

**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİMDALI
2014-DR-005**

**ÇİLEK FİDELERİNDE TOPRAK KAYNAKLI FUNGAL
ETMENLERİN SAPTANMASI ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR**

Havva DİNLER

Tez Danışmanları:

Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU

Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU

AYDIN

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bitki Koruma Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Havva DİNLER tarafından hazırlanan ‘‘Çiçek Fidelerinde Toprak Kaynaklı Fungal Etmenlerin Saptanması Üzerinde Araştırmalar’’ başlıklı tez, 13/03/2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı,	Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan	Prof. Dr.	Seher BENLİOĞLU	ADÜ
Üye	Prof. Dr.	Kemal BENLİOĞLU	ADÜ
Üye	Prof. Dr.	Gülay TURHAN	EGE
Üye	Prof. Dr.	Pervin KINAY TEKSÜR	EGE
Üye	Doç. Dr.	Ayhan YILDIZ	ADÜ
Üye	Doç. Dr.	Ömer ERİNCİK	ADÜ

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Doktora Tezi, Enstitü Yönetim KurulununSayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN

Enstitü Müdürü

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

...../...../20...

Havva DİNLER

ÖZET

ÇİLEK FİDELERİNDE TOPRAK KAYNAKLI FUNGAL ETMENLERİN SAPTANMASI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Havva DİNLER

Doktora Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı
Tez Danışmanları: Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU
Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU
2014, 162 sayfa

Çalışma; Aydın İli'nde çilek fidelerinde bulunan fungal hastalık etmenlerini saptamak, bulunma oranlarını belirlemek, klasik ve moleküler yöntemlerle tanılamak ve çilek fidelerinde bulunma oranı en yüksek olan patojenlere karşı çeşit duyarlılıklarını belirlemek amacıyla ele alınmıştır. 2009-2010 ve 2010-2011 üretim sezonunda Sultanhisar ve Köşk ilçelerinden dikim öncesi toplam 2366 adet çilek fidesi alınmış, kök ve taçlarından izolasyonlar yapılmış ve toplam 1014 izolat elde edilmiştir. Stolonlarda yapılan patojenisite çalışmaları sonucunda 291 adet *Fusarium* spp., 153 *Rhizoctonia* spp., 4 *Macrophomina* sp., 9 *Cylindrocarpon* sp. izolatının patojen olduğu saptanmıştır. Her iki üretim sezonunda taçta ana patojenin *Fusarium* spp. (bulunma oranı ilk yıl % 2,1, ikinci yıl % 1,1) olduğu, *Rhizoctonia* spp.'nin taçtaki bulunma oranının ise her iki üretim sezonunda sırasıyla % 0,48 ve % 0,1 olduğu belirlenmiştir. Kökteki bulunma oranları açısından değerlendirildiğinde, *Fusarium* spp.'nin ilk yıl % 11,6, ikinci yıl % 4,8'lik bulunma oranıyla yine ana patojen olduğu dikkati çekmektedir. Köklerde *Rhizoctonia* spp. açısından her iki üretim sezonu için bulunma oranları sırasıyla % 8,96 ve % 4,8 olarak bulunmuştur. Patojenler morfolojik özellikleri esas alınarak klasik ve moleküler yöntemlerle tanılanmıştır. Translation Elongation Factor (TEF) 1 α genine ait baz dizilerinin BLAST analizi sonrası *Fusarium oxysporum*, *F.o. f.sp. fragariae*, *F. solani*, *F. arthrosporioides*, *F. verticilloides* ve *F. proliferatum*, *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. redolens* ve *F. lateritium* türleri saptanmıştır. *Rhizoctonia* izolatları çekirdek boyama yöntemi ile çok ve çift çekirdekli olarak belirlenmiş, moleküler analiz sonrası çift çekirdekli olarak belirlenenlerin % 47,5'i AG-G, % 18,6'sı AG-A ve % 1,7'si hem AG-A hem de AG-K'da, çok çekirdekli olanların ise % 1,7'si AG-4 anastomozis grubunda yer almıştır. Çilek fidelerinden ayrıca *Macrophomia phaseolina*, *Neonectria (Ilyonectria) macrodidyma* ve *Neonectria (Ilyonectria) radicularis* türleri saptanmıştır. *F. oxysporum* 'a karşı *in vitro* koşullarda stolonlarda yapılan çeşit reaksiyon çalışmalarında Fortuna, Rubygem, Camarosa ve Festival' in en duyarlı ve Sabrina'nın ise tolerant olduğu bulunmuştur. *Rhizoctonia* spp.'e karşı ise Fortuna ve Camarosa duyarlı olarak bulunurken, Sabrina, Rubygem ve Festival çeşitlerinin daha az duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Çilek, fide, *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*, *Rhizoctonia* spp., *Neonectria* spp.(*Ilyonectria* spp.), *Macrophomia phaseolina*.

ABSTRACT

STUDIES ON THE DETERMINATION OF SOIL-BORNE FUNGAL PATHOGENS IN STRAWBERRY SEEDLINGS

Havva DİNLER

Ph.D Thesis, Department of Plant Protection

Supervisors: Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU

Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU

2014, 162 pages

The study was conducted in order to determine the presence and incidence of fungal pathogens in strawberry seedlings of Aydın Province, to identify them by conventional and molecular methods, and to determine the sensitivity of some strawberry cultivars to the most important pathogens found in the seedlings. Isolations were made from the crown and root of totally 2366 strawberry seedlings before plantings in the strawberry growing areas of Sultanhisar and Köşk during 2009-2010 and 2010-2011 cropping season. A total of 1014 isolates were obtained. Pathogenicity tests made by on stolons indicated that 291 *Fusarium* spp., 153 *Rhizoctonia* spp., 4 *Macrophomina* sp., and 9 *Cylindrocarpon* sp. isolates were pathogenic. *Fusarium* spp was found to be the major pathogen of the crown (the incidence 2,1% in first year and 1,1% in second year) and the incidence of *Rhizoctonia* spp. in the crown was 0,48% and 0,1%, respectively in both production seasons. The incidence of *Fusarium* spp was also the highest rate in the roots of seedling with 11,6% and 4,6% while the incidence of *Rhizoctonia* spp was 8,96% and 4,8%, respectively in two growing season. Pathogens were identified based on morphological features in conventional and molecular techniques. As a results of BLAST analysis of Translation Elongation Factor (TEF) 1 α gene *Fusarium oxysporum*, , *F.o.* f.sp. *fragariae*, *F. solani*, *F. arthrosporioides*, *F. verticilloides* and *F. proliferatum*, *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. redolens* and *F. lateritium* were identified. *Rhizoctonia* isolates were also classified into two groups, multinucleate and binucleate by using nuclei staining technique. Molecular analysis indicated that the 47,5% of binucleates belonged to AG-G, 18,6% to AG-A, 1,7% to both AG-A and AG-K, multinucleates belonged to 1,7% AG-4 anastomosis groups. *Macrophomia phaseolina* ve *Neonectria (Ilyonectria) macrodidyma* and *Neonectria (Ilyonectria) raditicola* were also determined from strawberry seedlings. In cultivar reaction studies performed *in vitro* on stolons showed that Fortuna, Rubygem, Camarosa and Festival were the most sensitive cultivars to *F. oxysporum* while Sabrina was tolerant. Fortuna and Camarosa were found to be more sensitive to *Rhizoctonia* spp., the cultivars of Sabrina, Rubygem and Festival were determined to be less sensitive.

Keywords: Strawberry, seedling, *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*, *Rhizoctonia* spp., *Neonectria* spp. (*Ilyonectria* spp.), *Macrophomia phaseolina*.

ÖNSÖZ

Aydın ili çilek dikim alanlarında on yıldır solarizasyon uygulanmasına ve 8 Temmuz 2010 tarih ve 27635 sayılı Resmi Gazete ile yürürlüğe giren “Çilek Fidesi Üretimi, Sertifikasyonu ve Pazarlaması Yönetmeliği” ne rağmen fide dikiminden bir süre sonra bitkilerde ölüm görülmekte ve bu alanlarda fide dikimleri tekrarlanmaktadır. Bu durum temiz fidenin önemini daha iyi ortaya koymaktadır. Bu çalışma, Aydın İli’nde dikilecek çilek fidelerinde (frigo fide, yeşil fide ve kol fidesi) bulunan hastalık etmenlerini tespit etmek, klasik ve moleküler yöntemler yardımı ile tanılamak, bulunma oranlarını belirlemek ve çilek fidelerinde bulunma oranı en yüksek olan fungal patojenlere karşı saksı koşullarda çeşitlerin duyarlılığını tespit etmek amacıyla ele alınmıştır.

Çalışma TÜBİTAK, TOVAG-110R009 no’lu projenin bir bölümünü oluşturmaktadır. Çalışma Adnan Menderes Üniversitesi (ADÜ), Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji laboratuvarı ve iklim odası ile ADÜ, Merkez Araştırma Laboratuvarı kullanılarak yürütülmüştür. Daha sonra ise çalışmalarım sırasında Uşak Üniversitesi Sivaslı Meslek Yüksekokulu’nda kurulan laboratuvar ve iklim odası olanakları kullanılmıştır. Çalışmada, çalışmanın materyalini oluşturan çilek fideleri Aydın ili Sultanhisar ve Köşk ilçelerinde ticari çilek üretimi yapan üreticilerden sağlanmıştır.

Çalışmalarım sırasında her türlü yardımı esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU ve Sayın Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU başta olmak üzere, Tez İzleme Komitesi toplantılarında katkılarını ve görüşlerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Gülay TURHAN (Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü)’a ve Sayın Doç. Dr. Ayhan YILDIZ (ADÜ, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Aydın)’a, moleküler çalışmalarım sırasında emeği geçen Sayın Dr. Ümit ÖZYILMAZ’ a teşekkürlerimi bir borç bilirim. Arazi çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen ÖZÇİL Ltd. şirketi sahipleri Nihat ÖZYİĞİT ve Zir. Müh. Vezin AKÇAY ve değerli çalışanlarına teşekkür ederim. Gösterdikleri anlayıştan dolayı Uşak Üniversitesi Rektörlüğü’ ne ve Uşak Üniversitesi Sivaslı Meslek Yüksekokulu Müdürü Sayın Doç. Dr. Şener TARLA’ ya teşekkür ederim. Maddi ve manevi her türlü desteği ve sabrı gösteren canım aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Havva DİNLER

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxiii
EKLER DİZİNİ.....	xxvii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	15
2.1. Ülkemizde Yapılan Çalışmalar.....	15
2.2. Dünyada Yapılan Çalışmalar.....	19
2.2.1. Hastalık Etmenlerinin Saptanması ve Tanılanması ile İlgili Çalışmalar.....	19
2.2.2. Hastalık Etmenlerinin Mücadelesi ile İlgili Çalışmalar.....	27
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	31
3.1. Materyal.....	31
3.2. Yöntem.....	31
3.2.1. Çilek Fidelerinden İzolasyon Çalışmaları.....	31
3.2.2. Çilek Fidelerindeki Fungusların Bulunma Oranının Belirlenmesi.....	33
3.2.3. Patojenisite Çalışmaları.....	33
3.2.4. Tanılama Çalışmaları.....	38
3.2.5. Çeşit Reaksiyon Çalışmaları.....	43
3.2.6. İstatistiki Analizler.....	45
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	46
4.1. Çilek Fidelerinden İzolasyon Çalışmaları.....	46
4.2. Patojenisite Çalışmaları.....	53
4.2.1. Stolonlarda Patojenisite Çalışması ve Etmenlerin Bulunma Oranları.....	53
4.3. Tek Spor İzolasyonu.....	79
4.4. Tanılama Çalışmaları.....	80
4.4.1. Klasik Tanılama.....	80
4.4.2. PCR'la Tanılama.....	90
4.5. Çeşit Reaksiyon Çalışmaları.....	135
5. SONUÇ.....	143
KAYNAKLAR.....	147

EKLER.....	159
ÖZGEÇMİŞ.....	161

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

A	Adenin
AG	Anastomozis Grubu
bn	binucleate
bp	baz çifti (base pare)
C	Sitozin
°C	derece santigrad
CLA	Carnation Leaf Agar
cm	santimetre
DAPI	Diamino-2-phenilindole
da	dekar
DMDS	Dimethyl disulphide
DNA	deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotidtrifosfat
dk	dakika
EDTA	Etilen Daimin Tetra Asetik Asit
ef1F	Elongation factor 1
ef2R	Elongation factor 2
FAO	Food and Agricultural Organization
f. sp.	Formae speciales
g	gram (ağırlık)
G	Guanin
ha	hektar
IGS	Intergenic Spacer
ITS	Internal Transcribed Spacer
kg	kilogram (ağırlık)
l	litre
m	metre
m ²	metrekare
M	molar
MeBr	metil bromür
mg	miligram (1/100 gr)
ml	mililitre
mm	milimetre
mn	multinucleate
mM	milimolar
µg	mikrogram (1/1000 mg)
µl	mikrolitre
µm	mikrometre
N	normal
nm	nanometre
nM	nanomolar
PCR	polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction)
PDA	patates dekstroz agar

PDB	Patates Dekstrozo Broth
pH	hidrojen iyonu konsantrasyonu
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	Ribo Nükleik Asit
rDNA	Ribozomal DNA
rpm	dakikadaki devir sayısı (rotation per minute)
SA	Su Agar
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
sp.	türleri
T	Timin
Taq	Termo Stabil Polimeraz Enzimi
TBE	tris-borate-EDTA
TE	Tris-EDTA
TEF	Translation Elongation Factor
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
t	ton
UV	ultraviolet
VCG	Vejetatif Uyum Grubu (Vegetative Compability Group)
VIF	Gaz Geçirmez Film (virtually impermeable film)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Sağlıklı bitkilerin yetiştirilmesi için harç hazırlığı (a) ve stolonların dikimi (b,c,d).....	34
Şekil 3.2. <i>Rhizoctonia</i> spp.'nin inokulum hazırlığı (a,b,c) ve inokulum verilmiş saksılara bitkinin şaşırtılması (d) Stolonlarda Patojenisite Çalışması.....	35
Şekil 3.3. <i>Fusarium</i> spp.'nin Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisite denemesi (a,b,c: infekteli; k: kontrol).....	37
Şekil 3.4. <i>Cylindrocarpon</i> spp.'nin Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisite denemesi (a,b,c: infekteli; k: kontrol).....	37
Şekil 3.5. Patojen <i>Fusarium oxysporum</i> 'un inokulum hazırlığı (a,b,c),çilek fidelerinin (d), domates (e)ve hıyar (f) bitkilerinin spor süspansiyonuna daldırılması	40
Şekil 3.6. Çeşit reaksiyonu için çilek fidelerinin yetiştirilmesi ve inokulum hazırlığı (<i>Rhizoctonia</i> spp.)(a: Kökü traşlanmış fide, b: Saksıya dikimi yapılmış fide, c: İnokulum verilmiş harç, d: İnokulumun karıştırılması)	44
Şekil 3.7. Fortuna çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu denemesi (a: İnokulum verilen stolonlar, b: kontrol)	44
Şekil 4.1. <i>Rhizoctonia</i> spp. izolatlarının Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisitesi.	56
Şekil 4.2. <i>Fusarium</i> spp. izolatının Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisitesi (a,b,c: infekteli; k: kontrol)	64
Şekil 4.3. <i>Cylindrocarpon</i> spp.'nin Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisitesi (a,b,c: infekteli; k: kontrol)	77
Şekil 4.4. <i>Macrophomina</i> spp.'nin Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisitesi (a,b,c: infekteli; k: kontrol)	77
Şekil 4.5. <i>Fusarium oxysporum</i> izolatlarının flouresan mikroskopta 40x objectif altında makro ve mikrokonidilerinin görünüşleri (a, b)	81
Şekil 4.6. İnokulasyondan 4 hafta sonra 21C/16Fs no'lu <i>Fusarium oxysporum</i> izolatının domates (a), hıyar (b) ve çilek (c,d) bitkilerindeki hastalık belirtileri.....	82
Şekil 4.7. Çift çekirdekli (binucleat) <i>Rhizoctonia</i> spp. izolatının flouresan mikroskopta 100x büyütmedeki görüntüsü.....	85
Şekil 4.8. Çok çekirdekli (multinucleat) <i>Rhizoctonia</i> spp. izolatının flouresan mikroskopta 100x büyütmedeki görüntüsü.....	85

Şekil 4.9. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-10/6KFs, 3-14/12KFs, 4-12/36KFs, 5-19/2-12KFs, 6-13/81KFs, 7-16/15KFs, 8-1/87KFs, 9-3Y/28KFs, 10-1/13KFs, 11-4/57KFs, 12-17/13KFs, 13-4/5TFs, 14-11/18KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-1/55KFs, 3-18/7KFs, 4-1/75KFs, 5-13/21KFs, 6-4/44KFs, 7-15/11TFs, 8-1/42KFs, 9-3/28KFs, 10-19/2-26KFs, 11-10/6KFs, 12-18/10KFs, 13-su) 96

Şekil 4.10. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-4/19TFs, 3-4/41TFs, 4-4/47KFs, 5-1/43KFs, 6-13/15KFs, 7-6S/14KFs, 8-16/10KFs, 9-14/12KFs, 10-19/2-14KFs, 11-16/7TFs, 12-16/8KFs, 13-8/28TFs, 14-12/4KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-4/52KFs, 3-2/55KFs, 4-15/8KFs, 5-12/6KFs, 6-1/38KFs, 7-8/7KFs, 8-17/17KFs, 9-11/15KFs, 10-12/14KFs, 11-13/4TFs, 12-17/22KFs) 97

Şekil 4.11. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-16/4KFs, 3-16/14KFs, 4-11/6KFs, 5-8/15KFs, 6-4/51TFs, 7- 2/55KFs, 8-17/18KFs, 9-17/16KFs, 10-13/29KFs, 11-13/82KFs, 12-4/11KFs, 13-4/43TFs, 14-4/22KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-4/42KFs, 3-4/26KFs, 4-4/52TFs, 5-3/60KFs, 6-3/31KFs, 7-12/13KFs, 8-12/17KFs, 9-10/9KFs, 10-10/20KFs, 11-10/19KFs, 12-18/12KFs) 98

Şekil 4.12. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-19/2-10KFs, 3-12/10KFs, 4-18/2KFs, 5-28R/22KFs, 6-1F/83KFs, 7-2C/16KFs, 8-16C/10TFs, 9-16C/7KFs, 10-25R/6KFs, 11-2F/124KFs, 12-4C/69TFs, 13-4F/7TFs, 14-4C/47KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-20C/26KFs, 3-23C/18TFs, 4-23C/25KFs, 5-2C/29TFs, 6-8C/3KFs, 7-20C/32KFs, 8-6F/50KFs, 9-6F/49KFs, 10-21C/16KFs, 11-6R/143TFs, 12-19C/18KFs) 99

Şekil 4.13. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile

boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-18/10KFs, 3-1/75KFs, 4-3/28KFs, 5-20C/26KFs, 6-23C/8KFs, 7-20C/17KFs, 8-19C/42KFs, 9-8C/24KFs, 10-6R/149TFs, 11-14F/12KFs, 12-23C/20TFs, 13-19C/53KFs, 14-23C/3KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-20C/32KFs, 3-4C/64TFs, 4-23C/12KFs, 5-16C/10TFs, 6-2C/10TFs, 7-6R/148TFs, 8-19/2-/48KFs, 9-4C/50KFs, 10-4C/65KFs, 11-8C/6KFs, 12-22C/9KFs, 13-su).....100

Şekil 4.14. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-17/15TFs, 3-19C/61KFs, 4-20C/54KFs, 5-23C/26KFs, 6-23C/2KFs, 7-2C/42TFs, 8-19/2-14KFs, 9-11/8KFs, 10-13/6KFs, 11-4/1KFs, 12-10/15KFs, 13-2/69KFs, 14-4/50KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-3F/128KFs, 3-12/39KFs, 4-13/15KFs, 5-18/6KFs, 6-4/51KFs, 7-16/10KFs, 8-2/55KFs, 9-3Y/40KFs, 10-19/2-14KFs, 11-19/2-44KFs, 12-11/15KFs, 13-su).....101

Şekil 4.15. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-3F/129KFs, 3-11/10KFs, 4-17/16TFs, 5-19/2-36KFs, 6-13/74Fs, 7-19/2-25KFs, 8-10/23KFs, 9-8/5KFs, 10-19/2-47KFs, 11-3/31KFs, 12-4/59KFs, 13-14/20TFs, 14-19C/3TFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-3Y/28KFs, 3-2C/21KFs, 4-20C/17KFs, 5-22C/21KFs, 6-8C/30KFs, 7-2C/61KFs, 8-2C/65KFs, 9-1C/50KFs, 10-4F/15TFs, 11-1/84KFs, 12-10/19KFs, 13-su).....102

Şekil 4.16. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-1F/76KFs, 3-16/10KFs, 4-23C/16KFs, 5-20C/26KFs, 6-4C/59KFs, 7-3/31KFs, 8-23C/3TFs, 9-22C/17TFs, 10-2C/6KFs, 11-16C/22KFs, 12-2C/10TFs, 13-12/13KFs, 14-19C/42KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-18/2KFs, 3-4C/47KFs, 4-10C/4KFs, 5-3Y/40KFs, 6-23C/2KFs, 7-19/2-29KFs, 8-11/15KFs, 9-24R/13KFs, 10-6R/139TFs, 11-4C/52KFs, 12-20/32KFs, 13-su).....103

Şekil 4.17. ITS1/ITS4 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü (1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-17C/33KCylnd., 3-21C/5KCylnd., 4-17C/52KCylnd., 5-17C/27KCylnd., 6-6S/3KCylnd., 7-17C/55KCylnd., 8-17C/37KCylnd., 9-16C/19KCylnd., 10-21C/21KCylnd., 11-21C/19KMP, 12-4/53KMP, 13-2C/75KMP)..... 104

Şekil 4.18. Üstte ve altta ITS1/ITS4 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-26R/13KRh, 3-1C/26KRh, 4-16C/25KRh, 5-4C/68KRh, 6-21C/7KRh, 7-20C/19KRh, 8-22C/5KRh, 9-3C/30KRh, 10-20C/14KRh, 11-22C/23KRh, 12-20C/31KRh, 13-22C/20KRh, 14-16C/41KRh. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-16C/43KRh, 3-16C/23KRh, 4-20C/28KRh, 5-15/14KRh, 6-17/27KRh, 7-3/56KRh, 8-3/40KRh, 9-15/9KRh, 10-3/70KRh, 11-3Y/13KRh, 12-13/38KRh-2)..... 104

Şekil 4.19. Üstte ve altta ITS1/ITS4 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-17/13KRh, 3-16/8KRh, 4-4/4KRh, 5-14/11KRh, 6-4/61KRh, 7-17/12KRh, 8-5/1KRh, 9-17/9KRh, 10-14/18KRh, 11-15/12TRh, 12-14/17KRh, 13-3Y/26KRh, 14- 3/52KRh. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-13/18KRh, 3-3/48KRh, 4-6F/12KRh, 5-2/70KRh, 6-14/7KRh, 7-1/14KRh, 8-13/53KRh, 9-3/32KRh, 10-3/39KRh, 11-3/20KRh, 12-10/12KRh)..... 105

Şekil 4.20. Üstte ve altta ITS1/ITS4 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromur ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-12/17KRh, 3-3/66KRh, 4-13/3KRh, 5-4/25KRh, 6-13/8KRh, 7-3/81KRh, 8-14/3KRh, 9-17/26KRh, 10-14/4KRh, 11-1C/22KRh, 12-21C/6KRh, 13-1C/17KRh, 14- 16C/17KRh. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-23/13KRh, 3-17C/42KRh, 4-12/31KRh, 5-11C/27TRh, 6-22C/14TRh, 7-13/79KRh, 8-3F/133KRh, 9-3F/134KRh, 10-1F/83KRh, 11-1C/28KRh, 12-3F/111KRh) 106

Şekil 4.21. 2009-2011'i kapsayan iki üretim sezonunda çilek fidelerinden izole edilen toplam 70 *Rhizoctonia* izolatının rDNA-ITS baz dizilerinin çoklu dizi hizalaması (multiple alignment) sonrası elde edilen (neighbour joining

- tree) filogenetik ağaç. Farklılıklar Kimura 2 Parametre Modeli (2PM) olarak belirlenmiş ve filogenetik ağacın güvenilirliği seç bağla testi (bootstrap) yöntemi ile 500 tekrarlı olarak hesaplanmış eşik değer %50 alınarak ağaç üzerindeki dallar üzerinde gösterilmiştir.....126
- Şekil 4.22. Sabrosa çilek çeşidinin *Rhizoctonia* spp.'ye karşı reaksiyonu (a: inokulum verilen bitkiler; b: kontrol bitkileri).....135
- Şekil 4.23. Sabrina çilek çeşidinin *Rhizoctonia* spp.'ye karşı reaksiyonu (a: inokulum verilen bitkiler; b: kontrol bitkileri).....135
- Şekil 4.24. Festival çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu (a,b, *Rhizoctonia* spp., c: *Fusarium oxysporum* , d: kontrol).....136
- Şekil 4.25. Sabrina çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu (a,b, *Rhizoctonia* spp., c: *Fusarium oxysporum*, d: kontrol).....137
- Şekil 4.26. Fortuna çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu (a,b, *Rhizoctonia* spp. c, d: *Fusarium oxysporum*, kontrol).....137
- Şekil 4.27. Rubygem çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu (a,b, *Rhizoctonia* spp., c: *Fusarium oxysporum*, d: kontrol).....138
- Şekil 4.28. Camarosa çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu (a,b, *Rhizoctonia* spp., c: *Fusarium oxysporum*, d: kontrol).....138

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünya’da başlıca çilek yetiştiren ülkelerin 2007-2011 yılları arasındaki üretim alanları (Anonim, 2013a)	3
Çizelge 1.2. Dünya’da başlıca çilek yetiştiren ülkelerin 2007-2011 yılları arasındaki üretim miktarları (Anonim, 2013a).....	4
Çizelge 1.3. Aydın İli, Ege Bölgesi ve Türkiye’de 2008-2012 yıllarına ait çilek üretim alanı ve üretim miktarları (Anonim, 2013b).....	5
Çizelge 1.4. Aydın İli ilçelerine ait 2007-2012 yılları arasındaki çilek üretim alanı, üretim miktarı ve verim değerleri	6
Çizelge 4.1. 2009-2010 yılına ait çilek fide örneklerinin orijini, çeşidi, dikim alanı, incelenen ve izolasyonu yapılan fide sayısı	47
Çizelge 4.2. 2010-2011 yılına ait çilek fide örneklerinin orijini, çeşidi, dikim alanı, incelenen ve izolasyonu yapılan fide sayısı	48
Çizelge 4.3. 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen funguslar, elde edilen izolat sayıları ve izolasyon sıklığı (%).....	52
Çizelge 4.4. 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen <i>Rhizoctonia</i> spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm)	54
Çizelge 4.5. 2009-2010 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri esas alınarak elde edilen, patojen <i>Rhizoctonia</i> spp. izolat sayıları ve patojen izolatların bulunma oranı	58
Çizelge 4.6. 2009-2010 çilek üretim sezonuna ait fidelerin çeşit, fide orijini ve fide boyuna göre patojen <i>Rhizoctonia</i> spp. açısından bulaşıklık durumu	59
Çizelge 4.7. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri esas alınarak elde edilen, patojen <i>Rhizoctonia</i> spp. izolat sayıları ve patojen izolatların bulunma oranı	61
Çizelge 4.8. 2010-2011 çilek üretim sezonuna ait fidelerin çeşit, fide orijini ve fide boyuna göre patojen <i>Rhizoctonia</i> spp. açısından bulaşıklık durumu	63
Çizelge 4.9. 2009-2010 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen <i>Fusarium</i> spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm).....	65
Çizelge 4.10. 2009-2010 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri esas alınarak elde edilen, patojen <i>Fusarium</i> spp. izolat sayıları ve patojen izolatların bulunma oranı	67

- Çizelge 4.11. 2009-2010 çilek üretim sezonuna ait fidelerin çeşit, fide orijini ve fide boyuna göre patojen *Fusarium* spp. açısından bulaşıklık durumu..... 68
- Çizelge 4.12. 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm)..... 70
- Çizelge 4.13. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri esas alınarak elde edilen, patojen *Fusarium* spp. izolat sayıları ve patojen izolatların bulunma oranı..... 73
- Çizelge 4.14. 2010-2011 çilek üretim sezonuna ait fidelerin çeşit, fide orijini ve fide boyuna göre patojen *Fusarium* spp. açısından bulaşıklık durumu..... 75
- Çizelge 4.15. 2009- 2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen *Macrophomina phaseolina* ve *Cylindrocarpon* spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm)..... 76
- Çizelge 4.16. 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonuna ait patojen *Fusarium* izolatlarının türleri, bu türlerin yıllara göre dağılımı ve mikroskopik özellikleri 83
- Çizelge 4.17. 2009-2010 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolat sayıları ile patojen izolatların çekirdek sayıları..... 86
- Çizelge 4.18. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolat sayıları ile patojen izolatların çekirdek sayıları..... 87
- Çizelge 4.19. 2009-2010 çilek üretim sezonu DNA ekstraksiyonu yapılan *Fusarium* spp. izolatlarının Picodrop da 260 nm de saptanan DNA miktarları..... 91
- Çizelge 4.20. 2010-2011 çilek üretim sezonu DNA ekstraksiyonu yapılan *Fusarium* spp. izolatlarının Picodrop da 260 nm de saptanan DNA miktarları..... 92
- Çizelge 4.21. 2009-2010 çilek üretim sezonu DNA ekstraksiyonu yapılan *Rhizoctonia* spp. izolatlarının Picodrop da 260 nm de saptanan DNA miktarları..... 93
- Çizelge 4.22. 2010-2011 çilek üretim sezonu DNA ekstraksiyonu yapılan *Rhizoctonia* spp. izolatlarının Picodrop da 260 nm de saptanan DNA miktarları..... 94
- Çizelge 4.23. 2009-2011 çilek üretim sezonlarında DNA ekstraksiyonu yapılan *Cylindrocarpon* sp. ve *Macrophomina phaseolina* izolatlarının Picodrop da 260 nm de saptanan DNA miktarları..... 94

- Çizelge 4.24. 2009-2010 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 83 *Fusarium* sp. izolatının Translation Elongation Factor (TEF-1) α genine özgü EF1-EF2-2 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları 108
- Çizelge 4.25. 2010-2011 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 86 *Fusarium* sp. izolatının Translation Elongation Factor (TEF-1) α genine özgü EF-1/EF-2 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları 110
- Çizelge 4.26. 2009-2010 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolat sayıları ve Blast analiz sonuçları..... 112
- Çizelge 4.27. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolat sayıları ve Blast Analiz Sonuçları..... 113
- Çizelge 4.28. 2009-2010 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 43 *Rhizoctonia* sp. izolatının evrensel ITS1/ITS4 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları 118
- Çizelge 4.29. 2010-2011 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 29 *Rhizoctonia* sp. izolatının evrensel ITS1/ITS4 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları 121
- Çizelge 4.30. 2009-2010 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Rhizoctonia* sp. izolat sayıları ve Blast analiz sonuçları..... 123
- Çizelge 4.31. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolat sayıları ve Blast analiz sonuçları... 125
- Çizelge 4.32. 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 9 *Cylindrocarpon* sp. ve 3 *Macrophomina phaseolina* izolatının evrensel ITS1/ITS4 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları..... 132
- Çizelge 4.33. Bazı çilek çeşitlerinin *Fusarium oxysporum*'a karşı reaksiyonları. 140
- Çizelge 4.34. Bazı çilek çeşitlerinin iki farklı *Rhizoctonia* spp. izolatına (6F/10K bn, AG-G ve 23C/14K mn) karşı reaksiyonları 140

EKLER DİZİNİ

- Ek 4.1. Bazı çilek çeşitlerinin *Fusarium oxysporum*'a karşı reaksiyonları varyans analiz tablosu.....159
- Ek 4.2. Bazı çilek çeşitlerinin iki farklı *Rhizoctonia* spp. izolatına (6F/10K bn, AG-G ve 23C/14K mn) karşı reaksiyonları varyans analiz tablosu 1 ve 2.....159

1.GİRİŞ

Kendine özgü aroması ve zengin vitamin içeriği nedeniyle üzüksü meyveler içerisinde en önemli yeri tutan çilek (*Fragaria x ananassa* Duch.), Rosales takımı, Rosaceae familyası ve *Fragaria* cinsine ait türlerden biridir (Hancock, 1990). Çok yıllık ve herdem yeşil bir bitki olan çileğin anavatanı Kuzey ve Güney Amerika'dır. Çilek tarımı Kuzey Yarımküre'nin ılıman bölgeleriyle birlikte, Güney Yarımküre'de yaygın olarak yapılmaktadır. ABD, Avrupa, Güney ve Doğu Afrika ülkeleri, Yeni Zelanda, Avustralya ve Japonya en çok çilek yetiştiren ülkelerdir. Avrupa'da M.S. 1300 yıllarında başlayan çilek tarımı Türkiye'de modern anlamda 1970'li yıllarda başlamıştır (Anonim, 2009). Çilek deniz seviyesinden 3255 m yükseklikte, soğuk yörelerde, subtropik bölgelerde, sulanabilen çöllerde, yaz aylarında gece gündüz aydınlık olan Arktik bölgelerde, Ekvator'da yani çok değişik ekolojik koşullarda doğal olarak yetişebilmektedir (Aybak, 2005). Optimum sıcaklık isteği gündüz 18-22°C, gece 10-13°C olan çilek, süzek, kumlu tınlı, hafif, organik maddece ve humusca yeterli, besin maddelerince zengin, hafif asit (pH 6,0-6,5), suda ve toprakta klor ve sodyumdan kaynaklanan tuzluluğun az olduğu alanlarda yetişebilmektedir (Maas, 1998; Hancock, 1999).

Çilek yetiştiriciliği bilhassa küçük ve orta büyüklükteki işletmeler için önemli olup, bu meyve yatırımların kısa zamanda geriye dönmesi nedeniyle küçük aile işletmeciliğine de uygundur. Pazarda taze meyvenin az olduğu dönemde olgunlaşması nedeniyle iyi bir pazar avantajına sahiptir. Birim alandan elde edilen gelir öteki ürünlere göre daha yüksektir. Çilek, vitamin ve mineral maddece zengin olması, taze tüketilmesinin yanısıra, reçel, marmelat, dondurma, pasta ve likör yapımında kullanılması, meyve suyu elde edilmesi nedeniyle gün geçtikçe aranan bir meyve olmuştur. Ayrıca C vitamini bakımından zengin olan bu meyve türünde bulunan ellajik asit, kanser önleyici özelliğe sahiptir. Çilek meyveleri önemli miktarda salisilik asit, A ve B vitaminleri, kalsiyum, demir, fosfor gibi mineral maddeler ve çok az miktarda brom, silisyum, iyot ve kükürt de içermektedir (Paydaş, 1998; Aybak, 2005; Anonim, 2009).

Zengin tür çeşitliliğine sahip olan çileğin dünyada yirmiden fazla türü bulunmaktadır. Dünyada yaygın olarak yetiştirilen en önemli çilek çeşitleri *Fragaria X ananassa* Duch. türünden orijinlenmektedir. Genelde ılıman iklim bölgelerinde, soğuk olan daha kuzey bölgelerde, hatta Sibiryaya gibi bölgelerde ve Ekvator'da yabani çilek türleri belirlenmiştir. Bu kadar geniş coğrafik ve ekolojik

koşullar altında yetişme imkanı bulan çilek, aynı zamanda, farklı ekolojik koşullara adapte olabilme yeteneğini de ortaya koymaktadır. Bu durum, ıslah çalışmaları ile her ekolojik koşula uygun çilek çeşitlerinin elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Bölgelere göre değişmekle birlikte dünyada adlandırılmış 20'den fazla çilek çeşidi vardır. Festival, Sweetcharlie, Rubygem, Camarosa, Cal-Giant-3, Fortuna, Seyhun, Ceyhun, Kabarla, Fern, Redlans Hope, Winterdawn, FL-117, Elyana gibi çilek çeşitleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Anonim, 2009).

Dünya'da 2008-2012 yılları arasındaki çilek üretim alanları, çilek yetiştiriciliği açısından önemli başlıca ülkeler ve bu ülkelerin dünya çilek üretim alanlarındaki payları Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Dünya’da başlıca çilek yetiştiren ülkelerin 2008-2012 yılları arasındaki üretim alanları (Anonim, 2013a)

Ülkeler	Üretim Alanı (da)				
	2008	2009	2010	2011	2012*
ABD	220.400	235.000	230.600	232.600	231.830 (9,6)
İspanya	85.500	71.000	70.000	68.570	76.000 (3,2)
Türkiye	112.790	121.500	116.790	119.670	127.930 (5,3)
Rusya	230.000	260.000	260.000	270.000	270.000 (11,2)
Kore	63.940	63.240	70.490	58.160	64.360 (2,7)
Japonya	68.000	63.600	60.000	60.740	60.000 (2,5)
Polonya	541.600	535.510	371.220	505.220	468.130 (19,4)
Almanya	130.320	129.780	136.440	138.480	150.040 (6,2)
Sırbistan	79.230	79.160	76.030	74.250	70.710 (2,9)
Meksika	61.760	66.780	62.820	69.780	86.640 (3,6)
DÜNYA	2.484.260	2.461.993	2.280.742	2.442.831	2.411.092

* Parantez içindeki değerler ülkelerin dünya üretim alanlarındaki % payını göstermektedir.

Dünya çilek üretim alanları FAO verilerine göre 2008 yılında 2.484.260 da iken 2012 yılında 2.411.092 da’a düşmüştür. 2012 yılı verilerine göre, çilek üretim alanları açısından Polonya % 19,4’ lük pay ile birinci sırada yer alırken, Rusya % 11,2 ile ikinci, ABD üçüncü (% 9,6), Almanya dördüncü (% 6,2) ve Türkiye ise beşinci (% 5,3) sırada yer almaktadır (Çizelge 1.1). Dünya çilek üretim alanlarında son yıllarda bir düşüş olmasına rağmen çilek üretimi artış göstermiştir. Nitekim dünya çilek üretimi 2008 yılında 4.131.227 t iken, 2012 yılında yaklaşık %9’luk artışla 4.516.810 t’a ulaşmıştır. ABD, dünya çilek üretiminde % 30,3’lük pay ile birinci sırada yer alırken, Türkiye % 7,8 ile ikinci, İspanya ise üçüncü sırada (% 6,4) yer almaktadır (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2. Dünya’da başlıca çilek yetiştiren ülkelerin 2008-2012 yılları arasındaki üretim miktarları (Anonim, 2013a)

Ülkeler	Üretim Miktarı (ton)				
	2008	2009	2010	2011	2012*
ABD	1.148.530	1.270.640	1.294.180	1.312.960	1.366.850 (30,3)
İspanya	263.900	263.700	275.300	262.730	289.900 (6,4)
Türkiye	261.078	291.996	299.940	302.416	353.173 (7,8)
Rusya	145.000	185.000	165.000	184.000	174.000 (3,9)
Kore	203.227	203.772	231.803	171.519	192.140 (4,3)
Japonya	193.000	184.700	177.500	177.300	185.000 (4,1)
Polonya	200.723	198.907	153.410	166.159	150.151 (3,3)
Almanya	150.854	158.563	156.911	154.418	155.828 (3,5)
Sırbistan	37.924	35.799	32.923	36.161	26.507 (0,6)
Meksika	207.485	233.041	226.657	228.900	360.426 (7,9)
DÜNYA	4.131.227	4.587.126	4.349.498	4.594.540	4.516.810

* Parantez içindeki değerler ülkelerin dünya üretimindeki % payını göstermektedir.

Ülkemizdeki çilek üretim miktarının giderek artmasının özellikle örtüaltı yetiştiriciliğinin yaygınlaşması, bazı modern yetiştirme tekniklerinin kullanılması ve birim alandan alınan verimin yüksek olması nedeniyle olduğu bilinmektedir. Nitekim ülkemizin 2009-2013 yıllarına ait çilek üretim alanları incelendiğinde, üretim alanlarımızın 2013 yılında, 2009 yılına göre yaklaşık % 12’lik artışla 135.494 da’a, üretim miktarının ise % 28’lik artışla 372.498 t’a yükseldiği görülmektedir (Çizelge 1.3).

2012 yılı verilerine göre, Ege Bölgesi çilek üretim alanı, ülkemiz çilek üretim alanlarının yaklaşık %17,8’ini, çilek üretiminin ise yaklaşık %20,3’ünü oluşturmaktadır. Aydın İli ise Ege Bölgesi çilek üretiminin % 64,8’ini oluşturarak Ege Bölgesi’nde birinci sırada yer almaktadır (Çizelge 1.3). Aydın İli’nin 2009-2012 yıllarına ait çilek üretim alanları incelendiğinde, 2012 yılında üretim alanının 2009 yılına göre % 69 artışla 12.644 da, üretim miktarının ise % 75,4 artışla 46.757 t’a ulaştığı görülmektedir (Anonim, 2013b). Aydın İli ilçelerine ait 2012 yılı çilek üretim alanları ve üretim miktarları incelendiğinde, Sultanhisar ilçesinin 8.200 da çilek ekim alanı ve 27.486 t üretim miktarı ile Aydın İli’nde çileğin merkezi konumunda olduğu görülmektedir. Ayrıca son yıllarda çilek üretiminin Köşk ilçesinde de giderek yaygınlaştığı ve ekim alanı açısından Aydın’ın ikinci önemli ilçesi olduğu bilinmektedir. 2012 yılı itibariyle ilçelerin Aydın İli çilek üretimindeki payı ele alındığında, Sultanhisar İlçesi yaklaşık % 58,8 ile Aydın İli’

nde ilk sırada yer alırken bunu % 24,6 ile Köşk İlçesi'nin izlediği görülmektedir (Çizelge 1.4).

Çizelge 1.3. Aydın İli, Ege Bölgesi ve Türkiye’de 2009-2012 yıllarına ait çilek üretim alanı ve üretim miktarları (Anonim, 2013b)

Yer	Aydın		Ege		Türkiye	
	Üretim Alanı (da)	Üretim Miktarı (ton)	Üretim Alanı (da)	Üretim Miktarı (ton)	Üretim Alanı (da)	Üretim Miktarı (ton)
2009	7.472	26.660	16.223	49.417	121.500	291.996
2010	8.347	30.070	17.290	56.527	116.792	299.940
2011	8.732	30.004	18.703	57.599	119.670	302.416
2012	12.644	46.757	22.229	66.778	127.928	351.834
2013*	13.763	48.966	24.177	75.462	135.494	372.498

*2013 yılına ait geçici verilerdir.

