kuru ağırlık (g)** |
|-------------|----------------|--------------------------------|------------------------------------|------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Tr28+Mp15 | 0 b | 58 | 9.75 | 4.81 | 14.56 a | 2.00 a |
| R+Mp15 | 0 b | 56 | 8.46 | 2.19 | 10.65 ab | 1.21 b |
| K (-) | 0 b | 64 | 8.60 | 2.05 | 10.65 ab | 1.04 b |
| Tr138B+Mp15 | 0 b | 58 | 7.57 | 2.83 | 10.40 ab | 1.46 ab |
| K (+) | 0.6 a | 56 | 7.63 | 1.89 | 9.52 b | 1.02 b |
| C+Mp15 | 0 b | 72 | 6.99 | 1.87 | 8.86 b | 0.95 b |
| Tr55+Mp15 | 0 b | 68 | 6.51 | 2.17 | 8.68 b | 1.00 b |
| Tr49+Mp15 | 0 b | 70 | 6.09 | 1.95 | 8.04 b | 1.15 b |
| Tr48+Mp15 | 0 b | 62 | 6.30 | 1.36 | 7.66 b | 1.19 b |
| Tr124+Mp15 | 0 b | 68 | 5.83 | 1.18 | 7.01 b | 0.79 b |
| F değeri | 6.0 (p<0.05) | – | – | – | 2.36 (p<0.05) | 2.74 (p<0.05) |

* Değerler 5 tekrerrüt ortalamasıdır.

** Aynı sütunda Duncan testine göre aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur.

K(+) (9.52 g) göre %52.94, ağırlık artışı sağlamıştır. Yaş ağırlığa paralel olarak fidelerin kuru ağırlığında da Tr28 izolatu (2 g) diğer *Trichoderma* uygulamaları arasında yüksek olarak saptanmıştır. Ancak diğer uygulamalarda beklenen olumlu etki görülmemiştir (Çizelge 2). Bu da *M. phaseolina*'nın mücadelesinin ne kadar güç olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Konu ile ilgili yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde *Trichoderma* türleri ile kavunda *M. phaseolina*'ya karşı yürütülen çalışma sayısının az olduğu görülmektedir. Sera koşullarında kavunda *T. harzianum*'un etkisinin değerlendirildiği çalışmada %37–%37.5 oranında hastalığın gelişimini engellediği belirlenmiştir (Elad ve ark., 1986). Yapılan bir diğer çalışmada ise Etebarian (2006) sakı koşullarında *M. phaseolina*'ya olan etkisi değerlendirildiğinde canlı kalan bitki oranları; *T. virens* %64.25, *T. harzianum* %75.25, *T. harzianum* %47.55 ve ticari preparat olan Trichodermin B'nin %96.70 olduğu belirtilmiştir.

Gava ve Menezes (2012) tarafından San Francisco bölgesinde kavunda toprak kaynaklı patojenlerin kontrolüne yönelik dört farklı *Trichoderma* izolatlarının arazi koşullarında hastalığın görülme oranı *T. koningii* LCB49 ve *T. polysporum* LCB50 uygulamalarında en az olarak (sırasıyla %28.6 ve %24.7) belirlenmiştir. *T. viride* ve *T. harzianum* izolatlarının *in-vivo* koşullarda kavunda *M. phaseolina* (Mp1 ve Mp2)'nin neden olduğu kök kuru ağırlığında meydana gelen kaybı *T. viride* %35.41–48.18 oranında, *T. harzianum* %37.23–50.68 oranında azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca yine aynı çalışmada sürgün kuru ağırlığında meydana gelen kaybı *T. viride* %29.09–30.56 oranında, *T. harzianum* %27.80–29.52 oranında azalttığı bildirilmiştir (Boughalleb-M'Hamdi ve ark., 2018).

Bitkisel üretimde tohum veya bitkiye yapılan uygulamaların biyotik ve abiyotik streslere karşı dayanıklılığın oluşturulması önemli yer tutmaktadır (Harman ve ark., 2004; Mastouri ark., 2010). Konya ili Çumra ilçesinde Edalı çeşidi kavun yetiştirilen alanda toprak kaynaklı patojenlerin (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Macrophomina phaseolina*) mücadelesine yönelik yürütülen kemigasyon yönteminin değerlendirildiği çalışmada dikimle ve dikimden 15 gün sonra Fludioxonil + Metalaxyl-M uygulamasının etkili uygulama olduğu belirtilmiştir (Özbahçe ve ark., 2014). Ancak bizim çalışmamızda *in-vivo*'da elde edilen veriler hastalığın mücadelesinde 12.5 g/l Fludioxonil + 5 g/l Metalaxyl (Cebir) uygulamasının *Trichoderma* uygulamalarına nazaran etkisi daha düşük olmuştur.