Çizelge 1.4. Aydın İli ilçelerine ait 2008-2013 yılları arasındaki çilek üretim alanı, üretim miktarı ve verim değerleri (Anonim, 2013b)

İlçeler	Üretim Alanı (da)						Üretim Miktarı (ton)						Verim (kg/da)
	2008	2009	2010	2011	2012	2013*	2008	2009	2010	2011	2012	2013*	2013*
Merkez	265	265	535	841	1.450	1.600	888	928	1.873	2.859	6.200	7.084	4.428
Bozdoğan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Buharkent	-	23	23	23	23	23	-	92	92	92	92	91	3.957
Çine	33	33	33	33	30	28	50	50	99	50	45	41	1.464
Didim	-	6	6	6	6	12	-	18	18	18	18	38	3.167
Germencik	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İncirliova	160	160	160	200	221	421	560	560	560	700	774	1.450	3.444
Karacasu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Karpuzlu	-	7	5	9	9	9	-	20	15	27	27	27	3.000
Koçarlı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Köşk	1.430	1600	2.200	2.200	2.500	3.000	5.720	6400	8.800	8.800	11.500	11.806	3.935
Kuşadası	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kuyucak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nazilli	13	13	20	55	55	270	39	39	60	165	165	797	2.952
Sultanhisar	3.200	5.215	5.215	5.215	8.200	8.200	11.200	18.253	18.253	16.843	27.486	27.042	3.298
Yenipazar	150	150	150	150	150	200	300	300	300	450	450	590	2.950
TOPLAM	5.251	7.472	8.347	8.732	12.644	13.763	18.757	26.660	30.070	31.332	46.757	48.966	3.558

* 2013 yılına ait geçici verilerdir.

Dünya genelinde çilek üretimi ve ihracatının artması iç ve dış pazarda çileğin ekonomik olarak önemini de arttırmaktadır. 2010 yılı ihracat rakamlarına bakıldığında en fazla çilek ihracatı yapan ülkenin İspanya (360.209 t) olduğu ve onu ABD (139.810 t) ve Meksika (66.019 t)'nin izlediği görülmektedir. Türkiye ise, 2010 yılında 25.867 ton olan çilek ihracatı ile 6. sırada yer almaktadır (Anonim, 2013a). 2012 yılı Mayıs ayında çilek, 10.442 t ve 9.488.579 \$ ile Yaş Meyve'de Türkiye genelinde en fazla ihracatı yapılan ürün olmuştur (Anonim, 2012b) Son yıllarda ülkemizden çilek ihracatının yapılması çileğin önemini daha da arttırmıştır. Nitekim Aydın İli'nde 2007 yılında 18 t olan çilek ihracatı, 2009 yılında 1005 t, 2011 yılında ise 2009 yılına göre 6 kat artışla 6197 t olmuştur (Anonim, 2012a).

Çilek üretiminde aynı ekim alanlarının yıllardır kullanılması ile birlikte bazı toprak kaynaklı hastalık etmenlerinin çilek üretimini tehdit ettiği bilinmektedir. Bu etmenlerden *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* ve *Verticillium dahliae*'nin ayrı ayrı veya birlikte çileklerde fide hastalıklarına neden olduğu belirtilmektedir (Wang vd., 2007; Zhang vd., 2008; Zhen vd., 2005). Bu patojenler, genellikle sürekli ekim yapılan alanlarda ve bu alanlara yeni bitki dikimleri yapıldığında bitki gelişimini ve büyümesini yavaşlatarak, düşük verim ve kalitede ürün alınması nedeniyle çilek endüstrisinde ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Zhao vd., 2009).

Batı Avustralya'da taç ve kök hastalıklarının ciddi şekilde artarak ortaya çıkmasını takiben yapılan tarla surveyinde % 50 bitki kaybı olduğu belirtilmiştir (Phillips ve Golzar, 2008; Fang vd., 2011b).

Bir tür kompleksi olarak tanımlanan *Fusarium oxysporum*'un geniş bir konukçu dizisinde vasküler solgunluğa neden olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte bu tür konukçu bitkiye özgü patojenisite esasına dayalı forma speciales'e ayrılmıştır. Günümüzde konukçuya spesifik olan 150 forma speciales bulunmaktadır (Enya vd., 2008). Çileklerde *Fusarium Solgunluğuna* neden olan forma specialis 'in f.sp. *fragariae* olduğu bilinmektedir (Wilhelm, 1984'e atfen Nagarajan vd., 2004). *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*, dünya genelinde ticari çilek üretimi yapan alanlarda ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Winks ve Williams, 1965, Fang vd., 2011a). Çilekte *Fusarium Solgunluğu* ilk kez 1965 yılında Avustralya'da ardından Kore, Çin, İspanya ve Amerika'da rapor edilmiştir. Japonya ve Çin'de de çileklerde *Fusarium Solgunluğu*'na toprak kaynaklı patojenlerden biri olan

Fusarium oxysporum f.sp. *fragariae*'nin neden olduğu bildirilmiştir (Takahashi vd., 2002; Fuchun vd., 2006). *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*'nin kökler yoluyla çilek bitkilerini penetre ettiği, kök ve tacın enfeksiyonu sonrası bitkinin hızlı bir şekilde solarak öldüğü belirtilmektedir (Fang vd., 2011a,b, Koike vd., 2009). Bir veya daha fazla *Fusarium* türü (Golzar vd., 2007), *Rhizoctonia* (Martin, 1999), *Cylindrocarpon* (Manici, 2005), *Macrophomina* (Mertely vd., 2005), *Pythium* (Martin, 1999), *Gnomonia* ve *Phoma* (Morocco, 2006), *Phytophthora* (Duncan, 2002) ve *Colletotrichum* (Urena-Padilla vd., 2001)'u içeren fungal ve /veya Oomycetes patojen türü tek başına ya da birlikte taç ve kök hastalıklarına neden olmaktadır (Fang vd., 2011b).

Siyak kök çürüklüğü, bitkinin canlılığı ve verimliliğinde azalmaya neden olan kompleks bir çilek hastalığıdır (Wing vd., 1994). *Rhizoctonia* ve *Pythium*'u da içeren birkaç patojenin bu hastalığa neden olan etmenler olduğu, bu etmenlerin fide ve tarla üretim sistemlerine bulaşık materyal ile girdiği bildirilmektedir (Abad vd., 2002; Martin, 2000). Buna ek olarak *Phytophthora* spp.'i taç çürüklüğü, kök çürüklüğü ve bitki ölümüne neden olmaktadır. Çift çekirdekli *Rhizoctonia fragariae* (S.S. Husain & W.E. McKeen) Moore (BNR) ve çok çekirdekli *R. solani* Kühn [eşeyli :*Thanatephorus cucumeris* (A. B. Frank) Donk] (MNR) çilekte siyah kök çürüklüğüne neden olan en önemli patojenler arasında yer almaktadır (Leandro vd., 2004, Ferguson vd., 2002). *Rhizoctonia* spp. aynı zamanda meyveleri infekte ederek sert çürüklüğe, tomurcuk ve yaprakları da infekte ederek yaprak yanıklığına neden olmaktadır (Maas, 1998).

Fidelere toprak kaynaklı patojenlerin zarar vermesi ile önemli kolonizasyonlar meydana gelmektedir. Bu patojenler aynı zamanda çileğin diğer kısımlarını da enfekte ederek üründe azalma, nekroz ve gelişme geriliğine neden olmakta ve sonuçta bitki ölümleri görülmektedir (Hancock, 1999). Bu patojenler çoğunlukla ana bitkiden çıkan stolonlar yoluyla kardeş bitkilerin de enfekte olmasına neden olarak üretim materyali ile yayılmaktadır (Maas, 1998). Ayrıca toprakta bulunan inokulum da çilek bitkilerinin enfeksiyonunda önemli rol oynamaktadır. Bitkiler bir kez infekte olduğunda, melanize olan hifler ve patojenin sklerotları bitki hücrelerinin etrafını sarmakta, böylece toprakta patojenler yaşamını devam ettirmektedir. Daha sonra patojenlerin propagülleri benzer şekilde bitkinin köklerini ve infekteli bitkiye yakın olan bitkileri de infekte eder ve yayılır (Maas, 1998). Çilek bitkisinin kök sistemi geniş bir alana yayılmadığı ve yoğun bir

şekilde toprakta bulunduğu için kök sistemi tamamen infekte olmaktadır (Hancock, 1999).

Phytophthora cactorum (Lebert & Cohn) Schröt. çilekte en çok zarara neden olan patojenlerden biridir. Patojen çok geniş bir konukçu dizisine sahip olup, dünya genelinde 60 bitki familyasında ve 50 genus içerisinde yaklaşık 200 bitkide zarar oluşturmaktadır (Huang vd., 2004). Patojen bitkide solgunluğa, taç çürüklüğüne ve meyvede derimsi çürüklüğe neden olmaktadır. Etmenin ilk olarak Amerika'da, daha sonra da Avrupa ve Asya'da derimsi çürüklüğe neden olduğu bildirilmiştir. Bu hastalık genellikle daha az görülmesine rağmen oluşturduğu kayıplar büyük olmaktadır. Taç çürüklüğü 1960'lı yıllardan beri Avrupa'da ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Porras vd., 2007). Hastalık İspanya'da ilk kez 2002 yılında rapor edilmiştir (De los Santos vd., 2002).

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goidanich dünya genelinde 100' den fazla familyada yaklaşık 500 bitki türünü infekte eden en çok tohumu zarar veren toprak kaynaklı patojenlerden biridir. Uygun şartlarda fungus ekonomik olarak önemli bitkilerde çökerten, fide yanıklığı, taç çürüklüğü, gövde çürüklüğü, kömür çürüklüğü (charcoal rot) ve kök çürüklüğü gibi bir çok hastalığa neden olmaktadır (Babu vd., 2007). *M. phaseolina*'nın neden olduğu Kömür Çürüklüğü Hastalığı Mısır, Fransa ve Illinois (ABD)'deki çilek üretim alanlarında uzun zamandır bilinmektedir. Bu patojen son yıllarda metil bromide alternatiflerini kullanarak çilek üretimi yapan İspanya (Aviles vd., 2007), İsrail (Zveibil ve Freeman, 2005) ve Florida (Mertely vd., 2005) ' da da ilk kez rapor edilmiştir.

Methyl Bromide (MB), çilek üretiminde 40 yıldır önemli bir toprak fumigantı olarak kullanılmaktadır (Ajwa vd., 2003). Ayrıca, dünya genelinde 100'den fazla üründe toprak fumigantı olarak dikim öncesi yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Dünyanın en büyük methyl bromide tüketicisi olan ABD'de kullanılan methyl bromide'in % 83'ü dikim öncesi toprak fumigantı, %11'i depolanan ürünlerde hasat sonrası uygulamalar ve % 6'sı depo fumigasyonu olarak kullanılmaktadır. Amerika'da fide üretiminde, saksı bitkileri, kesme çiçekçilik, süs bitkisi fidelikleri, meyve ve fidanlıklar, çim bitkileri, çiçek soğanları, çilek ve sebze fideliklerinde methyl bromide'in dikim öncesi tüketimi % 9'dur (Roskopf vd., 2005). Ancak, methyl bromide Montreal Protokolü üyeleri tarafından 1993 yılında ozon tabakasına zarar veren bir bileşik olarak kaydedilmiştir. Montreal Protokolü'ne göre, Amerika'da ve diğer gelişmiş ülkelerde MB'ün üretim ve ithalatta

kullanımının 1991, 2001 ve 2003 yıllarında kademe kademe azaltılarak 2005 yılında yasaklanması hedeflenmiştir (Ajwa vd., 2003). 2015 yılına kadar da farklı ülkelerde tümüyle yasaklanacağı belirtilmektedir (Wang vd., 2007). ABD'nin güneydoğusunda yürütülen çalışmalarda MB ile karşılaştırılacak düzeyde bir fumigant bulunmaması durumunda % 25'den fazla verim kaybının olabileceği bildirilmektedir. Bununla birlikte MB alternatifleri konusunda dünyada bir çok çalışma yapılmış olmasına ve bazı alternatif fumigantlar önerilmesine rağmen bunlar benimsenmezse en etkili fidelerin üreticiler için hala ciddi riskler oluşturacağı da belirtilmektedir (Leandro vd., 2004).

Günümüz çilek yetiştiriciliğinde verimin artırılması büyük oranda toprak dezenfeksiyonuna bağlıdır. Üretimin yoğun olduğu bölgelerde methyl bromide dışında fumigant olmayan alternatifler bulmak oldukça zordur. Tüketiciler, pestisit kalıntılarının çevreye etkileri ve insan sağlığı konusunda endişe duymaktadır. Dünya genelinde araştırmacılar tarafından gıda üretiminde daha sürdürülebilir, kimyasal olan ya da olmayan alternatif yöntemler bulma konusunda çalışmalar yapmaktadırlar. Toprak dezenfeksiyonu için MB'e alternatif olabilecek hem kimyasal hem de kimyasal olmayan yöntemler geliştirilmektedir (Carpenter vd., 2001; Rieger vd., 2001). Günümüzde MB alternatif olan tek bir fumigant yoktur ve ekonomik olarak uygun ve çevre dostu alternatif fumigantlara ihtiyaç duyulmaktadır. Methyl isothiocyanate (MITC) alternatifleri ile 1,3-dichloropropene (1,3-D), Pic ve de bunların kombinasyonları çilek üretiminde methyl bromide alternatifleri olabilecek en umut verici fumigantlar olarak görülmektedir. Methyl iodide ve propargyl bromide ile yapılan çalışmalar, bu bileşiklerin tek başına bir fumigant olarak MB'den daha fazla etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Ajwa vd., 2003). Çilek üretim alanlarında MB'e alternatif olarak çok fazla sayıda kimyasal, kültürel önlemler, solarizasyon, ıslah ve organik alternatifler değerlendirilmektedir (Carpenter vd., 2001, Rieger vd., 2001).

Ülkemiz ise 'Ozon Tabakasını İncelten Maddelere Dair Montreal Protokolü'nü, 1991 yılında imzalamıştır. Bu protokol, ozon tabakasını incelten maddelerin üretim ve tüketiminin azaltılması ve kontrol altına alınmasıyla ilgili önlemleri kapsamaktadır. Ülkemizde MB'ün üretimi, tüketimi, ticareti kontrol altına alınmış ve 1 Ocak 2008 tarihine kadar zirai karantina ve taşıma öncesi kullanımlar dışında yasaklanmıştır. Bu tarihten sonra ülkemizde çilek fidesi üreten büyük firmalar metam sodium (MS) kullanmaya başlamıştır (Anonim, 2007).

Ülkemizde çilek üretim alanlarındaki toprak kaynaklı hastalık etmenlerinin tespiti ve mücadelesi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. İzmir İli'nde tarla döneminde ve hasat sonrası dönemde çürüklük yapan fungal etmenleri saptamak amacıyla yapılan çalışmada *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp. ve *Aspergillus* spp.'nin bulunma oranının yüksek olduğu belirtilmiştir (Kapkın, 1978). Doğu Akdeniz Bölgesinde çilek alanlarında kök çürüklüğü belirtisi gösteren hasta bitkilerdeki primer patojenin de *Rhizoctonia solani* olduğu kaydedilmiştir (Pala, 1987).

Zonguldak ve Bartın İllerinde çilek üretim alanlarında, toprak kaynaklı patojenlerden *Fusarium oxysporum*, *F.moniliforme* ve *Rhizoctonia solani*'nin hastalığa neden olduğu tespit edilmiştir (Gürer ve Coşkun, 1993).

Aydın İli Sultanhisar İlçesinde 1997-2000 yılları arasında çilek tarlalarındaki toprak kaynaklı hastalık etmenlerini tespit etmek amacıyla yapılan çalışmalarda *R.solani*, *Phytophthora cactorum* ve *Verticillium dahliae*'nin patojen olduğu saptanmış, toprak solarizasyonu ve bazı fumigantların etkisi (metam sodium, dazomet ve methyl bromide) araştırılmıştır. Toprak solarizasyonu hastalıkların kontrolünde fumigantlardan daha iyi kontrol sağlamış ve solarizasyon yapılan parsellerden daha yüksek verim elde edilmiştir (Benlioğlu vd., 2004).

Aydın İli Sultanhisar İlçesinde 2002 ve 2004 üretim sezonunda yapılan çalışmalarda sırta solarizasyon (RBS), sırta solarizasyon ile birlikte tavuk gübresi (CM), methyl bromide (MB), TeloDrip (1,3- dicloropropene+chloropicrin), kısa süreli sırta solarizasyon ile birlikte metam sodium (MS)'un azaltılmış dozu ve TeloDrip'in azaltılmış dozunun toprak kaynaklı hastalıklara, yabancı otlara ve çilek verimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla tarla denemeleri yürütülmüştür. Her iki sezonda da tek başına sırta solarizasyon (7 hafta) ve tavuk gübresi (10 t/ha) ile birlikte sırta solarizasyon, iki hafta sırta solarizasyondan sonra MS (50ml/m²) ve MB (50g/ m²) toprak kaynaklı hastalıkları (*Rhizoctonia* spp. ve *Phytophthora cactorum*) azaltırken, TeloDrip 500kg/ha ve kısa süreli sırta solarizasyondan sonra TeloDrip'in yarı dozu (2003-2004 üretim sezonunda) toprak kaynaklı hastalıkları daha az kontrol etmiştir. İlk yılki denemelerde RBS, CM ile birlikte sırta solarizasyon ve 2 haftalık solarizasyon ve metam sodium uygulamalarında MB'e eşdeğer verim alınırken, ikinci yıl sırta solarizasyon ve tavuk gübresi ile birlikte sırta solarizasyon uygulamalarında MB ile aynı verim artışı saptanmıştır (Benlioğlu vd., 2005).

Aynı araştışıcılar tarafından 2005-2007 yılları arasında Aydın İli Sultanhisar İlçesinde yürütölen çalışmada methyl bromide alternatiflerinden biri olan metam sodium (MS)'un standart polietilene göre ‘‘Gaz Geçirmez Film (VIF)’’ ile kombinasyonu değerlendirilmiştir. MS (100ml/m²)'un standart polietilen veya VIF ile uygulanması toprak kaynaklı hastalık etmenlerini önemli ölçüde azaltmıştır (Benlioğlu vd., 2007; 2013).

Ölkemizde çilek fideliklerinde methyl bromide'e alternatif fumigantları belirlemek ve temiz fide elde etmek amacıyla Adana'da 2006 yılında yapılan çalışmada bazı fumigantların etkileri değerlendirilmiş, Dazomet (D)'in 50 ve 60 kg/da, metam sodium'un 65 ve 75 l/da uygulamalarının methyl bromide ile aynı etkiyi sağladığı belirtilmiştir (Yücel ve Tangolar, 2007).

Dünya'da çilek yetiştiriciliğinde frigo, fresh, fresh soğutulmuş fide ve plug fide (fidelikte ana bitkilerden kolların torf içinde köklendirilmesi ile elde edilen fideler) gibi yetiştiricilik koşullarına göre çeşitli avantajları bulunan fide tipleri kullanılmaktadır. Ölkemiz çilek yetiştiriciliğinde de en yaygın olarak kullanılan frigo fideler, bahar aylarında dikilen frigo fidelerden yaz boyunca oluşan yavru bitkilerin, bitkiler tam dinlenmeye girdikten sonra kiş ortasında sökülerek dikim zamanları olan temmuz-ağustos aylarına kadar soğukta muhafaza edilerek kullanılırlar. Taze fideler ise yüksek rakımlı alanlarda, bahar aylarında dikilen ana bitkilerin soğuklanma gereksinimini karşılamalarından sonra (eylöl-ekim aylarında) sökülerek mümkün olan en kısa sürede tarlaya taşınarak ivedilikle dikilmektedirler. Taze fidelerin yaprakları sökümden önce kesilirler. Florida, Mısır ve İsrail gibi bazı yetiştiricilik bölgelerinde dikim sonrası gelişimini desteklemek için bazı fidelerdeki yapraklar kesilmezler. Bu tip fidelere yeşil fide denilmektedir. Bu üç tip fide tipi de çıplak köklü (topraksız) olarak dikilmektedir. Değişik büyüklük ve torf vb. gibi karışımlar içeren viyollerde, çilek ana bitkilerinde yaz ayları boyunca oluşan kolların köklendirilmesiyle üretilen fidelere ise plug fide denilmektedir. Plug fide üretimi kuzey yönde ve yüksek rakımlı alanlarda, çeşitli gölgeleme materyali altında üretilmektedir. Üretimin ilk iki haftasında sisleme/yağmurlama yardımıyla hava oransal nemi %90 civarında tutulmakta, üçüncü haftada %70 civarına düşürölmekte, dördüncü ve son haftada ise sulamalar dışında müdahale edilmemektedir. Plug fidelerin en önemli dezavantajları yüksek üretim maliyetleridir (Serçe, 2011).

İspanya fide üretim alanlarında en çok taze fide üretmekte ve 600 milyon yeşil fidenin tamamını çilek üretim alanlarına dikmektedir. Son yıllarda üretimi artan plug fide üretimi ise 2011 yılında 65 milyon civarında olup bunun önemli bir kısmını Fas, Mısır ve Yunanistan'a, fideliklerde yıllık üretimi 10 milyona kadar düşmüş olan frigo fidenin tamamını da Fransa, Almanya ve İngiltere'ye ihraç etmektedir. 2010-2011 sezonu boyunca İspanya'da en çok dikilen çeşitler sırasıyla Sabrosa, Camarosa, Splendor, Florida Fortuna, Florida Festival, Primoris, San Andreas ve diğer çeşitler olmuştur. İspanya'da da İspanya dışında geliştirilmiş birçok çeşit yetiştirilmektedir. Ulusal Çilek Çeşit İslah Projesi programları kapsamında mevcut çeşitlerle rekabet edecek 'Amiga', 'Santaclara', 'Fontanilla' ve 'Fuentepina' gibi çeşitler geliştirilmiştir (Serçe, 2011). Batı Avustralya'da da Albion, Aromas, Camarosa, Camino Real, Festival, Gaviota, Selva ve Juliette gibi çilek çeşitlerinin dikimi yapılmaktadır (Fang vd.,2012).

Ülkemizde 2009 yılı itibariyle 50 milyon frigo fide, 6 milyon yeşil fide ve üreticinin aldığı 10 milyon kol fide olmak üzere toplam 66 milyon fide üretilmiştir (Yaltır A.Ş., kişisel görüşme). Aydın İli'nde ise 2009-2010 çilek üretim sezonunda yaklaşık 20 milyon fide kullanılmıştır. Kullanılan bu miktar yaklaşık 3500 da alana karşılık gelmektedir. 20 milyon fidenin % 40'ı frigo fide, % 2,5'u taze fide ve % 57,5'i ise üreticinin üretim alanından aldığı kol fidedir. Bu orijinal fidenin yaklaşık 8 milyon 500 bininin [6 milyon 500 bini Camarosa, 1 milyon 100'ü Festival, 400 bini ise Sweetcharlie frigo fide ve 500 bin yeşil fide (cv. Festival, Rubygem)] Aydın İli Sultanhisar İlçesinde dikildiği belirtilmektedir (Özyiğit İlaç ve Gübre Bayii, kişisel görüşme).

Ülkemizde “Çilek Fidesi Üretimi, Sertifikasyonu ve Pazarlaması Yönetmeliği” 8 Temmuz 2010 tarih ve 27635 sayılı Resmi Gazete ile yürürlüğe girmiştir. Bu yönetmeliğe göre “sertifikasyon sisteminde yer alan fide üreticilerinde sertifikasyona tabi zararlı organizma kontrolleri yapılırken, standart fide üretimlerinin iç karantina etmenleri açısından kontrol edildiği” belirtilmektedir. Ayrıca Bakanlık İl Müdürlüğü/ Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü tarafından dış karantina etmeni tespit edilmesi halinde bu durumun Genel Müdürlüğe bildirildiği de ifade edilmektedir. Çilek fidelerinde sertifikasyona tabi hastalık etmenleri arasında *Phytophthora* spp., *Verticillium dahliae*, *V. albo-atrum*, *Colletotrichum acutatum* yer almaktadır. Aydın İli çilek dikim alanlarında on yıldır solarizasyon uygulanmasına ve sözü edilen yönetmeliğe rağmen fide dikiminden bir süre sonra bitkilerde ölüm görülmekte ve bu alanlarda fide dikimleri tekrarlanmaktadır. Bu

durum temiz fidenin önemini daha iyi ortaya koymaktadır. Ancak ülkemizde çileklerde toprak kaynaklı hastalık etmenleri ve bunlarla mücadelede toprak dezenfeksiyonu uygulamaları konusunda birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen fidelerde sorun olan hastalık etmenlerinin tespiti konusunda hiç bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışma, Ege Bölgesi çilek üretiminin % 50'sini tek başına karşılayan Aydın İli'nde dikilecek çilek fidelerinde (frigo fide, yeşil fide ve kol fidesi) bulunan hastalık etmenlerini tespit etmek, klasik ve moleküler yöntemler yardımı ile tanılamak, bulunma oranlarını belirlemek ve çilek fidelerinde bulunma oranı en yüksek olan fungal patojenlere karşı saksı koşullarda çeşitlerin duyarlılığını tespit etmek amacıyla ele alınmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Ülkemizde Yapılan Çalışmalar

Ülkemizde çileklerde görülen fungal hastalıklar ve mücadelesi ile ilgili çalışmaların sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Bu çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

İzmir İli'nin çilek üretimi yapan 7 ilçesinde, çileğin tarla dönemi ve hasat sonrası döneminde çürüklük yapan fungal hastalıkları tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada çilek bitkilerinin kök ve taçlarından 2092 izolat elde edilmiştir. Elde edilen funguslar içerisinde bulunma oranı en yüksek olanların *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp. olduğu belirtilmiştir (Kapkın, 1978).

Doğu Akdeniz Bölgesinde 1984-1985 yılları arasında yapılan çalışmada kök çürüklüğü simptomsu gösteren hasta bitkilerden 25 cinse ait 64 farklı fungus izole edilmiştir. En yaygın olarak *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria* ve *Macrophomina*'nın izole edildiği kök izolasyonları sonucu primer patojenin *Rhizoctonia solani* Kühn. olduğu belirlenmiştir. *In-vitro*'da yapılan çalışmalarda *Trichoderma harzianum*, *T. pseudokoningii*, *Aspergillus phoenicis*, *A. parasiticus*, *Penicillium* sp. ve *Pseudomonas* spp.'e ait 9 izolat etkili antagonist olarak seçilmiştir. Ayrıca solarizasyon uygulamasının *Rhizoctonia solani*'e etkisinin değerlendirildiği çalışmada, 10 ve 20 cm toprak derinliklerinde patojen %100 ve %92,5 oranında elimine edilirken, 30 ve 40 cm derinliklerde ise %81,25 ve %77,7 oranında bir azalma olmuştur (Pala, 1987).

Zonguldak ve Bartın illerinde çilek üretim alanlarında, toprak kaynaklı patojenlerden *Fusarium oxysporum*, *F.moniliforme* ve *Rhizoctonia solani*'nin hastalığa neden olduğu tespit edilmiştir (Gürer ve Coşkun, 1993).

Aydın İli Sultanhisar İlçesinde 1997-1999 yıllarında çilek üretim alanlarında yapılan survey çalışmasında hastalıklı çilek köklerinden yapılan izolasyonlarda 169 fungal izolat elde edilmiş ve bu izolatlardan 71'nin *R.solani*, 44'ünün *Fusarium* spp., 22'sinin *Macrophomina* sp., 16'sının *Phytophthora cactorum*, 6'sının *Epicoccum nigrum*, 4'ünün *Pythium* spp., 4'ünün *Phoma* spp. ve 2'sinin *Verticillium dahliae* olduğu tespit edilmiştir. *R. solani*, *P. cactorum* ve *V.*

dahliae'nin tüm izolatlarının testlenen bitkilerde patojen olduğu, *Fusarium* spp. izolatlarının çilek bitkilerinde patojen olmadığı da belirtilmiştir. Ayrıca çilek üretiminde kök hastalıklarının önemli bir sorun olması nedeniyle 1998-1999 üretim sezonunda bir üretici tarlasında toprak dezenfeksiyonu uygulamaları (solarizasyon, dazomet) yapılmıştır. 1998 yılında uygulama yapılmamış kontrol ile solarizasyon uygulanmış toprak arasındaki sıcaklık farklılıkları 10 ve 20 cm derinlikte sırasıyla 7-17°C ve 2-10°C arasında değişmiştir. 1999 yılında solarizasyon uygulanan parsellerin 10 cm derinliğindeki sıcaklıklar 38,2°C ile 45,2°C arasında olup kontrol parsellerden 6-10°C daha yüksek bulunmuştur. 1999-2000 üretim sezonunda hasadın bitişinden 3 ay sonra yapılan değerlendirmede ölü bitki yüzdesinin uygulama yapılmamış kontrolde %84'e ulaştığı saptanmıştır. Solarizasyon, metam sodium ve dazomet arasında ölü bitki yüzdesi açısından önemli bir fark bulunmamıştır (Benlioğlu vd., 2004).

Aydın İli Sultanhisar İlçesinde sırta solarizasyon (RBS), sırta solarizasyon ile birlikte tavuk gübresi (CM), methyl bromide (MB), TeloDrip (1,3-dicloropropene+chloropicrin), kısa süreli sırta solarizasyon+MS'un azaltılmış dozu (50ml/m²) ve kısa süreli sırta solarizasyon+ TeloDrip'in azaltılmış dozunun toprak kaynaklı hastalıklara, yabancı otlara ve çilek verimine etkisini belirlemek amacıyla 2002 ve 2004 üretim sezonu arasında tarla denemeleri yürütülmüştür. Her iki üretim sezonunda da sırta solarizasyon (7 hafta) ve tavuk gübresi (10t/ha) ile birlikte sırta solarizasyon, 2 hafta sırta solarizasyondan sonra MS (50ml/m²) ve MB(50g/ m²) toprak kaynaklı hastalıkları (*Rhizoctonia* spp. ve *Phytophthora cactorum*) azaltırken, TeloDrip (500kg/ha) uygulaması ve kısa süreli sırta solarizasyondan sonra TeloDrip'in yarı dozu (2003-2004 üretim sezonunda) toprak kaynaklı hastalıkları daha az kontrol etmiştir. Birinci yıl yapılan denemelerde RBS ve CM ile birlikte sırta solarizasyon ve 2 haftalık sırta solarizasyon+MS uygulamalarında MB'e eşdeğer verim alınırken, ikinci yılda sadece sırta solarizasyon ve tavuk gübresi ile birlikte sırta solarizasyon uygulamalarında MB ile aynı verim artışı elde edilmiştir (Benlioğlu vd., 2005).

Aynı araştırmacılar tarafından fumigantın atmosfere kaçısını azaltarak letal konsantrasyonu uzun süre sabit tutan VIF (virtually impermeable film) ile metam sodium'un kombinasyonunu değerlendirmek amacıyla 2005-2007 yılları arasında Sultanhisar-Aydın'da ticari üretim seralarında denemeler yürütülmüştür. Denemede 6 hafta sırta solarizasyon, 3 hafta sırta solarizasyon, 2 hafta sırta solarizasyon ve metam sodium (50 l/da), MS+PE (100 l/da metam sodium +

standart polietilen), 1/2MS+PE (50 l/da metam sodium + standart polietilen), MS+VIF (100 l/da metam sodium + VIF), 1/2MS+VIF (50l/da metam sodium + VIF) ve K (uygulama yapılmamış kontrol) uygulamaları kullanılmıştır. Uygulamalar çilek kök hastalıklarına etki, yabancı ot kontrolü ve pazarlanabilir çilek verimi açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlar, her iki üretim sezonunda da ölü veya kuruyan bitkilerin taçlarından izole edilen *Macrophomina phaseolina* ve *Fusarium* spp.'nin ana patojenler olduğunu göstermiştir. MS'un azaltılmış dozunun (50 l/da) standart polietilen veya VIF ile uygulanması ve iki hafta sırta solarizasyon ile kombinasyonu, toprak kaynaklı hastalıkları solarizasyondan daha iyi kontrol ederken, MS'un 100 l/da dozu'nun standart polietilen veya VIF ile kullanılması toprak kaynaklı hastalıkları önemli ölçüde azaltmıştır. MS (100 l/da) uygulaması 2005-2006 üretim sezonunda standart polietilen ile birlikte verimi % 18,5, VIF ile birlikte % 14,5 2006-2007 üretim sezonunda ise sırasıyla %21,6 ve % 18,5 arttırmıştır. Denemede yabancı ot kontrolü, hastalık kontrolü ve verim açısından değerlendirmede MS'un uygulanmasında standart polietilen veya VIF'in kullanılması arasında önemli bir fark bulunmamıştır (Benlioğlu vd., 2013).

Aydın İli Sultanhisar İlçesinde çilek alanlarında toprak kaynaklı fungal hastalıklardan *Rhizoctonia solani* ve *Phytophthora cactorum*'a karşı biyolojik savaşımdan yararlanmak amacıyla yürütülen çalışmada, yörede yetiştirilen sağlıklı çilek bitkileri, karnabahar, kırmızı lahana, brokoli, lahana, turp, bakla ile yabancı otlardan yabancı turp, darıcan ve çoban çantası bitkilerinin köklerinden 362 adet bakteri izolatu elde edilmiştir. İkili kültür testlerinde bir ya da her iki fungal patojene karşı engelleme zonu oluşturan 101 antagonist bakteri içinden bazı ön testler yapılarak 24 tanesi seçilmiştir. Seçilen 24 antagonist bakteri izolatu'nun her iki fungal patojene karşı in-vivo etkinlikleri, enzim aktiviteleri, sekonder metabolit oluşturma yetenekleri ve çilek bitkisinin gelişimine olan etkileri ayrıca belirlenmiştir. Üç yıl boyunca ticari çilek (Camarosa çeşidi) yetiştirilen bir tarlada yürütülen denemelerde 2006-2007 çilek üretim sezonunda 3ss9, 6110, ka ve HRO-C48 nolu bakteri izolatlarının fide dikimi ile beraber ve dikimden yaklaşık 7ay sonra toprağa içirme şeklinde yapılan uygulamalarından bitki ölümlerine karşı olumlu sonuçlar alınmıştır. Ayrıca tüm bakteri uygulamalarının verimi arttırdığı saptanmıştır (Özyılmaz, 2007).

Adana'da 2006 yılında çilek fidelik alanlarında MB'e alternatif mücadele yöntemlerini ortaya koymak amacıyla dazomet (D-50 ve 60 kg/da) ve metam sodium (MS-65,75 ve 85 l/da)'un farklı dozları ile solarizasyon+MS (75 l/da)

uygulaması yapılmıştır. Uygulamaların etkisini belirlemek amacıyla 8 ay sonra sökülen çilek fideleri gövde çaplarına göre birinci, ikinci sınıf ve ıskarta olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Uygulamaların birinci sınıf fide sayısı üzerine etkileri arasında önemli fark bulunmamıştır. İkinci sınıf ve ıskarta fide sayısı bakımından en yüksek değerler sırasıyla 241 adet/m² ve 101 adet/m² ile MS'un 85 l/da uygulamasından elde edilmiş, D'in 60 kg/da, MS'un 65 l/da ve 75 l/da uygulamalarından alınan sonuçlar, MB uygulaması ile aynı bulunmuştur. MB ve alternatif uygulamaların birinci sınıf fide oranı (%) üzerine etkileri arasında fark önemli bulunmazken, ikinci sınıf fide oranı bakımından D'in 50 kg/da ve 60 kg/da ile MS 65 l/da ve 75 l/da uygulamalarından elde edilen oranlar MB ile aynı etkiyi sağlamıştır. Uygulamaların 1. ve 2. sınıf fide oranları toplamı birlikte değerlendirildiğinde; solarizasyon sonrası sonbaharda 75 l/da MS uygulamasından % 90; MB'in 50 kg/da ve D'in 60 kg/da uygulamalarında % 85; MS'un 65 l/da uygulamasında % 84; D'in 50 kg/da uygulamasında %81; MS'un 75 l/da uygulamasında %81 ve MS'un 85 l/da uygulamasında ise %73 oranında çilek fidesi elde edildiği belirtilmiştir (Yücel ve Tangolar, 2007).

Düzce İli'nde 2012 yılında çilek üretim alanlarında görülen fungal hastalıkları belirlemek amacıyla yapılan surveylerde meyve, yaprak, sap, kök hastalıkları araştırılmıştır. Patojenisite testlerinin sonuçları doğrultusunda çileklerde *Botrytis cinerea*, *Mycosphaerella fragariae*, *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Rhizoctonia* spp., *Hainesia lythri* ve *Phytophthora* sp. funguslarının hastalık yaptıkları belirlenmiştir. *B. cinerea* ile *M. fragariae* yaygın funguslar olup incelenen tüm tarlalarda bulunmuştur (Sarıgül Ertek vd., 2014).

2.2. Dünyada Yapılan Çalışmalar

2.2.1. Hastalık Etmenlerinin Saptanması ve Tanınması ile İlgili Çalışmalar

Çileklerde kök ve taç çürüklüğüne neden olan fungal patojenler tüm dünyada çilek üretimini sınırlayan ve verim kayıplarına yol açan en önemli patojenler olarak bilinmektedir. Çileklerde taç ve kök çürüklüğüne sebep olan bu funguslar ülke ve bölgeler göre değişmekle birlikte genel olarak *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Macrophomina*, *Pythium* cinslerini kapsamaktadır (Maas, 1998; Leandro vd., 2004; Ferguson vd., 2002; Aviles vd., 2007; Zvebil ve Freeman, 2005; Mertely vd., 2005). Dünyada ticari olarak çilek üretilen alanlarda taç ve kök hastalıkları Güney Amerika (Tanaka ve Passos, 2002; Latorre ve Viertel, 2004), Kuzey Amerika (Mertely vd., 2005), Avrupa (De Cal vd., 2004), Asya (Zhao vd., 2009)'da sıkça görülmektedir. Öyle ki *Fusarium* (Golzar vd., 2007), *Rhizoctonia* (Martin, 1999), *Cylindrocarpon* (Manici vd., 2005), *Macrophomina* (Mertely vd., 2005), *Pythium* (Martin, 1999), *Gnomonia* ve *Phoma* (Morocco, 2006), *Phytophthora* (Duncan, 2002), *Colletotrichum* (Urena-Padilla vd., 2001)'e ait birçok tür tek başına veya birlikte hastalık oluşturmaktadır.

Rhizoctonia genusu patojen olduğu kadar simbiyotik olan birçok fungusu da temsil etmektedir. Patojenik *Rhizoctonia* spp. ekonomik olarak önemli birçok bitkide ciddi şekilde hastalıklara neden olmakta ve zarar vermektedir. *Rhizoctonia* izolatları koloni morfolojisi, gelişim özellikleri ve bitkilerde patojenisitesi açısından geniş bir varyasyona sahiptir. Bununla birlikte çoğu *Rhizoctonia* spp. vejetatif hif hücrelerindeki çekirdek sayılarına göre tek çekirdekli (uninucleate), çift çekirdekli (binucleate) ve çok çekirdekli (multinucleate) olarak sınıflandırılmıştır (Priyatmojo vd., 2001). Martin (1987)'de *Rhizoctonia* türlerinin belirlenmesinin hücredeki çekirdek sayısına, hifin hücresel özelliklerine, miselyum rengine ve sklerotial özelliklerine dayandığını belirtmiştir. *Rhizoctonia* izolatları koloni morfolojileri ve karakteristik boyama metodlarına dayanarak tanılanmaktadır (Manici ve Bonora, 2007).

R. solani (telemorf: *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk) hem tek yıllık hem de çok yıllık ürünlerin gelişimini etkilemekte, bitki gelişiminin hemen her döneminde hastalığa neden olabilmektedir (Tewoldemedhin vd., 2006). *Rhizoctonia* türleri arasında yer alan çok nükleuslu *R. solani*, farklı çevre koşullarında gelişmekte ve 250'den fazla bitki türünde hastalığa neden olmaktadır.

R. solani izolatlarının hissel uyumsuzluğu anastomozis gruplarına (AG) göre ayrılmakta, konukçuya özelleşmedeki çeşitlilik anastomozis grupları arasında da farklılığa neden olmaktadır. Günümüzde *R.solani* 14 anastomozis grubuna ayrılmıştır. Çift nükleuslu *Rhizoctonia* spp. bitki patojeni olmakla birlikte, saprofitik ve simbiyotik özellikte olan türleri de bulunmaktadır (Tewoldemedhin vd., 2006).

Çift nükleuslu *Rhizoctonia fragariae* Husain and McKeen çileklerde Siyah Kök Çürüklüğü hastalığına neden olmaktadır. Çileklerde kortikal kök çürüklüğü patojeni olan *R. fragariae* ile *Pratylenchus penetrans* arasındaki interaksiyon incelenmiştir. Bu çalışma sonunda *P. penetrans*'ın doğrudan yada dolaylı olarak neden olduğu zayıflama ve hücre ölümlerinin bitkileri *R. fragariae*'a daha duyarlı hale getirdiği gösterilmiştir (Lamondia, 2003).

Son yıllarda fungusların tanılanmasında, moleküler karakterizasyonunda ve filogenetik analizlerde moleküler tekniklerden yararlanılmaktadır. Bunlar içinde ribozomal DNA'lar, özellikle de ITS bölgeleri üzerinde en çok çalışılan hedef DNA'lardır (Bruns vd., 1991'e atfen Babu vd., 2007). Özellikle özgün primerler veya hedef olan ITS bölgesini tanımlayan özgün DNA problemleri *Trichoderma*, *Hpocrea* (Irina vd., 2005), *Fusarium* (Edel vd., 2000), *Verticillium* (Nazar vd., 1991), *Phytophthora* (Lee vd., 1993), *Mycosphaerella* (Johanson vd.,1994) ve *Rhizoctonia* (Manici ve Bonora, 2007) gibi pek çok önemli bitki patojeni fungusların tanılanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Aşağıda özellikle çileklerde patojen olan toprak kaynaklı patojenlerin moleküler teknikler ile tanılanması ve karakterizasyonuna yönelik çalışmalardan örnekler verilmiştir.

Günümüzde *Rhizoctonia* spp. izolatlarının sınıflandırılmasında çeşitli biyokimyasal ve moleküler metodlar kullanılmaktadır. Moleküler metodlar daha kolay olmasının yanısıra daha az zaman almakta ve daha doğru sonuçlar vermektedir. Çok çekirdekli *R.solani* AG-2 alt grupları (Salazar vd., 2000'e atfen Manici ve Bonora, 2007) ve iki çekirdekli izolatlarla ait AG-G'nin tanılanması için spesifik moleküler belirteçler ve primerler geliştirilmiştir (Leclerc-Potvin vd., 1999'a atfen Manici ve Bonora, 2007). Çileklerde *Rhizoctonia* spp. izolatlarının tanılanması ve ayrımı için RFLP'ye dayalı 28S rDNA dizileri kullanılmıştır (Martin, 2000). Bununla birlikte rDNA Internal Transcribed Spacer (ITS) bölgesi baz dizilerinin belirlenmesi *Rhizoctonia*'a benzer izolatların tanılanmasında (Gonzales vd., 2001) ve *R.solani* (*Thanatephorus* spp.)'nin anastomozis

gruplarının tür içi ve türler arası farklılıklarının belirlenmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Manici ve Bonora, 2007).

İsrail’de 2000-2003 üretim sezonunda yapılan çalışmada fidelik ve çilek üretim alanlarından infekteli çilek bitkilerinin taç ve köklerinden elde edilen *Rhizoctonia* izolatlarının anastomozis gruplarını belirlemek için rDNA-ITS bölgelerinin PCR’da çoğaltılarak dizi analizi yapılmış ve kümeleme (cluster) analizi ile gruplar ayrılmıştır. Bu çalışma, AG-F, AG-K, AG4 HG-I ve AG4 HG-III gruplarına ait olan *Rhizoctonia* spp.’nin çileklerde virulent olduğunu gösteren ilk rapor niteliğindedir (Sharon vd., 2007).