Sonuç olarak bu çalışmada Tr28 izolatu, kavunda önemli kayıplara neden olan *Macrophomina phaseolina*'nın kontrolünde ve bitki gelişiminde olumlu etkileri saptanmıştır. Ayrıca bitki gelişimine olumlu katkısı ile verim artışının meydana gelmesi, mücadelesi güç ve pahalı olan toprak kaynaklı hastalıkların kontrolünde başarı şansımızı arttırılabileceği görülmektedir. *Trichoderma* izolatları, bitki patojenlerini doğrudan

etkileyebilir, aynı zamanda konukçu bitkisinin fitohormonal değişikliklere de neden olarak bitki büyümesine ve stres koşullarında da bir iyileşmeye yol açtığı bilinmektedir. Çok sayıda *Trichoderma* izolatları ile benzer çalışmalar yapılarak izolatların gerek tek başına gerekse kombinasyon şeklinde etkinliği değerlendirilmelidir. Çalışmamızda ön plana çıkan Tr28 izolatının kavunda kömür çürüklüğü hastalığının kontrolüne yönelik arazi çalışmalarına ve farklı kültür bitkilerinde toprak kaynaklı patojenlere karşı yürütülecek biyolojik mücadele çalışmalarına yer verilmelidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK-BİDEB 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı 2019/2 projesi ile Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından desteklenmiştir. Çalışmanın yürütülmesi için destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Aviles, M., Castillo, S., Borrero, C., Castillo, M.L., Zea-Bonilla, T. and Perez-Jimenez, R.M. 2009. Response of Strawberry Cultivars: 'Camarosa', 'Candonga', and 'Ventana' to Inoculation with Isolates of *Macrophomina phaseolina*. Acta Horticulturae, 842: 291–294.
- Blancard, D., Lecoq, H. and Pitrat, M. 1994. A Colour Atlas of Cucurbit Diseases: observation, identification and control. Manson Publishing Ltd.
- Boughalleb-M'Hamdi, N., Salem, I. B. and M'Hamdi, M. 2018. Evaluation of the Efficiency of *Trichoderma*, *Penicillium*, and *Aspergillus* species as Biological Control Agents Against Four Soil-borne Fungi of Melon and Watermelon. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 28(1): p. 25.
- Cohen, R., Tyutyunik, J., Fallik, E., Oka, Y., Tadmor, Y. and Edelstein, M. 2016. Phytopathological Evaluation of Exotic Watermelon Germplasm as a Basis for Rootstock Breeding. Scientia Horticulturae, 165: 203–210.
- Dantas, A.M.M., Ambrósio, M.M.Q., Nascimento, S.R.C., Senhor, R.F., César, M.A. and Lima, J.S.S. 2013. Incorporation of Plant Materials in the Control of Root Pathogens in Muskmelon. Revista Agro@ambiente Online, 7(3): 338–344.
- De Sousa Linhares, C.M., Ambrósio, M.M.Q., Castro, G., Torres, S.B., Esteras, C., de Sousa Nunes, G.H. and Pico, B. 2020. Effect of Temperature on Disease Severity of Charcoal Rot of Melons Caused by *Macrophomina phaseolina*: Implications for selection of resistance sources. European Journal of Plant Pathology, 158(2): 431–441.
- Elad, Y. 2000. Biological Control of Foliar Pathogens by Means of *Trichoderma harzianum* and Potential Modes of Action. Crop Prot. 19: 709–714.
- Elad, Y., Zvieli, Y. and Chet, I. 1986. Biological Control of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid by *Trichoderma harzianum*. Crop protection, 5(4): 288–292.