İtalya’da 1996-2001 üretim sezonunda çilek bitkilerinin köklerinden izole edilen çift çekirdekli (binucleate) *Rhizoctonia* spp. izolatlarının rDNA-ITS bölgelerinin sekans analizi ile tanılaması ve Gen Bankasında çilekten izole edilmiş olan *Rhizoctonia* spp. izolatlarının baz dizileri ile ilişkisi araştırılmıştır. 51 çift çekirdekli *Rhizoctonia* spp.’nin ITS bölgeleri analiz edilmiş, bunlardan seçilen temsili 8 *Rhizoctonia* izolatının sekansı yapılmış ve AG-A, AG-G, AG-I ve AG-F anastomozis gruplarının çilekte patojen olduğu bulunmuştur. ITS bölgesi sekans analizine göre, İtalya’da çileklerde *Rhizoctonia* spp. izolatları AG-A ve AG-G olarak iki ana gruba ayrılmıştır. Çoğunlukla İtalya’nın kuzeyinde AG-G, güneyinde ise AG-A bulunmuştur (Manici ve Bonora, 2007).

Siyah kök çürüklüğü, *Rhizoctonia*’nın karışık türlerini de kapsayan çileğin önemli bir hastalığıdır. Bu çalışmada, Güney Afrika’da Western Cape Eyaleti’nde hastalıklı çilek bitkilerinden izole edilen *Rhizoctonia* türleri ve anastomozis grupları belirlenmiş ve bu izolatların patojenisite ve virülenslikleri değerlendirilmiştir. Hem çift çekirdekli hem de çok çekirdekli türler hastalıklı köklerden reizolasyon ile tekrar elde edilmiş ve sırasıyla *Rhizoctonia fragariae* ve *Rhizoctonia solani* olarak tanılanmıştır. İzolatların anastomozis grupları klasik yöntemler ile hifsel füzyon metodu kullanılarak yapılmış ve elde edilen sonuçları doğrulamak ve *Rhizoctonia* izolatları arasındaki ilişkiyi karakterize etmek için 28S RNA geni RFLP analizi kullanılmıştır. Klasik testlerde, *R. solani* izolatlarının tamamının AG-6 olduğu, *R. fragariae*’nin izolatları arasında da 3 AG tipi olduğu belirlenmiştir. Bunlar sırasıyla AG-6 %69, AG-G %25 ve AG-I ise %6 oranında bulunmuştur. Patojenisite denemeleri, 8 haftalık Tiobelle çilek çeşidinde yürütülmüş ve *Rhizoctonia* izolatlarının tümünün çilekte patojen olduğu ancak *R.solani* (AG-6) bitkilerin şiddetli bir şekilde çökmesine neden olarak en virulent

grup olduğu tespit edilmiştir. *R. fragariae* AG-A ve AG-G, *R. solani* kadar virulent bulunmamış ancak bitkilerin çökmesine neden olmuştur. *R. fragariae* AG-I en az virulent ve bitkilerde herhangi bir çökmeye neden olmamış ancak infekteli kökler üzerinde dağınık lezyonlar, solgun ve bodur bitkiler oluşmasına neden olmuştur. Bu bulguların Güney Afrika'da çileklerde kök çürüklüğüne neden olan *Rhizoctonia* taksonlarının AG tiplerinin tanılandığı ve bu türün ilk olarak onaylandığı bir çalışma olduğu vurgulanmıştır (Botha vd., 2003).

Çileklerde diğer önemli fungal etmenlerden biri olan *M. phaseolina*'nın alt gruplarının sınıflandırılması, mikrosklerotlarının büyüklük farklılıkları, kültürel karakteristikleri, klorata duyarlılıkları, piknit oluşumu ve patojenisite testlerine dayanmaktadır (Jana vd., 2003). *M. phaseolina*'nın ayırımında rDNA-ITS bölgesinin DNA yı kesen enzimler ile yapılan polimorfik parçaların saptanması (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP) analizi (Su vd., 2001), Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Random Amplified Polymorphic DNA-RAPD) yöntemi (Su vd., 2001) ve çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism-AFLP) (Vandemark vd., 2000) gibi moleküler tekniklerden de yararlanılmaktadır. Ancak bu metodların hiçbirinin *M. phaseolina* izolatlarının spesifik konukçuları ve coğrafik lokasyonlarının ayırımında yeterli sonuç vermediği belirtilmiştir. Son yıllarda özgün primerler yardımı ile PCR tekniği ile *M. phaseolina* izolatları arasındaki genetik varyasyonun saptanması konusunda pek çok çalışma yapılmıştır (Babu vd., 2007). Ancak *M. phaseolina*'nın spesifik tanınmasında kullanılabilen kesin olarak belirlenmiş belirteçler bulunmamaktadır. *M. phaseolina*'nın ITS sekanslarının Gen bankasında taranması onlar arasında bazı varyasyon derecelerini gösteren çok az farklılığın olduğunu ortaya çıkarmaktadır. rDNA genlerindeki baz dizisi çeşitliliği farklı çoğaltma teknikleri ile incelenerek tanılama yapılmaya çalışılmaktadır. Bu da bize ITS bölgelerinin çoğaltılması ve daha sonra RFLP polimorfizmi ve dizi analizleri ile farklılıkların araştırılmasına yönelik işlevlerin yapılması gerektiğini göstermektedir (Babu vd., 2007).

Fusarium türlerinin tanısı mikroskopik ve moleküler yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir. Mikroskopik yöntemlerle yapılan klasik tanılamada, fungus tek bir konididen veya hif ucundan saf olarak çoğaltılmakta ve spesifik besi ortamlarında kültüre alınmaktadır. *Fusarium* türleri pH'ı 6.5-7'ye ayarlanmış kültür ortamında, optimum 22-25 °C'de 7-10 gün sürede inkubasyon periyodunu tamamlayabilmektedir. Gelişen kolonilerin sporulasyonu UV ışığı veya normal

fluoresan lamba ile teşvik edilmektedir. Kültür ortamında gelişen *Fusarium* türlerinin tanısı, koloni rengi, sporodochium yapıları, makro ve mikrokonidi şekli, boyutları ve bölmeleri, makrokonidilerde bazal hücrenin yapısı, klamidospore şekli ve yoğunluğu, fialid özellikleri gibi morfolojik karakterlerine göre yapılmaktadır (Summerell vd., 2001). *Fusarium oxysporum* kompleksinin türleri ve izolatları arasındaki genetik ilişkileri belirlemek amacıyla, çeşitli biyolojik ve moleküler karakteristikleri araştırılmaktadır. Bu çalışmalara 1980 yılı ortalarında Puhalla tarafından başlanmıştır. *Fusarium oxysporum* kompleksinin forma speciales'lerinin farklılıkları vejetatif uyum gruplarına (VCG) dayanarak karakterize edilmiştir (Enya vd., 2008). *F. oxysporum* kompleksinin bir çok çalışması farklı taksonomik seviyelerin genetik varyasyonunu belirlemek amacıyla moleküler belirteçler kullanılarak yapılmıştır.

Fusarium türlerinin oldukça geniş bir varyasyon göstermesi, morfolojik olarak tür tanımındaki sınırlamalar patojen olan ve olmayan türlerin saptanmasında pek çok yanlış teşhis ve karışıklıklara yol açmaktadır. Günümüzde bu sorunu çözmek için, *F. oxysporum*, *F. solani* ve *Gibberella fujikuroi* türlerini, Tip B trikotese toksin üretenlerini de kapsayacak şekilde tür ve ırkların ayırımına olanak sağlayan 1-alpha translation elongation factor (TEF) genine özgü DNA dizilerini içeren tanılama yönelik bir veritabanı "Fusarium -ID v.1.0" oluşturulmuştur. Kullanıcılar *Fusarium* türlerinin ayırımı için bu gene özgü primerleri kullanarak dizi analizleri ile gen bankasından BLAST ve (<http://fusarium.cbio.psu.edu>) sitesinden veri sorgulamaları yaparak izolatlarını tanımlayabilmektedirler. Geiser vd (2004) oluşturduğu, herkesin ulaşabileceği ve kendi dizilerini de ekleyeceği veri tabanı yardımı ile bilinen tüm *Fusarium* türleri doğru olarak teşhis edilebilmektedir. Bu gelişen veri tabanı, sadece eldeki kültürlerin, eklenmiş verilerin dizilerini kapsamaktadır. Gelecek dönemlerde *Fusarium*-ID, eklenen diziler, aynı türden gelen diğer diziler, yeni ve yeniden düzenlenmiş türlerin dizileri, ilave edilen yeni genlerden gelen bilgileri kapsayacak şekilde genişletileceği de araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir (Geiser vd., 2004).

Kaliforniya'nın kıyı bölgelerinde (Ventura ve Santa Barbara bölgeleri) 2006-2009 arasında ticari olarak çilek üretimi yapılan alanlarda fidelerin (cv. Albion, Camarosa ve diğerleri) hastalıktan zarar gördüğü bildirilmiştir (Nelson vd., 1983).

Yapraklarda solgunluk, yaşlı yapraklarda kuruma ve solgunluk, bitkilerde gelişme geriliği belirtileri şeklinde başlayan hastalığın daha sonra bitkilerde çökme ve

ölümlere neden olduğu görülmüştür. Bu bitkinin taç kısmında iletim demetleri ve kortikal dokularda kahverengiden turuncumsu kahverengine renk değişiklikleri olduğu ve çilek çeşitlerinin farklı duyarlılık göstermediği bildirilmiştir. Bu bitkilere ait tacın iç kısmı ve yaprak sapından izolasyon yapılmış ve sonuçta *Fusarium* izolatlarının koloni morfolojilerine benzer gelişmeler saptanmıştır. Bu izolatlar Karanfil Yaprak Agar ortamında geliştirilerek makrokonidi ve mikrokonidileri incelenmiş ve etmenin *Fusarium oxysporum* olduğu belirlenmiştir (Nelson vd., 1983). Bu izolatlardan 2 tanesi genomik DNA izolasyonu yapılarak international transcribed spacer bölgelerini içeren ITS1, ITS2 ve 5,8S rRNA ITS1 ve ITS4 primerleri yardımıyla PCR'da çoğaltılmıştır. *F. oxysporum*'un 515 bp'lik PCR ürünü sekanslanarak, Gen Bankasında eşleştirilmiştir. Her iki izolat Gen Bankası'ndaki 30 *F. oxysporum*'un birkaç forma speciales'i ile %100 eşleşirken *F.oxyporum f.sp. fragariae* ile eşleşmemiştir. Sekansı yapılan her iki izolatın ve benzer özellikteki diğer 4 izolatın patojenisitesi yapılmıştır. Sekiz hafta sonra inokulasyonu yapılan bitkilerde solgunluk, yapraklarda azalma ve tacın iç kısımlarında hafif renk değişiklikleri görülmüş ve tüm bitkilerden *F. oxysporum* izole edilmiştir. Kontrol bitkilerinde ise hiçbir hastalık belirtisi görülmemiştir. Bu çalışma Kaliforniya'da çileklerde Fusarium Solgunluğu'nun varlığını gösteren ilk rapordur. Bu hastalığın ABD dışında Arjantin, Avustralya, Çin, Güney Kore, İspanya ve Japonya'da da rapor edildiği belirtilmektedir. Kaliforniya'da çileklerde Fusarium Solgunluğu'nun yoğunluğu ve şiddetinin, 2006 yılından bu yana arttığı da bildirilmiştir. 2006 yılında başlangıçta hastalık çoğunlukla küçük masuralarda görülmüş, bu masuralarda hastalık yoğunluğu % 80-100 oranında olmuştur. 2009 yılında bu hastalığın daha geniş alanlara yayıldığı görülmüştür (Koike vd., 2009).

2007 yılında yapılan bir çalışmada, İspanya'nın güney batısında Huelva'da topraksız kültür sistemlerinde Camarosa ve Ventana çeşidi çilek bitkilerinde solgunluk ve bitki ölümleri görülmüştür. Taç, kök ve çiçeklerdeki nekrotik lezyonlardan yapılan izolasyonlar sonrası besiyerinin ön yüzünde hafif mor renkli, arka yüzünde bej ya da turuncu renkli koloniler gelişmiştir. Makro ve mikro konidilerin en ve boyları (makro konidi için 28,8 - 37,3x3,2 -4.3µm, mikro konidi için 5,9- 9,2x 2,1 -3,4µm) bölme sayıları (3 -5 bölmeli) ile konidi şekilleri belirlenmiştir. PFO2 ve PFO3 primerleri kullanılarak rDNA'nın gen bölgesinin PCR ile amplifikasyonu sonrası elde edilen izolatların *F. oxysporum*'a benzer olduğu sonucuna varılmıştır. Patojenisite testleri iki defa tekrarlanmış ve inokulasyon sonrası 30 gün içerisinde inokule edilen tüm bitkilerde tarlada görülen

simptomlara benzer solgunluk belirtileri görülmüş ve bitkilerin % 75'i ölmüştür. Hastalıklı bitkilerin taç, kök ve çiçeklerindeki nekrotik lezyonlardan reizolasyon yapılarak, Koch's postulatı doğrulanmıştır. İspanya'da çilek bitkilerinde *Fusarium Solgunluğu*'na neden olan etmenin *Fusarium oxysporum* olduğu ilk defa bu çalışma ile belirlenmiştir (Arroyo vd., 2009).

Batı Avustralya'da 2005-2006 yıllarında hem fumige edilen hem de fumige edilmeyen çilek alanlarında yoğun kök ve taç çürüklükleri görülmüş ve önemli oranda bitki ölümleri meydana gelmiştir. Bazı çilek alanlarında Camarosa ve Gaviota çilek çeşitlerinin % 0-60 arasında öldüğü tespit edilmiştir. Beş farklı lokasyondan hastalık belirtisi gösteren ve göstermeyen bitkilerden, toplam 50 bitki örneği ve bitkilerin çevresinden toprak örnekleri incelenmiştir. Enfekteli olan ve olmayan kökler yıkanmış ve her bir bitkinin taçları uzunluğuna kesilerek incelenmiştir. Toplanan örneklerin % 75'inde taçlarda vasküler solgunluk ve taç çürüklüğü gözlenmiştir. Taçlardan sıklıkla *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae* izole edilmiş ayrıca taç, kök ve toprak örneklerinde ana patojen olarak *Phytophthora cactorum* tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda çileklerde kök ve taç çürüklüğüne *Pythium* spp., *Phoma* spp., *Rhizoctonia* spp., *Colletotrichum* spp., ve *Macrophomina* spp'nin birlikte neden olduğu belirlenmiştir (Golzar vd., 2007).

Kore'de çilek yetiştiriciliği yapılan farklı alanlardan 22 adet *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae* izolatu toplanmıştır. 22 adet *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae* izolatu arasındaki genetik varyasyon rDNA'nın intergenic spacer (IGS) bölgesinin RAPD ve RFLP yöntemi ile farklılıkları incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, *F.oxysporum* f.sp. *fragariae* izolatlarının herbirinin farklı olduğunu göstermiştir. *F.oxysporum* f.sp. *fragariae* izolatları arasındaki genetik varyasyonun yüksek olduğu ifade edilmiştir (Nagarajan vd., 2004).

Avustralya'nın çilek ihracatının %72'sini teşkil eden Batı Avustralya'da (Phillips ve Golzar, 2008) çileklerde taç ve kök hastalıkları, çilek üretimini ciddi şekilde etkileyen tahripkar hastalıklardan biri olarak bilinmektedir (Golzar vd., 2007; Phillips ve Golzar, 2008). Yapılan surveylerde büyük çilek üreticilerinin bulunduğu Perth bölgesi kıyılarında vejetasyon sonunda çileklerde %50'e varan kayıplar saptanmıştır (Phillips ve Golzar, 2008). Batı Avustralya'da 2008 yılında ticari amaçla üretim yapan çilek alanlarında taç ve kök hastalıklarının şiddetini (önemini) belirlemek, hastalığa neden olan patojenlerin tanılanması, ürünlerin

münavebesi, fumigasyon, topraktaki besin maddeleri ve hastalık şiddetine pH'nın etkisini belirlemek amacıyla surveyler yapılmıştır. Survey yapılan alanlar arasında çökme/ölüm indeksinin (DI) % 2,9- 39,7 arasında değiştiği görülmüştür. Çilek bitkilerinin çökme/ölüm miktarları Ağustos ayından Ekim ayına kadar önemli ölçüde artmış, ölüm oranları (DI) %13-39,2 olmuştur. Fumigasyon yapılan masuralarda DI %7,1, yapılmayan alanlarda ise % 45,2 olmuş, fumigasyon yapılan ve yapılmayan alanlar arasında çilek bitkilerinde çökme/ölüm oranı farkı önemli bulunmuştur. Bununla birlikte 3 yıl veya daha fazla ürün rotasyonu yapılan yerlerde fumigasyon yapılmamış olsa dahi çilek bitkilerinin çökme/ölüm oranının düşük olduğu bildirilmiştir. Hem taç ve hem de kök hastalıklarının şiddeti ile çilek bitkilerinin çökme/ ölüm oranı arasında pozitif bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Toprak pH'sı ile ve çilek bitkilerinin çökme/ölüm oranı arasında önemli düzeyde negatif bir korelasyon bulunmuştur. Yapılan çalışmalar sonunda *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia* spp. (AG-A, AG-C, AG-I, AG-K ve diğerleri), *Cylindrocarpon destructans*, *Phoma exigua*, *Gnomonia fructicola*, *Phytophthora cactorum*, *Pythium ultimum* ve *Macrophomina phaseolina* çilekte taç ve kök hastalıklarına neden olan ana patojenler olarak bulunmuştur. *Fusarium oxysporum* taçlardan %42, köklerden *Rhizoctonia* spp. %11,8 ve *C.destructans* %12 oranında izole edilmiştir. Bu çalışma ile ilk kez Batı Avustralya'da çilek üretiminin taç ve kök hastalıklarından dolayı ciddi kayıplar verdiği ve bu hastalığın etkilerinin fumigasyon yapılmayan alanlarda daha fazla olduğu, düşük toprak pH'sının da (4,5_6 CaCl₂) kısmen etkili olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışma ayrıca Batı Avustralya'da (WA) *F. oxysporum*'un taç hastalıklarında ana patojen, *Rhizoctonia* spp.'nin ise kök hastalıklarında önemli patojenler olduğunu göstermiştir (Fang vd., 2011b).

2.2.2. Hastalık Etmenlerinin Mücadelesi ile İlgili Çalışmalar

Dünya’da çilek üretiminde karşılaşılan toprak kaynaklı fungal hastalıkların mücadelesine yönelik çalışmalar incelendiğinde, bu çalışmaların temiz üretim materyali kullanmak koşulu ile toprak dezenfeksiyonu uygulamalarını içerdiği görülmektedir.

Son yıllarda çilek alanlarında görülen önemli bitki ve ürün kayıplarına neden olan taç ve kök hastalıklarının etkisini azaltmak için sağlıklı ve sertifikalı fideler kullanmak, farklı ürün rotasyonları, iyi toprak işleme, toprağa organik madde karıştırma, ağır ve su tutmuş topraklarda çilek yetiştirmemek, bitkilerin yüksek yastıklara dikilerek toprak drenajını iyileştirmek ve özellikle bitki dikilmeden önce toprak dezenfeksiyonu gibi yöntemler kullanılmaktadır (Himmerlick ve Dozier, 1991; Martin ve Bull, 2002). Ancak toprak fumigasyonunda methyl bromide (MB)’nin yasaklanması çilekte toprak kökenli patojenlerin yönetiminde alternatif fumigantların ve diğer yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu hale getirmiştir (Easterbrook vd., 1997).

Bu alternatifler arasında chloropicrin (CP), methyl iodide, metam sodium (MS), Dazomet, 1,3-dichloropropene (D):chloropicrin karışımı (1,3D:CP), metam potassium gibi kimyasallar ile çiftlik gübresi, solarizasyon ve plug fide kullanımı bulunmaktadır (Serçe, 2011). MB’ün kullanım alanının çok geniş olması nedeniyle, kullanımı tamamen yasaklandığı zaman MB ile eşdeğer etkiyi sağlayacak bir uygulama halen tam anlamıyla bulunmamaktadır. MB’e alternatif olabilecek materyalin ekonomik ve etkili olması oldukça önemlidir. Toprak fümigasyonu için önerilen kimyasallar bitki zararlılarına, ürüne, coğrafik yerleşime, yıl periyodu ve toprak türü gibi çoğu faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda MB’ ün yerini alabilecek bazı uygulamalar bulunmuştur. Ancak bunların bazılarının etkilerinin sınırlı olması ve pahalı olmalarından dolayı kullanımları pek yaygın değildir. Günümüzde solarizasyon, 1-3–dichloropropene, buhar uygulaması, chloropicrin, dazomet, metam sodium, methyl iodide, topraksız kültür, sıcak su uygulaması, bitkisel kökenli preparatlar, biofumigasyon gibi uygulamalar MB için kullanılan en yaygın alternatif uygulamalardır (Porter ve Mattner; 2002).

İspanya’da çileğin hem fidesi hem de meyveleri ekonomik olarak çok önemlidir. Çilek fideleri, İspanya’nın kuzey bölgelerinde Castilla-Leon’daki fideliklerde

üretilmekte ve fideler, her yıl İspanya ve diğer ülkelerdeki (özellikle Avrupa Birliği ülkeleri) üretim alanlarına gönderilmektedir. 1999-2000 üretim sezonunda Avrupa Birliği'nde en önemli çilek fidesi üretim alanı olan yaklaşık 1100 ha alanda 634 milyondan daha fazla çilek fidesi (% 80'i Camarosa) üretilmiştir. İspanya'da fideliklerdeki ana bitkilerin % 95'i Kaliforniya'daki ticari fideliklerden gelmektedir. Bu çalışma temiz çilek fidesinin önemi ve MB kullanımının AB ülkelerinde 2005 yılında yasaklanacak olması nedeniyle bazı toprak fumigantlarının farklı plastik örtüler kullanılarak MB'e alternatif fumigantların değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. MB veya MB+chloropicrin karışımıyla dikim öncesi toprak fumigasyonu toprak kaynaklı hastalıkları kontrol etmek için standart bir uygulamadır. Bu çalışmada çilek fidelerinde MB'e alternatif olarak chloropicrin, 1,3-dichloropropene, dazomet, metam sodium, metam potasyum ve dimethyl disulfide standart plastik örtü (PE) ve VIF (virtually impermeable film=gaz geçirmez film) ile kullanılmıştır. Çalışma 4 yıl boyunca yapılmış ve *Verticillium* Solgunluğu (*Verticillium* spp.) ve Taç Çürüklüğü (*Phytophthora cactorum*) ana hastalıklar olarak alınmıştır. Çalışma sonucunda, farklı plastik örtüler arasında fark bulunmamıştır. 1,3-D+Pic, Pic veya dazomet hastalığın varlığını büyük ölçüde azaltmış ve MB+Pic'e benzer sonuçlar vermiştir. Metam sodium ve metam potasyum sadece bir yıl hastalığın varlığını azaltmıştır. 1,3-D ve MB'in % 50 oranında azaltılmış dozları, VIF ile birlikte kullanıldığında ise çilek fideliklerinde iyi bir hastalık kontrolünün sağlandığı belirtilmektedir (De Cal vd., 2004).

İspanya'da 1998-2002 yıllarında yapılan çalışmada; MB ve bazı MB alternatiflerinin ve bununla birlikte farklı plastik örtülerin, İspanya'da çilek fideliklerinde yararlı ve zararlı toprak fungal popülasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Denemeler 5 yılı aşkın bir süre yürütülmüş, bitkilerin dikimi yapılmadan önce her yıl 2 farklı yerde uygulanmıştır. Her parselde uygulamalardan önce ve sonra örnekler alınarak, içerisinde 0,5 g/l streptomycin sulphate bulunan patates dekstroz agara ve seçici besiyerine ekimleri yapılmıştır. İzolasyonlar sonucu *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Verticillium* spp., *Phytophthora* spp. ve *Rhizoctonia* spp. tespit edilmiştir. Tüm fumigantlar toprak fungal popülasyonunu sayısal olarak azaltmış, ancak yalnızca MB:Pic ve dazomet uygulamaları fungal genus bileşiminde belirgin bir değişikliğe neden olmuştur. Dimethyl disulphide (DMDS) hariç, tüm fumigant uygulamalarından sonra, *Pythium* ve *Mortierella* popülasyonunda toplam bir azalma gözlenmiştir.

Verticillium spp. populusyonu çilek fideliklerine uygulanan fumigantlar tarafından azaltılmıştır. En düşük azalma, 1,3-D:Pic +VIF (Virtually Impermeable Film), metam sodium, metam potasium ve DMDS’de gözlenmiştir (De Cal vd., 2005).

Ayrıca, dayanıklı çilek çeşitlerinin belirlenmesi ve yetiştirilmesinin, çileğin taç ve kök hastalıklarının kontrol stratejilerinde sürdürülebilir ve en uygun maliyetli yöntem olduğu düşünülmektedir (Particka ve Hancock, 2005; MacKenzie vd., 2006; Fravel vd., 2003). Dünya genelinde mevcut çilek çeşitlerinin dikimi yapılırken bu çeşitlerin taç ve kök hastalıklarına dayanıklılıkları ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır (Fang vd., 2012).

Çilekte *F.oxysporum* f.sp. *fragariae*’nın neden olduğu Fusarium Solgunluğu Japonya’nın kuzeyinde Akita Prfecture’de soğuk bölgelerde bulunan çok önemli toprak kaynaklı bir hastalıktır. Akita Prfecture’de duyarlı çeşitlerde Marioka -16 ve Pajaro’nun mayıs ayı sonunda hava ve toprak sıcaklığının minimum 15°C’de bulunduğu devrede enfeksiyonun gerçekleştirildiği bildirilmiştir. Bu şekilde hastalanan bitkilerin ay sonunda özellikle yüksek sıcaklıkların başlamasıyla (Haziran başından ortasına) hastalanan ve ölen bitkilerin sayısının hızlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir. Bu hastalığın kontrolünde etkili bir yöntem henüz bulunamamıştır (Takahashi vd., 2002).

Batı Avustralya’da çileklerde görülen taç ve kök hastalıkları ticari çilek üretimi yapan alanlarda ciddi tahribatlara neden olmaktadır. Kontrollü koşullar altında 8 ticari çilek çeşidinin her bir patojene karşı tepkisini belirlemek ve hem fumigasyon yapılmış hem de yapılmamış masuralarda 3 ticari çilek çeşidinin taç ve kök hastalıklarına duyarlılıklarını ve verimlerini değerlendirmek için çalışmalar yapılmıştır. Tarlada yapılan çalışmalarda, Camino Real çilek çeşidi hem fumigasyon yapılmış hem de yapılmamış masuralardan en fazla verim alınmış ve hastalığa en dayanıklı çeşit olmuştur. Her çeşit için fumigasyon yapılmayan masuralarla yapılanlar karşılaştırıldığında, çöken bitki sayısı en az ve meyve verimi ise en fazla olmuştur. Hem fumigasyon yapılan hem de yapılmayan masuralarda özellikle de fumigasyon yapılmayan masuralarda ağustostan kasım ayına kadar çöken bitki sayısı artmıştır. Kontrollü koşullar altında, solgunluğa neden olan *Fusarium oxysporum*’a en duyarlı çeşit Camarosa ve en dayanıklı çeşit ise Festival olmuştur. Çift çekirdekli *Rhizoctonia* AG-A, *Cylindrocarpon destructans* ve *Phoma exigua*’ a karşı en duyarlı çeşidin Aromas ve en dayanıklı çeşidin ise Festival olduğu görülmüştür. *Gnomonia fructicola* ve *Phytophthora*

cactorum' a en dayanıklı çeşit Camino Real ve *Pythium ultimum*'a en dayanıklı çeşit ise Festival'dir. *Macrophomina phaseolina*'ya karşı en dayanıklı çeşit Albion olarak bulunurken, en duyarlı çeşit Camarosa olmuştur. Hem kontrollü çevre koşullarında hem de tarlada *Fusarium oxysporum*'a dayanıklı çeşit Camino Real olurken, Camarosa *Fusarium oxysporum*'a en duyarlı çeşit olmuştur. Festival'in *Fusarium oxysporum* ve farklı patojen gruplarına en dayanıklı çeşit olduğu dikkati çekmiştir. Avustralya'ya özgü bir çeşit olan Juliette *Fusarium oxysporum*'a Camarosa kadar duyarlı olmakla birlikte, çift çekirdekli *Rhizoctonia* AG-A'a nispeten dayanıklılık göstermiştir. Bu çalışma, sadece tarlada farklı çeşitlerde taç ve kök hastalıklarının yaygın olup olmadıkları ve verimle ilişkisini belirlemek değil, aynı zamanda Batı Avustralya'da taç ve kök hastalıkları ile ilgili olan spesifik patojenlere günümüzde mevcut olan çeşitlerin dayanıklılık farklılıklarını göstermek amacıyla yapılmıştır (Fang vd., 2012).

Yine aynı araştırmacılar tarafından yapılan bir çalışmada, Dünya'da çilek bitkilerinde önemli ekonomik kayıplara neden olan *F. oxysporum* f.sp. *fragariae* fungusunun duyarlı (Camarosa) ve dayanıklı (Festival) çilek çeşitlerinde ışık ve elektron mikroskobu yardımıyla inokulasyondan 4 saat sonrasında 7. güne kadar kök yüzeyinde ve kök içindeki kolonizasyonu incelenmiştir. Dayanıklı Festival çeşidinde etmenin spor çimlenmesi ve penetrasyonu duyarlı Camarosa'ya göre inokulasyon sonrası 4 saatten 12 saate kadar engellenmiştir. Daha sonraki kolonizasyon dikkate alındığında dayanıklı Festival bitkilerinde patojen 7. günde kökteki epidermis tabakasında sınırlandırılırken, duyarlı Camarosa'da etmenin hücreleri kök kortikal dokularında yoğun olarak kolonize olduğu gibi iletim demetleri dokularına da geçerek yayılmıştır (Fang vd., 2011a).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Aydın İli'nde çilek üretim alanlarının % 88' ini, üretim miktarının ise % 90'ını oluşturan Sultanhisar ve Köşk İlçelerinde 2009-2010 ve 2010-2011 üretim sezonunda dikim öncesi alınan çilek fideleri (cv. Camarosa, Festival, Rubygem, Sweetcharliae) çalışmanın ana materyalini oluşturmuştur. Değerlendirmeye alınan fideler frigo fide, kol fidesi ve taze fide olmak üzere üç ayrı şekildedir. Ayrıca patojenisite testleri için kullanılan sağlıklı çilek stolonları (cv. Festival) ve çeşit reaksiyon çalışmaları için kullanılan sağlıklı çilek fide ve stolonları (cv. Camarosa, Festival, Sweetcharlie, Rubygem, Fortuna, Sabrina, Sabrosa) da bu çalışmanın bitkisel materyalini oluşturmuştur.

Tarlaya dikilmeden önce alınan çilek fidelerinden elde edilen funguslar çalışmanın fungal materyalini, patojen fungusların moleküler yöntemler ile tanınması için bu izolatlardan elde edilen genomik DNA'lar, rDNA'a özgü evrensel primerler ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') ve ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White vd., 1990), *Fusarium* türleri için (TEF) translation elongation faktör 1- α genine (Geiser vd., 2004) özgü primer çiftleri EF1 (5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3) ve EF2 (5'GGARGTACCAGTSATCATGTT-3') çalışmanın diğer materyalini oluşturmuştur (O'Donnell vd., 1998).

3.2. Yöntem

3.2.1. Çilek Fidelerinden İzolasyon Çalışmaları

Aydın İli'nde 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda çilek fidelerinde (frigo fide, kol fidesi ve taze fide için ayrı ayrı olmak üzere) bulunan fungusları tespit etmek amacıyla, 2009-2010 üretim sezonunda yeni dikilecek olan 3000 da'lık üretim alanının % 10'u (300 da), ikinci üretim sezonunda %18,7'si esas alınarak çilek fide örnekleri alınmıştır. Örnekler her yıl 20 Temmuz – 20 Ağustos tarihleri arasında fideler tarlaya dikilmeden önce üretici tarlasının alanı dikkate alınarak 1 dekar için 3 fide olacak şekilde ele alınmıştır. Alınan örnekler etiketlenip naylon torbalara ve buz kutusuna konularak laboratuara getirilmiş, laboratuara getirilen örneklerden 24-48 saat içerisinde izolasyon çalışmaları yapılmıştır.

Laboratuara getirilen çilek fideleri musluk suyu altında yıkanarak, üreticinin dikim öncesi yaptığı gibi kök tuvaleti yapılmıştır. Daha sonra fideler boyuna olacak şekilde ikiye kesilerek, hem taç hem de köklerinde nekrotik lezyonlar açısından (var/yok) değerlendirilmiştir. Taç ve köklerde hastalık belirtisi olan fidelerden küçük parçalar alınarak bu parçaların yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır. Taç kısmından alınan doku parçalarının yüzey dezenfeksiyonu için % 2'lik, kök kısmından alınanlar için ise % 1'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) kullanılmıştır. Örnekler daha sonra steril damıtık su ile durulanıp, steril kurutma kağıtlarında kurutulmuştur. Parçalar Patates Dekstroz Agar (PDA- Merck) besiyerine ekilerek 24 °C'de 48-72 saat inkubasyona bırakılmış ve daha sonra petriler mikroskop altında incelemeye alınmıştır. PDA'daki gelişim açısından birbirinden farklı görünen kolonilerden PDA'a saflaştırma yapılmıştır. Elde edilen *Rhizoctonia* spp. izolatları daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C' de saklanmıştır. Bu amaçla PDA'da gelişen kolonilerin uç kısımlarından alınarak 8 mm'lik 5 disk içerisinde 0,5 ml PDB (Patates Dekstroz Broth) içeren cryo tüplere konulmuştur. Oda sıcaklığında 24 saat geliştikten sonra, cryo tübe 0,5 ml % 50'lik gliserol ilave edilip, iyice karıştırıldıktan sonra cryo tüpler -80°C'de saklanmıştır (Martin, 2000).

Fusarium spp. tekspor izolatları daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere cryo tüpler içerisinde -80°C' de (Leslie ve Summerell, 2006) ve steril kağıtlarda -20°C'de saklanmıştır. Bu amaçla *Fusarium* spp. tekspor izolatları, içerisinde Patates Dekstroz Agar (PDA) bulunan test tüplerinde (10x 75mm) yoğun bir sporulasyon oluncaya kadar geliştirilmiştir. Sporulasyonun gerçekleştiği test tüplerindeki izolatlara mikropipet yardımıyla % 15'lik gliserolden (15:85 gliserol:distile su) 2 ml konulmuş ve vortekste karıştırılarak, spor süspansiyonu 2 ml'lik cryo tüplere transfer edilmiştir. Cryo tüpler tekrar vorteks yardımıyla karıştırılarak -80°C' ye kaldırılmıştır (Leslie ve Summerell, 2006).

Ayrıca *Rhizoctonia* spp.'nin patojen izolatlarının tek hif hücrelerinden elde edilen toplam 93 izolat, tek mikrosklerotdan elde edilen 4 *Macrophomina phaseolina* izolatı ve 9 *Cylindrocarpon* spp.'nin tekspor izolatı, eğik agar ortamında + 4 °C'deki buzdolabında saklanmıştır.

3.2.2. Çilek Fidelerindeki Fungusların Bulunma Oranının Belirlenmesi

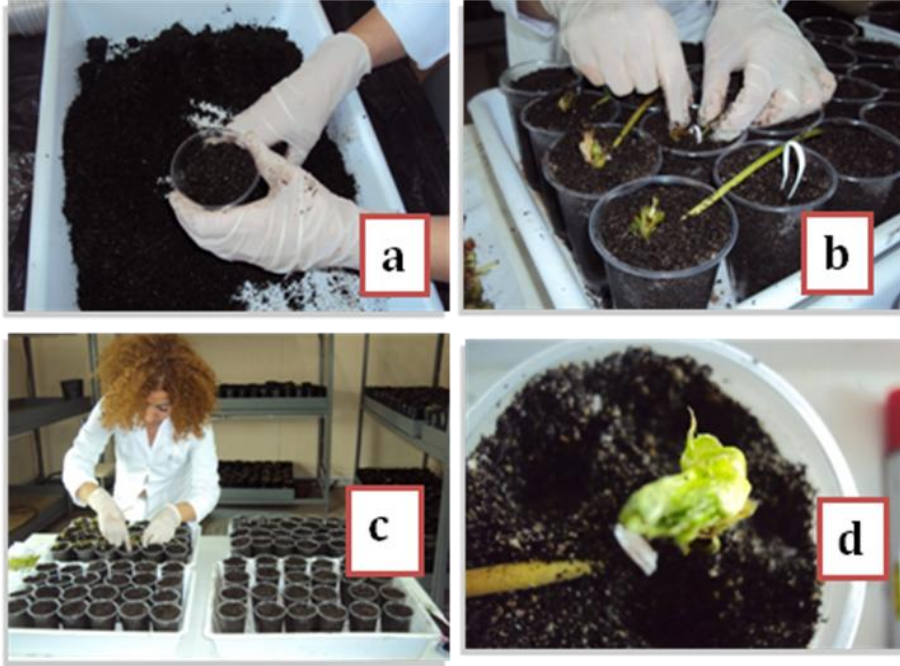
3.2.1’de belirtildiği şekilde yapılan izolasyonlar sonucunda her üreticinin fide örneklerine ait kültürler mikroskopta incelenerek cins düzeyinde tanılaması yapılmıştır. Sonuçta herbir üreticiye ait fide örneklerinde fungusların cins düzeyinde bulunma oranları belirlenmiştir. Daha sonra bu veriler dikkate alınarak, elde edilen tüm izolatların patojenisite testleri yapılmış ve incelenen fide sayısı dikkate alınarak ‘Tartılı Ortalama’ yöntemine göre yıl, çeşit, fide boyu ve orijini düzeyinde bulunma oranları hesaplanmıştır (Bora ve Karaca, 1970).

3.2.3. Patojenisite Çalışmaları

Bu çalışma, 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda çilek fidelerinden elde edilen fungusların bulunma oranları dikkate alınarak yapılmıştır.

3.2.3.1. Sağlıklı fide yetiştirilmesi

Bu amaçla kasım-aralık ve nisan- mayıs aylarında sağlıklı çilek bitkilerinin (cv. Festival) stolonlarının ucunda bulunan toprağa değmemiş bitkicikler (kök taslakları görülen) toplanarak laboratuara getirilmiştir. Tüm bitkicikler içerisinde sterilize edilmiş 2/3 kum, 1/3 torf bulunan plastik saksılarda iklim odasında ($24\pm 2^{\circ}\text{C}$ ve 16 saat aydınlık/8 saat karanlık) 4 haftalık oluncaya kadar yetiştirilmiştir (Şekil 3.1) Bitkiler dikildikten 10 gün sonra N-P-K (18-18-18) 10-15 günlük periyotlarla her saksıya 10ml [2g/l(N-P-K)] olarak verilmiştir.



Şekil 3.1. Sağlıklı bitkilerin yetiştirilmesi. Harç hazırlığı (a) ve stolonların dikimi (b,c,d)

3.2.3.2. İnokulum hazırlanması ve çiçek fidelerine uygulanması

Rhizoctonia spp.

Patojenisite çalışmaları için *Rhizoctonia* spp.'nin PDA'daki 7 günlük kültürleri kullanılmıştır. İçerisinde 67 g yulaf kepeği, 67 g vermikulit ve 40 ml destile su bulunan inokulum harcı hazırlanmış ve hazırlanan harç 2 gün üst üste 121°C'de 1saat otoklav edilmiştir. Her izolat için gelişen kültürlerden alınan 1'er adet disk, sterilize edilen inokulum harcına konulmuş ve 25°C'de 2 hafta inkubasyona bırakılmıştır. Gelişen inokulum % 0,75 (ağırlık/ağırlık) oranında toprağa karıştırılmıştır (Şekil 3.2). İklim odasında yetiştirilen sağlıklı fideler, saksılarından çıkarılarak, içerisinde inokulum bulunan saksılara şaşırtılmıştır. Kontrol bitkileri için ise başta belirtilen inokulum harcına 1'er adet steril agar diski konulmuş ve kontrol olarak kullanılacak olan harçtan aynı oranda toprağa karıştırılmıştır. Daha sonra bitkiler 24±2 °C'de 16saat aydınlık/8saat karanlık koşullarındaki iklim odasına yerleştirilmiş ve bakım işleri yapılmıştır. Patojenisite çalışmalarında her izolat için 3 çiçek bitkisi kullanılmıştır. İnokulasyondan 2, 3, 4 ve 5 hafta sonra

bitkilerin hastalık seyri izlenmiştir. İnokulasyondan 5 hafta sonra bitkiler saksılarından uzaklaştırıldıktan sonra su dolu kaplarda yıkanarak topraklarından arındırılmıştır. Bu işlemi takiben önce çilek bitkilerinin yaş ağırlıkları alınmış ve daha sonra bitkilerin yeşil kısmı taç kısmından kesilerek kök yaş ve kuru ağırlıkları (50°C’de 48 saat tutulacak) alınmıştır (Martin, 2000; Özyılmaz, 2007). Patojenisite çalışmaları sonunda hastalıklı bitkilerden reizolasyon çalışmaları yapılmıştır.



Şekil 3.2. *Rhizoctonia* spp.’nin inokulum hazırlığı (a,b,c) ve inokulum verilmiş saksılara bitkinin şaşırtılması (d)

Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina

Patojenisite çalışmalarında *Fusarium* spp. ve *Macrophomina phaseolina*’nın PDA’daki 10 günlük kültürleri kullanılmıştır. İnokulasyon kürdan metodu ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla yuvarlak, tahta kürdanlar kullanılarak bunlar bir saat süre ile damıtık suda kaynatılmıştır. Kürdanlar otoklavda 121 °C’de 20 dakika sterilize edilmiştir (Benlioğlu vd., 1998). Daha sonra içerisinde PDA bulunan petrilere kürdanlar yerleştirilmiştir. Petrinin ortasına 4mm’lik *Fusarium* spp. veya *Macrophomina phaseolina* diski konularak, 24 °C’de 10 gün inkubatörde bırakılmıştır.

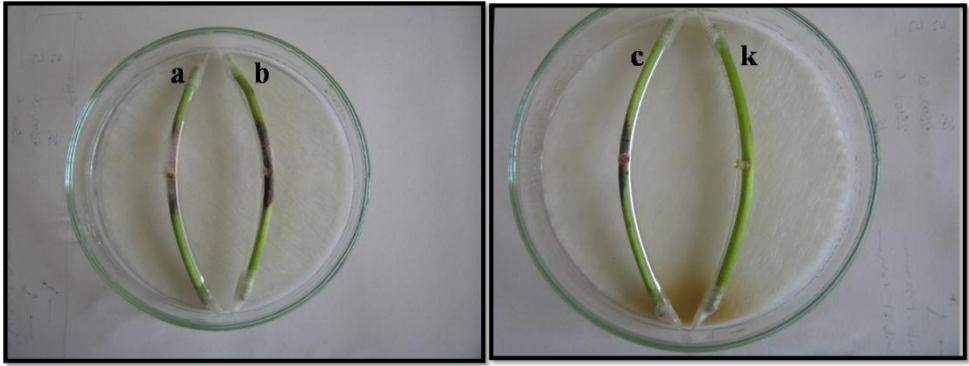
Daha sonra inokulumlu kurdanlar çilek fidelerinin (her izolat için 3 bitki) taç kısmına 4-5mm derinliğinde batırılmıştır. Kontrol için ise çilek fidelerinin taç kısımlarına steril ve PDA'a aktarılan kurdan batırılmış ve bitkiler 24 ± 2 °C'de 16 saat aydınlık/8 saat karanlık koşullarındaki iklim odasına yerleştirilmiştir. *Fusarium* spp.'nin hastalık belirtileri inokulasyondan 8 hafta sonra değerlendirilmiştir (Benlioğlu vd., 1998). *Macrophomina phaseolina*'nın hastalık şiddeti inokulasyondan 2 ay sonra değerlendirilmiştir. Bu amaçla 0-2 skalası (0: hastalık belirtisi yok, 1: enfekteli bitkilerin yapraklarında klorotik lekeler veya solma, 2: ölü bitki) kullanılmıştır (Aviles vd., 2009). Patojenisite çalışmaları, Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre ve her izolat için 3 tekerrürlü olarak yürütülmüş ve patojenisite çalışmaları sonunda hastalıklı bitkilerden reizolasyon çalışmaları yapılmıştır.

Yapılan patojenisite çalışmalarında kontrol olarak bırakılan bitkilerden de *Rhizoctonia* spp. ve/veya *Fusarium* spp. elde edilmiştir. Yukarıda da belirtildiği gibi, bu durum bize tarladan hastaliksız olarak geldiğini düşündüğümüz bitkilerin bile hastalıklı olabileceğini düşündürmüştür. Nitekim mevcut izolatların tümünün patojenisite çalışmasına alınabilmesi için çok sayıda sağlıklı bitkiye gereksinim duyulması, stolonlardan bitkilerin elde edilmesi aşamasında köklendirilmeye alınan bitkilerin yarı yarıya elden çıkması nedeniyle patojenisite çalışmalarında daha hızlı ve güvenilir sonuçlar alınabileceğini düşündüğümüz stolonlar kullanılmıştır.

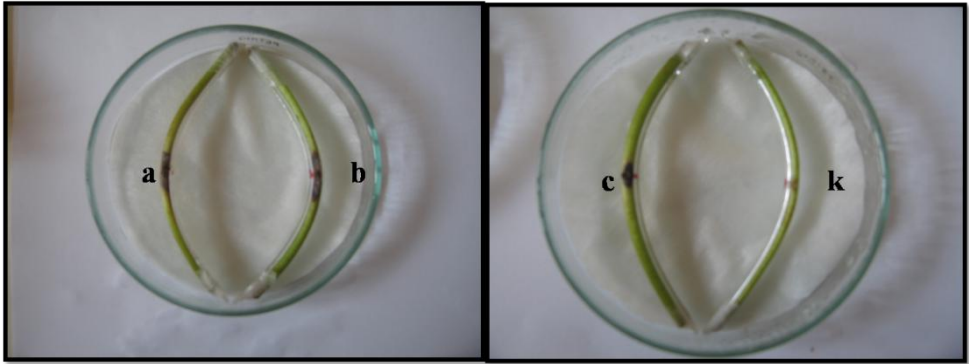
3.2.3.3. Stolonlarda Patojenisite Çalışması

Bu amaçla hem 2010 hem de 2011 yılı çilek üretim sezonunda, kasım-aralık ve mart-haziran aylarında sağlıklı çilek bitkilerinin (cv.Festival) stolonları toplanarak laboratuara getirilmiştir. Daha sonra laboratuara getirilen stolonlar musluk suyu altında yıkandıktan sonra damıtık sudan geçirilmiştir. Stolonların taze kısımlarından 7-8 cm'lik parçalar kesilmiş ve bu stolon parçaları plastik çubuklara parafilm ile sarılmıştır. Daha sonra stolonlara yüzey dezenfeksiyonu (% 70' lik etil alkol) uygulanmıştır. Bu arada 9 cm'lik steril petri kaplarına 2 adet steril kurutma kağıdı yerleştirilmiş ve kağıtlar 3,5 ml damıtık saf su ile ıslatılmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu uygulanan stolonlar bu petri kaplarına yerleştirilmiştir. Stolonların orta kısmında her izolat için eşit büyüklükte yara açılarak 7 günlük *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp. (Şekil 3.3), *Cylindrocarpon* spp. (Şekil 3.4) ve

Macrophomina phaseolina'nın 4 mm'lik diskleri ters çevrilerek konulmuştur. Kontrol için 4 mm'lik steril agar diskleri kullanılmıştır. İnokulasyon sonrası petrilerin etrafı parafilm ile sarılmış ve petriler 24 ± 2 °C'de 16 saat aydınlık/8 saat karanlık koşullarındaki iklim odasına yerleştirilmiştir. Patojenisite çalışmaları her izolat için 3 tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüştür. İnokulasyondan 5-7 gün sonra lezyon uzunlukları dijital kumpas yardımıyla ölçülmüş ve lezyon uzunlukları kaydedilmiştir (Yıldız and Benlioglu, 2013).



Şekil 3.3. *Fusarium* spp.'nin Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisite testi (a,b,c: infekteli; k: kontrol)



Şekil 3.4. *Cylindrocarpon* spp.'nin Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisite testi (a,b,c: infekteli; k: kontrol)

3.2.4. Tanılama Çalışmaları

3.2.4.1. Klasik tanılama

Patojenisite çalışmaları sonunda patojen olduğu belirlenen izolatların tanılama çalışmaları yapılmıştır.

Rhizoctonia spp.

Rhizoctonia spp.'nin tanılanmasında, boyama yöntemi vejetatif hif hücrelerindeki çekirdek sayılarını belirleyen önemli bir metottur (Sneh vd., 1998). Bu amaçla araştırmacılar tarafından birkaç boyama metodu geliştirilmiştir. Ancak DAPI ile çekirdekler çok daha net boyanmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda DAPI ile boyama yöntemi kullanılmıştır.

Rhizoctonia spp. izolatlarının hif hücrelerindeki çekirdek sayısı floresan boya diamino-2-phenylindole (DAPI) kullanılarak floresan mikroskopta belirlenmiştir. *Rhizoctonia spp.* izolatlarının herbirinin ekimi içerisinde 1mm kalınlığında % 1,5'lik Su Agar (SA) bulunan 6 cm'lik petri kaplarına yapılmıştır. Ekimi yapılan kültürlerin etrafına % 0,5'lik PDA'ya daldırılmış 4 adet steril lamel yerleştirilerek, kültürler 24 C'de 3-4 gün süre ile geliştirilmiştir. Her bir izolat için lameller üzerinde gelişmiş olan hiflerin fiksasyonu % 3'lük formaldehit ile yapılmış ve daha sonra steril damıtık su ile yıkanmıştır. Yıkama işlemini takiben lameller % 1'lik DAPI ile 4 dakika boyanmış ve ardından steril damıtık suda 3 dakika bekletilerek boyadan arındırılmış ve steril kurutma kağıtlarına yerleştirilmiştir. Daha sonra *Rhizoctonia spp.* izolatlarının hif hücrelerindeki çekirdek sayıları floresan mikroskopta 100X oil immersion objektif kullanılarak belirlenmiştir (Martin, 1987).

Fusarium spp.

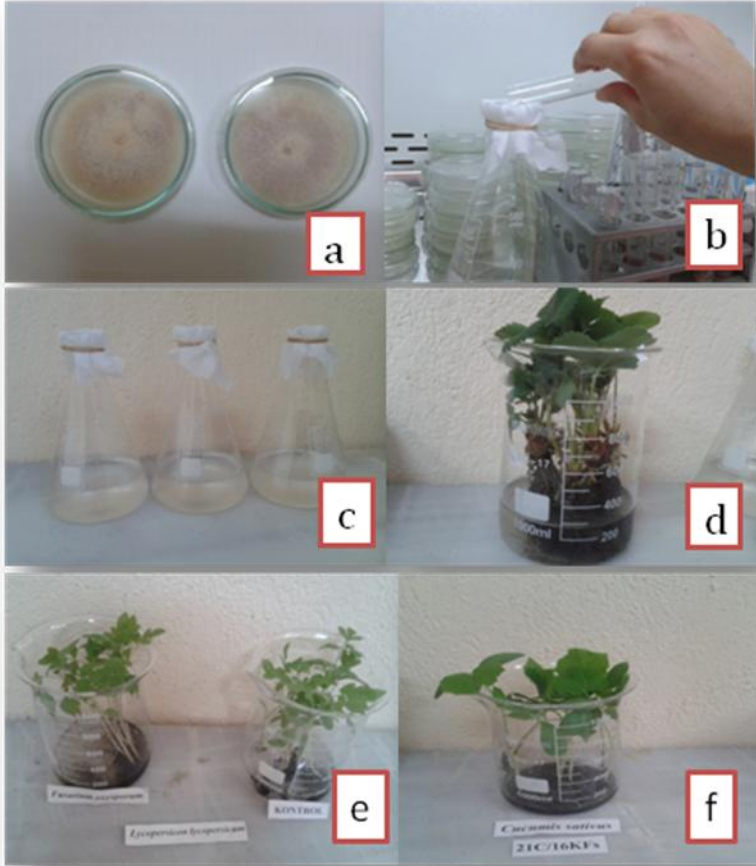
Patojen *Fusarium spp.* izolatlarının öncelikle tek sporları elde edilmiştir. Bu amaçla patojenisite çalışmaları sonunda elde edilen *Fusarium spp.* izolatları, PDA'da 24°C'de 7 gün süreyle geliştirilmiştir. Petride gelişen izolatların üzerine, litresinde 1-2 damla Tween 80 bulunan steril damıtık sudan 2-3 ml konulmuştur. Elde edilen spor süspansiyonunun hemacytometrede yoğunluğu saptanmış ve konsantrasyonu 10^3 spor/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu spor

süspansiyonundan mikropipetle 100µl alınarak içerisinde Su Agar (SA) bulunan petrilere ilave edilmiş ve süspansiyon steril bir bageet yardımıyla dağıtılarak $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de inkubasyona bırakılmıştır. İnokulasyondan 16-18 saat sonra petrilere mantar delici (cork borer) yardımıyla 2 mm çaplı diskler açılmış ve diskler mikroskop altında incelenmiştir. İçerisinde bir adet çimlenmiş spor bulunan disk/diskler öze yardımıyla alınarak petri kaplarındaki PDA ortamına aktarılmış ve inkubatörde 24°C 'de 5 gün geliştirilmiştir. Tek spor izolatları daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere PDA'lı tüplere (16mm çaplı) aktarılmış ve etmen gelişimini tamamladıktan sonra tüpler $+4^{\circ}\text{C}$ 'deki buzdolabına kaldırılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda tek spordan gelişen *Fusarium* kolonilerinin makroskobik ve mikroskobik incelemelerle koloni rengi, makrokonidi, mikrokonidi, klamidospor, konidiofor ve fialid özellikleri dikkate alınarak türleri belirlenmiştir (Nelson vd., 1983). Bu amaçla 2009-2010 ve 2010-2011 yılı çilek üretim sezonuna ait patojen *Fusarium* spp. izolatlarının lam kültürleri yapılmıştır. 2 adet 9 cm'lik steril cam petrilere 2 şer adet steril kurutma kağıdı ve üzerine 2 ml steril damıtık su konularak nemli hücre oluşturulmuştur. Daha sonra steril kürdanlar üzerine steril lam konularak bir petriye 2 adet steril SA plağı, diğer petriye ise 2 adet steril Carnation Leaf Agar (CLA) plağı konulmuştur. Sonra bu plakların her iki yanına öze ile izolatların ekimleri yapılmıştır. Kültürler 20°C ' de 2 gün inkubasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası her bir izolatın makrokonidi, mikrokonidi, klamidospor, konidiofor ve fialid özellikleri dikkate alınarak tür tanımlamaları yapılmıştır. Ayrıca her iki yıla ait *Fusarium* spp. izolatlarının hem SA hem de CLA'a ekimleri yapılarak 25°C 'de 4 hafta inkubasyona bırakılmıştır. Daha sonra bu izolat mikroskop altında incelenerek klamidospor oluşturup oluşturmadıkları var/yok olarak kaydedilmiştir (Leslie ve Summerell, 2006).

Çilekte patojen olan *Fusarium oxysporum* izolatlarının form specialeslerini belirlemek amacıyla bazı izolatların duyarlı çilek (cv. Camarosa), domates (cv. Süper Marmande) ve hıyar (cv. Çengelköy) bitkilerinde patojenisiteleri yapılmıştır. Bu amaçla 4 haftalık çilek, domates ve hıyar fidelerinin kökleri spor süspansiyonuna (10^5 spor/ml) daldırılarak inokulasyon yapılmıştır (Şekil 3.5). Kontrol için denemeye alınan tüm bitkilerin kökleri musluk suyuna daldırılarak bitkilerin dikimi yapılmıştır. İnokulasyondan sonra bitkiler $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 16 saat aydınlık/8 saat karanlık koşullarındaki iklim odasına yerleştirilmiştir. Patojenisite çalışmaları her izolat için 5 tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüştür. İnokulasyondan 8 hafta sonra bitkilerde solgunluk belirtisi var/yok şeklinde

değerlendirme yapılmıştır. Patojenite çalışmaları sonunda denemeye alınan bitkilerden reizolasyon çalışmaları yapılmıştır (Golzar vd., 2007).



Şekil 3.5. Patojen *Fusarium oxysporum*'un inokulum hazırlığı (a,b,c),çilek fidelerinin (d), domates (e)ve hıyar (f) bitkilerinin spor süspansiyonuna daldırılması

Macrophomina phaseolina

Macrophomina cinsi içinde sadece bir tür bilinmektedir ancak bu türün farklı familyalara (Asteraceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Poaceae) ait bitkilerinden elde edilen izolatları arasında geniş bir varyasyonun bulunduğu bildirilmektedir. *Macrophomina* izolatlarının tanılanması genellikle morfolojik özelliklerine dayanmaktadır. *Macrophomina phaseolina* merkezde siyah renkli mikrosklerotları çevreleyen tüy gibi beyaz miselyum halkası olarak görülmektedir (Ndiaye vd., 2007)

***Cylindrocarpon* spp.**

Cylindrocarpon genusu (telemorph: *Neonectria*=*Ilyonectria*) tanımlanmış yaklaşık 125 türü içermektedir. Hem anamorph hem de telemorph devresi *Cylindrocarpon* türlerini tanılamak için kullanılabilir. Koloni pigmentasyonu, gelişme oranı, klamidospore oluşumu, makrokonidi/mikrokonidi şekli ve büyüklükleri başlıca morfolojik özellikleridir. Morfolojik özellikleri fungal tanılamada yaygın olarak kullanılmasına rağmen, türlerin ayırımında tek başına yeterli değildir (Petit ve Gubler, 2005).

3.2.4.2. Moleküler tanılama

2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda çilek fidelerinden elde edilen ve patojenite çalışmaları sonunda patojen olduğu belirlenen *Rhizoctonia* spp., *Macrophomina phaseolina* ve *Cylindrocarpon* spp. izolatlarının moleküler yöntemlerle tanılanması rDNA'ya özgü ITS1/ ITS4 primer çifti (White vd., 1990), *Fusarium* türleri için ise "translation elongation factor 1- α " (TEF) genine (Geiser vd., 2004) özgü primerler (EF1/EF2) kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılan ürünlerin sekans analizi ve gen bankasındaki veriler ile karşılaştırılması esas alınarak yapılmıştır (O'Donnell vd., 1998).

3.2.4.2.1. DNA ekstraksiyonu

PCR çalışmalarında kullanılan genomik DNA Cenis (1992)' de belirtilen DNA ekstraksiyon yönteminden yararlanılarak elde edilmiştir. Bu amaçla, 2009-2010 ve 2010-2011 yılı çilek fidelerinden elde edilen, patojen, tek spor *Fusarium* spp. , *Rhizoctonia* spp., *Macrophomina phaseolina* ve *Cylindrocarpon* spp. izolatları,

içerisinde PDA bulunan petri kaplarına inokule edilmiş ve petriler 24 °C' de 2 gün inkubasyona bırakılmıştır. İki gün sonra bu izolatların her birinden alınan 2' şer adet 2 mm'lik fungal disk, cam tüplerdeki Czapek-Dox besiyerine inokule edilmiş ve tüpler 2-3 gün oda sıcaklığında (25 °C) çalkalama aletinde geliştirilmiştir. Bu sürenin sonunda tüplerde gelişen misel steril iğne ile steril kurutma kağıtlarına alınmış, 1,5 ml'lik ependorf tüplere aktarılmış ve DNA ekstraksiyonu yapılmaya kadar – 80°C'de stoklanmıştır (Cenis, 1992).

Toplam genomik DNA Cenis (1992)'de belirtilen protokole göre ekstrakte edilmiştir. Bu amaçla -80°C de saklanan pellet içeren örnekler oda sıcaklığında çözüldükten sonra her tüpe 300 µl extraction buffer (200 mM Tris-HCl [pH 8,5] 250mM NaCl, 25 mM EDTA ve % 0,5 sodium dodecyl sulfat) konularak 5 dakika homojenize edilmiştir. Daha sonra tüpler 37°C'de gece boyu tutulmuştur. Her tüpe 150 µl 3M'lık sodium acetate (pH 5,2) eklenmiş ve karışım 10 dk 20°C'de soğutulmuştur. Tüpler 13.000 rpm'de 5 dk. santrifüj edildikten sonra supernatant yeni bir tüpe aktarılıp, üzerine eşit miktarda isopropanol ilave edilmiştir. DNA daha sonra 13.000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek pellet haline getirilmiştir. Pellet % 70 ethanol ile yıkandıktan sonra 13.000 rpm'de 3 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant döküldükten sonra tüpler steril kurutma kağıtları üzerinde ters çevrilerek steril kabin içinde 20 dk kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra T10E1 tamponundan (10mM Tris- Cl [pH 8.0] +1mM EDTA)'da tekrar çözülmüş ve -20°C'de saklanmıştır.

3.2.4.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR analizi 40 µl' lik hacim içinde, 1 x PCR buffer [50mM KCl, 20mM Tris- HCl (pH 8,4)], 2mM MgCl₂, 200 µM deoxynucleoside triphosphates (dNTPs), 2 µM primerler (ITS1/ITS4 ve EF1/EF2), 2 Unit taq polymerase (Fermentas) ve 4 µl kalıp DNA örneği kullanılarak Eppendorf Personnel® thermal cycler'da gerçekleştirilmiştir. DNA amplifikasyonu için PCR koşulları her iki primer için 94°C'de 3 dakikada başlangıç çevrimi, daha sonra 94°C'de 5 sn, ITS1/ITS4 için 55 °C'de; EF1/EF2 için 53°C'de 10 sn, her iki primer için 72°C'de 10 sn olmak üzere 35 çevrim ve son olarak da 72°C'de 3 dakikada 1 çevrim yapılarak yürütülmüştür (Manici ve Bonora, 2007; Geiser vd., 2004).

Elde edilen her PCR ürünü (ITS1/ITS4 için 550-570, EF1/EF2 için 700 bp) % 1-1,5 agaroz jelde (30 dk, 45 V) yürütüldükten sonra 0,5 µg/ml etidyum bromür

içeren solusyonda 15-20 dk boyanarak UV transilliminatör yardımı ile bantların görüntülenmesi şeklinde yapılmıştır. Her fungusu özgü PCR ürünü sekans analizi yapan MacroGen Europe (www.macrogen.com) biyoteknoloji firmasında baz dizileri belirlenmiştir.

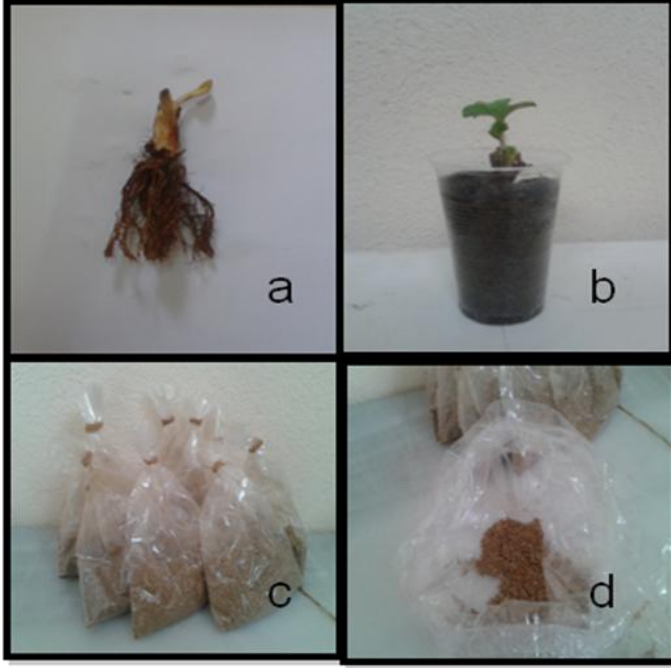
3.2.4.2. 3. Dizi analizi

Her fungusu özgü PCR ürünleri (ITS1 ve ITS4 için 500-800 bp; EF1/EF2 için 700 bp) Hollanda Amsterdam'da bulunan MacroGen Europe biyoteknoloji firmasında gönderilerek baz dizileri belirlenmiştir. Baz dizileri belirlenen her örneğe ait sekans dosyaları (ab1) Applied Biosystems (Sequencing Analysis Software v5.1) bilgisayar programında değerlendirilmiş ve sekans kalite (QV) değerleri saptanmıştır. Kalite değerleri (> %10) dikkate alınarak programda belirtilen eşik değere uygun baz dizileri seçilmiş ve GEN Bankasındaki veriler ile dizi analizi (BLAST- <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) yaptırılmıştır. Dizi analizinde ITS1 ve ITS4 primerleri ile çoğaltılan rDNA genlerinin analizi için takson olarak fungi seçilmiş, EF1 ve EF2 primerleri ile çoğaltılan ön tanısı *Fusarium* spp. olan izolatlar için *Fusarium* veri tabanı (<http://fusarium.cbio.psu.edu>) kullanılmıştır. *Rhizoctonia* spp. izolatlarının BLAST analizi sonrası türleri ve anastomosis grupları da belirlenmiştir. Daha sonra her *Rhizoctonia* sp. izolatına ait baz dizileri yine kendi aralarında MEGA version 5.2 bilgisayar programı ile çoklu dizi hizalaması (multiple sequence alignment) yapılarak Kimura 2 Parametre Modeli (2PM) ile filogenetik ağaç (neighbour joining tree) elde edilmiştir. Aynı programdan yararlanılarak filogenetik ağacın güvenilirliği seç bağla testi (bootstrap) yöntemi ile eşik değer %50 alınarak 500 tekrarlı olarak hesaplanmıştır (Tamura vd., 2013).

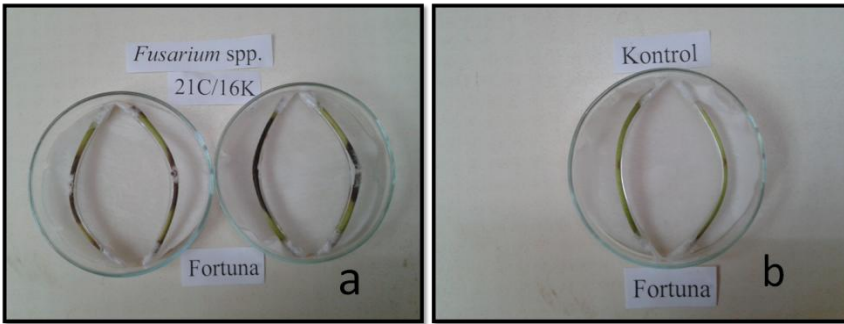
3.2. 5. Çeşit Reaksiyon Çalışmaları

Bu çalışmada, 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda çilek fidelerinde bulunma oranı en yüksek olan *Fusarium oxysporum* (19C/87K) ve *Rhizoctonia* spp. (6F/10K bn ve 23C/14K mn)'nin virülensi yüksek izolatlarına karşı ülkemizde yaygın olarak üretimi yapılan çeşitlerin (cv. Fortuna, Festival, Camarosa, Rubigem, Sabrosa, Sabrina) duyarlılıkları belirlenmiştir. Denemeler Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 4 bitki olacak şekilde yürütülmüştür. Yukarıda belirtilen çilek çeşitlerinin yetiştirilmesi, inokulum hazırlığı ve patojenlerin inokulasyonu 3.2.3.'de belirtilen yöntemle (Şekil

3.6) göre yapılmış ancak karşılaşılan sorunlar nedeniyle denemeler 3.2.3.3'deki gibi çeşitlere ait stolonlarda yürütülmüş (Şekil 3.7) ve elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.



Şekil 3.6. Çeşit reaksiyonu için çilek fidelerinin yetiştirilmesi ve inokulum hazırlığı (*Rhizoctonia* spp.) (a: Kökü traşlanmış fide, b: Saksıya dikimi yapılmış fide, c: İnokulum verilmiş harç, d: İnokulumun karıştırılması)



Şekil 3.7. Fortuna çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu denemesi (a: İnokulum verilen stolonlar, b: kontrol)

3.2.6. İstatistiki Analizler

Denemeler süresince elde edilen veriler JMP® 11.0.0 programına (SAS Institute, Cary, NC, USA) (P = 0.05).göre değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Çilek Fidelerinden İzolasyon Çalışmaları

Aydın İli'nde 2009-2010 çilek üretim sezonunda 19 üreticiye ait 21 tarlayı (toplam 301 da) temsilen 884 adet fide örneği alınmıştır. İncelenen fidelerin yaklaşık % 83'ünü Camarosa, % 13,6'sını Festival ve %3,4'ünü Sweetcharlie çeşidi oluşturmuştur. Camarosa çeşidine ait fidelerin % 18,75'ini frigo fide, % 81,25'ini ise üreticilerin kollardan aldığı fideler oluşturmaktadır. Değerlendirmeye alınan frigo fidenin yaklaşık % 40,3'ünü 1. boy, % 59,7'sini ise 2.boy fide oluşturmuştur. Laboratuarda makroskobik olarak değerlendirilen, taç ve/veya köklerinde hastalık belirtisi görülen 837 adet fideden izolasyon yapılmıştır (Çizelge 4.1).

2010-2011 çilek üretim sezonunda toplam 28 üreticiye ait yaklaşık 562 da alandan 1482 adet fide örneği alınmıştır. İncelenen fidelerin % 57,2'sini Camarosa, % 21,9'unu Festival, % 19'unu Rubygem, % 1,8'ini ise Sweetcharlie çilek çeşidi oluşturmuştur. Değerlendirmeye alınan fidelerin % 48,5' ini frigo fide, % 15,1'ini yeşil fide ve % 36,4' ünü ise üreticilerin kollardan aldığı fideler oluşturmaktadır. Ayrıca frigo fidenin % 62,5'i 1.boy, % 37,5'i ise 2. boy fidedir. Değerlendirmeye alınan 1443 adet fidenin taç ve köklerinde hastalık belirtisi görülen kısımlardan izolasyon yapılmıştır (Çizelge 4.2).

Her iki üretim sezonuna ait veriler incelendiğinde, Sultanhisar'da 2009-2010 üretim sezonunda Camarosa çeşidi ana çeşit (%83) konumunda iken, ikinci üretim sezonunda Camarosa çeşidinin kullanım alanının azaldığı (%57,2), Festival çeşidinin kullanılma oranının arttığı ve Rubygem isimli yeni bir çeşidin de kullanılmaya başlandığı görülmektedir. Ayrıca 2009-2010 üretim sezonunda incelenen fidelerin büyük kısmı üreticilerin kollardan ürettiği fide iken (Camarosa çeşidinin %81,25'i) , ikinci üretim sezonunda bu oran önemli ölçüde azalmıştır (%36,4).

Çizelge 4.1. 2009-2010 yılına ait çilek fide örneklerinin orijini, çeşidi, dikim alanı, incelenen ve izolasyonu yapılan fide sayısı

Üretici No	Fidenin orijini	Çeşit	Dikim alanı (da)	İncelenen fide sayısı (adet)	İzolasyonu yapılan fide sayısı(adet)
1	Kol fidesi	Camarosa	38	100	93
2	Frigo fide (1.boy)	Festival	25	75	62
3	Kol fidesi	Camarosa	30	90	88
3Y	Frigo fide (2.boy)	Camarosa	30	90	88
4	Kol fidesi	Camarosa	20	60	60
5	Frigo fide (2.boy)	Festival	5	15	11
6SC	Frigo fide (1.boy)	Sweetcharlie	10	30	23
6F	Frigo fide (1.boy)	Festival	10	30	24
7	Frigo fide (1.boy)	Sweetcharlie	2	6	3
8	Frigo fide (2.boy)	Camarosa	9	30	30
9	Frigo fide(2.boy)	Camarosa	8	24	23
10	Kol fidesi	Camarosa	8	24	24
11	Kol fidesi	Camarosa	6	18	18
12	Kol fidesi	Camarosa	15	45	45
13	Kol fidesi	Camarosa	30	83	83
14	Kol fidesi	Camarosa	8	24	24
15	Kol fidesi	Camarosa	6	18	18
16	Kol fidesi	Camarosa	7	21	21
17	Kol fidesi	Camarosa	12	36	36
18	Kol fidesi	Camarosa	5	15	15
19	Kol fidesi (2.boy)	Camarosa	17	50	48
TOPLAM			301	884	837

Çizelge 4.2. 2010-2011 yılına ait çilek fide örneklerinin orijini, çeşidi, dikim alanı, incelenen ve izolasyonu yapılan fide sayısı

Üretici No	Fidenin orijini	Çeşit	Dikim alanı (da)	İncelenen fide sayısı (adet)	İzolasyonu yapılan fide sayısı (adet)
1	Frigo fide (1.boy)	Festival	13	39	39
		Rubygem	5	15	14
	Kol fidesi	Camarosa	17	51	51
2	Frigo fide (1.boy)	Rubygem	34	24	20
		Festival	16	48	47
	Kol fidesi	Camarosa	30	90	90
3	Frigo fide(1.boy)	Festival	12	36	36
	Kol fidesi	Camarosa	35	86	86
4	Frigo fide (1.boy)	Sweetcharlie	4	12	11
	Frigo fide (2.boy)	Festival	10	30	30
	Kol fidesi	Camarosa	13	39	39
5	Frigo fide (2.boy)	Festival	7	21	21
6	Frigo fide (1.boy)	Rubygem	33	99	95
		Sweetcharlie	5	15	14
		Festival	40	120	118
7	Frigo fide (1.boy)	Camarosa	3,50	12	12
8	Kol fidesi	Camarosa	10	30	30
	Frigo fide (1.boy)	Camarosa	7	21	21
9	Frigo fide (1.boy)	Camarosa	10	30	30
10	Frigo fide (1.boy)	Camarosa	4	12	12
11	Frigo fide (2.boy)	Camarosa	15	45	45
12	Frigo fide (1.boy)	Camarosa	8	24	24
14	Frigo fide (2.boy)	Festival	7	21	21
15	Frigo fide (2.boy)	Camarosa	4	12	12
16	Kol fidesi	Camarosa	15	45	44
17	Kol fidesi	Camarosa	20	60	60
18	Frigo fide (2.boy)	Festival	3	9	9
		Camarosa	7	21	20
19	Kol fidesi	Camarosa	30	90	90
20	Kol fidesi	Camarosa	20	60	60

Çizelge 4.2. 2010-2011 yılına ait çilek fide örneklerinin orijini, çeşidi, dikim alanı, incelenen ve izolasyonu yapılan fide sayısı (devamı)

21	Kol fidesi	Camarosa	12	36	36
22	Kol fidesi	Camarosa	12	36	36
23	Kol fidesi	Camarosa	10	30	30
24	Yeşil fide	Rubygem	18	52	47
25	Yeşil fide	Rubygem	10	15	12
26	Yeşil fide	Rubygem	25	33	28
27	Yeşil fide	Rubygem	10	15	14
28	Yeşil fide	Rubygem	21	30	21
TOPLAM			561,5	1482	1443

Her iki üretim sezonuna ait fidelerden yapılan izolasyon çalışmaları sonunda her üreticinin fide örneklerine ait kültürler mikroskopta incelenmiş ve cins düzeyinde tanılaması yapılmıştır. *Rhizoctonia* spp. izolatlarının 2009-2010 üretim sezonunda bu sezona ait izolatların % 46,9'unu, *Fusarium* spp.'nin % 45,8'ini, *Cylindrocarpon* spp. ve *Macrophomina phaseolina* 'nın herbirinin ise izolatların % 0,4'ünü oluşturduğu saptanmıştır. *Phytophthora* spp. ve *Pythium* spp.'nin ise aynı üretim sezonunda sırasıyla % 0,9 ve % 0,2 sıklıkla izole edildiği belirlenmiştir. 2010-2011 üretim sezonunda da benzer şekilde *Rhizoctonia* spp. ve *Fusarium* spp. izolatlarının bu sezona ait izolatların sırasıyla % 53,2 ve % 42,6'sını oluşturduğu, bunları *Cylindrocarpon* spp. (%2)'nin izlediği, *M. phaseolina*'nın da izolatların % 0,3'ünü oluşturduğu belirlenmiştir. Bu üretim sezonunda *Phytophthora* spp. % 0,2 oranında saptanırken, *Pythium* spp. tespit edilmemiştir. Her iki üretim sezonuna ait fidelerden *Botrytis cinerea* elde edilirken, *Alternaria* spp. sadece 2009-2010 üretim sezonunda elde edilmiştir (Çizelge 4.3). İzmir İli'nde yapılan bir çalışmada tarla döneminde ve hasat sonrası dönemde çilek bitkilerinin kök ve taçlarından 2092 izolat elde edilmiş ve bu funguslar içerisinde *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp. ve *Aspergillus* spp.'nin bulunma oranının yüksek olduğu belirtilmiştir (Kapkın, 1978). Zonguldak ve Bartın illerinde yapılan çalışmada çilek üretim alanlarında toprak kaynaklı patojenlerden *Fusarium oxysporum*, *F.moniliforme* ve *Rhizoctonia solani*'nin hastalığa neden olduğu tespit edilmiştir (Gürer ve Coşkun, 1993). Benzer şekilde Pala (1987), Doğu Akdeniz Bölgesinde de çilek tarımını olumsuz yönde etkileyerek verim düşüklüğüne yol açan, kök çürüklüğü hastalığına neden olan primer patojenin *Rhizoctonia solani* Kühn. olduğunu belirtmiştir.

Aydın İli Sultanhisar İlçesinde çilek üretim alanlarında yapılan survey çalışmalarında hastalıklı çilek köklerinden 169 fungal izolat elde edilmiş ve bu izolatlardan 71'nin *R.solani*, 44'ünün *Fusarium* spp., 22'sinin *Macrophomina* sp., 16'sinin *Phytophthora cactorum*, 6'sının *Epicoccum nigrum*, 4'ünün *Pythium* spp., 4'ünün *Phoma* spp. ve 2'sinin *Verticillium dahliae* olduğu bildirilmiştir (Benlioğlu vd., 2004). Önceki çalışmalarda, hastalıklı çilek bitkilerinden yapılan izolasyonlarda elde edilen sonuçlara benzer şekilde, 2009-2010 üretim sezonunda fidelerden elde edilen izolatların %92,7'sinin, 2010-2011 üretim sezonunda da %95,8'nin *Fusarium* spp. ve *Rhizoctonia* spp.'e ait olması, ana patojenlerin bu iki fungus olabileceğini düşündürmüştür.

Dünya'da çilek üretiminin yoğun olarak yapıldığı çeşitli ülkelerde yapılan sörveyler, vejetasyon dönemi sonunda büyük çilek üreticilerinde % 50'ye varan

kayıpların olduğunu göstermiştir (Phillips ve Golzar, 2008; Fang vd., 2011b). Batı Avustralya'da bazı çilek üretim alanlarında çökme/ölüm indeksinin (DI) % 2,9-39,7 arasında değiştiği görülmüştür. Çilek bitkilerinin çökme/ölüm indeksinin (DI) ağustos ayından ekim ayına kadar %13'den %39,2'e ilerlediği belirtilmiştir. Dolayısıyla hem taç hem de kök hastalıklarının şiddeti ile çilek bitkilerinin çökme/ölüm oranı arasında pozitif bir korelasyon olduğu bulunmuştur. Ayrıca *F.oxysporum*'un taçlardan % 41,2, *Rhizoctonia* spp. ve *C.destructans*'ın köklerden sırasıyla %11,8 ve %12 sıklıkla izole edildiği ve *F. oxysporum*'un taçta ana patojen, *Rhizoctonia* spp.'nin ise kökte önemli patojen olduğu da belirtilmiştir (Fang vd., 2011b). Golzar vd. (2007) hem fumigasyon yapılan hem de fumigasyon yapılmayan çilek alanlarında yoğun olarak kök ve taç çürüklükleri tespit etmiş ve önemli oranda bitki ölümleri olduğunu belirtmiştir. Bazı çilek alanlarında Camarosa ve Gaviota çilek çeşitlerinde ise ölüm oranı % 0-60 oranında bulunmuştur. Toplanan örneklerin % 75'inde taçlarda vasküler solgunluk ve taç çürüklüğü gözlenmiştir.

Çizelge 4.3. 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen funguslar, elde edilen izolat sayıları ve izolasyon sıklığı (%)

Yıl	Funguslar	Bulaşık örnek sayısı	İzolat sayıları			İzolasyon sıklığı (%)
			Taç	Kök	Toplam	
2009-2010	<i>Rhizoctonia</i> spp.	21	21	194	215	46,9
	<i>Fusarium</i> spp.	20	29	181	210	45,8
	<i>Macrophomina</i> spp.	1	1	1	2	0,4
	<i>Phytophthora</i> spp.	2	2	2	4	0,9
	<i>Pythium</i> spp.	1	1	0	1	0,2
	<i>Botrytis cinerea</i>	7	2	15	17	3,7
	<i>Alternaria</i> spp.	20	5	2	7	1,5
	<i>Cylindrocarpon</i> spp.	2	1	1	2	0,4
	Toplam	74	62	396	458	
2010-2011	<i>Rhizoctonia</i> spp.	25	10	286	296	53,2
	<i>Fusarium</i> spp.	25	49	188	237	42,6
	<i>Macrophomina</i> spp.	2	0	2	2	0,3
	<i>Phytophthora</i> spp.	1	0	1	1	0,2
	<i>Pythium</i> spp.	0	0	0	0	0
	<i>Botrytis cinerea</i>	11	5	4	9	1,6
	<i>Alternaria</i> spp.	22	0	0	0	0
	<i>Cylindrocarpon</i> spp.	6	2	9	11	2
	Toplam	92	66	490	556	
GENEL TOPLAM					1014	

4.2. Patojenisite Çalışmaları

4.2.1. Stolonlarda Patojenisite Çalışması ve Etmenlerin Bulunma Oranları

2009-2010 yılı çilek üretim sezonunda çilek fidelerinden elde edilen *Rhizoctonia* spp. izolatlarının patojenisite çalışmaları, sağlıklı çilek bitkilerinin (cv. Festival) stolonlarının ucunda bulunan toprağa değmemiş bitkiler (kök taslakları görülen) kullanılarak yapılmıştır. Ancak iklim odası koşullarında bu bitkilerin köklendirilerek, fide elde edilmesi aşamasında büyük zorluklarla karşılaşmış ve bitkiler yarı yarıya elden çıkmıştır. Bu çalışmalar stolonların elde edilebildiği sonbahar ve ilkbahar sezonunda birkaç kez tekrarlanmış ancak yeterli sayıda bitki elde edilememiştir. Bu koşullarda elde kalan bitkilerle bazı *Rhizoctonia* spp. izolatlarının patojenisite denemesi yapılmış ancak reizolasyonlar sonucunda kontrol bitkilerinden de *Rhizoctonia* spp. elde edilmiştir. Bu durum bize tarladan hastalısız olarak geldiğini düşündüğümüz bitkilerin bile hastalıklı olabileceğini düşündürmüştür. *Fusarium* spp. izolatlarının patojenisite çalışmalarında da, *Rhizoctonia* spp. izolatların da olduğu gibi benzer sonuçlarla karşılaşmıştır. Nitekim mevcut izolatların tümünün patojenisite çalışmasına alınabilmesi için çok sayıda sağlıklı bitkiye gereksinim duyulması, stolonlardan bitkilerin elde edilmesi aşamasında köklendirilmeye alınan bitkilerin yarı yarıya elden çıkması ve yapılan denemelerde kontrol bitkilerden de benzer fungusların elde edilmesi bizi patojenisite çalışmaları için daha hızlı ve yeni bir yöntemin kullanılmasına yönlendirmiştir. Bu nedenle patojenisite çalışmalarında 3.2.3.3 de belirtildiği gibi stolonlar kullanılmıştır.