- Erincik, Ö., Özdemir, Z. and Döken, M.T. 2017. Urla Yarımadasında Çeşme Kavununda Kurumalara Neden Olan Fungal Patojenlerin Yaygınlıkları ve Bulunma Oranları. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 14(2): 57-61.
- Erzurum, K. 2000. Kavunda *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich'nin Patojenisitesi Üzerinde Araştırmalar. Tarım Bilimleri Dergisi, 6(2): 45-47.
- Etabarian, H.R. 2006. Evaluation of *Trichoderma* Isolates for Biological Control of Charcoal Stem Rot in Melon Caused by *Macrophomina phaseolina*. J. Agric. Sci. Technol. 8: 243-250.
- FAO, 2020. Melon Production. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (Web page: <http://www.fao.org>), (Erişim tarihi: Ocak 2021).
- Fernando, D., Milagrosa, S., Francisco, C. and Francisco, M. 2018. Biostimulant Activity of *Trichoderma satumisporum* in Melon (*Cucumis melo*). Hortscience, 53(6): 810-815.
- Gava, C.A.T. and Menezes, M.E.L. 2012. Efficiency of *Trichoderma* spp. Isolates on the Control of Soil-borne Pathogens Yellow Melon in Field Conditions. Rev. Ciênc. Agronômica, 43: 633-640.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. And Lorito, M., 2004. *Trichoderma* Species Opportunistic, Avirulent Plant Symbionts. Nat. Rev. Microbiol. 2: 34-56.
- Jain, A., Singh, A., Singh, S. and Singh, H.B. 2013. Microbial Consortium-induced Changes in Oxidative Stress Markers in Pea Plants Challenged with *Sclerotinia sclerotiorum*. Journal of Plant Growth Regulation, 32(2): 388-398.
- Karaca, İ. 1974. Sistematik Bitki Hastalıkları (Fungal Hastalıklar). Cilt IV, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir, 272 s.
- Keswani, C., Mishra, S. and Sarma, B.K. 2014. Unraveling the Efficient Application of Secondary Metabolites of Various *Trichoderma*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 98: 533-544.
- Korkom, Y. and Yıldız, A. 2020. Çilek Üretim Alanlarından İzole Edilen *Trichoderma* İzolatlarının Çilekte (cv. Rubygem) *Macrophomina phaseolina*'ya Karşı Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 17(1): 21-28.
- Kushwaha, C., Rani, N. and Bhagat, A.P. 2017. Nature, Dissemination and Epidemiological Consequences in Charcoal Rot Pathogen *Macrophomina phaseolina*. The Phytopathogen: Evol. Adaptation, Eds: Ghatak, A., and Ansar, M. Apple Academic Press, USA, 13: 978-1.
- Manici, L.M., Caputo, F. and Cerato, C. 1995. Temperature Responses of Isolates of *Macrophomina phaseolina* from Different Climatic Regions of Sunflower Production in Italy. Plant Disease, 79: 934-938.
- Martínez-Medina, A., Alguacil, M.D.M., Pascual, J.A. and Van Wees, S.C. 2014. Phytohormone Profiles Induced by *Trichoderma* Isolates Correspond with Their Biocontrol and Plant Growth-Promoting Activity on Melon Plants. Journal of chemical ecology, 40(7): 804-815.
- Martínez-Medina, A., Roldán, A., Albacete, A. and Pascual, J.A. 2011. The Interaction with Arbuscular Mycorrhizal Fungi or *Trichoderma harzianum* Alters the Shoot Hormonal Profile in Melon Plants. Phytochemistry, 72(2-3): 223-229.
- Mastouri, F., Björkman, T. and Harman, G.E. 2010. Seed Treatment with *Trichoderma harzianum* Alleviates Biotic, Abiotic, and Physiological Stresses in Germinating Seeds and Seedlings. Phytopathology, 100(11): 1213-1221.
- Nascimento, P.G., Ambrósio, M.M., Freitas, F.C., Cruz, B.L., Dantas, A.M., Júnior, R.S. and da Silva, W.L. 2018. Incidence of Root Rot of Muskmelon in Different Soil Management Practices. European Journal of Plant Pathology, 152(2): 433-446.
- Özbaşçe, A., Tarı, A.F., Yücel, S. and Okur, O. 2014. Kavunda Solgunluk ve Kök Çürüklüğü ile Mücadelede Kemigasyon. Bahçe, 43(1-2): 29-39.
- Özbay, N., Ergun, M. and Demirkıran, A.R. 2018. Ticari Mikrobiyal Gübre Sim Derma®(*Trichoderma harzianum*, Kuen 1585) Uygulamasının Ispanakta Çimlenme, Gelişme ve Verim Üzerine Etkisi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 5(4): 482-491.
- Shoresh, M., Yedidia, I. and Chet, I., 2005. Involvement of Jasmonic acid/Ethylene Signaling Pathway in the Systemic Resistance Induced in Cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. Biological Control, 95: 76-84.
- Singh, A., Shukla, N., Kabadwal, B.C., Tewari, A.K. and Kumar, J. 2018. Review on Plant-*Trichoderma*-Pathogen Interaction. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 7(2): 2382-2397.
- Sivritepe, H.Ö., Şentürk, B. and Teoman, S. 2015. Biber Tohumlarında Yapılan Organik Priming ve Kurutma Uygulamaları Fide Kalitesi ve Performansını İyileştirmektedir. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 29(2): 83- 94.
- Su, G., Suh, S.O., Schneider, R.W. and Russin, J.S. 2001. Host Specialization in the Charcoal Rot Fungus, *Macrophomina phaseolina*. Phytopathology, 91: 120-126.
- Tezcan, H. and Yıldız, M. 1993. Investigations on the Collapse of Melon Plants Caused by Soilborne Fungi in Turkey. Proceedings of the 6th International Congress of Plant Pathology, 28 July - 6 August 1993, Montreal, p. 143.
- Tüzel, Y. and Gül, A. 2008. Seracılıkta Yeni Gelişmeler. Ege Tarımsal Araş. Ens. Yayın, 133: 145-160.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Barbetti, M.J., Li, H., Woo, S.L. and Lorito, M. 2008. A Novel Role for *Trichoderma* Secondary Metabolites in the Interactions with Plants. Physiol. Mol. Plant Pathol. 72: 80-86.
- Yıldız, M., Yıldız, F., Kinay, P. and Şenyuz, G. 1994. The Role of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid in the Diseases of Vine Decline of Melon in Aegean Region of Turkey. In 9th Congress of The Mediterranean Phytopathological Union, September 18-24, 1994, Kuşadası-Aydın, Turkey, 171-173.