***Rhizoctonia* spp.**

Her iki üretim sezonuna ait *Rhizoctonia* spp. izolatlarının stolonlarda yapılan patojenisite denemesi sonuçları Çizelge 4.4 ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm)

Çilek Üretim Sezonu			
2009-2010		2010-2011	
İzolat No	Ortalama lezyon boyu (mm)	İzolat No	Ortalama lezyon boyu (mm)
1/14K	14,27	1C/17K	24,80
1/17K	8,08	1C/22K	2,96
1/62K	1,64	1C/28K	1,91
2/70K	7,39	1C/35K	2,29
3/10K	9,53	1C/40K	8,06
3/1K	11,23	1C/48K	11,22
3/20K	7,85	1C/53K	62,28
3/21K	30,64	1C/53T	57,08
3/32K	8,14	1C/66K	1,95
3/39K	9,55	1F/70K	46,47
3/3K	10,12	1F/77K	68,05
3/40K	3,46	1F/83K	45,02
3/48K	18,52	1F/94K	49,95
3/49K	8,63	2C/20K	11,32
3/4K	4,91	3C/30K	19,22
3/52K	18,08	3C/47K	14,89
3/56K	9,40	3F/107K	73,68
3/66K	5,18	3F/108K	72,02
3/70K	5,44	3F/109K	52,74
3/75K	16,44	3F/111K	39,16
3/81K	10,19	3F/118K	79,98
3/9K	11,11	3F/124K	70,98
3Y/13K	2,59	3F/125K	70,51
3Y/26K	9,20	3F/133K	64,93
4/14K	5,21	3F/134K	54,85
4/22K	11,67	4C/61T	43,82
4/25K	14,49	4C/64K	1,64

Çizelge 4.4. 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm) (devamı)

4/2K	6,15	4C/68K	8,66
4/3K-RH-1	4,47	4F/13K	20,78
4/4K	20,63	4F/17K	10,90
4/4T	4,73	4F/2K	21,26
4/50K	4,64	5F/5K	13,65
4/54K	6,77	8C/21K	1,90
4/60K	1,05	8C/31K	72,50
4/61K	4,51	10C/1K	61,79
5/1K	3,67	11C/27T	73,12
5/4K	48,85	16C/17K	3,65
6F/10K	53,81	16C/23K	8,44
6F/12K	6,95	16C/25K	31,29
10/12K	6,91	16C/29K	8,39
10/2K	4,28	16C/31K	46,40
10/5K	35,05	16C/38K	28,53
11/10K	10,91	16C/41K	1,88
11/18K	1,29	16C/43K	1,50
12/17K	7,61	17C/39K	8,40
12/31K	13,37	17C/42K	4,22
12/37K	2,64	17C/44K	8,42
13/11K	5,29	17C/47K	1,43
13/18K	19,15	19C/37K	2,30
13/31K	5,15	19C/66K	1,40
13/38K-2	2,46	19C/89K	17,56
13/3K	6,92	20C/14K	18,11
13/53K	6,18	20C/19K	3,76
13/58K	3,72	20C/31K	19,45
13/79K	2,45	20C/52K	3,46
14/11K	2,00	20C/60K	3,85
14/17K	13,44	21C/7K	14,33
14/18K	3,90	22C/10K	4,17
14/3K	6,68	22C/11K	52,23
14/4K	3,88	22C/14K	4,69

Çizelge 4.4. 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm) (devamı)

14/7K	23,75	22C/14T	8,90
14/9K	6,30	22C/18K	2,70
15/12T	3,64	22C/20K	13,49
15/13T	6,24	22C/23K	5,33
15/14K	3,05	22C/27K	7,70
15/8T	5,34	22C/36K	1,87
15/9K	6,86	22C/5K	5,31
16/18K	8,20	23C/13K	8,41
16/7K	7,12	23C/14K	28,04
16/8K	1,43	24R/5K	72,24
17/19K	5,70	24R/7K	53,52
17/1K	2,56	26R/28K	71,99
17/21K	2,70	26R/2K	2,94
17/26K	53,14	26R/7K	55,53
17/27K	4,13		
17/3K	4,27		
17/9K	9,91		
18/14T	0,00		
18/9K	24,08		
TOPLAM İZOLAT: 79		TOPLAM İZOLAT: 74	



Şekil 4.1. *Rhizoctonia* spp. izolatlarının Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisitesi

2009-2010 üretim sezonunda 21 üreticiden alınan fideler taç+kök olarak değerlendirildiğinde; toplam 215 adet *Rhizoctonia* spp. izolatu elde edilmiş ve yapılan patojenisite çalışmaları sonucunda izolatların % 36,7'sinin (79 izolat) patojen, 136 izolatın patojen olmadığı belirlenmiştir. Koldan üretilmiş fide kullanan 13 üreticiden alınan fidelerde patojen *Rhizoctonia* spp.'nin bulunma oranının % 0- 29,2 (sadece bir üreticide hiç bulunmamıştır), frigo fide kullanan 8 üreticiden alınan fidelerde ise bu oranın % 0-18,2 arasında değiştiği saptanmıştır. Ayrıca 2. boy frigo fide kullanan sadece bir üreticide patojen *Rhizoctonia* spp.'nin bulunma oranı %18,2 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5).

2009-2010 üretim sezonunda örnek alınan fidelerin çeşit, fide orijini ve fide boyuna göre patojen *Rhizoctonia* spp. açısından bulaşıklık durumları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Yapılan değerlendirmelerde örnek alınan 21 üreticiden 5 tanesinin fide örnekleri patojen *Rhizoctonia* spp. açısından temiz bulunmuştur. Bu üretim sezonunda fide boyu göz ardı edilerek çeşit bazında yapılan değerlendirmede Camarosa en bulaşık (%10,2) çeşit olmuş ve bunu % 5,1'lik bulunma oranı ile Festival çeşidi izlemiştir. 2009-2010 üretim sezonunda Sweetcharlie çeşidinde *Rhizoctonia* spp. tespit edilmemiştir. Elde edilen verileri fide orijini açısından ele aldığımızda frigo fidelerde patojen *Rhizoctonia* spp.'nin bulunma oranı % 2,7 iken, kollardan üretilen fideler yaklaşık 5 kat (% 12,4) daha bulaşık bulunmuştur. Patojen *Rhizoctonia* spp.'nin 1.boy ve 2.boy frigo fidelerde bulunma oranı sırasıyla % 2,5 ve % 3,1 olmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.5. 2009-2010 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri esas alınarak elde edilen, patojen *Rhizoctonia* spp. izolat sayıları ve patojen izolatların bulunma oranı

Üretici No	Çeşit	Fide orijini	İncelenen fide sayısı	<i>Rhizoctonia</i> spp,							
				Elde edilen izolat sayısı		Patojen izolat sayısı			Bulunma oranı (%)		
				Taç	Kök	Taç	Kök	Toplam	Taç	Kök	Toplam
1	Camarosa	Kol fidesi	93	1	25	0	3	3	0	3,2	3,2
2	Festival	Frigo fide(1.by)	62	0	8	0	1	1	0	1,6	1,6
3	Camarosa	Kol fidesi	88	0	25	0	18	18	0	20,5	20,5
3Y	Camarosa	Frigo fide (1.by)	88	1	6	0	2	2	0	2,3	2,3
4	Camarosa	Kol fidesi	60	3	21	1	10	11	1,7	16,7	18,3
5	Festival	Frigo fide (2.by)	11	0	3	0	2	2	0	18,2	18,2
6SC	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	23	0	0	0	0	0	0	0	0
6F	Festival	Frigo fide (1.by)	24	0	8	0	2	2	0	8,3	8,3
7	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	3	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Camarosa	Frigo fide (2.by)	30	0	2	0	0	0	0	0	0
9	Camarosa	Frigo fide (2.by)	23	0	1	0	0	0	0	0	0
10	Camarosa	Kol fidesi	24	2	10	0	3	3	0	12,5	12,5
11	Camarosa	Kol fidesi	18	2	11	0	2	2	0	11,1	11,1
12	Camarosa	Kol fidesi	45	1	5	0	3	3	0	6,7	6,7
13	Camarosa	Kol fidesi	83	0	20	0	8	8	0	9,6	9,6
14	Camarosa	Kol fidesi	24	1	13	0	7	7	0	29,2	29,2
15	Camarosa	Kol fidesi	18	3	4	3	2	5	16,7	11,1	27,8
16	Camarosa	Kol fidesi	21	1	13	0	3	3	0	14,3	14,3
17	Camarosa	Kol fidesi	36	4	16	0	7	7	0	19,4	19,4
18	Camarosa	Kol fidesi	15	2	2	0	2	2	0	13,3	13,3
19/2	Camarosa	Kol fidesi	48	0	1	0	0	0	0	0,0	0,0
TOPLAM			837	21	194	4	75	79	Ort. 0,48	Ort. 8,96	Ort. 9,44

Çizelge 4.6. 2009-2010 çilek üretim sezonuna ait fidelerin çeşit, fide orijini ve fide boyuna göre patojen *Rhizoctonia* spp. açısından bulaşıklık durumu

Fide		İncelenen fide sayısı	Elde edilen izolat sayısı			Patojen izolat sayısı			Bulunma oranı (%)*
			Taç	Kök	Toplam	Taç	Kök	Toplam	
Çeşit	Camarosa	714	21	175	196	4	70	74	10,2
	Festival	97	0	19	19	0	5	5	5,1
	Sweetcharlie	26	0	0	0	0	0	0	0
	TOPLAM	837	21	194	215	4	75	79	
Orijin	Frigo	264	1	28	29	0	7	7	2,7
	Kol	573	20	166	186	4	68	72	12,4
	TOPLAM	837	21	194	215	4	75	79	
Frigo Fide Boyu	1.Boy	200	1	22	23	0	5	5	2,5
	2.Boy	64	0	6	6	0	2	2	3,1
	TOPLAM	264	1	28	29	0	7	7	

*Bulunma oranları Çizelge 4.5'deki veriler dikkate alınarak tartılı ortalamaya göre hesaplanmıştır.

2010-2011 üretim sezonunda çilek fidelerinden toplam 296 adet *Rhizoctonia* spp. izolatu elde edilmiş ve patojenisite çalışmaları sonucunda 74 *Rhizoctonia* spp. izolatının (% 25) patojen, 222 izolatın patojen olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.7). Değerlendirmelerde 28 üreticiye ait 38 tarlanın 16'sının fide örneklerinden patojen *Rhizoctonia* spp. elde edilmemiştir. Koldan alınan fideleri kullanacak 12 üreticiye ait örneklerde patojen *Rhizoctonia* spp. ile bulaşıklık oranı % 1,1- 22,2 arasında değişirken, çeşit farkı gözetilmeksizin 1.boy frigo fide kullanan 13 üreticinin 8'inden (% 61,5) alınan fidelerin *Rhizoctonia* spp. ile bulaşık olmadığı görülmüştür. Aynı zamanda 2.boy frigo fide kullanan 8 üreticinin 5'inden (% 62,5) alınan fidelerde de *Rhizoctonia* spp. saptanmamıştır. Ayrıca koldan alınan fideleri kullanacak üreticilerin hepsine ait fideler *Rhizoctonia* spp. ile bulaşık iken, frigo fidelerin alındığı üreticilerin % 62'sinde *Rhizoctonia* spp. tespit edilmemiştir (Çizelge 4.7).

2010-2011 çilek üretim sezonunda fide boyu dikkate alınmaksızın çeşitler *Rhizoctonia* spp. açısından değerlendirildiğinde patojen *Rhizoctonia* spp.'nin bulunma oranının en fazla Camarosa çeşidinde olduğu (% 6,4) ve bunu Festival (% 5,9), Sweetcharlie (% 3,7), Rubygem (% 1,8)'in izlediği belirlenmiştir. Fide orijini, çeşit farkı gözardı edilerek değerlendirildiğinde ise üreticilerin kollardan ürettiği fidelerin % 7,7'sinde patojen *Rhizoctonia* spp. bulunurken, bu oran frigo fide (% 3,4) ve yeşil fide (% 3,5) de yaklaşık % 50 daha düşük bulunmuştur (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.7. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri esas alınarak elde edilen, patojen *Rhizoctonia* spp. izolat sayıları ve patojen izolatların bulunma oranı

Üretici No	Çeşit	Fide orijini	İncelenen fide sayısı	<i>Rhizoctonia</i> spp.					Taç	Kök	Bulunma oranı (%)
				Elde edilen izolat sayısı		Patojen izolat sayısı					
				Taç	Kök	Taç	Kök	Toplam			
1	Festival	Frigo fide(1.by)	39	0	7	0	4	4	0	10,3	10,3
	Rubygem	Frigo fide (1.by)	15	0	1	0	0	0	0	0	0
	Camarosa	Kol fidesi	51	1	29	1	8	9	2,0	15,6	17,6
2	Rubygem	Frigo fide (1.by)	24	0	2	0	0	0	0	0	0
	Festival	Frigo fide (1.by)	47	0	2	0	0	0	0	0	0
	Camarosa	Kol fidesi	90	1	4	0	1	1	0	1,1	1,1
3	Festival	Frigo fide (1.by)	36	0	12	0	9	9	0	25,0	25
	Camarosa	Kol fidesi	86	0	3	0	2	2	0	2,3	2,3
4	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	12	0	9	0	1	1	0	8,3	8,3
	Festival	Frigo fide (2.by)	30	0	8	0	3	3	0	10,0	10
	Camarosa	Kol fidesi	40	1	22	1	2	3	2,5	5,0	7,5
5	Festival	Frigo fide (2.by)	21	0	5	0	1	1	0	4,8	4,8
6	Rubygem	Frigo fide (2.by)	90	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	15	0	3	0	0	0	0	0	0
	Festival	Frigo fide (1.by)	89	0	8	0	0	0	0	0	0
7	Camarosa	Frigo fide (1.by)	9	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Camarosa	Kol fidesi	30	1	8	0	2	2	0	6,6	6,6
	Camarosa	Frigo fide (1.by)	21	0	1	0	1	1	0	4,8	4,8
9	Camarosa	Frigo fide (1.by)	30	0	1	0	0	0	0	0	0
10	Camarosa	Frigo fide (1.by)	12	0	1	0	1	1	0	8,3	8,3
11	Camarosa	Frigo fide (2.by)	45	1	1	1	0	1	2,2	0	2,2
12	Camarosa	Frigo fide (1.by)	24	0	0	0	0	0	0	0	0
14	Festival	Frigo fide (2.by)	21	0	3	0	0	0	0	0	0

Çizelge 4.7. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri esas alınarak elde edilen, patojen *Rhizoctonia* spp. izolat sayıları ve patojen izolatların bulunma oranı (devamı)

15	Camarosa	Frigo fide (2.by)	12	0	1	0	0	0	0	0	0
16	Camarosa	Kol fidesi	45	0	31	0	8	8	0	17,8	17,8
17	Camarosa	Kol fidesi	60	1	24	0	4	4	0	6,7	6,7
18	Festival	Frigo fide (2.by)	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	Camarosa	Frigo fide (2.by)	21	0	0	0	0	0	0	0	0
19	Camarosa	Kol fidesi	90	2	23	0	3	3	0	3,3	3,3
20	Camarosa	Kol fidesi	60	0	25	0	4	4	0	6,7	6,7
21	Camarosa	Kol fidesi	30	0	10	0	1	1	0	3,3	3,3
22	Camarosa	Kol fidesi	36	1	20	1	8	9	2,8	22,2	25
23	Camarosa	Kol fidesi	30	0	10	0	2	2	0	6,7	6,7
24	Rubygem	Yeşil fide	52	0	5	0	2	2	0	3,8	3,8
25	Rubygem	Yeşil fide	15	0	0	0	0	0	0	0	0
26	Rubygem	Yeşil fide	32	1	6	0	3	3	0	9,4	9,4
27	Rubygem	Yeşil fide	15	0	0	0	0	0	0	0	0
28	Rubygem	Yeşil fide	30	0	1	0	0	0	0	0	0
TOPLAM			1411	10	286	4	70	74	Ort. 0,1	Ort. 2,6	Ort. 2,7

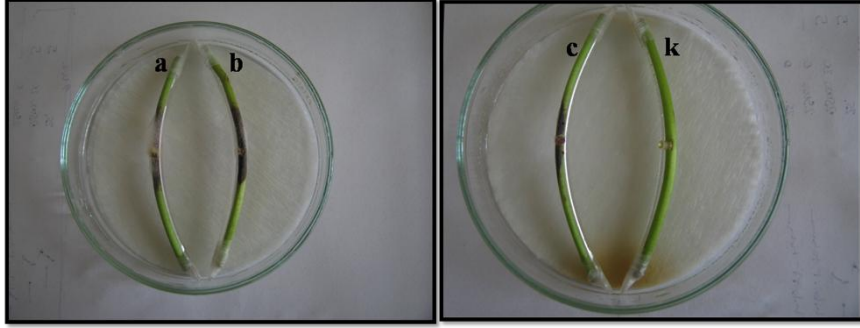
Çizelge 4.8. 2010-2011 çilek üretim sezonuna ait fidelerin çeşit, fide orijini ve fide boyuna göre patojen *Rhizoctonia* spp. açısından bulaşıklık durumu

Fide		İncelenen fide sayısı	Elde edilen izolat sayısı			Patojen izolat sayısı			Bulunma oranı (%)*
			Taç	Kök	Toplam	Taç	Kök	Toplam	
Çeşit	Camarosa	822	9	214	223	4	47	51	6,4
	Festival	289	0	45	45	0	17	17	5,9
	Rubygem	273	1	15	16	0	5	5	1,8
	Sweetcharlie	27	0	9	9	0	1	1	3,7
	TOPLAM	1411	10	283	293	4	70	74	
Orijin	Frigo	619	1	65	66	1	20	21	3,4
	Kol	648	8	209	217	3	45	48	7,7
	Yeşil Fide	144	1	12	13	0	5	5	3,5
	TOPLAM	1411	10	286	296	4	70	74	
Frigo Fide Boyu	1.Boy	373	0	47	47	0	16	16	4,3
	2.Boy	246	1	18	19	1	4	5	2,03
	TOPLAM	619	1	65	66	1	20	21	

*Bulunma oranları Çizelge 4.7'deki veriler dikkate alınarak tartılı ortalamaya göre hesaplanmıştır.

***Fusarium* spp.**

2009-2010 çilek üretim sezonuna ait *Fusarium* spp. izolatlarının patojenisite deneme sonuçları Çizelge 4.9 ve Şekil 4.2' de verilmiştir.



Şekil 4.2. *Fusarium* spp. izolatının Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisite testi (a,b,c: infekteli; k: kontrol)

2009-2010 çilek üretim sezonunda çilek fidelerinden toplam 210 adet *Fusarium* spp. izolatu elde edilmiş ve yapılan patojenisite denemeleri sonucunda izolatların % 59,5'inin (125 izolat) patojen, geriye kalan 85 izolatın ise patojen olmadığı tespit edilmiştir. Koldan üretilen fide kullanan 13 üreticiden alınan fideelerde patojen *Fusarium* spp.'nin bulunma oranları % 4,5- 40 arasında değişirken, frigo fide kullanan üreticilerde bu oran % 0- 16,67 olarak bulunmuştur. Ayrıca patojen *Fusarium* spp. ile %16,67 oranında bulaşıklılık olan frigo fidelerin Camarosa 2. boy olduğu da belirlenmiştir. Bu üretim sezonunda fideler, çeşit ve boyu gözetilmeksizin orijini açısından değerlendirildiğinde, frigo fide kullanılan üreticilerin % 37,5'inde patojen *Fusarium* spp. hiç tespit edilmezken, kol fidesi kullanan her üreticiye ait fide örneğinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

2009-2010 üretim sezonunda fide boyu dikkate alınmaksızın fideler *Fusarium* spp. açısından değerlendirildiğinde; en yüksek bulaşıklılığın Camarosa çeşidinde (% 16,2) olduğu, bunu sırasıyla Sweetcharlie (% 11,5) ve Festival çeşidinin (% 5,2) izlediği bulunmuştur. Çeşit farkı göz ardı edildiğinde, kol fidelerinde patojen *Fusarium* spp. ile bulaşıklılık % 18,8'i iken, frigo fideelerde % 6,1 olarak saptanmıştır. Bu oran örnek alınan 1.boy fideelerde % 5,5, 2. boy fideelerde ise % 7,8 olmuştur (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.9. 2009-2010 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm)

		İzolat No	Ortalama lezyon boyu (mm)
1/13K	5,91	12/17K	9,18
1/38K	5,30	12/34K	36,70
1/41K	9,09	12/36K	8,96
1/42K	20,17	12/39K	14,21
1/43K	10,47	12/4K	5,43
1/55K	4,88	12/6K	18,35
1/57K	7,96	13/15KFsa	9,22
1/57KFsb	3,88	13/20K	9,04
1/62K	12,38	13/21K	8,14
1/75KFsa	9,91	13/29K	3,65
1/84K	3,83	13/45K	6,41
1/87K	6,00	13/4T	9,88
2/55KFsa	5,52	13/5K	3,89
2/55KFsb	9,23	13/6K	6,19
2/69KFsa	27,14	13/66K	13,08
2/69KFsb	3,60	13/74K	12,02
3/28Fsa	3,84	13/81K	3,86
3/28KFsb	27,48	13/82K	16,96
3/31K	5,50	13/8K	7,40
3/60K	4,23	14/12KFsa	6,03
3Y/28K	4,03	14/12kFsb	3,76
3Y/40K	4,67	14/20T	2,84
3Y/8T	7,39	15/11T	6,24
4/11K	10,51	15/8K	3,60
4/19T	3,75	16/10K	4,82
4/1K	4,31	16/14K	3,78
4/22K	4,03	16/15K	6,03
4/25T	5,17	16/4K	3,98
4/26K	8,11	16/7T	5,43
4/33K	4,98	16/8K	4,57
4/41T	4,01	16/20KFs	6,29
4/42K	6,79	17/13K	5,87
4/43T	9,05	17/15T	5,19

Çizelge 4.9. 2009-2010 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm) (devamı)

4/44K	5,24	17/16T	3,90
4/47K	21,07	17/17K	5,04
4/50K	12,01	17/18K	10,01
4/51K	4,76	17/22KFsa	29,36
4/51T	4,94	17/27K	11,92
4/52K	7,98	17/29TFs	13,57
4/52T	3,64	17/29K	10,35
4/57K	3,76	18/10K	6,32
4/59K	11,29	18/12K	9,04
4/5T	4,17	18/13K	11,81
4/62K	3,67	18/2K	21,28
6F/5T	4,75	18/6KFfs	19,34
6S/14K	4,38	18/7K	5,60
6S/22K	12,82	19/2-10K	12,03
7/4K	14,93	19/2-12K	8,81
8/15K	5,44	19/2-14K	5,33
8/18K	10,35	19/2-14KFsb	4,09
8/28T	8,46	19/2-25KFfs	22,10
8/5K	4,23	19/2-26K	2,69
8/7K	4,36	19/2-29K	11,79
10/15K	15,88	19/2-44KFfs	32,55
10/19K	4,22	19/2-47KFfs	9,07
10/20K	4,27	19/2-48KFfs	22,68
10/23K	3,33		
10/6KFsa	14,11		
10/6KFsb	17,84		
10/9K	8,09		
11/10K	8,09		
11/13K	4,47		
11/15K	43,00		
11/2K	7,91		
11/6K	4,85		
11/8K	4,02		
12/10K	4,95		
12/13K	10,46		
12/14K	25,89	TOPLAM	125

Çizelge 4.10. 2009-2010 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri esas alınarak elde edilen, patojen *Fusarium* spp. izolat sayıları ve patojen izolatların bulunma oranı

Üretici No	Çeşit	Fide orijini	İncelenen fide sayısı	<i>Fusarium</i> spp.							
				Elde edilen izolat sayısı		Patojen izolat sayısı			Bulunma oranı (%)		
				Taç	Kök	Taç	Kök	Toplam	Taç	Kök	Toplam
1	Camarosa	Kol fidesi	93	0	18	0	12	12	0	12,9	12,9
2	Festival	Frigo fide(1.by)	62	0	4	0	4	4	0	6,5	6,5
3	Camarosa	Kol fidesi	88	0	5	0	4	4	0	4,5	4,5
3Y	Camarosa	Frigo fide (1.by)	88	1	4	1	2	3	1,1	2,3	3,4
4	Camarosa	Kol fidesi	60	8	19	7	14	21	11,7	23,3	35
5	Festival	Frigo fide (2.by)	11	0	0	0	0	0	0	0	0
6SC	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	23	0	6	0	3	3	0	13,0	13
6F	Festival	Frigo fide (1.by)	24	1	2	1	0	1	4,2	0	4,2
7	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	3	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Camarosa	Frigo fide (2.by)	30	2	6	2	3	5	6,7	10,0	16,7
9	Camarosa	Frigo fide (2.by)	23	0	1	0	0	0	0	0	0
10	Camarosa	Kol fidesi	24	0	9	0	7	7	0	29,2	29,2
11	Camarosa	Kol fidesi	18	1	11	0	6	6	0	33,3	33,3
12	Camarosa	Kol fidesi	45	0	17	0	9	9	0	20,0	20
13	Camarosa	Kol fidesi	83	1	16	1	12	13	1,2	14,5	15,7
14	Camarosa	Kol fidesi	24	2	3	1	2	3	4,2	8,3	12,5
15	Camarosa	Kol fidesi	18	1	5	1	1	2	5,6	5,5	11,1
16	Camarosa	Kol fidesi	21	4	6	1	6	7	4,8	28,6	33,4
17	Camarosa	Kol fidesi	36	6	10	3	6	9	8,3	16,7	25
18	Camarosa	Kol fidesi	15	1	9	0	6	6	0	40,0	40
19/2	Camarosa	Kol fidesi (2.by)	48	1	30	0	10	10	0	20,8	20,8
TOPLAM			837	29	181	18	107	125	Ort. 2,1	Ort. 11,6	Ort. 14,9

Çizelge 4.11. 2009-2010 çilek üretim sezonuna ait fidelerin çeşit, fide orijini ve fide boyuna göre patojen *Fusarium* spp. açısından bulaşıklık durumu

Fide		İncelenen fide sayısı	Elde edilen izolat sayısı			Patojen izolat sayısı			Bulunma oranı (%)
			Taç	Kök	Toplam	Taç	Kök	Toplam	
Çeşit	Camarosa	714	26	135	161	14	87	101	16,2
	Festival	97	1	6	7	1	4	5	5,2
	Sweetcharlie	26	0	6	6	0	3	3	11,5
	TOPLAM	837	27	147	174	15	94	109	
Orijin	Frigo	264	4	23	27	4	12	16	6,1
	Kol	573	23	124	147	7	82	89	18,8
	TOPLAM		27	147	174	11	94	105	
Frigo Fide Boyu	1.Boy	200	2	12	14	1	7	8	5,5
	2.Boy	64	2	7	9	2	3	5	7,8
	TOPLAM		4	19	23	3	10	13	

*Bulunma oranları Çizelge 4.10'deki veriler dikkate alınarak tartılı ortalamaya göre hesaplanmıştır.

2010-2011 üretim sezonunda çilek fidelerinden toplam 237 adet *Fusarium* spp. izolatu elde edilmiş ve yapılan patojenisite denemeleri sonucunda 166 *Fusarium* spp. izolatının (% 70) patojen (Çizelge 4.12), 71 izolatın ise patojen olmadığı bulunmuştur. Bu üretim sezonunda örnek alınan 38 üreticiden 12'sinde üreticilerin koldan aldığı fidelerin patojen *Fusarium* spp. ile bulaşıklılık oranları % 0- 66,67 arasında değişirken, birinci boy frigo fide kullanan 13 üreticinin 7 (% 53,8) 'sinden alınan fidelerin *Fusarium* spp. ile bulaşık olmadığı, diğer 6 üreticinin fidelerinde ise patojen *Fusarium* spp. ile bulaşıklık oranının % 0-17,9 arasında değiştiği görülmüştür. Ayrıca yeşil fide kullanan üretici örneklerinin hepsinde patojen *Fusarium* spp. tespit edilmiştir (Çizelge 4.13).

Bu üretim sezonunda yine Camarosa çeşidine ait fideler patojen *Fusarium* spp. açısından en bulaşık çeşit (%15,6) olmuş, bunu sırasıyla Festival (% 7,6), Sweetcharlie (% 7,4) takip etmiş ve en düşük bulaşıklılık (% 4,6) Rubygem çeşidinde tespit edilmiştir. *Fusarium* spp. ile bulaşıklık oranları fide orijinleri açısından değerlendirildiğinde; kol fidelerinde bulaşıklık % 21,9 iken, frigo fidede % 5,2, yeşil fide de % 5,6 olarak saptanmıştır. *Fusarium* spp. ile bulaşıklılık çeşit göz ardı edilerek fide boyu açısından değerlendirildiğinde birinci boy fidelerde bulaşıklılık % 5,6, 2.ci boy fidelerde % 4,5 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.12. 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm)

İzolat No	Ortalama lezyon boyu (mm)	İzolat No	Ortalama lezyon boyu (mm)
1C/41K	15,08	16C/10T	5,03
1C/50K	6,07	16C/17K	22,58
1F/75K	10,03	16C/22KFsb	1,33
1F/76K	10,45	16C/30KFsa	28,03
1F/82T	3,40	16C/31K	13,05
1F/83K	28,49	16C/39K	10,02
1F/90K	19,98	16C/42KFsa	6,65
1F/97K	5,24	16C/43K	8,14
1F/67K	7,17	16C/6K	27,61
2C/10K	4,64	16C/7K	9,74
2C/10T	12,52	16C/9K	50,31
2C/14K	24,72	19C/13T	23,62
2C/16K	15,41	19C/18K	29,73
2C/18K	5,79	19C/28T	38,11
2C/18T	4,52	19C/32T	2,95
2C/19K	5,97	19C/3T	20,18
2C/19T	5,29	19C/42K	18,53
2C/20K	41,25	19C/50K	4,61
2C/21K	5,56	19C/53K	5,61
2C/23K	31,03	19C/54K	6,20
2C/29T	4,54	19C/5T	22,34
2C/42T	30,45	19C/61K	14,29
2C/43K	5,87	19C/76T	11,36
2C/53K	2,95	19C/80K	5,98
2C/5T	7,15	19C/87K	63,39
2C/61K	3,98	20C/17K	5,16
2C/62T	3,03	20C/18K	27,00
2C/65K	1,58	20C/1K	4,02
2C/67T	6,90	20C/21K	5,24
2C/68T	4,58	20C/26K	9,44
2C/6K	15,99	20C/29K	4,08
2C/71K	6,25	20C/32KFsb	13,64

Çizelge 4.12. 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm) (devamı)

2C/76K	4,50	20C/37T	10,15
2C/78K	2,88	20C/47K	6,45
2C/81K	5,79	20C/47KFsa	4,61
2C/83K	4,93	20C/48K	5,56
2C/89KFs	4,05	20C/53K	20,11
2F/124K	4,63	20C/54K	8,13
2F/132K	7,43	20C/59K	22,48
3C/47T	13,28	20C/6K	2,53
3F/128K	22,98	20C/6T	8,03
3F/129K	1,44	21C/16K	70,11
4C/47K	4,15	21C/5K	10,98
4C/50K	4,21	21C/9KFsa	7,22
4C/52K	10,95	22C/6T	35,50
4C/53K	7,09	22C/8K	29,09
4C/59K	43,58	22C/9K	6,40
4C/64T	27,03	22C/13K	26,11
4C/66K	4,85	22C/17K	25,06
4C/69T	12,42	22C/17T	5,62
4C/70T	5,45	22C/21K	10,93
4C/71K	2,80	22C/27K	51,71
4C/72K	25,25	22C/30K	29,26
4C/77K	16,87	23C/12K	22,59
4C/78T	9,74	23C/12T	20,67
4F/11T	18,02	23C/13K	27,93
4F/15T	13,51	23C/16KFsa	20,18
4F/7T	10,52	23C/18TFsa	4,00
4SC/50KFsa	6,62	23C/20K	18,76
4SC/52K	19,39	23C/20T	14,65
5F/19K	44,84	23C/21K	11,84
6F/23K	19,87	23C/23T	26,85
6F/41K	9,61	23C/24K	4,11
6F/44K	7,08	23C/25K	25,21
6F/49K	4,83	23C/26K	5,92
6F/50K	13,41	23C/2K	28,07

Çizelge 4.12. 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm) (devamı)

6R/115T	11,74	23C/2KFsb	4,88
6R/120K	3,98	23C/3K	15,54
6R/139TFs	5,06	23C/3TFsb	4,01
6R/143T	4,35	23C/5K	20,53
6R/148T	3,58	23C/5T	4,37
6R/149T	3,78	23C/6KFsa	7,00
8C/10K	4,43	23C/6KFsb	23,37
8C/11K	5,20	23C/8K	5,32
8C/12K	14,93	24R/13K	20,22
8C/24K	20,90	24R/3K	8,73
8C/29K	15,92	25R/14K	5,88
8C/30K	5,46	25R/6K	11,48
8C/3K	17,49	26R/24K	4,14
8C/6K	4,26	26R/25K	12,80
10C/4K	3,94	27R/12K	1,48
10C/8K	4,77	28R/22K	7,32
14F/12K	49,63		
TOPLAM İZOLAT			165

Çizelge 4.13. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri esas alınarak elde edilen, patojen *Fusarium* spp. izolat sayıları ve patojen izolatların bulunma oranı

Üretici No	Çeşit	Fide orijini	İncelenen fide sayısı	<i>Fusarium</i> spp,							
				Elde edilen izolat sayısı		Patojen izolat sayısı			Bulunma oranı (%)		
				Taç	Kök	Taç	Kök	Toplam	Taç	Kök	Toplam
1	Festival	Frigo fide(1.by)	39	1	9	1	6	7	2,6	15,3	17,9
	Rubygem	Frigo fide (1.by)	15	1	1	0	0	0	0	0	0
	Camarosa	Kol fidesi	51	0	3	0	2	2	0	3,9	3,9
2	Rubygem	Frigo fide (1.by)	24	0	1	0	0	0	0	0	0
	Festival	Frigo fide (1.by)	47	0	4	0	2	2	0	4,3	4,3
	Camarosa	Kol fidesi	90	8	25	7	21	28	7,8	23,3	31,1
3	Festival	Frigo fide (1.by)	36	1	5	1	2	3	2,8	5,6	8,4
	Camarosa	Kol fidesi	86	2	0	1	0	1	1,2	0	1,2
4	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	12	2	2	0	2	2	0	16,7	16,7
	Festival	Frigo fide (2.by)	30	3	2	2	1	3	6,7	3,3	10
	Camarosa	Kol fidesi	40	4	14	4	9	13	10,0	22,5	32,5
5	Festival	Frigo fide (2.by)	21	0	2	0	1	1	0	4,8	4,8
6	Rubygem	Frigo fide (2.by)	90	5	3	5	1	6	5,6	1,1	6,7
	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	15	0	0	0	0	0	0	0	0
	Festival	Frigo fide (1.by)	89	2	8	0	5	5	0	5,6	5,6
7	Camarosa	Frigo fide (1.by)	9	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Camarosa	Kol fidesi	30	0	9	0	8	8	0	26,7	26,7
	Camarosa	Frigo fide (1.by)	21	0	0	0	0	0	0	0	0
9	Camarosa	Frigo fide (1.by)	30	0	0	0	0	0	0	0	0
10	Camarosa	Frigo fide (1.by)	12	0	3	0	2	2	0	16,7	16,7
11	Camarosa	Frigo fide (2.by)	45	0	2	0	0	0	0	0	0
12	Camarosa	Frigo fide (1.by)	24	0	3	0	0	0	0	0	0
14	Festival	Frigo fide (2.by)	21	0	1	0	1	1	0	4,8	4,8
15	Camarosa	Frigo fide (2.by)	12	0	0	0	0	0	0	0	0
16	Camarosa	Kol fidesi	45	3	13	1	11	12	2,2	24,5	26,7

Çizelge 4.13. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri esas alınarak elde edilen, patojen *Fusarium* spp. izolat sayıları ve patojen izolatların bulunma oranı (devamı)

17	Camarosa	Kol fidesi	60	0	0	0	0	0	0	0	0
18	Festival	Frigo fide (2.by)	6	0	0	0	0	0	0	0	0
	Camarosa	Frigo fide (2.by)	21	0	1	0	0	0	0	0	0
19	Camarosa	Kol fidesi	90	6	13	6	8	14	6,7	8,9	15,6
20	Camarosa	Kol fidesi	60	3	15	2	14	16	3,3	23,4	26,7
21	Camarosa	Kol fidesi	30	1	10	0	3	3	0	10,0	10
22	Camarosa	Kol fidesi	36	2	8	2	7	9	5,6	19,4	25
23	Camarosa	Kol fidesi	30	5	21	5	15	20	16,7	50,0	66,7
24	Rubygem	Yeşil fide	52	0	2	0	2	2	0	3,8	3,8
25	Rubygem	Yeşil fide	15	0	2	0	2	2	0	13,3	13,3
26	Rubygem	Yeşil fide	32	0	3	0	2	2	0	6,3	6,3
27	Rubygem	Yeşil fide	15	0	2	0	1	1	0	6,7	6,7
28	Rubygem	Yeşil fide	30	0	1	0	1	1	0	3,3	3,3
TOPLAM			1411	49	188	37	129	166	Ort. 1,1	Ort. 4,8	Ort. 6,0

Çizelge 4.14. 2010-2011 çilek üretim sezonuna ait fidelerin çeşit, fide orijini ve fide boyuna göre patojen *Fusarium* spp. açısından bulaşıklık durumu*

Fide		İncelenen fide sayısı	Elde edilen izolat sayısı			Patojen izolat sayısı			Bulunma oranı (%)
			Taç	Kök	Toplam	Taç	Kök	Toplam	
Çeşit	Camarosa	822	34	140	174	28	100	128	15,6
	Festival	289	7	31	38	4	18	22	7,6
	Rubygem	273	6	15	21	5	9	14	4,6
	Sweetcharlie	27	2	2	4	0	2	2	7,4
	TOPLAM	1411	49	188	237	37	129	166	
Orijin	Frigo	619	15	47	62	9	23	32	5,2
	Kol	648	34	131	165	28	98	126	21,9
	Yeşil Fide	144	0	10	10	0	8	8	5,6
	TOPLAM	1411	49	188	237				
Frigo Fide Boyu	1.Boy	373	7	36	43	2	19	21	5,6
	2.Boy	246	8	11	19	7	4	11	4,5
	TOPLAM	619	15	47	62	9	23	32	

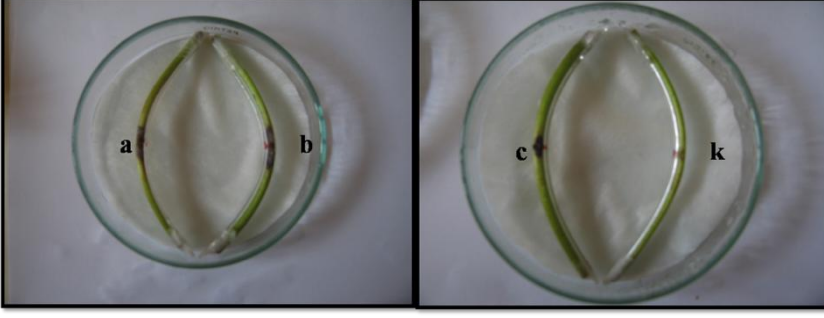
* Bulunma oranları Çizelge 4.13'deki veriler dikkate alınarak tartılı ortalamaya göre hesaplanmıştır.

***Macrophomina phaseolina* ve *Cylindrocarpon* spp.**

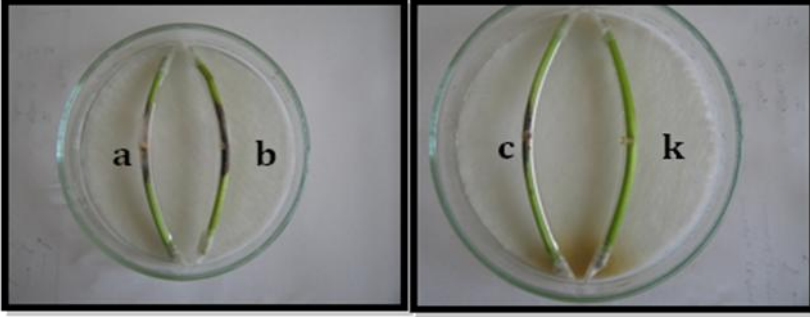
2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonuna ait 4 *M. phaseolina* ve ikinci sezona ait 9 *Cylindrocarpon* spp. izolatlarının patojenisite denemesi (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4) sonucunda elde edilen ortalama lezyon uzunlukları Çizelge 4.15’ de verilmiştir. *Cylindrocarpon* spp.’nin her iki üretim sezonuna ait 4 izolatu elden çıktığı için patojenisite çalışmasına alınamamıştır. *Cylindrocarpon* spp.’nin ortalama lezyon uzunluklarının 3,41-19,93 mm arasında değiştiği ve virülensliklerinin *Rhizoctonia* spp. (1,05-73,68 mm), *Fusarium* spp. (1,33-49,63 mm) ve *Macrophomina phaseolina* (14,27-40,01 mm)’ a göre daha az olduğu görülmüştür. İtalya ve İsveç’ te yapılan önceki çalışmalar, *C. destructans*’ın çilek bitkilerinin köklerinden izole edilmiş, zayıf bir patojen olduğunu belirtmektedir (Manici vd., 2005). *M.phaseolina*’nın özellikle sıcaklık 30 ° C’i aştığında daha virulent olduğu ifade edilmektedir. *C. destructans*, *P.exigua*, *G.fructicola*, *P.cactorum* ve *P.ultimum* gibi taç ve kök hastalıklarına neden olan patojenlerin ise genellikle *F.oxysporum* ve *Rhizoctonia*’dan daha az virulent olmakla birlikte, hastalıklı bitkilerin büyüme ve gelişmesini oldukça geciktirdiği de bildirilmektedir (Fang vd., 2011c).

Çizelge 4.15. 2009- 2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen patojen *Macrophomina phaseolina* ve *Cylindrocarpon* spp. izolatlarının ortalama lezyon boyları (mm)

Funguslar	Yıl	İzolat no	Ortalama lezyon boyu (mm)
<i>M. phaseolina</i>	2009-2010	4/53K MP	14,27
		18/13TMP	26,15
	2010-2011	2C/75KMP	20,38
		21C/19KMP	40,01
<i>Cylindrocarpon</i> spp.	2010-2011	3F/116K	3,41
		6S/3K	5,91
		16C/19K	7,29
		17C/27K	9,72
		17C/37K	13,14
		17C/52K	13,00
		17C/55K	19,93
		21C/5K	11,01
		21C/21K	12,93



Şekil 4.3. *Cylindrocarpon* spp.'nin Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisite testi (a,b,c: infekteli; k: kontrol)



Şekil 4.4. *Macrophomina phaseolina*'nın Festival çilek çeşidine ait stolonlardaki patojenisite testi (a,b,c: infekteli; k: kontrol)

Her iki üretim sezonuna ait frigo, kol ve yeşil fidelerden elde edilen *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *M. phaseolina* ve *Cylindrocarpon* spp. izolatlarının patojenisite çalışmaları sonucunda, çilek çeşit ve orijini dikkate alınmaksızın taçta ana patojenin *Fusarium* spp. (Bulunma oranı 2009-2010 üretim sezonunda % 2,1, 2010-2011 üretim sezonunda % 1,1) olduğu, *Rhizoctonia* spp.'nin taçtaki bulunma oranının ise her iki üretim sezonunda sırasıyla % 0,48 ve % 0,1 olduğu belirlenmiştir. Kökteki bulunma oranları açısından değerlendirildiğinde ise, *Fusarium* spp.'nin 2009-2010 üretim sezonda % 11,6, 2010-2011 üretim sezonunda % 4,8'lik bulunma oranıyla yine ana patojen olduğu dikkati çekmektedir. Köklerde *Rhizoctonia* spp. açısından her iki üretim sezonu için bulunma oranları sırasıyla % 8,96 ve % 4,8 olarak belirlenmiştir.

Batı Avustralya'da 2005 ve 2006 yıllarında çilek ölümlerinin nedenini ve şiddetini ortaya koymak amacıyla yapılan ilk sürveylerde *Fusarium* spp.'nin bulunma oranı sağlıklı görünen bitki örneklerinin taçlarında % 80-90, sağlıklı görülen bitkilerin taçlarında ise % 5-20 olarak belirtilmiştir. *Fusarium* spp.'nin köklerdeki bulunma oranı ise sağlıklı görünen örneklerde % 24-30, sağlıklı görülen bitkilere ait kök örneklerinde ise % 4-10 olarak bulunmuştur. Elde edilen *Fusarium* izolatlarının *F. oxysporum* f.sp. *fragariae* olduğu ve çilek bitkisi ölümlerinden bu patojenin sorumlu olduğu da belirtilmiştir (Phillips ve Golzar, 2008). Fang vd. (2011b) Batı Avustralya'da 2008 yılında yaptıkları çalışmada; *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia* spp., *Cylindrocarpon destructans*, *Phoma exigua*, *Gnomonia fruticola*, *Phytophthora cactorum*, *Pythium ultimum* ve *Macrophomina phaseolina*'nın çilekte taç ve kök hastalıklarına neden olan ana patojenler olduğunu belirtmiştir. Ayrıca *F. oxysporum*'un taçta ana patojen, *Rhizoctonia* spp.'nin ise kök hastalıklarında önemli patojen olduğu belirlenmiştir. *F.oxysporum* ve çift çekirdekli *Rhizoctonia*'nın Batı Avustralya'da sadece çöken çilek bitkilerinden yaygın olarak izole edilen patojenler değil (Fang vd., 2011b) aynı zamanda çilek bitkilerine en çok zarar veren patojenler olduğu da tespit edilmiştir (Fang vd., 2011c).

Çalışmamızda *Fusarium* spp.'nin taçta ana patojen olarak belirlenmesi, Fang vd. (2011c) ile örtüşmektedir. Ancak elde edilen veriler, kökte hem *Fusarium* spp. hem de *Rhizoctonia* spp.'nin önemli patojenler olduğunu göstermiştir.

Fusarium Solgunluğu yapraklarda solgunluk, yaşlı yapraklarda solma ve kuruma, bitkilerde gelişme geriliği belirtilen ve meyve üretiminin azalmasına neden olan

ve sonunda da bitkilerin ölümüne yol açan bir hastalıktır. Hastalık aynı zamanda taçlarda iletim demetleri ve kortikal dokularda kahverengiden turuncumsu kahverengine renk değişikliğine neden olmaktadır. Arroyo vd. (2007) İspanya’da, Koike vd. (2009) Kaliforniya’da yaptıkları çalışmalarda ticari olarak çilek üretimi yapılan alanlarda çilek bitkilerinde *F. oxysporum*’un neden olduğu Fusarium Solgunluğu’nu ilk kez rapor etmiştir. Japonya ve Çin’de de çileklerde Fusarium Solgunluğu’na *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*’nin neden olduğu bildirilmiştir (Takahashi vd., 2002, Fuchun vd., 2006). *F. oxysporum* f.sp. *fragariae*’nin kökler yoluyla çilek bitkilerini penetre ettiği, kök ve tacın enfeksiyonu sonrası bitkinin hızlı bir şekilde solarak öldüğü belirtilmektedir (Fang vd., 2011a,b; Koike vd., 2009). MB’in yasaklanmasından sonra 2006 yılından bu yana çilekte Fusarium Solgunluğu’nun yoğunluğu ve şiddetinin arttığı da ifade edilmiştir. İlk problemler 2006 yılında birçok küçük alanda görülmüş ve bu alanlarda hastalığın bulunma oranının % 80 ile % 100 arasında değiştiği bildirilmiştir. 2009 yılında ise bazı tarlalarda hastalığın tarlanın büyük kısmını etkilediği tespit edilmiştir (Koike vd., 2009). Aydın ilinde 2005-2006 ve 2006-2007 çilek üretim sezonunda solarizasyon ile metam sodium’un standart polietilen ve gaz geçirmez film (VIF) ile kombinasyonunu karşılaştırmak ve uygulamaların toprak kaynaklı hastalıklar ve yabancı ot kontrolü ile çilek verimine etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada *Macrophomina phaseolina* ve *Fusarium* spp.’nin ana patojenler olduğu belirtilmektedir (Benlioglu vd., 2013). Üretim materyalinin toprak kaynaklı hastalıkların taşınmasında çok önemli olduğu düşünüldüğünde, bulgularımız MB’in yasaklanmasından sonra çilekte Fusarium Solgunluğu’nun yoğunluğu ve şiddetinin arttığını belirten dünya literatürü ile örtüşmektedir.

4.3. Tek Spor İzolasyonu

2009- 2010 ve 2010-2011 üretim sezonuna ait toplam 290 patojen *Fusarium* spp. (Çizelge 4.9, 4.12) izolatının tek spor izolatları elde edilmiştir. Tek spor izolatları daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere cryo tüpler içerisinde -80°C ’de (Leslie ve Summerell, 2006) ve steril kağıtlarda -20°C ’de saklanmıştır. Ayrıca *Rhizoctonia* spp.’nin patojen izolatlarının tek hif hücrelerinden elde edilen toplam 93 (Çizelge 4.4), tek mikrosklerotdan elde edilen 4 *M. phaseolina* ve 9 *Cylindrocarpon* spp. izolatının (Çizelge 4.15) tek spor izolatları elde edilmiş ve bu izolatlar eğişik agar ortamında $+4^{\circ}\text{C}$ ’de buzdolabında saklanmıştır.

4.4.Tanımlama Çalışmaları

4.4.1. Klasik Tanılama

Fusarium spp.

2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda alınan ve patojen olan *Fusarium spp.* tek spor izolatlarının lam kültürleri mikroskopta makrokonidi, mikrokonidi ve filialid özellikleri dikkate alınarak incelenmiştir. Ayrıca her iki yıla ait *Fusarium spp.* izolatlarının hem Su Agar (SA) hem de Carnation Leaf Agar (CLA)'a ekimleri yapılarak mikroskop altında klamidospor oluşturup oluşturmadıkları kaydedilmiş ve elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir. 133 patojen *Fusarium spp.* izolatının makroskopik ve mikroskopik incelemeleri sonucunda, 130 izolatın (%97.7) *F. oxysporum* (Şekil 4.5), 3 izolatın ise *F. solani* olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.16). Bu veriler çilek fidelerinde primer *Fusarium* türünün *F. oxysporum* olduğunu göstermiştir. İzmir İli'nde 1975 yılında iki ayrı dönemde (10 Mart-15 Nisan, 21 Nisan-3 Haziran) çilek yetiştirilen alanlarda yapılan survey çalışmasında hastalıklı çilek bitkilerinin kökboğazı ve köklerinden yapılan izolasyonlarda 28 fungus cinsi tespit edilmiş ve bu cinsler arasında *Fusarium spp.* gerek toplam izolat içerisinde (her iki survey için sırasıyla % 34,7, % 37,5) gerekse örnek alınan tarlalar içerisindeki bulunış oranı (her iki survey için sırasıyla % 100, % 100) açısından en yüksek bulunmuştur. Ancak *Fusarium* türlerinin hiçbirinin (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. equiseti*, *F. moniliforme*, *F. acuminatum*) tek başına patojen olmadığı, bu nedenle yüksek oranda ortaya çıkışının önem taşımadığı belirtilmiştir (Kapkın, 1978). Zonguldak ve Bartın illerinde yapılan ve özeti yayınlanan bir çalışmada çilek üretim alanlarında, toprak kaynaklı patojenlerden *Fusarium oxysporum*, *F.moniliforme* ve *Rhizoctonia solani*'nin hastalığa neden olduğu tespit edilmiştir (Gürer ve Coşkun, 1993). Erzurum ilinde 2005-2007 yılları arasında çilek bitkilerinde solgunluk hastalığına neden olan *Fusarium* türlerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, çilek bitkilerinin kök, gövde ve/veya yaprak saplarından 68 *Fusarium* izolatı elde edilmiştir. Bu izolatların % 44,1'i *F. oxysporum*, % 30,9'u *F. equiseti*, % 20,6'sı *F. solani* ve % 4,4'ü *F. acuminatum* olarak tanılanmıştır. Patojenisite çalışması sonunda *F. oxysporum* izolatlarının *F. equiseti*, *F. solani* ve *F. acuminatum* izolatlarına göre daha virülent olduğu da belirtilmiştir (Durak ve Demirci, 2011). Bulgularımız, Durak ve Demirci (2011)'nin hastalıklı çilek bitkilerinden elde

edilen *Fusarium* izolatlarının büyük çoğunluğunun *F. oxysporum* olduğu bulgusuyla örtüşmekle beraber klasik tanılama çalışmasında sadece *F. oxysporum* ve *F. solani* tespit edilmiştir.

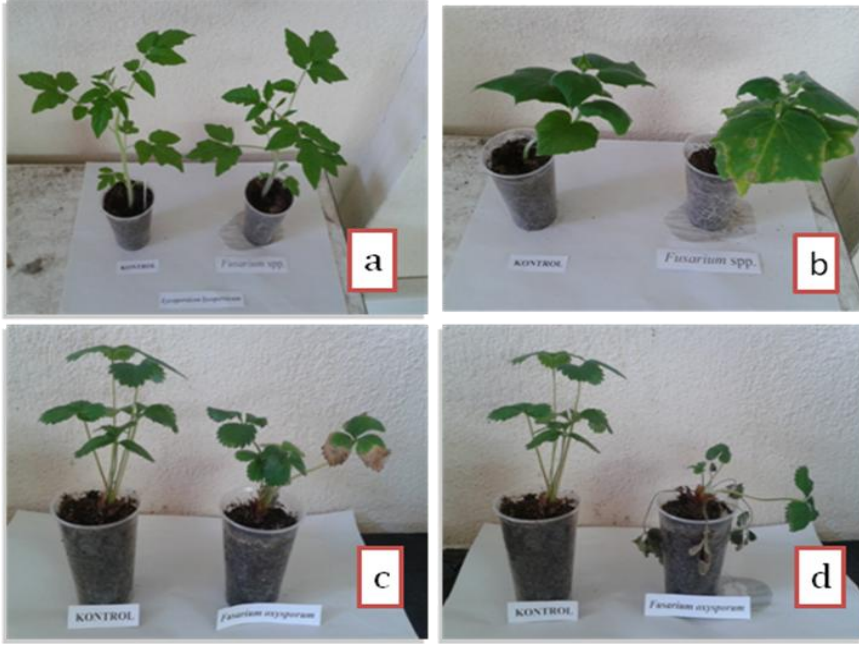
2006-2009 yılları arasında California'nın sahil kesimindeki (Ventura, Santa Barbara) bazı ticari fideliklerde (Albion, Camarosa ve diğer çeşitler) hastalıklı bitkilerden *Fusarium* izolatları elde edilmiş ve mikroskopik tanılamada izolatların *F. oxysporum* olduğu belirlenmiştir (Koike vd., 2009). Koike ve Bolda (2013b), *M. phaseolina*'nın artmasıyla birlikte California'da *Fusarium* solgunluğu'nun da yayıldığını bildirmektedir. Ayrıca *Fusarium* solgunluğu'na *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*'nin neden olduğu ve patojenin konukçuya özel olup sadece çileği infekte edebileceği belirtilmiştir.



Şekil 4.5. *Fusarium oxysporum* izolatlarının flouresan mikroskopta 40x objektif altında makro ve mikrokonidilerinin görünümü

Çalışmamızda çilek bitkilerinde *Fusarium* solgunluğu'na neden olan 7 tane patojen *F. oxysporum* izolatının forma speciales'ini belirlemek için 3.2.4.1'de verilen metoda göre duyarlı domates, hıyar ve çilek çeşitlerinde patojenisite testi yapılmıştır. İnokulasyondan 4 hafta sonra çilek ve hıyar bitkilerinde solgunluk belirtileri görülürken domateste görülmemiştir (Şekil 4.6). Ayrıca domates ve hıyar bitkilerinin iletim demetleri ve köklerinde lezyon gözlenmemiştir. Yapılan

reizolasyonlar sonucunda denemede kullanılan *F. oxysporum* izolatları hastalıklı çilek bitkilerinden izole edilmiştir.



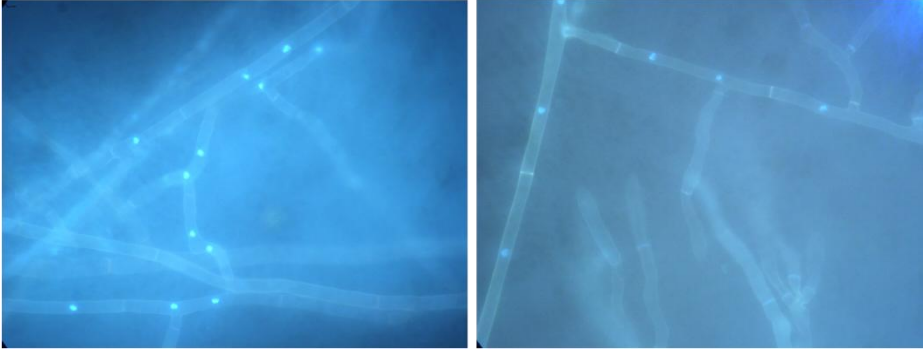
Şekil 4.6. İnokulasyondan 4 hafta sonra 21C/16Fs no'lu *Fusarium oxysporum* izolatının domates (a), hıyar (b) ve çilek (c,d) bitkilerindeki hastalık belirtileri

Çizelge 4.16. 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonuna ait patojen *Fusarium* izolatlarının türleri, bu türlerin yıllara göre dağılımı ve mikroskopik özellikleri

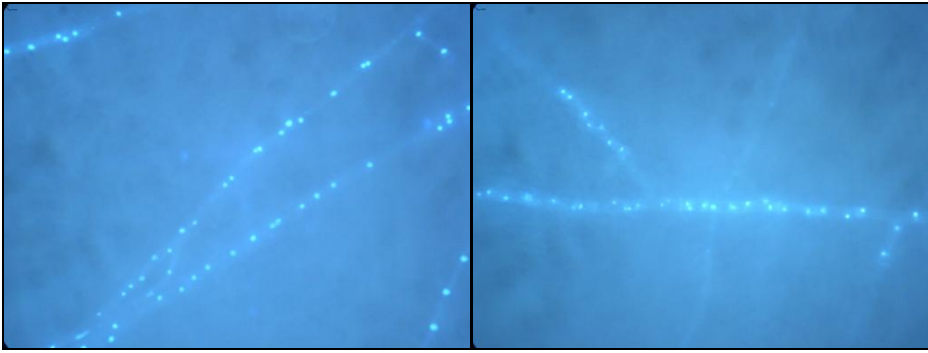
<i>Fusarium</i> spp.	İzolat sayısı		Mikroskopik özellikleri
	2009-2010	2010-2011	
<i>Fusarium oxysporum</i>	60	70	İzolatlar bol havai miseller oluşmakta olup koloni rengi beyazdan açık-koyu morumsu pigmente kadar değişmiştir. İzolatlara ait makrokonidilerin 3-5 bölmeli olduğu, kısa monofialidler üzerinde yalancı baş oluşturan bölmesiz oval mikrokonidilerinin bulunduğu, hifin ortasında veya ucunda, tek tek veya çift olarak, yada küme ve zincir halinde bol miktarda klamidospor oluşturduğu belirlenmiştir.
<i>Fusarium solani</i>	1	2	İzolatlar bol havai miseller oluşturmaktadır. Koloni rengi genellikle beyaz-krem, bazı izolatlar ise mor -kahverengi pigment oluşturmuştur. Makrokonidiler 5 bölmeli, mikrokonidiler uzun monofialidler üzerinde yalancı baş oluşturan bölmesiz, bir bölmeli oval, eliptik veya iğ şeklinde görülmüştür. Klamidosporlar, hiflerin arasında veya kısa yan dallar üzerinde uçta oluşmuştur. Tek tek veya çift olarak, yada zincir halinde bol miktarda görülmüştür
TOPLAM	61	72	

***Rhizoctonia* spp.**

2009-2010 çilek üretim sezonuna ait patojen 79 *Rhizoctonia* spp. izolatının 60'ının çekirdek boyamaları yapılmış ve 38 izolatın çift çekirdekli (binucleat) (Şekil 4.7), 22 izolatın ise çok çekirdekli (multinucleat) *Rhizoctonia* spp. (Şekil 4.8) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.17). 2010-2011 çilek üretim sezonuna ait patojen 74 *Rhizoctonia* spp. izolatından 37'sinin çekirdek boyamaları yapılarak 26 izolatın çift çekirdekli, geri kalan 11 izolatın ise çok çekirdekli olduğu kaydedilmiştir (Çizelge 4.18). Her iki üretim sezonuna ait çekirdek boyaması yapılan toplam 97 *Rhizoctonia* spp. izolatının 64 (%66)'ünün çift çekirdekli, 33 (%34)'ünün ise çok çekirdekli olduğu belirlenmiştir. Çift çekirdekli izolatların stolonlardaki lezyon uzunluklarının 1,4-53,8 mm, çok çekirdekli izolatlarda ise 1,1-31,3 mm arasında değiştiği saptanmıştır. Ayrıca çift çekirdekli izolatların misel rengi izolata göre beyaz, krem veya kahverengi olarak değişirken çok çekirdekli olanların çoğunlukla kahverengi olduğu söylenebilir. Çok çekirdekli *Rhizoctonia* izolatlarının hiflerinin özellikleri, dallanma yeri, rengine göre bu izolatlar, *Rhizoctonia solani* Kühn olarak tanımlanmıştır. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde çilek alanlarında yapılan bir çalışmada kök çürüklüğü semptomu gösteren bitkilerden yapılan izolasyon çalışmaları sonunda 25 cinse ait 64 fungus izole edilmiş ve patojenisite testinden sonra yapılan mikroskopik inceleme ve çekirdek boyama sonrası primer patojenin *R. solani* olduğu belirlenmiştir (Pala, 1987). Aydın İli Sultanhisar ilçesinde çilek üretim alanlarında yapılan survey çalışmasında hastalıklı çilek köklerinden 169 fungal izolat elde edilmiş ve bu izolatlardan 71'nin *R.solani* olduğu bildirilmiştir (Benlioğlu vd., 2004). Ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarda çilek bitkilerinde *R. solani* tespit edilmiş olmakla beraber çilek fideleri ile ilgili herhangi bir saptama yoktur. Gerek *R. solani* gerekse çift çekirdekli *Rhizoctonia* sp.'nin çilek fidelerindeki varlığı ülkemizde ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur.



Şekil 4.7. Çift çekirdekli (binucleat) *Rhizoctonia* spp. izolatının flouresan mikroskopta 100x büyütmedeki görüntüsü



Şekil 4.8. Çok çekirdekli (multinucleat) *Rhizoctonia* spp. izolatının flouresan mikroskopta 100x büyütmedeki görüntüsü

Çizelge 4.17. 2009-2010 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolat sayıları ile patojen izolatların çekirdek sayıları

Üretici No	Fide orijini	Çeşit	<i>Rhizoctonia</i> spp.			
			Patojen izolat sayısı	Patojen izolatların çekirdek sayısı		
				Çift çekirdekli	Çok çekirdekli	Tamırlanmayan
1	Kol fidesi	Camarosa	3	1	1	1
2	Frigo fide(1.by)	Festival	1	-	1	-
3	Kol fidesi	Camarosa	18	9	6	3
3Y	Frigo fide (1.by)	Camarosa	2	1	1	-
4	Kol fidesi	Camarosa	11	4	2	5
5	Frigo fide (2.by)	Festival	2	1	-	1
6SC	Frigo fide (1.by)	Sweetcharliae	0	-	-	-
6F	Frigo fide (1.by)	Festival	2	1	1	0
7	Frigo fide (1.by)	Sweetcharliae	0	-	-	-
8	Frigo fide (2.by)	Camarosa	0	-	-	-
9	Frigo fide (2.by)	Camarosa	0	-	-	-
10	Kol fidesi	Camarosa	3	1	-	2
11	Kol fidesi	Camarosa	2	-	1	1
12	Kol fidesi	Camarosa	3	1	-	2
13	Kol fidesi	Camarosa	8	3	4	1
14	Kol fidesi	Camarosa	7	4	3	-
15	Kol fidesi	Camarosa	5	3	1	1
16	Kol fidesi	Camarosa	3	2	-	1
17	Kol fidesi	Camarosa	7	6	1	-
18	Kol fidesi	Camarosa	2	1	-	1
19/2	Kol fidesi	Camarosa	0	-	-	-
TOPLAM			79	38	22	19

Çizelge 4.18. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolat sayıları ile patojen izolatların çekirdek sayıları

Üretici No	Çeşit	Fide orijini	<i>Rhizoctonia</i> spp.			
			Patojen izolat sayısı	Patojen izolatların çekirdek sayısı		
				Çift çekirdekli	Çok çekirdekli	Tanlanmayan
1	Festival	Frigo fide (1.by)	4	-	-	4
	Rubygem	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-
	Camarosa	Kol fidesi	9	4	1	4
2	Rubygem	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-
	Festival	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-
	Camarosa	Kol fidesi	1	-	1	-
3	Festival	Frigo fide (1.by)	9	-	-	9
	Camarosa	Kol fidesi	2	1	-	1
4	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	1	1	-	-
	Festival	Frigo fide (2.by)	3	-	2	1
	Camarosa	Kol fidesi	3	1	1	1
5	Festival	Frigo fide (2.by)	1	-	-	1
6	Rubygem	Frigo fide (2.by)	0	-	-	-
	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-
	Festival	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-
7	Camarosa	Frigo fide(1.by)	0	-	-	-
8	Camarosa	Kol fidesi	2	-	-	2
	Camarosa	Frigo fide (1.by)	1	-	-	1
9	Camarosa	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-
10	Camarosa	Frigo fide (1.by)	1	-	-	1
11	Camarosa	Frigo fide (2.by)	1	-	-	1
12	Camarosa	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-
14	Festival	Frigo fide (2.by)	0	-	-	-
15	Camarosa	Frigo fide (2.by)	0	-	-	-
16	Camarosa	Kol fidesi	8	5	1	2
17	Camarosa	Kol fidesi	4	2	1	1
18	Festival	Frigo fide (2.by)	0	-	-	-
	Camarosa	Frigo fide (2.by)	0	-	-	-
19	Camarosa	Kol fidesi	3	-	1	2
20	Camarosa	Kol fidesi	4	2	1	1
21	Camarosa	Kol fidesi	1	1	-	-
22	Camarosa	Kol fidesi	9	6	1	2
23	Camarosa	Kol fidesi	2	1	1	-
24	Rubygem	Yeşil fide	2	-	-	2
25	Rubygem	Yeşil fide	0	-	-	-
26	Rubygem	Yeşil fide	3	2	-	1
27	Rubygem	Yeşil fide	0	-	-	-
28	Rubygem	Yeşil fide	0	-	-	-
TOPLAM			74	26	11	37

Rhizoctonia izolatları koloni morfolojileri ve karakteristik boyama metodlarına dayanarak tanılanmaktadır (Manici ve Bonora, 2007). Amerika’da çilek bitkilerinin köklerinden elde edilen 150 *Rhizoctonia* izolatının sadece 4’ü (% 2,7) *R.solani* olarak tanılanmış, diğer izolatlar çift çekirdekli *Rhizoctonia* spp. olarak belirlenmiştir (Martin, 1988). Martin (2000) bir başka çalışmada, Kaliforniya’nın kıyı bölgelerinde fumige edilmemiş topraklarda yetiştirilen çilek bitkilerinin köklerinden çoğunlukla *Rhizoctonia* spp. elde etmiş ve bu izolatların hif hücrelerindeki çekirdek sayısını, Martin (1987)’i modifiye ederek incelemiştir.Yapılan değerlendirmeler sonunda çok çekirdekli bir izolatın (% 0,8) *Rhizoctonia solani*, diğer tüm izolatların (122 adet) çift çekirdekli ve A, G ve I anastomozis gruplarında (AG) yer aldığını bildirmiştir. Güney Afrika’da yapılan benzer bir çalışmada, hastalıklı çilek bitkilerinden izole edilen *Rhizoctonia* türleri, anastomozis grupları, bu izolatların patojenisiteleri ile virülenslikleri belirlenmiştir. Bu amaçla mikroskopik değerlendirmeler yapılmış ve kültürlerin *Rhizoctonia* spp. olduğu saptanmıştır. Çekirdek boyama işlemi acridine orange, fluorochrome kullanılarak yapılmış ve boyanan tüm örnekler flouresan mikroskopta görüntülenmiştir. Hastalıklı bitkilerin % 44’ünden 284 *Rhizoctonia* spp. izolatu elde edilmiş ve bu izolatların farklı morfolojik yapıya sahip oldukları belirlenmiştir. İzolatlar, koyu kahverengi miselyum ve beyazdan açık kahverengi miselyuma sahip izolatlar olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Bu ayrıma göre, *Rhizoctonia* spp.’lerin % 59,3’ünün açık renkli, % 40,7’sinin ise koyu kahverengi olduğu bildirilmiştir. Koyu kahverengi renkte olan tüm izolatların çekirdekleri boyandığında çok çekirdekli, açık renkli izolatların tümünün ise çift çekirdekli olduğu belirlenmiştir. Açık renkli izolatların tümünün çift çekirdekli hücrelere sahip olduğu, ana hiflerin eninin genellikle 7µm’den daha az ve nadiren sklerot oluşturdukları bulunmuştur. Bu nedenle bu izolatlar *R. fragariae* olarak tanılanmıştır. İzolatların % 59,3’ünün *R. fragariae* ve % 40,7’sinin ise *R. solani* olduğu belirlenmiştir (Botha vd., 2003).

Fang vd. (2013) son yıllarda yaptığı çalışmada, Batı Avustralya’da çilek bitkilerinde kök çürüklüğüne neden olan *Rhizoctonia* spp.’nin çekirdek sayısı, virülenslikleri, genetik çeşitliliği ve filogenetik yapısını belirlemiştir. Elde edilen

96 izolatin hif hücrelerindeki çekirdekleri % 0,48 (w/v) Hoechst Dye ile boyanarak, flouresan mikroskopta incelenmiş ve tüm izolatlar çift çekirdekli olarak bulunmuştur. Doksanaltı izolattan 65'inin çilek bitkilerinde patojen olduğu, patojen olan 25 izolatin virülensliğinin yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çift çekirdekli *Rhizoctonia* izolatlarının Amerika (Martin, 1988; 2000), Güney Afrika (Botha vd., 2003), İsrail (Sharon vd., 2007) ve İtalya'da (Manici ve Bonora, 2007) hastalıklı çilek bitkilerinden elde edilen ana izolatlar olduğu ve ayrıca bu izolatların patojen olduğu bilinmektedir. Çilek kök çürüklüğü hastalığı ile ilişkili olan çift çekirdekli *Rhizoctonia* izolatlarının genellikle *R. fragariae* olduğu ifade edilmiş (Botha vd., 2003, Sharon vd., 2007), ancak bu konuda sadece *R. fragariae*' a ait çift çekirdekli *Rhizoctonia*'ların değil diğer bazı türlerinde sınıflandırılması gerekmektedir. Bu konunun halen netlik kazanmadığı belirtilmiştir (Fang vd., 2013). Çok çekirdekli *Rhizoctonia* izolatları, Amerika, Güney Afrika ve İsrail'de hastalıklı çilek bitkilerinden elde edilirken, çift çekirdekli *Rhizoctonia* izolatları ile karşılaştırıldığında daha az sayıda elde edildiği bildirilmiştir (Martin, 2000; Botha vd., 2003, Sharon vd., 2007). Bulgularımız dünyada çilekte *Rhizoctonia* spp. ile ilgili bulgularla karşılaştırıldığında, *R. solani* izolatlarının değerlendirmeye alınan patojen *Rhizoctonia* spp. izolatlarının %34'ünü oluşturarak çift çekirdekli *Rhizoctonia* sp.'den (%66) daha az olduğu ve virülensliklerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Macrophomina phaseolina

Her iki üretim sezonuna ait patojen 4 *Macrophomina* izolatının klasik tanılaması morfolojik özelliklerine ve merkezde siyah renkli mikrosklerotlarına göre *Macrophomina phaseolina* olarak belirlenmiştir.

***Cylindrocarpon* spp.**

Her iki üretim sezonunda çilek fidelerinden elde edilen patojen 9 izolatin tanılanması morfolojik karakterleri esas alınarak yapılmıştır (Booth, 1996). Konidileri şeffaf, her iki ucu yuvarlak çoğunlukla düz ve 3 bölmeli olup *Cylindrocarpon* spp. olarak tanımlanmıştır. Kuzey Carolina'nın Buncombe, New Hanover ve Roman ilçelerinde Nisan 2012'de Chandler çilek çeşidinde kök hastalığı epidemisi görülmüştür. Yapılan izolasyon çalışması ve morfolojik tanılama sonucunda izolatların *Cylindrocarpon* spp. olduğu belirlenmiştir (Adhikari vd., 2013).

4.4.2. PCR'la Tanılama

4.4.2.1. DNA ekstraksiyonu

2009-2010 ve 2010-2011 üretim sezonunda çilek fidelerinden elde edilen, tek spor, patojen 233 *Fusarium* spp., 117 *Rhizoctonia* spp., 9 *Cylindrocarpon* sp. ve 3 *M. phaseolina* izolatu elde edilmiştir. Kültürlerin saklanması ve tekrar üretilerek eldesinde yaşanan kayıplardan dolayı ancak 178 *Fusarium* spp. ve 117 *Rhizoctonia* spp. izolatlarının DNA ekstraksiyonu yapılabilmektedir. Picodrop spektrofotometrede yapılan ölçümler sonrası saptanan DNA miktarları her iki üretim sezonu için Çizelge 4.19, 4.20 ve Çizelge 4.21 ve 4.22'de verilmiştir. Ayrıca *Cylindrocarpon* sp. ve *M. phaseolina* izolatlarının da DNA miktarı ölçümleri Çizelge 4.23'de verilmiştir. DNA örneklerindeki DNA miktarları, PCR çalışmaları için solusyonun mikrolitresinde 50-100 ng olacak şekilde TE₁₀E₁ ile seyreltilmiştir.

Her iki üretim sezonunda toplam 176 *Fusarium* izolatından yapılan DNA ekstraksiyonunda 3 izolattan (4/44K, 16C/42KFs ve 22C 21KFs) DNA elde edilememiştir. Çizelge 4.19 ve 4.20'deki veriler dikkate alındığında, Cenis (1992) yöntemine göre yapılan DNA ekstraksiyonu sonrası spektrofotometrede *Fusarium* spp. için saptanan DNA miktarları 17 izolat için 0-10 ng/ µl, 63 izolat için 10-100 ng/ µl arasında, 93 izolat için de 100 ng/µl' den büyük bulunmuştur. *Rhizoctonia* spp. için saptanan değerler ise, 2 izolat için 0-10 ng/ µl , 11 izolat için 10-100 ng/ µl arasında, 93 izolat için de 100 ng/µl' den büyük olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.21 ve 4.22). *Cylindrocarpon* spp. ve *M. phaseolina* için DNA miktarı 0-10 ng/µl arasında olan izolat bulunmamıştır. DNA miktarları *Cylindrocarpon* spp.'a ait 4 izolat için 10-100 ng/µl arasında, 5 izolatta 100 ng/ µl' den büyük bulunmuştur (Çizelge 4.23). Ayrıca DNA miktarları Çizelge 4.23'de *M. phaseolina*'a ait 1 izolat için 10-100 ng/ µl arasında, 2 izolatta 100 ng/ µl' den büyük olduğu saptanmıştır. Cenis (1992) rapor ettiği bu ekstraksiyon yöntemiyle yaklaşık 300-600 ng fungal DNA elde edileceğini ve bu yöntemi kullanarak *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *F.o.* f.sp. *radicis-lycopersici*, *Rhizoctonia solani* AG 1 and AG 3' den elde etmiş olduğu DNA örnekleri ile başarılı bir PCR amplifikasyonu sağladığını bildirmiştir. Benzer şekilde Abd-Elsalam vd. (2003) Cenis'in ekstraksiyon yöntemi ile *Fusarium* türlerinden 400-600 ng arasında değişen kalitede ve oldukça saf DNA elde edildiğini bildirmiştir.

Çizelge 4.19. 2009-2010 çilek üretim sezonuna ait DNA ekstraksiyonu yapılan *Fusarium* spp. izolatlarının Picodrop'da 260 nm'de saptanan DNA miktarları

No	İzolat No	DNA ng/µl	No	İzolat No	DNA ng/µl	No	İzolat No	DNA ng/µl
1	1/42KFs	225,6	28	4/51T	2,8	55	13/45KFs	162,7
2	1/43K	16,0	29	4/52T	5,5	56	13/81K	0,6
3	1/75KFsa	18,1	30	4/57KFs	95,8	57	13/82K	75,0
4	1/84KFs	383,4	31	4/62KFs	194,2	58	14/20TFs	161,0
5	2/55KFsa	13,8	32	6S/14K	15,5	59	16/4K	5,0
6	2/55KFsb	7,3	33	8/5KFs	264,9	60	16/7TFs	166,2
7	2/69KFsa	149,8	34	8/15K	6,8	61	16/10KFs	110,3
8	2/69KFsb	140,8	35	10/9K	10,8	62	16/14K	152,5
9	3/28KFsb	49,9	36	10/15KFs	15,0	63	16/15KFs	143,6
10	3/31KFs	80,6	37	10/19K	10,3	64	17/15TFs	110,8
11	3/60K	50,9	38	10/20KFs	116,1	65	17/16T	42,8
12	3Y/8TFs	515,8	39	10/23KFs	215,3	66	17/17K	0,6
13	3Y/28KFsa	535,6	40	11/6K	5,8	67	17/18K	3,4
14	3Y/40KFs	395,7	41	11/8KFs	273,4	68	17/27KFs	54,3
15	4/1KFs	324,8	42	11/10KFs	276,7	69	18/2K	5,0
16	4/11K	2,4	43	11/15KFs	84,2	70	18/6KFsa	167,5
17	4/19T	6,6	44	12/6KFs	61,2	71	18/10KFs	139,2
18	4/22KFs	257,1	45	12/10K	7,3	72	18/12K	4,6
19	4/26K	8,5	46	12/13K	52,1	73	18/13KFs	111,1
20	4/33KFs	626,2	47	12/14KFs	209,3	74	19/2-10K	42,4
21	4/41T	15,7	48	12/17K	68,4	75	19/2-14KFsa	295,0
22	4/42KFs	85,6	49	12/39KFs	192,2	76	19/2-14KFsb	34,9
23	4/43TFs	51,5	50	13/5KFs	101,7	77	19/2-29KFs	101,5
24	4/44K	-0,6	51	13/6KFs	93,9	78	19/2-44KFs	96,3
25	4/47K	24,6	52	13/8KFs	120,8	79	19/2-48KFs	63,4
26	4/50KFs	27,6	53	13/15KFsa	365,4	80	13/82K	75,0
27	4/51KFs	19,5	54	13/29K	11,3	81	14/20TFs	161,0

Çizelge 4.20. 2010-2011 çilek üretim sezonuna ait DNA ekstraksiyonu yapılan *Fusarium* spp. izolatlarının Picodrop'da 260 nm'de saptanan DNA miktarları

No	İzolat No	DNA ng/µl	No	İzolat No	DNA ng/µl	No	İzolat No	DNA ng/µl
1	1C/41KFs	278,2	33	4C/64TFs	297,3	65	19C/5TFs	268,6
2	1C/50KFs	147,5	34	4C/60KFs	80,6	66	19C/13TFs	60,3
3	1F/67KFs	138,7	35	4C/65KFs	86,7	67	19C/28TFs	295,3
4	1F/76KFs	303,1	36	4C/69TFs	215,5	68	19C/42KFs	185,3
5	1F/82TFs	213,1	37	4C/70TFs	123,5	69	19C/50KFs	690,4
6	1F/90KFs	56,8	38	8C/6KFs	59,6	70	19C/53KFs	248
7	1F/97KFs	126,4	39	4C/77KFs	178,2	71	19C/54KFs	95,4
8	2C/10TFs	83,4	40	4F/15TFs	33,2	72	19C/61KFs	2,1
9	2C/10KFs	548,3	41	6F/5TFs	137,4	73	19C/87KFs	124,0
10	2C/10TFs	36,4	42	6F/41KFs	149,6	74	20C/6TFs	416,2
11	2C/18KFs	101,1	43	6F/44KFs	62,2	75	20C/17KFs	177,3
12	2C/19KFs	46,2	44	6F/50KFs	53,2	76	20C/18KFs	101,2
13	2C/23KFs	223,6	45	6R/115TFs	384,3	77	20C/26KFs	559,9
14	2C/42TFs	35,1	46	6R/139TFs	77,6	78	20C/32KFs _b	210,2
15	2C/43KFs	49,7	47	6R/148TFs	75,7	79	20C/53KFs	164,5
16	2C/5TFs	105,5	48	6R/149TFs	305,1	80	20C/54KFs	291,8
17	2C/61KFs	26,7	49	8C/11KFs	387,1	81	20C/59KFs	240,8
18	2C/62TFs	96,8	50	8C/12KFs	152,8	82	22C/9KFs	165,6
19	2C/68TFs	78,9	51	8C/24KFs	123,0	83	22C/13KFs	263,7
20	2C/6KFs	311,5	52	10C/4KFs	36,2	84	22C/21KFs	-5,7
21	2C/71KFs	119,9	53	14F/12KFs	145,0	85	22C/27KFs	153,0
22	2C/76KFs	45,5	54	16C/7KFs	496,2	86	23C/2KFs	22,2
23	2C/81KFs	83,9	55	16C/9KFs	125,5	87	23C/3KFs	165
24	2C/83KFs	237,1	56	16C/10TFs	388,0	88	23C/6KFs _a	225,7
25	2C/89KFs	63,1	57	16C/7KFs	80,7	89	23C/8KFs	123,5
26	2F/132KFs	22,8	58	16C/17KFs	428,3	90	23C/12KFs _a	194,8
27	3F/128KFs	28,7	59	16C/22KFs _b	135,7	91	23C/16KFs _a	232,0
28	3F/129KFs	98,7	60	16C/31KFs	362,4	92	23C/24KFs	24,0
29	4C/47KFs	132,1	61	16C/39KFs	568,8	93	23C/26KFs	5,6
30	4C/50KFs _b	26,6	62	16C/42KFs	-11,9	94	24R/13KFs	437,4
31	4C/52KFs	161,4	63	16C/45TFs	118,3	95	27R/12KFs	19,7
32	4C/59KFs	116,6	64	19C/3TFs	81,5			

Çizelge 4.21. 2009-2010 çilek üretim sezonuna ait DNA ekstraksiyonu yapılan *Rhizoctonia* spp. izolatlarının Picodrop'da 260 nm'de saptanan DNA miktarları

No	İzolat No	DNA ng/µl	No	İzolat No	DNA ng/µl	No	İzolat No	DNA ng/µl
1	16/8KRh	771,8	21	2/70KRh	632,1	41	3/40KRh	372,2
2	14/11KRh	630,2	22	1/14KRh	531,4	42	15/9KRh	419,1
3	17/21KRh	290,5	23	3/32KRh	278,5	43	3/70KRh	835,9
4	17/9KRh	504,0	24	3/20KRh	283,0	44	3Y/13KRh	480,3
5	15/12TRh	410,3	25	3/49KRh	43,1	45	13/38KRh-2	94,0
6	3Y/26KRh	585,6	26	17/1KRh	120,1	46	12/17KRh	501,1
7	13/18KRh	360,5	27	14/9KRh	534,0	47	3/66KRh	728,2
8	6F/12KRh	170,4	28	12/37KRh	190,6	48	13/3KRh	207,3
9	14/7KRh	213,2	29	6F/10KRh	728,5	49	4/25KRh	438,2
10	13/53KRh	305,2	30	3/75KRh	528,1	50	13/8KRh	507,4
11	3/39KRh	138,2	31	3/21KRh	322,7	51	3/81KRh	452,1
12	10/12KRh	383,0	32	3/1KRh	305,0	52	14/3KRh	183,2
13	17/3KRh	706,1	33	4/60KRh	248,8	53	17/26KRh	366,5
14	4/4TRh	761,3	34	4/2KRh	520,8	54	14/4KRh	597,0
15	4/61KRh	566,8	35	3/3KRh	474,8	55	10/5KRh	7,3
16	5/1KRh	491,5	36	15/14KRh	1060,9	56	12/31KRh	410,4
17	14/18KRh	104,5	37	15/8TRh	14,8	57	13/79KRh	281,0
18	14/17KRh	593,3	38	17/27KRh	507,5	58	13/11KRh	515,5
19	3/52KRh	281,5	39	3/56KRh	1074,0	59	3/4KRh	125,0
20	3/48KRh	303,0	40	15/13TRh	8,7			

Çizelge 4.22. 2010-2011 çilek üretim sezonuna ait DNA ekstraksiyonu yapılan *Rhizoctonia* spp. izolatlarının Picodrop'da 260 nm'de saptanan DNA miktarları

No	İzolat No	DNA ng/µl	No	İzolat No	DNA ng/µl	No	İzolat No	DNA ng/µl
1	17C/44KRh	59,2	21	22C/5KRh	698,1	41	1F/83KRh	121,1
2	22C/27KRh	87,3	22	3C/30KRh	47,6	42	1C/28KRh	328,0
3	2C/70KRh	27,4	23	20C/14KRh	95,4	43	3F/111KRh	308,8
4	4F/17KRh	69,6	24	22C/23KRh	422,7	44	3F/108KRh	153,1
5	19C/66KRh	347,4	25	20C/31KRh	585,7	45	8C/31KRh	405,8
6	1C/48KRh	126,3	26	22C/20KRh	338,2	46	3F/107KRh	38,9
7	17C/39KRh	166,9	27	16C/41KRh	299,3	47	3F/125KRh	146,4
8	20C/52KRh	737,2	28	16C/43KRh	210,6	48	1C/53KRh	425,9
9	26R/2KRh	490,1	29	16C/23KRh	154,0	49	3F/109KRh	371,1
10	16C/31KRh	646,6	30	20C/28KRh	245,1	50	17C/47KRh	271,6
11	22C/10KRh	263,2	31	1C/22KRh	591,0	51	3F/124KRh	200,0
12	1C/66KRh	507,3	32	21C/6KRh	599,8	52	1F/77KRh	146,7
13	1C/35KRh	174,7	33	1C/17KRh	710,8	53	1F/70KRh	183,3
14	1C/40KRh	241,4	34	16C/17KRh	140,8	54	1C/53TRh	428,4
15	26R/13KRh	418,5	35	23C/13KRh	736,3	55	1F/94KRh	275,3
16	1C/26KRh	545,2	36	17C/42KRh	479,3	56	22C/14KRh	243,5
17	16C/25KRh	371,5	37	11C/27TRh	473,3	57	3F/118KRh	147,1
18	4C/68KRh	534,9	38	22C/14TRh	179,9			
19	21C/7KRh	864,7	39	3F/133KRh	127,9			
20	20C/19KRh	800,8	40	3F/134KRh	83,5			

Çizelge 4.23. 2009-2011 çilek üretim sezonlarında DNA ekstraksiyonu yapılan *Cylindrocarpon* spp. ve *Macrophomina phaseolina* izolatlarının Picodrop'da 260 nm'de saptanan DNA miktarları

İzolat Sayısı	İzolat No	DNA miktarı (ng/µL)	İzolat Sayısı	İzolat No	DNA miktarı (ng/µL)
1	21C/21KCylndro	101,7	7	17C/52KCylndro	283
2	16C/19KCylndro	218,6	8	21C/5KCylndro	88,7
3	17C/37KCylndro	156,6	9	17C/33KCylndro	40,1
4	17C/55KCylndro	27,2	1	2C/75KMP	106,6
5	6S/3KCylndro	159,8	2	4/53KMP	186,1
6	17C/27KCylndro	32,4	3	21C/19KMP	85,9

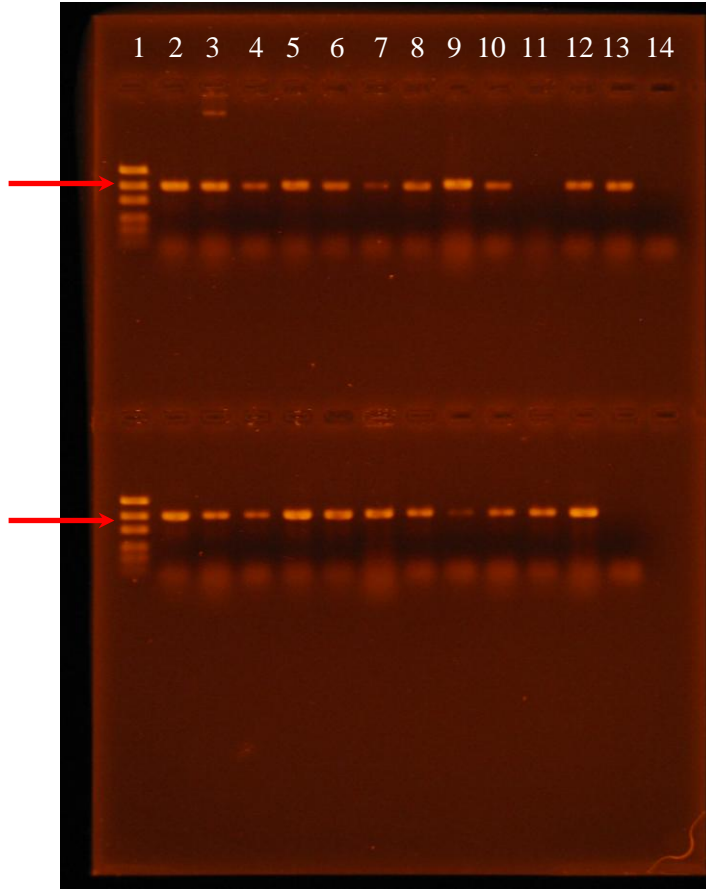
4.4.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

2009-2010 ve 2010 -2011 yılı çilek üretim sezonunda toplam 169 *Fusarium* spp. izolatının PCR sonuçlarının jel fotoğrafları Şekil 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15 ve 4.16' da verilmiştir. Genellikle DNA miktarı 100 ng ve 100 ng'dan fazla olan izolatların çoğunun PCR ile çoğaltılabildiği dikkati çekmiştir. Ancak bazı izolatlar mevcut PCR koşullarında çoğaltılamamıştır. Bu izolatların hem DNA ekstraksiyonları hem de PCR ile çoğaltılması birkaç kez tekrarlanmıştır. Örneğin Şekil 4.9 da görüleceği gibi 12/36KFs, 15/11TFs, 18/7KFs,19/-2 26KFs; Şekil 4.10' da 6S/14KFs, 2/55KFs, izolatlarından elde edilen DNA'lar PCR ile çoğaltılamamıştır. Benzer şekilde Şekil 4.11'de 17/16KFs,13/82KFs; Şekil 4.12' de 16C/7KFs, 4C/69TFs, 16C/10TFs, 4C/47KFs, 20C/26KFs; Şekil 4.13'de 19/2-48KFs, 4C/50KFs, 4C/65KFs, 8C/6KFs, 22C/9KFs; Şekil 4.14'de 19C/61KFs, 20C/54KFs, 23C/26KFs, 23C/2KFs, 13/6KFs, 10/15KFs, 3F/128KFs, 12/39KFs; Şekil 4.15 de 3F/129KFs, 11/10KFs, 17/16TFs, 19/2-36KFs, 13/74KFs, 10/23KFs, 8/5KFs, 19/2-47KFs, 4/59KFs, 19C/3TFs, 2C/21KFs, 22C/21KFs, 2C/61KFs, 2C/65KFs izolatlarından sonuç alınmamıştır. Bu nedenle toplam 169 adet izolat baz dizilerini belirlemek üzere Macrogen'e gönderilebilmiştir (Çizelge 4.24 ve 4.25).