NOTICE TO CONTRIBUTORS

1. Papers offered for publication should be original contributions dealing with the mycology, bacteriology, virology, herbology and toxicology.
2. Manuscripts must be written in Turkish, English, German or French.
3. Papers accepted for the Journal of Turkish Phytopathology may not be published elsewhere, in any form or language.
4. In addition to research papers, the journal publishes also letters the editor, book reviews and short communications, which the author does not intend to publish in more detail at a later date.
5. Papers must have a short abstract which will be printed in the beginning, introduction, materials and methods, results and discussion, acknowledgement (if necessary) and literature cited.
6. All papers are reviewed by scientists qualified to judge the validity of the research. Acceptance or rejection, however, is the decision of the subject editor. Acceptance of paper is based solely on their scientific merit. A rejected manuscript is sent back to its author. Accepted manuscripts are published approximately in the order they are received.
7. No copyright paid to author.
8. All responsibility of published papers belongs to its author.

YAYIN İLKELERİ

1. Yayın için gönderilen araştırma makaleleri, Fitopatoloji anabilim dalında yer alan mikoloji, bakteriyoloji, viroloji, herboloji ve toksikoloji alanında orijinal çalışmalar olmalıdır.
2. Makaleler Türkçe, İngilizce, Almanca veya Fransızca yazılmalıdır.
3. The Journal of Turkish Phytopathology'de yayınlanması kabul edilen makaleler başka bir yerde, herhangi bir şekilde veya dilde yayınlanamaz.
4. Araştırma makalelerinin yanısıra, dergide editöre mektuplar, kitap tanıtımı ve kısa bildiriler yayınlanır.
5. Makaleler başlık, yazar adı, öz, giriş, materyal ve yöntem, bulgular ve tartışma, teşekkür (gerekli ise) ve literatür listesi bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmeli ve derginin yazım kurallarına göre hazırlanmış olmalıdır.
6. Tüm makaleler, redaksiyon kurulunca incelenir, Dernek Yönetim Kurulu tarafından değerlendirilir ve sonuç yazarına bir yazı ile iletilir. Kabul edilmeyen makaleler yazarına geri gönderilir. Makalelerin kabulü sadece onların bilimsel değerlerine bağlıdır. Yayınlanacak makaleler alındıkları sırayla yayınlanır. Redaksiyon kurulu Fitopatoloji anabilim dalındaki öğretim üyeleri ve Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsünde çalışan tüm uzman araştırmacılar tarafından oluşur.
7. Yazarlara telif ücreti ödenmez.
8. Yayınlanan yazıların tüm sorumluluğu yazı sahiplerine aittir.

<https://fitopatoloji.org.tr>

Email: dernek@fitopatoloji.org.tr

dergi@fitopatoloji.org.tr

turkiyefitopatolojidernegi@gmail.com

The Turkish Phytopathological Society. All rights reserved.