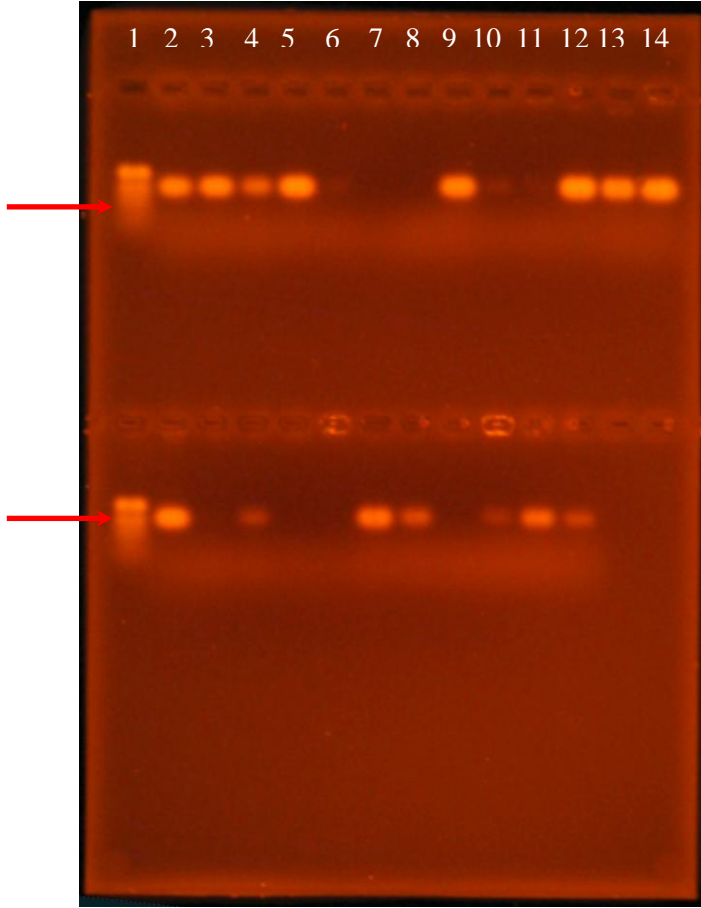
Rhizoctonia izolatlarına yönelik PCR sonuları değerlendirildiğinde Şekil 4.18'de 16C/41KRh, 13/38KRh-2; Şekil 4.20'de de 16C/17KRh, 3F/133KRh izolatlarından sonuç alınmamıştır (Çizelge 4.32 ve 4.33).

Sonuç olarak her iki üretim sezonunda 117 patojen *Rhizoctonia* spp. izolatının DNA ekstraksiyonu yapılmış ve PCR yapılan bu izolatların 107'sinden elektroforez sonrası bant elde edilmiştir (Şekil 4.18, 4.19, 4.20). Genellikle DNA miktarı 100 ng ve 100 ng'dan fazla olan 97 izolatın PCR'ları sonucunda agaroz jelde bantlar görüntülenmiştir. DNA miktarı 50 ng-100 ng arasında olan 3 izolattan ve 50 ng'dan az olan 4 izolattan PCR sonucu bant elde edilebilmiştir (Çizelge 4.21, 4.22). Geriye kalan 3 izolatın DNA ölçümü yapılmamış ancak bant verdiği görüntülenmiştir. 2010-2011 üretim sezonunda elde edilen 9 *Cylindrocarpon* spp. izolatının DNA miktarları 27,2 ng- 218,6 ng arasında olup, izolatların tamamından PCR sonucunda bant elde edilmiştir (Çizelge 4.23, Şekil 4.17). Benzer şekilde 3 *Macrophomina phaseolina* izolatının DNA miktarları 85,9 ng-186,1 ng arasında olup, 3 izolattan da bant elde edilebilmiştir (Çizelge 4.23, Şekil 4.17).

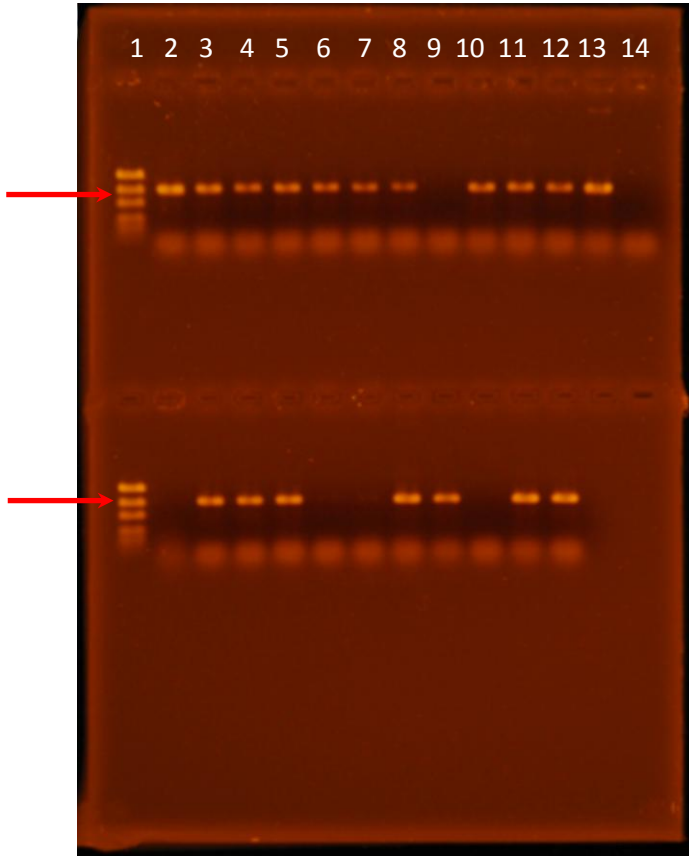
Her iki üretim sezonunda elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolatlarından DNA ekstraksiyonu yapılan toplam 178 *Fusarium* spp. izolatının 169'unun ve 117 *Rhizoctonia* spp. izolatının 72'sinin PCR sonuçları değerlendirilebilmiştir.



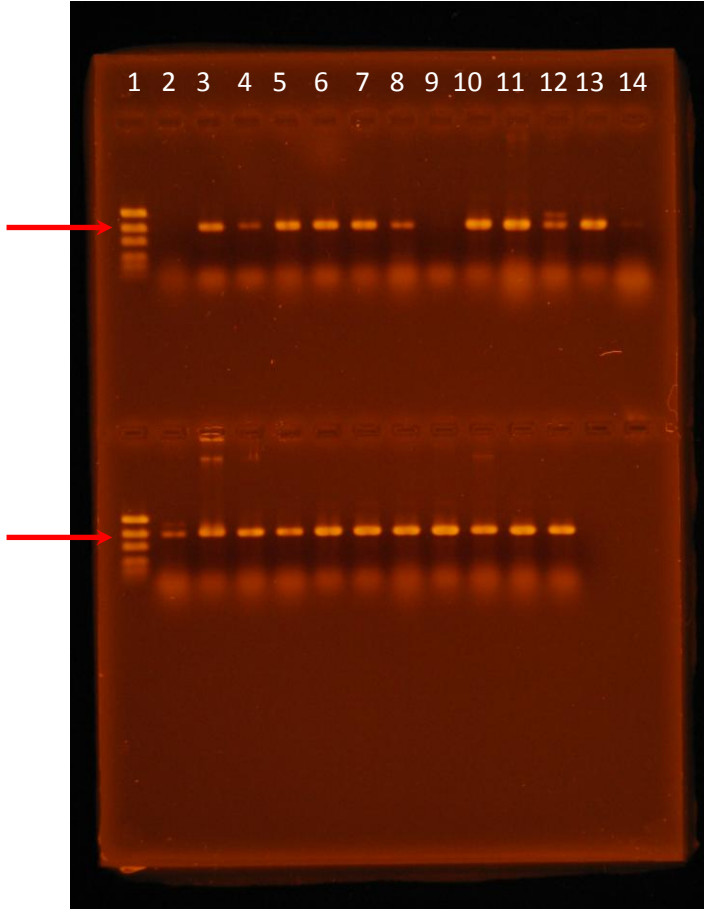
Şekil 4.9. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-10/6KFsa, 3-14/12KFsb, 4-12/36KFs, 5-19/2-12KFsa, 6-13/81KFs, 7-16/15KFs, 8-1/87KFs, 9-3Y/28KFs, 10-1/13KFs, 11-4/57KFs, 12-17/13KFs, 13-4/5TFs, 14-11/18KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-1/55KFs, 3-18/7KFs, 4-1/75KFsa, 5-13/21KFs, 6-4/44KFs, 7-15/11TFs, 8-1/42KFs, 9-3/28KFsb, 10-19/2-26KFs, 11-10/6KFsb, 12-18/10KFs, 13-su)



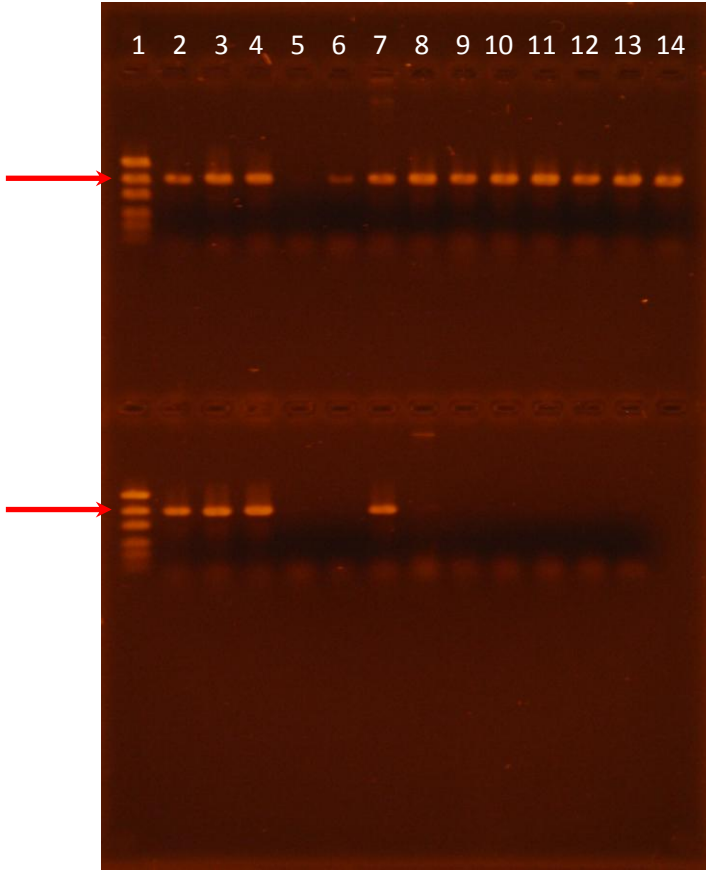
Şekil 4.10. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-4/19TFs, 3-4/41TFs, 4-4/47KFs, 5-1/43KFs, 6-13/15KFs, 7-6S/14KFs, 8-16/10KFs, 9-14/12KFs, 10-19/2-14KFs, 11-16/7TFs, 12-16/8KFs, 13-8/28TFs, 14-12/4KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-4/52KFs, 3-2/55KFs, 4-15/8KFs, 5-12/6KFs, 6-1/38KFs, 7-8/7KFs, 8-17/17KFs, 9-11/15KFs, 10-12/14KFs, 11-13/4TFs, 12-17/22KFs)



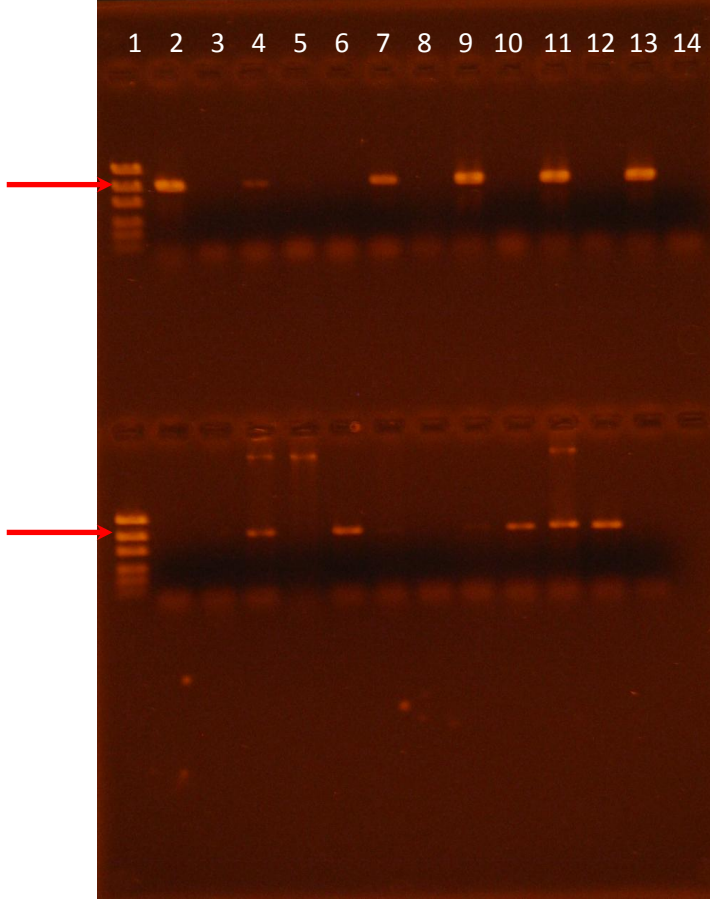
Şekil 4.11. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-16/4KFs, 3-16/14KFs, 4-11/6KFs, 5-8/15KFs, 6-4/51TFs, 7- 2/55KFs, 8-17/18KFs, 9-17/16KFs, 10-13/29KFs, 11-13/82KFs, 12-4/11KFs, 13-4/43TFs, 14-4/22KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-4/42KFs, 3-4/26KFs, 4-4/52TFs, 5-3/60KFs, 6-3/31KFs,7-12/13KFs, 8-12/17KFs, 9-10/9KFs, 10-10/20KFs, 11-10/19KFs, 12-18/12KFs)



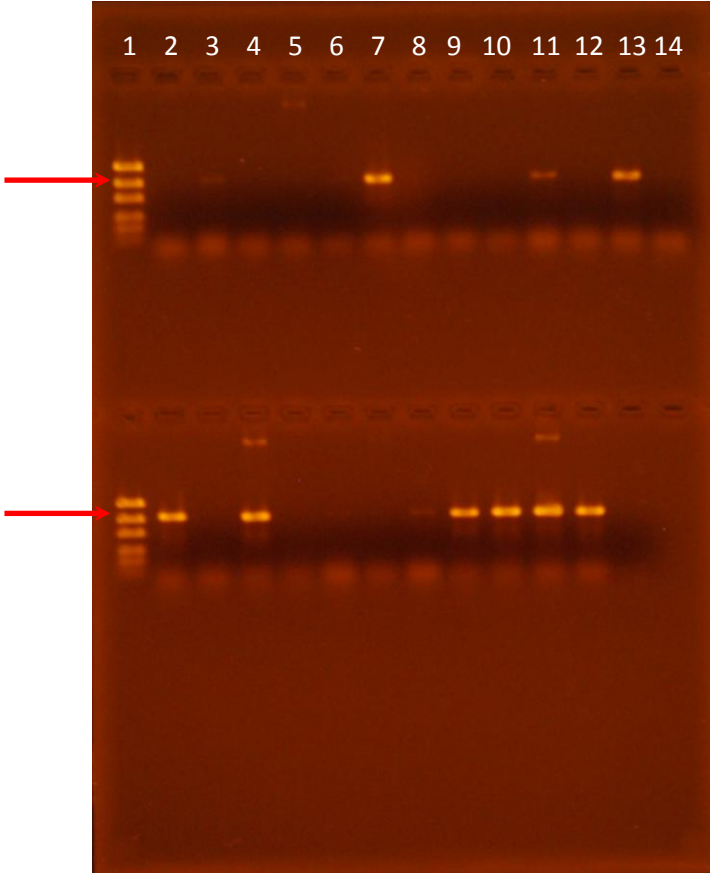
Şekil 4.12. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-19/2-10KFs, 3-12/10KFs, 4-18/2KFs, 5-28R/22KFs, 6-1F/83KFs, 7-2C/16KFs, 8-16C/10TFs, 9-16C/7KFs, 10-25R/6KFs, 11-2F/124KFs, 12-4C/69TFs, 13-4F/7TFs, 14-4C/47KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-20C/26KFs, 3-23C/18TFs, 4-23C/25KFs, 5-2C/29TFs, 6-8C/3KFs,7-20C/32KFs, 8-6F/50KFs, 9-6F/49KFs, 10-21C/16KFs, 11-6R/143TFs, 12-19C/18KFs)



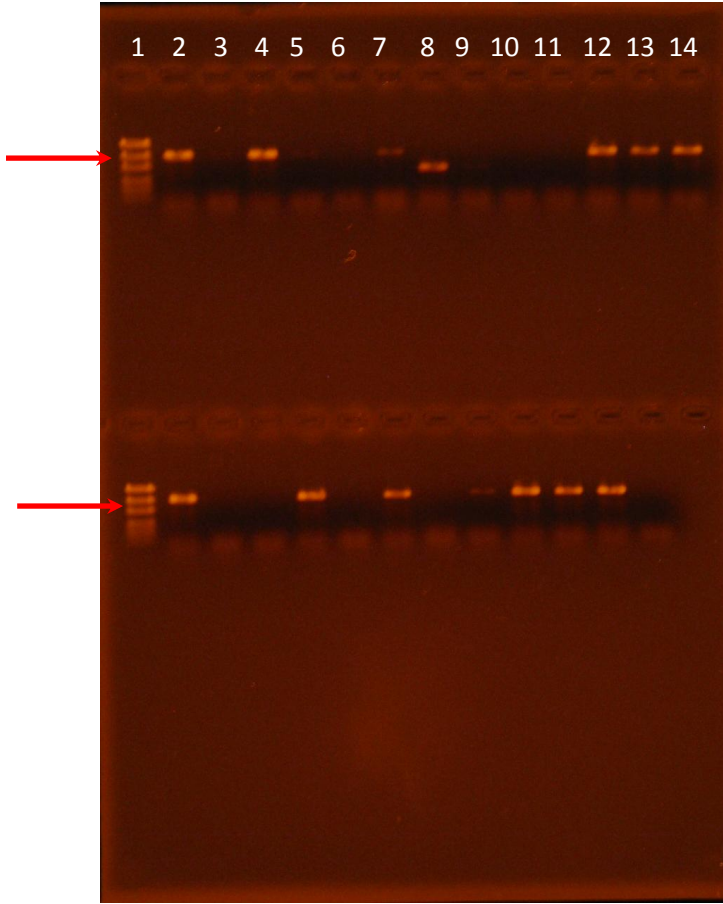
Şekil 4.13. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-18/10KFs, 3-1/75KFsa, 4-3/28KFsb, 5-20C/26KFs, 6-23C/8KFs, 7-20C/17KFs, 8-19C/42KFs, 9-8C/24KFs, 10-6R/149TFs, 11-14F/12KFsa, 12-23C/20TFs, 13-19C/53KFs, 14-23C/3KFs.Altta1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-20C/32KFs, 3-4C/64TFs, 4-23C/12KFsa, 5-16C/10TFs, 6-2C/10TFs,7-6R/148TFs, 8-19/2-/48KFs, 9-4C/50KFs, 10-4C/65KFs, 11-8C/6KFs, 12-22C/9KFs, 13-su)



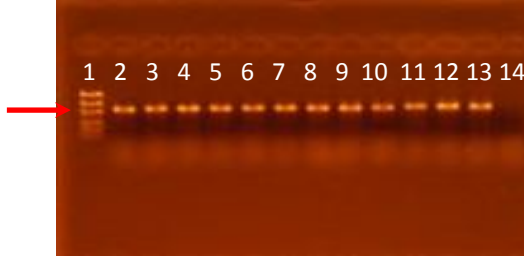
Şekil 4.14. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-17/15TFs, 3-19C/61KFs, 4-20C/54KFs, 5-23C/26KFs, 6-23C/2KFs, 7-2C/42TFs, 8-19/2-14KFs, 9-11/8KFs, 10-13/6KFs, 11-4/1KFs, 12-10/15KFs, 13-2/69KFs, 14-4/50KFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-3F/128KFs, 3-12/39KFs, 4-13/15KFs, 5-18/6KFs, 6-4/51KFs, 7-16/10KFs, 8-2/55KFs, 9-3Y/40KFs, 10-19/2-14KFs, 11-19/2-44KFs, 12-11/15KFs, 13-su)



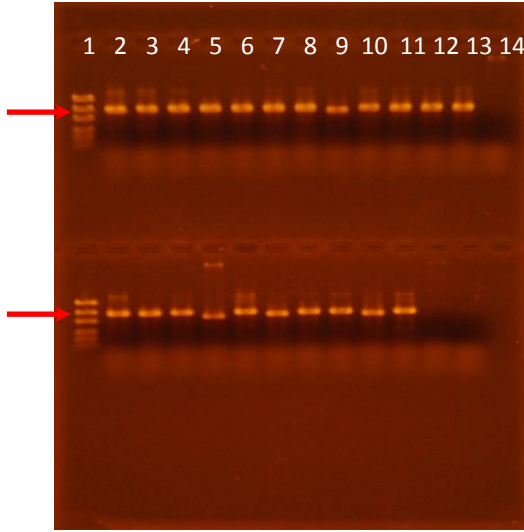
Şekil 4.15. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-3F/129KFs, 3-11/10KFs, 4-17/16TFs, 5-19/2-36KFs, 6-13/74Fs, 7-19/2-25KFs, 8-10/23KFs, 9-8/5KFs, 10-19/2-47KFs, 11-3/31KFs, 12-4/59KFs, 13-14/20TFs, 14-19C/3TFs. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-3Y/28KFs, 3-2C/21KFs, 4-20C/17KFs, 5-22C/21KFs, 6-8C/30KFs, 7-2C/61KFs, 8-2C/65KFs, 9-1C/50KFs, 10-4F/15TFs, 11-1/84KFs, 12-10/19KFs, 13-su)



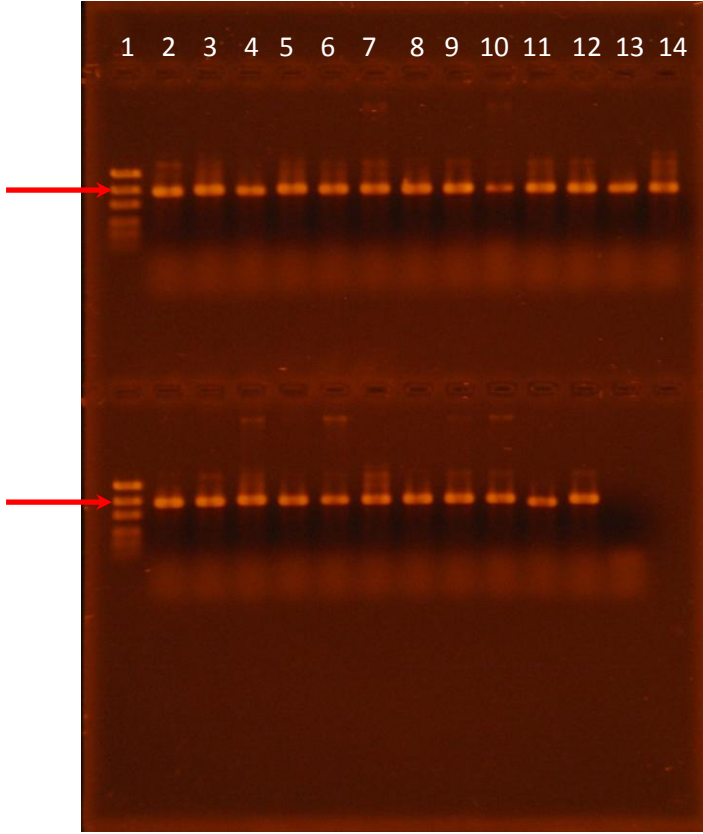
Şekil 4.16. Üstte ve altta EF1/EF2 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-1F/76KFs, 3-16/10KFs, 4-23C/16KFsa, 5-20C/26KFs, 6-4C/59KFs, 7-3/31KFs, 8-23C/3TFs, 9-22C/17TFs, 10-2C/6KFs, 11-16C/22KFsb, 12-2C/10TFs, 13-12/13KFs, 14-19C/42KFs.Altta1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-18/2KFs, 3-4C/47KFs, 4-10C/4KFs, 5-3Y/40KFs, 6-23C/2KFsb, 7-19/2-29KFs, 8-11/15KFs, 9-24R/13KFs, 10-6R/139TFs, 11-4C/52KFs, 12-20/32KFs, 13-su)



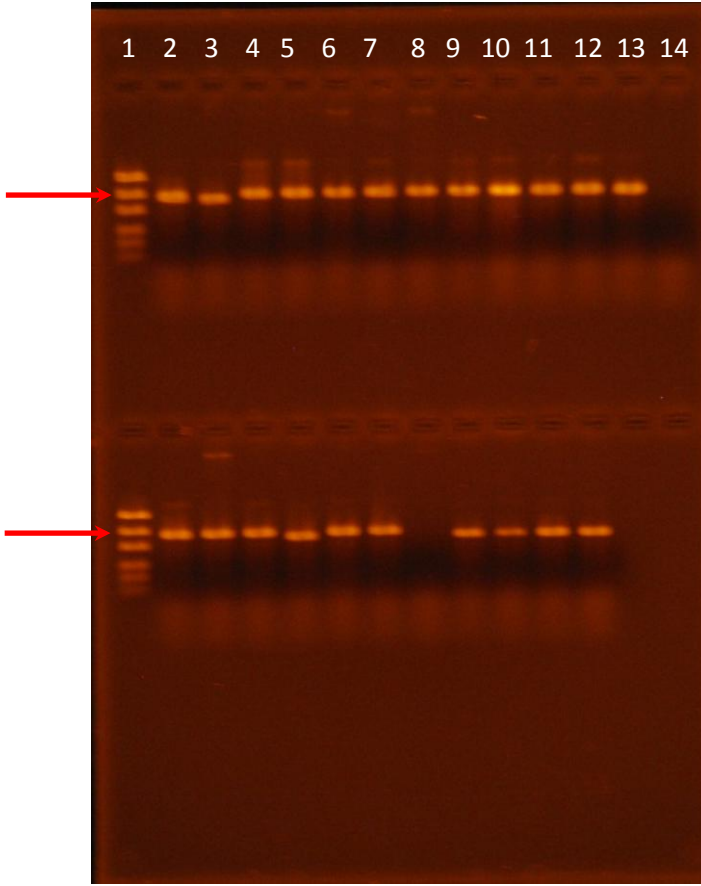
Şekil 4.17. ITS1/ITS4 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-17C/33KCyInd., 3-21C/5KCyInd., 4-17C/52KCyInd., 5-17C/27KCyInd., 6-6S/3KCyInd., 7-17C/55KCyInd., 8-17C/37KCyInd., 9-16C/19KCyInd., 10-21C/21KCyInd., 11-21C/19KMP, 12-4/53KMP, 13-2C/75KMP)



Şekil 4.18. Üstte ve altta ITS1/ITS4 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-26R/13KRh, 3-1C/26KRh, 4-16C/25KRh, 5-4C/68KRh, 6-21C/7KRh, 7-20C/19KRh, 8-22C/5KRh, 9-3C/30KRh, 10-20C/14KRh, 11-22C/23KRh, 12-20C/31KRh, 13-22C/20KRh, 14-16C/41KRh. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-16C/43KRh, 3-16C/23KRh, 4-20C/28KRh, 5-15/14KRh, 6-17/27KRh, 7-3/56KRh, 8-3/40KRh, 9-15/9KRh, 10-3/70KRh, 11-3Y/13KRh, 12-13/38KRh-2)



Şekil 4.19. Üstte ve altta ITS1/ITS4 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-17/13KRh, 3-16/8KRh, 4-4/4KRh, 5-14/11KRh, 6-4/61KRh, 7-17/12KRh, 8-5/1KRh, 9-17/9KRh, 10-14/18KRh, 11-15/12TRh, 12-14/17KRh, 13-3Y/26KRh, 14- 3/52KRh. Altta1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-13/18KRh, 3-3/48KRh, 4-6F/12KRh, 5-2/70KRh, 6-14/7KRh,7-1/14KRh, 8-13/53KRh, 9-3/32KRh, 10-3/39KRh, 11-3/20KRh, 12-10/12KRh)



Şekil 4.20. Üstte ve altta ITS1/ITS4 primerleri ile çoğaltılan fungal izolatlara ait PCR ürünlerinin, %1.5 agaroz jel elektroforezde etidyum bromür ile boyandıktan sonraki görünümü (Üstte 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir.2-12/17KRh, 3-3/66KRh, 4-13/3KRh, 5-4/25KRh, 6-13/8KRh, 7-3/81KRh, 8-14/3KRh, 9-17/26KRh, 10-14/4KRh, 11-1C/22KRh, 12-21C/6KRh, 13-1C/17KRh, 14-16C/17KRh. Altta 1-Moleküler ağırlık işaretleyicisi oklar 600 bç ini göstermektedir. 2-23/13KRh, 3-17C/42KRh, 4-12/31KRh, 5-11C/27TRh, 6-22C/14TRh,7-13/79KRh, 8-3F/133KRh, 9-3F/134KRh, 10-1F/83KRh, 11-1C/28KRh, 12-3F/111KRh)

4.4.2.3. BLAST analizi

Elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi sonrası gen bankası veri tabanından yararlanılarak yapılan BLAST analizi sonuçları Çizelge 4.24, 4.25, 4.26 ve 4.27’de, DNA ekstraksiyonu yapılarak rDNA baz dizileri belirlenen 9 *Cylindrocarpon* spp. ve 3 *M. phaseolina* izolatının analiz sonuçları ise Çizelge 4.28’de verilmiştir.

2009-2010 çilek üretim sezonunda elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolatlarından 83’ünün EF1/EF-2 primerleri ile elde edilen PCR ürününün sekansı sonucunda BLAST analizi’nde % 99-100 max. benzerlikle 63 izolat *Fusarium oxysporum*, 14 izolat *Fusarium proliferatum*, 2 izolat *Fusarium acuminatum*, 1’er izolatın *Fusarium solani* ve *Fusarium avenaceum*, 2 izolatın da % 81-100 benzerlikle *Fusarium redolens* olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.24 ve 4.26). 2010-2011 çilek üretim sezonunda elde edilen patojen 86 *Fusarium* spp. izolatlarının EF1/EF-2 ile sekansı sonucunda BLAST analizi’nde % 83- 99 ve 100 max. benzerlikle 60 izolatın *F. oxysporum*, 18 izolatın *F. proliferatum* (% 99-100 benzerlik), 4 izolatın *F. solani* (% 99-100 benzerlik), 2 izolatın *Fusarium verticilloides* (% 99-100 benzerlik) ve 1’er izolatın ise *Fusarium arthrosporioides* (% 99-100 benzerlik) ve *Fusarium lateritium* (% 91 benzerlik) olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.25 ve 4.27).

Çizelge 4.24. 2009-2010 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 83 *Fusarium* spp. izolatının Translation Elongation Factor (TEF-1) α genine özgü EF1-EF2-2 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları

No	İzolat no	Çeşit	PCR EF-1/EF- 2 ~ 700 bp	Sekans kalitesi	BLAST analiz	
					Maks. benzerlik (%)	Taksonomik sonuç
1	1/13KFs	Camarosa	+	40	99	<i>F.oxysporum</i>
2	1/38KFs	Camarosa	+	48	99	<i>F.oxysporum</i>
3	1/42KFs	Camarosa	+	53	100	<i>F.oxysporum</i>
4	1/43KFs	Camarosa	+	43	100	<i>F.oxysporum</i>
5	1/55KFs	Camarosa	+	51	99	<i>F.oxysporum</i>
6	1/75KFs	Camarosa	+	46	99	<i>F.oxysporum</i>
7	1/84KFs	Camarosa	+	46	99	<i>F.oxysporum</i>
8	1/87KFs	Camarosa	+	46	100	<i>F.oxysporum</i>
9	2/55KFs	Festival	+	41	99	<i>F.oxysporum</i>
10	2/69KFs	Festival	+	47	99	<i>F. proliferatum</i>
11	3/28KFs	Camarosa	+	41	99	<i>F.oxysporum</i>
12	3/31KFs	Camarosa	+	16	86	<i>F.oxysporum</i>
13	3/60KFs	Camarosa	+	41	100	<i>F.oxysporum</i>
14	3Y/8TFs	Camarosa	+	45	99	<i>F. proliferatum</i>
15	3Y/28KFs	Camarosa	+	54	99	<i>F. solani</i>
16	3Y/40KFs	Camarosa	+	47	99	<i>F. proliferatum</i>
17	4/1KFs	Camarosa	+	46	99	<i>F. proliferatum</i>
18	4/5TFs	Camarosa	+	53	99	<i>F.oxysporum</i>
19	4/11KFs	Camarosa	+	46	99	<i>F.oxysporum</i>
20	4/19TFs	Camarosa	+	40	99	<i>F.oxysporum</i>
21	4/22KFs	Camarosa	+	45	100	<i>F.proliferatum</i>
22	4/26KFs	Camarosa	+	38	99	<i>F.oxysporum</i>
23	4/41TFs	Camarosa	+	41	99	<i>F.oxysporum</i>
24	4/42KFs	Camarosa	+	45	99	<i>F. proliferatum</i>
25	4/43TFs	Camarosa	+	35	99	<i>F.oxysporum</i>
26	4/44KFs	Camarosa	+	54	100	<i>F.oxysporum</i>
27	4/47KFs	Camarosa	+	40	100	<i>F.oxysporum</i>
28	4/51KFs	Camarosa	+	41	99	<i>F.oxysporum</i>
29	4/51TFs	Camarosa	+	40	99	<i>F.oxysporum</i>
30	4/52KFs	Camarosa	+	38	99	<i>F.oxysporum</i>
31	4/52TFs	Camarosa	+	41	99	<i>F.oxysporum</i>
32	4/57KFs	Camarosa	+	48	100	<i>F.oxysporum</i>
33	6F/5TFs	Festival	+	26	100	<i>F.oxysporum</i>
34	8/7KFs	Camarosa	+	30	99	<i>F.oxysporum</i>
35	8/15KFs	Camarosa	+	41	99	<i>F.oxysporum</i>
36	8/28TFs	Camarosa	+	44	100	<i>F.oxysporum</i>
37	10/6KFs	Camarosa	+	53	100	<i>F.oxysporum</i>
38	10/6KFs	Camarosa	+	47	100	<i>F.oxysporum</i>
39	10/9KFs	Camarosa	+	40	99	<i>F.oxysporum</i>
40	10/19KFs	Camarosa	+	45	99	<i>F. proliferatum</i>
41	10/20KFs	Camarosa	+	43	99	<i>F. proliferatum</i>

Çizelge 4.24. 2009-2010 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 83 *Fusarium* spp. izolatının Translation Elongation Factor (TEF-1) α genine özgü EF1-EF2-2 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları (devamı)

42	11/6KFs	Camarosa	+	41	100	<i>F.oxysporum</i>
43	11/8KFs	Camarosa	+	47	99	<i>F.oxysporum</i>
44	11/15KFs	Camarosa	+	24	99	<i>F. avenaceum</i>
45	12/4KFs	Camarosa	+	45	99	<i>F.oxysporum</i>
46	12/6KFs	Camarosa	+	43	99	<i>F.oxysporum</i>
47	12/10KFs	Camarosa	+	42	99	<i>F.oxysporum</i>
48	12/13KFs	Camarosa	+	47	100	<i>F. acuminatum</i>
49	12/14KFs	Camarosa	+	48	100	<i>F.oxysporum</i>
50	12/17KFs	Camarosa	+	40	99	<i>F.oxysporum</i>
51	13/4TFs	Camarosa	+	40	100	<i>F.oxysporum</i>
52	13/15KFs _a	Camarosa	+	18	100	<i>F.oxysporum</i>
53	13/21KFs	Camarosa	+	53	100	<i>F.oxysporum</i>
54	13/29KFs	Camarosa	+	41	99	<i>F.oxysporum</i>
55	13/45KFs	Camarosa	+	40	99	<i>F. proliferatum</i>
56	13/81KFs	Camarosa	+	51	100	<i>F.oxysporum</i>
57	14/12KFs _a	Camarosa	+	39	100	<i>F.oxysporum</i>
58	14/12KFs _b	Camarosa	+	34	99	<i>F.oxysporum</i>
59	14/20TFs	Camarosa	+	46	99	<i>F.oxysporum</i>
60	15/8KFs	Camarosa	+	44	99	<i>F.oxysporum</i>
61	16/4KFs	Camarosa	+	39	99	<i>F.oxysporum</i>
62	16/7TFs	Camarosa	+	44	99	<i>F.proliferatum</i>
63	16/8KFs	Camarosa	+	39	100	<i>F.oxysporum</i>
64	16/10KFs	Camarosa	+	30	98	<i>F. proliferatum</i>
65	16/14KFs	Camarosa	+	41	99	<i>F.oxysporum</i>
66	16/15KFs	Camarosa	+	46	99	<i>F. proliferatum</i>
67	17/13KFs	Camarosa	+	51	99	<i>F.oxysporum</i>
68	17/15TFs	Camarosa	+	34	100	<i>F. proliferatum</i>
69	17/17KFs	Camarosa	+	40	100	<i>F.oxysporum</i>
70	17/18KFs	Camarosa	+	40	100	<i>F.oxysporum</i>
71	17/22KFs _a	Camarosa	+	47	100	<i>F.oxysporum</i>
72	18/2KFs	Camarosa	+	43	99	<i>F.oxysporum</i>
73	18/6KFs _a	Camarosa	+	35	100	<i>F.proliferatum</i>
74	18/10KFs	Camarosa	+	47	99	<i>F.oxysporum</i>
75	18/12KFs	Camarosa	+	47	100	<i>F.oxysporum</i>
76	18/13KFs	Camarosa	+	40	99	<i>F.oxysporum</i>
77	19/2-10KFs	Camarosa	+	47	99	<i>F.oxysporum</i>
78	19/2-12KFs	Camarosa	+	37	100	<i>F.oxysporum</i>
79	19/2-14KFs _a	Camarosa	+	34	99	<i>F. acuminatum</i>
80	19/2-14KFs _b	Camarosa	+	47	100	<i>F. redolens</i>
81	19/2-25KFs _a	Camarosa	+	16	97	<i>F.oxysporum</i>
82	19/2-29KFs	Camarosa	+	43	99	<i>F.oxysporum</i>
83	19/2-44KFs	Camarosa	+	15	81	<i>F. rodolens</i>

Çizelge 4.25. 2010-2011 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 86 *Fusarium* spp. izolatının Translation Elongation Factor (TEF-1) α genine özgü EF-1/EF-2 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları

No	İzolat no	Çeşit	PCR EF-1/ 2 ~ 700 bp	Sekans kalitesi	BLAST analiz	
					Maks. benzerlik (%)	Taksonomik sonuç
1	1C/50KFs	Camarosa	+	13	83	<i>F. oxysporum</i>
2	1F/75KFs	Festival	+	54	99	<i>F. oxysporum</i>
3	1F/76KFs	Festival	+	47	99	<i>F. oxysporum</i>
4	1F/79KFs	Festival	+	53	99	<i>F. oxysporum</i>
5	1F/82TFs	Festival	+	45	99	<i>F. oxysporum</i>
6	1F/83KFs	Festival	+	36	100	<i>F. oxysporum</i>
7	2C/10KFs	Camarosa	+	42	99	<i>F. proliferatum</i>
8	2C/10TFs	Camarosa	+	47	99	<i>F. proliferatum</i>
9	2C/14KFs	Camarosa	+	54	99	<i>F. oxysporum</i>
10	2C/16KFs	Camarosa	+	40	99	<i>F. oxysporum</i>
11	2C/18TFs	Camarosa	+	55	99	<i>F. oxysporum</i>
12	2C/19KFs	Camarosa	+	44	99	<i>F. proliferatum</i>
13	2C/29TFs	Camarosa	+	40	99	<i>F. oxysporum</i>
14	2C/42TFs	Camarosa	+	41	99	<i>F. oxysporum</i>
15	2C/53KFs	Camarosa	+	46	100	<i>F. oxysporum</i>
16	2C/62TFs	Camarosa	+	52	99	<i>F. oxysporum</i>
17	2C/68TFs	Camarosa	+	45	100	<i>F. proliferatum</i>
18	2C/71KFs	Camarosa	+	46	99	<i>F. proliferatum</i>
19	2C/78KFs	Camarosa	+	47	99	<i>F. oxysporum</i>
20	2F/124KFs	Festival	+	42	99	<i>F. oxysporum</i>
21	3C/47TFs	Camarosa	+	49	100	<i>F. solani</i>
22	4C/52KFs	Camarosa	+	43	99	<i>F. proliferatum</i>
23	4C/53KFs	Camarosa	+	42	99	<i>F. oxysporum</i>
24	4C/64TFs	Camarosa	+	47	99	<i>F. proliferatum</i>
25	4C/70TFs	Camarosa	+	44	99	<i>F. proliferatum</i>
26	4C/71KFs	Camarosa	+	56	99	<i>F. oxysporum</i>
27	4C/72KFs	Camarosa	+	37	100	<i>F. oxysporum</i>
28	4C/77KFs	Camarosa	+	46	100	<i>F. proliferatum</i>
29	4C/78TFs	Camarosa	+	51	99	<i>F. oxysporum</i>
30	4F/7TFs	Festival	+	45	99	<i>F. solani</i>
31	4F/11TFs	Festival	+	46	99	<i>F. solani</i>
32	4F/15TFs	Festival	+	44	99	<i>F. oxysporum</i>
33	6F/49KFs	Festival	+	42	93	<i>F. oxysporum</i>
34	6F/50KFs	Festival	+	36	100	<i>F. oxysporum</i>
35	6R/120KFs	Rubigem	+	50	99	<i>F. oxysporum</i>
36	6R/139TFs	Rubigem	+	47	99	<i>F. verticilloides</i>
37	6R/143TFs	Rubigem	+	41	99	<i>F. oxysporum</i>
38	6R/148TFs	Rubigem	+	45	99	<i>F. proliferatum</i>
39	6R/149TFs	Rubigem	+	47	99	<i>F. verticilloides</i>
40	8C/3KFs	Camarosa	+	41	100	<i>F. oxysporum</i>

Çizelge 4.25. 2010-2011 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 86 *Fusarium* spp. izolatının Translation Elongation Factor (TEF-1) α genine özgü EF-1/EF-2 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları (devamı)

41	8C/10KFs	Camarosa	+	50	99	<i>F. oxysporum</i>
42	8C/24KFs	Camarosa	+	48	100	<i>F. oxysporum</i>
43	8C/29KFs	Camarosa	+	48	99	<i>F. oxysporum</i>
44	8C/30KFs	Camarosa	+	53	100	<i>F. oxysporum</i>
45	10C/8KFs	Camarosa	+	54	100	<i>F. oxysporum</i>
46	14F/12KFs _a	Festival	+	47	99	<i>F. oxysporum</i>
47	16C/5KFs	Camarosa	+	45	99	<i>F. oxysporum</i>
48	16C/6KFs	Camarosa	+	40	99	<i>F. oxysporum</i>
49	16C/30KFs _a	Camarosa	+	46	99	<i>F. oxysporum</i>
50	16C/39KFs	Camarosa	+	41	99	<i>F. oxysporum</i>
51	19C/5TFs	Camarosa	+	44	100	<i>F. proliferatum</i>
52	19C/18KFs	Camarosa	+	42	100	<i>F. oxysporum</i>
53	19C/28TFs	Camarosa	+	54	100	<i>F. solani</i>
54	19C/32TFs	Camarosa	+	45	100	<i>F. proliferatum</i>
55	19C/42kFs	Camarosa	+	48	100	<i>F. proliferatum</i>
56	19C/53KFs	Camarosa	+	48	99	<i>F. proliferatum</i>
57	19C/54KFs	Camarosa	+	51	100	<i>F. oxysporum</i>
58	20C/1KFs	Camarosa	+	53	100	<i>F. oxysporum</i>
59	20C/17KFs	Camarosa	+	46	99	<i>F. proliferatum</i>
60	20C/32KFs	Camarosa	+	48	100	<i>F. oxysporum</i>
61	20C/37TFs	Camarosa	+	52	100	<i>F. oxysporum</i>
62	20C/48KFs	Camarosa	+	53	99	<i>F. oxysporum</i>
63	20C/59KFs	Camarosa	+	51	100	<i>F. oxysporum</i>
64	21C/9KFs _a	Camarosa	+	55	100	<i>F. oxysporum</i>
65	21C/16KFs	Camarosa	+	41	99	<i>F. oxysporum</i>
66	22C/13KFs	Camarosa	+	53	100	<i>F. oxysporum</i>
67	22C/30KFs	Camarosa	+	44	100	<i>F. oxysporum</i>
68	23C/3KFs	Camarosa	+	54	100	<i>F. oxysporum</i>
69	23C/3TFs	Camarosa	+	36	91	<i>F. lateritium</i>
70	23C/5TFs	Camarosa	+	53	99	<i>F. oxysporum</i>
71	23C/6KFs _b	Camarosa	+	53	100	<i>F. oxysporum</i>
72	23C/8KFs	Camarosa	+	39	100	<i>F. proliferatum</i>
73	23C/12KFs _a	Camarosa	+	43	99	<i>F. oxysporum</i>
74	23C/12TFs	Camarosa	+	54	100	<i>F. oxysporum</i>
75	23C/13KFs	Camarosa	+	55	100	<i>F. oxysporum</i>
76	23C/16KFs _a	Camarosa	+	47	99	<i>F. proliferatum</i>
77	23C/18TFs _a	Camarosa	+	37	100	<i>F. oxysporum</i>
78	23C/20TFs	Camarosa	+	48	100	<i>F. oxysporum</i>
79	23C/23TFs	Camarosa	+	53	100	<i>F. oxysporum</i>
80	23C/25KFs	Camarosa	+	41	99	<i>F. arthrosporioides</i>
81	24R/3KFs	Rubigem	+	54	99	<i>F. oxysporum</i>
82	25R/6KFs	Rubigem	+	41	100	<i>F. oxysporum</i>
83	25R/14KFs	Rubigem	+	54	99	<i>F. oxysporum</i>
84	26R/24KFs	Rubigem	+	54	100	<i>F. oxysporum</i>
85	26R/25KFs	Rubigem	+	46	99	<i>F. proliferatum</i>
86	28R/22KFs	Rubigem	+	38	100	<i>F. oxysporum</i>

Çizelge 4.26. 2009-2010 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolat sayıları ve Blast analiz sonuçları

Üretici No	Fide Orijini	Çeşit	Patojen izolat	PCR pozitif sayı	Sekansı belirlenen izolat	Fo	Fp	Fs	Fav	Fac	Fre
1	Kol fidesi	Camarosa	12	8	8	8					
2	Frigo fide(1.by)	Festival	4	2	2	1	1				
3	Kol fidesi	Camarosa	4	3	3	3					
3Y	Frigo fide (1.by)	Camarosa	3	3	3		2	1			
4	Kol fidesi	Camarosa	21	16	16	13	3				
5	Frigo fide (2.by)	Festival	0	-	-						
6SC	Frigo fide(1.by)	Sweetcharliae	3	1	-						
6F	Frigo fide (1.by)	Festival	1	1	1	1					
7	Frigo fide (1.by)	Sweetcharliae	0	-	-						
8	Frigo fide (2.by)	Camarosa	5	3	3	3					
9	Frigo fide (2.by)	Camarosa	0	-	-						
10	Kol fidesi	Camarosa	7	5	5	3	2				
11	Kol fidesi	Camarosa	6	3	3	2			1		
12	Kol fidesi	Camarosa	9	6	6	5				1	
13	Kol fidesi	Camarosa	13	6	6	5	1				
14	Kol fidesi	Camarosa	3	3	3	3					
15	Kol fidesi	Camarosa	2	1	1	1					
16	Kol fidesi	Camarosa	7	6	6	3	3				
17	Kol fidesi	Camarosa	9	5	5	4	1				
18	Kol fidesi	Camarosa	6	5	5						
19/2	Kol fidesi (2.by)	Camarosa	10	7	7	4				1	2
TOPLAM			125	84	84	64	14	1	1	2	2

(*) Fo: *Fusarium oxysporum*, Fs:*Fusarium solani*, Fp: *Fusarium proliferatum*, Fav:*Fusarium avenaceum* Fac:*Fusarium acuminatum* Fre:*Fusarium redolens*

2009-2010 çilek üretim sezonunda çeşit farkı göz ardı edilerek fide orjini bazında değerlendirildiğinde, kol fidesi kullanan toplam 13 üreticiden 12'sinden (% 92,3) alınan çilek fidesi örneklerinde *F.oxysporum* saptanmıştır. Bu 12 üreticinin 5'inde (% 38,5) *F.proliferatum* ve 1 üreticide *F.avenaceum* ve *F.redolens*, 2 üreticide *F.acuminatum* ve türleri saptanmıştır. Sadece 1. boy frigo fide kullanan 1 üreticide (% 7,7) *F.solani* saptanmıştır (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.27. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolat sayıları ve Blast Analiz Sonuçları

Üretici No	Çeşit	Fide orijini	Pat. izolat sayısı	PCR pozitif sayı	Sekansı belirlenen izolat sayısı	<i>Fusarium türleri</i>					
						Fo	Fp	Fs	Fa	Fve	Fla
1	Festival	Frigo fide (1.by)	7	5	5	5					
	Rubygem	Frigo fide (1.by)	0	-	-						
	Camarosa	Kol fidesi	2	1	1	1					
2	Rubygem	Frigo fide (1.by)	0	-	-						
	Festival	Frigo fide (1.by)	2	1	1	1					
	Camarosa	Kol fidesi	28	13	13	8	5				
3	Festival	Frigo fide (1.by)	3	-	-						
	Camarosa	Kol fidesi	1	1	1			1			
4	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	2	-	-						
	Festival	Frigo fide (2.by)	3	3	3	1		2			
	Camarosa	Kol fidesi	13	8	8	4	4				
5	Festival	Frigo fide (2.by)	1	-	-						
6	Rubygem	Frigo fide (2.by)	6	5	5	2	1			2	
	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	0	0	0						
	Festival	Frigo fide (1.by)	5	2	2	2					
7	Camarosa	Frigo fide(1.by)	0	-	-						
8	Camarosa	Kol fidesi	8	5	5	5					
	Camarosa	Frigo fide (1.by)	0	-	-						
9	Camarosa	Frigo fide (1.by)	0	-	-						
10	Camarosa	Frigo fide (1.by)	2	1	1	1					
11	Camarosa	Frigo fide (2.by)	0	-	-						
12	Camarosa	Frigo fide (1.by)	0	-	-						

Çizelge 4.27. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Fusarium* spp. izolat sayıları ve Blast Analiz Sonuçları (devamı)

14	Festival	Frigo fide (2.by)	1	1	1	1					
15	Camarosa	Frigo fide (2.by)	0	-	-						
16	Camarosa	Kol fidesi	11	4	4	4					
17	Camarosa	Kol fidesi	0	-	-						
18	Festival	Frigo fide (2.by)	0	-	-						
	Camarosa	Frigo fide (2.by)	0	-	-						
19	Camarosa	Kol fidesi	14	7	7	2	4	1			
20	Camarosa	Kol fidesi	16	6	6	5	1				
21	Camarosa	Kol fidesi	3	2	2	2					
22	Camarosa	Kol fidesi	9	2	2	2					
23	Camarosa	Kol fidesi	21	13	13	9	2		1		1
24	Rubygem	Yeşil fide	2	1	1	1					
25	Rubygem	Yeşil fide	2	2	2	2					
26	Rubygem	Yeşil fide	2	2	2	1	1				
27	Rubygem	Yeşil fide	1	-	-						
28	Rubygem	Yeşil fide	1	1	1	1					
TOPLAM			166	86	86	60	18	4	1	2	1

* Fo: *Fusarium oxysporum* Fs: *Fusarium solani* Fp: *Fusarium proliferatum* Fve: *Fusarium verticilloides* Fa: *Fusarium arthrosporioides* Fla: *Fusarium lateritium*

Benzer şekilde Çizelge 31'deki veriler dikkate alındığında kol fidesi kullanan toplam 12 üreticiden 10 (% 83,3)' unda *F.oxysporum* saptanmıştır. Bu üreticilerin 5' inde *F. proliferatum*, 2' sinde *F.solani* ve 1'er üreticide de *F. arthrosporoides* ve *F. lateritium* türü saptanmıştır. Çeşit farkı gözetilmeksizin 1.boy frigo fide kullanan toplam 13 üreticiden sadece 4 (% 30,8)'ünde *F.oxysporum*, 2. boy frigo fide kullanan 8 üreticinin 3'ünde (% 37,5) *F.oxysporum*, *F.proliferatum* ve *F.solani* türleri belirlenmiştir. Ayrıca yeşil fide kullanan 5 üreticinin 4 (% 80)'ünde *F.oxysporum* ve bu üreticilerden 1 üreticide aynı zamanda *F.solani* saptanmıştır (Çizelge 4.27).

F.oxysporum f.sp. *fragariae* çileklerde solgunluk hastalığına neden olan diğer önemli fungal patojenlerden biridir. Kore'de çilek yetiştiriciliği yapılan farklı alanlardan 22 adet *F. oxysporum* f.sp. *fragariae* izolatu toplanmıştır. Yirmi iki adet *F. oxysporum* f.sp. *fragariae* izolatu arasındaki genetik varyasyon rDNA'nın intergenic spacer (IGS) bölgesinin RAPD ve RFLP) yöntemi ile farklılıkları incelenmiştir. Tüm izolatların rDNA'nın IGS bölgesi CNS1 ve CNL12 primerleri ile RAPD ve RFLP analizi sonrasında UPGMA cluster (UPGMA Kümeleme) yöntemi ile 8 farklı küme saptanmıştır. Bu sonuçlar, *F.oxysporum* f.sp. *fragariae* izolatlarının herbirinin farklı olduğunu göstermiştir. Çalışmada *F.oxysporum* f.sp. *fragariae* izolatları arasındaki genetik varyasyonun yüksek olduğunu ifade etmişlerdir (Nagarajan vd., 2004).

Arroyo vd. (2009), İspanya'da hastalıklı çilek bitkilerinden elde edilen *Fusarium* spp. izolatlarının PCR çalışmalarında PFO2 ve PFO3 primerleri kullanılarak r-DNA amplifikasyonu sonucu *F. oxysporum* olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışma, İspanya'da çilek bitkilerinde *Fusarium* Solgunluğu'na *F. oxysporum*'un neden olduğu ilk rapor olarak bildirilmiştir. Koike vd. (2009), hastalıklı çilek bitkilerinin taç ve yaprak sapından izolasyonlar yapmış ve sonuçta *Fusarium* izolatlarının koloni morfolojilerine benzer gelişmeler saptamışlardır. Bu izolatlar karanfil yaprağı agar ortamında geliştirilerek makrokonidi ve mikrokonidileri incelenmiş ve etmenin *Fusarium oxysporum* olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlardan 2 tanesi genomik DNA izolasyonu yapılarak "internal transcribed spacer-ITS" bölgelerini içeren ITS1, ITS2 ve 5,8S rRNA ITS1 ve ITS4 primerleri yardımıyla PCR'da çoğaltılmıştır. *F. oxysporum*'un 515 bp'lik PCR ürünü sekanslanarak, Gen Bankasında eşleştirilmiştir. Benzerlik analizi sonucunda çilekte patojen olan *F. oxyporum* f.sp. *fragariae*'nın varlığı doğrulanmıştır. Bu çalışma Kaliforniya'da çileklerde *Fusarium*

Solgunluğu'nun varlığını gösteren ilk rapor olarak kaydedilmiştir (Koike vd., 2009).

Batı Avustralya'da 2005-2006 yıllarında taç ve köklerden ayrı ayrı örnekler alınmış ve bitkinin köklerinin çevresindeki toprakta toprak kökenli patojenler bulunmuştur. Taçlardan sürekli olarak *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* izole edilmiştir. Ancak ana patojen olarak taç, kök ve toprakta *Phytophthora cactorum* tespit edilmiştir. Bu *Fusarium* izolatlarının patojenisite testleri serada *Fragaria ananassa* (cv. Camarosa), *Lycopersicon lycopersicum* (cv. Petula) ve *Cucumis sativus* (Lebanese cucumber) bitkilerinde yapılmıştır. Denemede kullanılan *Fusarium* izolatlarının çilekte patojen olduğu, domates ve hıyar bitkilerinde ise patojen olmadığı saptanmıştır. Çalışma sonunda *F.oxysporum* izolatlarının çilekte patojen olan *F. oxysporum* f.sp. *fragariae* olduğu ifade edilmiştir (Golzar vd., 2007). Golzar vd., (2007) esas alınarak, 7 *F. oxysporum* izolatu ile yaptığımız patojenisite denemelerinde çilek ve hıyar bitkilerinde solgunluk belirtileri görülürken domates bitkilerinde görülmemiştir (Şekil 4.6). Bu izolatların PCR ürünlerinin sekansı sonucunda BLAST analizinde 2 *F. oxysporum* izolatu, *F.o.* f.sp. *fragariae* ile % 99 benzerlikle eşleşmiştir. Ayrıca bu iki izolatu *F. o.* f.sp. *cucumerinum*, *F. o.* f.sp. *melonis* ve diğer bazı forma speciales ile eşleştiği görülmüştür. Her iki yılda da elde edilen ve patojen olan *F. oxysporum* izolatlarının % 21' inin *F.o.* f.sp. *fragariae* ve yukarıda belirtilen diğer bazı forma speciales ile eşleştiği saptanmıştır. Ancak Koike ve Bolda (2013b), *Fusarium* solgunluğu'na *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*'nin neden olduğu ve patojenin konukçuya özel olup sadece çileği infekte edebileceğini belirtmiştir. Bulgularımız, Türkiye'de ve dünya'da çilek fidelerinde *F.o.* f.sp. *fragariae*'nin tespitine yönelik ilk kayıt niteliğini taşımaktadır.

Son yıllarda Batı Avustralya'da çilek üretim alanlarında çilek bitkilerinin çökmesi/ölmesi nedeniyle ciddi problemler ortaya çıktığı bildirilmiştir. Batı Avustralya'da yapılan önceki çalışmalarda çilek üretim alanlarında taç ve kök hastalıklarının artarak devam ettiği ve çileklerde bu hastalıkların önemli olduğu bulunmasına rağmen bu hastalıklara neden olan patojenler ile ilgili çok fazla bir şey bilinmediği ifade edilmiştir (Golzar vd., 2007, Phillips ve Golzar, 2008).

Fang vd. (2011b) Batı Avustralya'da yapılan survey çalışmaları sonucunda hastalıklı çilek bitkilerinin kök ve taçlarından yaptıkları izolasyonlarda bazı fungusları izole etmişlerdir. Evrensel ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak, tüm *Fusarium* spp.

izolatlarının ve diğ er patojen olan izolatların rDNA gen bölgelerinin PCR ile amplifikasyonu yapılmıştır. Daha sonra sekans sonuçları Gen bankasında BLAST analizi yapılarak benzerlikler bulunmuştur. Hem morfolojik hem de moleküler tanılamalarla kök ve ta çürüklüğü hastalığına neden olan fungal etmenlerin *F.oxysporum*, *Rhizoctonia* spp. (AG-A, AG-C, AG-I, AG-K ve diğ erleri), *Cylindrocarpon destructans*, *Phoma exigua*, *Gnomonia fructicola*, *Phytophthora cactorum*, *Pythium ultimum* ve *Macrophomina phaseolina* olduğunu ifade etmişlerdir.

2006-2009 yılları arasında California'nın sahil kesimindeki (Ventura, Santa Barbara) bazı ticari çilek alanlarında (Albion, Camarosa ve diğ er çeşitler) hastalıklı bitkilerden *Fusarium* izolatları elde edilmiş ve mikroskopik tanılamada izolatların *F. oxysporum* olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlardan 2 tanesi ITS1, ITS2 ve 5,8S rRNA'sı ITS1 ve ITS4 primerleri yardımıyla PCR'da çoğaltılmış ve *F. oxysporum*'un PCR ürünü sekanslanarak Gen Bankası'nda eşleştirilmiştir. Her iki izolat da 30 *F. oxysporum*'un birkaç forma *speciales*'i ile %100 eşleşirken, *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* ile eşleşmemiştir (Koiike vd., 2009).

Çizelge 4.28. 2009-2010 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 43 *Rhizoctonia* spp. izolatının evrensel ITS1/ITS4 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları

No	İzolat	Çeşit	PCR ITS1/ITS4 ~ 500-800 bp	Sekans kalitesi (%)	BLAST analiz		
					Maksimum benzerlik (%)	Taksonomik sonuç	Anastomozis Grup
1	1/14KRh	Camarosa	+	33.3	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
2	3/1KRh	Camarosa	+	15	93	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
3	3/3KRh	Camarosa	+	38	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
4	3/21KRh	Camarosa		<10			
5	3/32KRh	Camarosa	+	27	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
6	3/39KRh	Camarosa	+	12	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
7	3/40KRh	Camarosa	+	38	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
8	3/48KRh	Camarosa	+	27	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
9	3/52KRh	Camarosa	+	13	81	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
10	3/75KRh	Camarosa	+	19	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
11	3/81KRh	Camarosa	+	37	97	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
12	3Y/13KRh	Camarosa	+	11	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
13	3Y/26KRh	Camarosa	+	31	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
14	4/2KRh	Camarosa	+	19	98	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
15	4/4TRh	Camarosa	+	36	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
16	4/25KRh	Camarosa	+	11	81	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
17	4/60KRh	Camarosa	+	33	97	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
18	4/61KRh	Camarosa	+	39	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
19	5/1KRh	Festival	+	38	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
20	6F/10KRh	Festival	+	30	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
21	6F/12KRh	Festival		<10			
22	10/12KRh	Camarosa	+	15	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
23	12/17KRh	Camarosa	+	39	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A

Çizelge 4.28. 2009-2010 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 43 *Rhizoctonia* spp. izolatının evrensel ITS1/ITS4 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları (devamı)

24	12/31KRh	Camarosa	+	44	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
25	12/37KRh	Camarosa	+	15	92	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
26	13/3KRh	Camarosa	+	18	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
27	13/11KRh	Camarosa	+	47	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
28	13/18KRh	Camarosa	+	29	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
29	13/53KRh	Camarosa	+	38	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
30	13/79KRh	Camarosa	+	44	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
31	14/3KRh	Camarosa	+	44	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
32	14/4KRh	Camarosa	+	36	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
33	14/11KRh	Camarosa	+	13	98	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
34	14/17KRh	Camarosa	+	20	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
35	14/18KRh	Camarosa	+	34	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
36	15/9KRh	Camarosa	+	27	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
37	15/12TRh	Camarosa	+	23	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
38	15/18TRh	Camarosa	+	48	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
39	16/8KRh	Camarosa	+	15	97	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
40	17/1KRh	Camarosa	+	11	78	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
41	17/9KRh	Camarosa	+	16	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
42	17/26KRh	Camarosa	+	39	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
43	17/27KRh	Camarosa	+	17	91	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A

2009-2010 çilek üretim sezonunda elde edilen ve DNA ekstraksiyonu yapılan toplam 59 patojen *Rhizoctonia* spp. izolatından 43 adedi, 2010-2011 yılında elde edilen ve DNA ekstraksiyonu yapılan toplam 58 izolatdan 29 adedi ITS1/ITS4 primerleri ile PCR yöntemi ile çoğaltılarak sekansı yaptırılmıştır. Sekans kalitesi ile ilgili yapılan analizler sonrası 2009-2010 üretim sezonuna ait 2 izolatın sekans kalitesi uygun olmadığı için değerlendirilememiştir. Çalışmalar boyunca elde edilen toplam 117 patojen *Rhizoctonia* spp. izolatından 47 adedi elden çıktığı için değerlendirilememiştir. Toplam 70 *Rhizoctonia* izolatının Gen bankasındaki dizi analizi yapılarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.28 ve 4.29'de verilmiştir.

2009-2010 yılı çilek fidelerinden elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolatlarının BLAST analizi sonucu anastomosis grupları (AG) da saptanmıştır. Buna göre 43 izolattan 25'i AG-G (% 58,1), 16'sı AG-A (% 37,2) olarak saptanmıştır. 2010-2011 çilek üretim sezonunda elde edilen ve patojen olan *Rhizoctonia* spp.'nin 29 izolatının 22'si AG-G (% 75,9), 5 izolat AG-A (% 17,2), 1 izolat AG-4 (% 3,5), 1 izolat hem AG-A hem de AG-K yer almıştır. Tüm izolatların Gen bankasındaki benzerlik yüzdeleri izolatların çoğunda % 99-100, % 98-100 ve % 97-100 ve bazı izolatlarda ise % 78-96 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.28 ve 4.29).

Çizelge 4.29. 2010-2011 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 29 *Rhizoctonia* spp. izolatının evrensel ITS1/ITS4 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları

No	İzolat	Çeşit	PCR ITS1/ITS4 ~ 500-800 bp	Sekans kalitesi (%)	BLAST analiz		
					Maksimum benzerlik (%)	Taksonomik sonuç	Anastomozis Grup
1	1C/17KRh	Camarosa	+	47	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
2	1C/22KRh	Camarosa	+	45	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
3	1C/35KRh	Camarosa	+	35	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A, K
4	1C/48KRh	Camarosa	+	34	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
5	1C/66KRh	Camarosa	+	22	98	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
6	1F/94KRh	Festival	+	43	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
7	4C/68KRh	Camarosa	+	38	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
8	16C/23KRh	Camarosa	+	36	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
9	16C/25KRh	Camarosa	+	15	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
10	16C/31KRh	Camarosa	+	26	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
11	16C/43KRh	Camarosa	+	22	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
12	17C/39KRh	Camarosa	+	15	93	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
13	17C/42KRh	Camarosa	+	47	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
14	17C/47KRh	Camarosa	+	47	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
15	19C/66KRh	Camarosa	+	15	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
16	20C/14KRh	Camarosa	+	33	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-A
17	20C/19KRh	Camarosa	+	33	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
18	20C/31KRh	Camarosa	+	36	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
19	20C/52KRh	Camarosa	+	37	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
20	21C/7KRh	Camarosa	+	37	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
21	22C/5KRh	Camarosa	+	15	97	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
22	22C/10KRh	Camarosa	+	21	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G

Çizelge 4.29. 2010-2011 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 29 *Rhizoctonia* spp. izolatının evrensel ITS1/ITS4 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları (devamı)

23	22C/14KRh	Camarosa	+	44	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
24	22C/14TRh	Camarosa	+	44	100	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
25	22C/20KRh	Camarosa	+	22	95	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
26	22C/23KRh	Camarosa	+	37	99	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
27	22C/27KRh	Camarosa	+	24	100	<i>R. solani</i>	AG-4
28	23C/13KRh	Camarosa	+	37	98	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G
29	26R/2KRh	Rubigem	+	14	95	<i>Rhizoctonia</i> sp.	AG-G

Çizelge 4.30. 2009-2010 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolat sayıları ve Blast analiz sonuçları

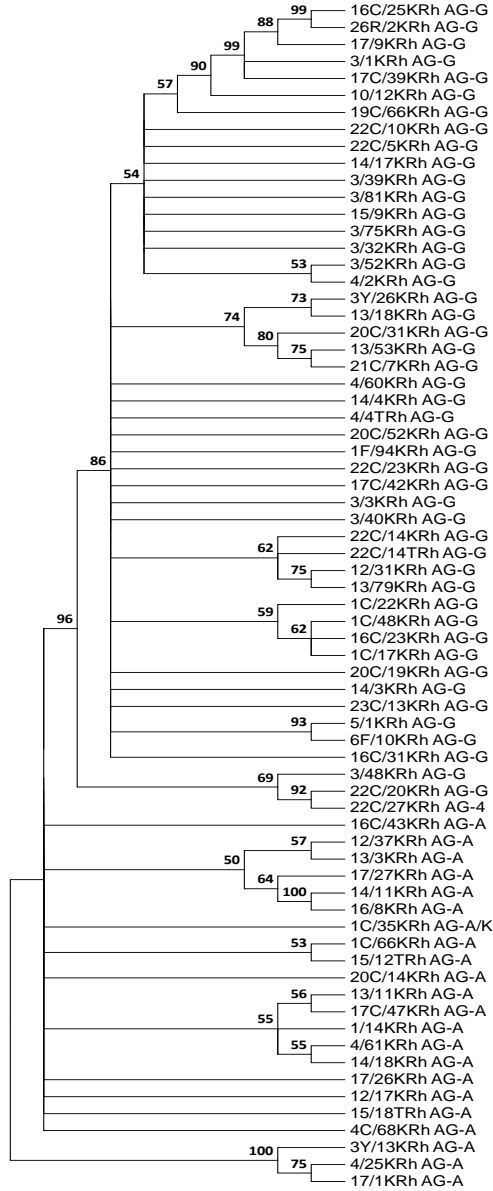
Üretici No	Fide orijini	Çeşit	Patojen izolat sayısı	PCR pozitif sayısı	Sekansı belirlenen izolat	Anastomozis grubu		
						A	G	K
1	Kol fidesi	Camarosa	3	1	1	1		
2	Frigo fide(1.by)	Festival	1	-	-	-	-	-
3	Kol fidesi	Camarosa	18	10	9		9	
3Y	Frigo fide (1.by)	Camarosa	2	2	2	1	1	
4	Kol fidesi	Camarosa	11	5	5	2	3	
5	Frigo fide (2.by)	Festival	2	1	1		1	
6SC	Frigo fide(1.by)	Sweetcharliae	0	-	-	-	-	-
6F	Frigo fide (1.by)	Festival	2	2	1		1	
7	Frigo fide (1.by)	Sweetcharliae	0	-	-	-	-	-
8	Frigo fide (2.by)	Camarosa	0	-	-	-	-	-
9	Frigo fide (2.by)	Camarosa	0	-	-	-	-	-
10	Kol fidesi	Camarosa	3	1	1		1	
11	Kol fidesi	Camarosa	2	-	-	-	-	-
12	Kol fidesi	Camarosa	3	3	3	2	1	
13	Kol fidesi	Camarosa	8	5	5	2	3	
14	Kol fidesi	Camarosa	7	5	5	2	3	
15	Kol fidesi	Camarosa	5	3	3	2	1	
16	Kol fidesi	Camarosa	3	2	1	1		
17	Kol fidesi	Camarosa	7	5	5	3	1	
18	Kol fidesi	Camarosa	2	-	-	-	-	-
19/2	Kol fidesi (2.by)	Camarosa	0	-	-	-	-	-
TOPLAM			79		42	16	25	0

2009-2010 yılı çilek üretim sezonunda elde edilen patojen olan *Rhizoctonia* spp. AG'ları Çizelge 4.30'da değerlendirilmiştir. Çizelge fide orijinleri bazında dikkate alındığında kol fidesi kullanan toplam 13 üreticinin 6'sında (% 46,2) AG-A ve AG-G, 2 üreticide (% 15,4) AG-A, 2 üreticide (% 15,4) AG-G saptanmıştır. Frigo fide kullanan 8 üreticiden 1'inde hem AG-A hem de AG-G, 2 üreticide ise AG-G belirlenmiştir. Fide orijini göz ardı edilerek çeşit bazında değerlendirildiğinde, Camarosa çeşidinden elde edilen *Rhizoctonia* spp. izolatlarının tamamı AG-A ve AG-G yer almıştır. Festival çeşidinden elde edilen izolatlar ise AG-G' de olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde Çizelge 4.31'de ise 2010-2011 yılı çilek üretim sezonunda elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolatlarının AG'ları

değerlendirilmiştir. Buna göre, patojen *Rhizoctonia* spp. izolatları kol fidesi kullanan 12 üreticiden 1'inde AG-A, AG-G ve AG-K, 3'ünde hem AG-A hem de AG-G, 3 üreticide AG-G, 1 üretici AG-A ve 1 üreticide hem AG-G hem AG-4 olduğu saptanmıştır. Frigo fide kullanan 8 üreticiden 1'inde AG-G ve ayrıca yeşil fide kullanan 5 üreticiden 1'inde de AG-G olduğu belirlenmiştir. Çeşitler bazında değerlendirildiğinde ise Camarosa çeşidinden elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolatlarının çoğu AG-G ve AG-A'da, 1'er izolat ise AG-K ve AG-4' te yer almıştır. Festival ve Rubygem çeşidinden elde edilen 1'er izolatın ise AG-G'de olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.31. 2010-2011 yılı çilek üreticileri, çeşit ve fide orijinleri bazında elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolat sayıları ve Blast analiz sonuçları

Üretici No	Çeşit	Fide orijini	Patojen izolat sayısı	PCR pozitif sayı	Sekansı belirlenen izolat sayısı	Anastomozis grubu			
						A	G	K	AG-4
1	Festival	Frigo fide (1.by)	4	1	1		1		
	Rubygem	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-	-	-	-
	Camarosa	Kol fidesi	9	5	5	2	3	1	
2	Rubygem	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-	-	-	-
	Festival	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-	-	-	-
	Camarosa	Kol fidesi	1	-	-	-	-	-	-
3	Festival	Frigo fide (1.by)	9	-	-	-	-	-	-
	Camarosa	Kol fidesi	2	-	-	-	-	-	-
4	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	1	-	-	-	-	-	-
	Festival	Frigo fide (2.by)	3	-	-	-	-	-	-
	Camarosa	Kol fidesi	3	1	1	1			
5	Festival	Frigo fide (2.by)	1	-	-	-	-	-	-
6	Rubygem	Frigo fide (2.by)	0	-	-	-	-	-	-
	Sweetcharliae	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-	-	-	-
	Festival	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-	-	-	-
7	Camarosa	Frigo fide(1.by)	0	-	-	-	-	-	-
8	Camarosa	Kol fidesi	2	-	-	-	-	-	-
	Camarosa	Frigo fide (1.by)	1	-	-	-	-	-	-
9	Camarosa	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-	-	-	-
10	Camarosa	Frigo fide (1.by)	1	-	-	-	-	-	-
11	Camarosa	Frigo fide (2.by)	1	-	-	-	-	-	-
12	Camarosa	Frigo fide (1.by)	0	-	-	-	-	-	-
14	Festival	Frigo fide (2.by)	0	-	-	-	-	-	-
15	Camarosa	Frigo fide (2.by)	0	-	-	-	-	-	-
16	Camarosa	Kol fidesi	8	4	4	1	3		
17	Camarosa	Kol fidesi	4	3	3	1	2		
18	Festival	Frigo fide (2.by)	0	-	-	-	-	-	-
	Camarosa	Frigo fide (2.by)	0	-	-	-	-	-	-
19	Camarosa	Kol fidesi	3	1	1		1		
20	Camarosa	Kol fidesi	4	4	4	1	3		
21	Camarosa	Kol fidesi	1	1	1		1		
22	Camarosa	Kol fidesi	9	7	7		6		1
23	Camarosa	Kol fidesi	2	1	1		1		
24	Rubygem	Yeşil fide	2	-	-	-	-	-	-
25	Rubygem	Yeşil fide	0	-	-	-	-	-	-
26	Rubygem	Yeşil fide	3	1	1		1		
27	Rubygem	Yeşil fide	0	-	-	-	-	-	-
28	Rubygem	Yeşil fide	0	-	-	-	-	-	-
TOPLAM			74	29	29	6	22	1	1



Şekil 4.21. 2009-2011'i kapsayan iki üretim sezonunda çilek fidelerinden izole edilen toplam 70 *Rhizoctonia* izolatının rDNA-ITS baz dizilerinin çoklu dizi hizalaması (multiple alignment) sonrası elde edilen (neighbour joining tree) filogenetik ağaç. Farklılıklar Kimura 2 Parametre Modeli (2PM) olarak belirlenmiş ve filogenetik ağacın güvenilirliği seç bağla testi (bootstrap) yöntemi ile 500 tekrarlı olarak hesaplanmış eşik değer %50 alınarak ağaç üzerindeki dallar üzerinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.28, 4.29, 4.30 ve 4.31' deki veriler dikkate alındığında; 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda fidelerden elde edilen *Rhizoctonia* spp. izolatlarının gen bankasındaki veriler dikkate alınarak yapılan sekans analizinde çoğunlukla iki anastomosis grubuna ait olduğu dikkati çekmektedir. Bu grupların dağılımı çeşitler bazında değerlendirildiğinde daha çok Camarosa çeşidinde, fide orijinleri bazında ise en çok kol fidesinden alınan örneklerde AG-G ve AG-A'da olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.30 ve 4.31).

Çalışmalarımızda elde edilen 70 *Rhizoctonia* izolatu ile yapmış olduğumuz çoklu dizi hizalaması sonrası elde edilen filogenetik ağaçta Blast analizine göre saptanmış olan anastomosis gruplarının ağaç üzerinde aynı benzerlik indeksine sahip olduğunu görüyoruz. Bunlardan Camarosa çeşidinden izole edilen ve BLAST analizi ile AG-4 olarak belirlenen 22C/27KRh, Camarosa çeşitinden izole edilen ve AG-G olarak saptanan 22C/ 20KRh izolatu ile %93 doğrulukla aynı grup içinde yer almışlardır. Benzer şekilde anastomosis grubu AG-A olarak belirlenen izolatlarda kendi içlerinde %96 doğruluk ile AG-G gruplarından ayrılmıştır (Şekil 4.21). İzolatlarımız ile ilgili yapılan çoklu dizi ve filogenetik ağaç analizi gen bankasından elde edilen sonuçları doğrular nitelikte bulunmuştur.

Sharon vd. (2007) İsrail'de çilek bitkilerinden elde edilen patojen *Rhizoctonia* spp. izolatlarının çift çekirdekli *Rhizoctonia* olanlar AG-A, AG-G, AG-K ve AG-F grubunda, çok çekirdekli olanlar ise AG 4 alt grup HG-I grubunda olduğu bulmuşlardır. Ayrıca topraktan elde edilen izolatlarda AG 4 alt grup HG-III grubunda yer aldığı ve bu izolatların aynı zamanda çilek bitkilerinde de virülent olduğu belirtmişlerdir. İsrail'de çift çekirdekli izolatların hiç biri ve diğer çok çekirdekli izolatlar AG-I grubunda yer almamıştır. Bu çalışma ile AG-A, AG-G, AG-K ,AG-F ve AG4 HG-I ve AG4 HG-III ait olan *Rhizoctonia* izolatlarının çilekte patojen olduğu belirtilmiştir. Manici ve Bonora (2007) İtalya'da 58 çift çekirdekli izolattan 51'nin ITS bölgelesinin sekans analizi yapılmış ve çilek bitkilerinde patojen olduğu saptanan anastomosis gruplarını (AG-A, AG-G, AG-I ve AG-F) temsil eden 8 izolatu dizileri ile karşılaştırılmıştır. İtalya'da ITS bölgesi sekansına dayanarak çilek izolatlarının AG-A ve AG-G olmak üzere 2 ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Ayrıca çilekte patojen olan ITS bölgesi sekans analizine dayanarak AG-A ve AG-G olarak tanımlanan bazı izolatlar 28S rDNA RFLP ile karşılaştırılarak doğrulanmışlardır. Tüm AG-A ve AG-G'ye ait *Rhizoctonia* spp. İtalya'da çilek yetiştiriciliği yapılan alanlara yayılmış olmasına rağmen AG-G İtalya'nın kuzeyinde, AG-A ise güneyinde bulunduğu tespit edilmiştir. 2009-2011

yılları arasında elde ettiğimiz patojen olan toplam 153 *Rhizoctonia* spp. izolatının 72'sinin BLAST analizi sonucunda 47 izolatın AG-G, 21'inin AG-A, 1 izolatın AG-4 ve 1 izolatın ise hem AG-A hem de AG-K grubunda yer alan izolatlar ile eşleştiği görülmüştür. Çalışmamızda belirlenen bu 2 anastomosis grubu (AG-A, AG-G) dünya da çilek izolatları ile yapılan 4.4.2.3.'deki bulgular ile uyumlu olduğu görülmektedir (Çizelge 4.28, 4.29, 4.30 ve 4.31).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Rhizoctonia* türlerinin genetik yakınlıkları ve taksonomisi üzerinde DNA baz dizilerinin en doğru sonuçları verdiği bilinmektedir (Sharon vd., 2006).

R. solani'nin AG'lerinin genetik benzerliğini Kuninaga vd. (1997) ayrıntılı bir şekilde incelemiştir. Aynı AG'daki alt grup izolatlarda ITS bölgesi baz dizisinin benzerlik yüzdesi % 96' dan daha yüksek, aynı AG'unda farklı alt gruptaki izolatlar arasında % 66-100, farklı anastomosis grupları arasındaki izolatlarda ise % 55-96 olduğu ifade edilmiştir. Bunlar içinde AG-2'nin oldukça heterojen olduğu özellikle izolatların morfolojisi, virülensliği, besin gereksinimleri ve hifsel anastomosis sıklığına göre kendi içinde ayrılan önemli sayıda alt gruplara sahip olduğu bildirilmiştir. Günümüzde AG-2, 2-1,2-2 IIIB, 2-2 IV, 2-2 LP, 2-3, 2-4 ve 2-BI alt gruplarını kapsadığı ifade edilmiştir (Carling vd., 2002).

Benzer şekilde, AG-1 (Kuninaga vd., 1997, Toda vd., 2004), AG-3 (Kuninaga vd., 2000a), AG-4 (Boysen vd., 1996, Kuninaga vd., 1997) ve AG-6 (Pope ve Carter, 2001)'daki alt grupların rDNA-ITS dizi analizi ile en doğru şekilde ayrılabilirdiği bildirilmiştir.

Çok çekirdekli *R.solani* AG-2 alt grupları (Salazar vd., 2000'e atfen Manici ve Bonora, 2007) ve iki çekirdekli izolatlara ait AG-G'nin tanılanması için spesifik moleküler markerlar ve primerler geliştirilmiştir (Leclerc-Potvin vd., 1999'a atfen Manici ve Bonora, 2007). Çileklerde *Rhizoctonia* spp. izolatlarının tanılanması ve ayrımı için RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)'ye dayalı 28S rDNA dizileri kullanılmıştır (Martin, 2000). Bununla birlikte rDNA Internal Transcribed Spacer (ITS) bölgesi baz dizilerinin belirlenmesi *Rhizoctonia*'a benzer izolatların tanılanmasında (Gonzales vd., 2001) ve *R.solani*'nin anastomosis gruplarının tür içi ve türler arası farklılıkların belirlenmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Manici ve Bonora, 2007).

Martin (2000), Kaliforniya’da çileklerde *Rhizoctonia* spp. tanınması ve AG gruplarının ayrımı için LROR ve LR7 primerleri kullanılarak PCR ile çoğaltılan rDNA bölgelerinin RFLP analizini yapmıştır. Amplifiye edilen ürünlerin büyüklüğü ve fragmentlerin büyüklüğü 4 restriksiyon enzimi (CfoI, MspI, Sau3A1 ve TaqI) ile kesildikten sonra küme analizi yapılmış ve 60 RFLP grubu bulunmuştur. Birçok RFLP grubu içinde her AG grubuna ait izolatlar olmasına rağmen tek bir RFLP grubuna yalnızca tek bir AG izolatının olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada, çok çekirdekli *R.solani* izolatı dışında diğer tüm izolatların çift çekirdekli olduğu ve AG-A, AG-G ve AG-I grubunda yer aldığını belirtmişlerdir. En yaygın bulunan AG’unun AG-A olduğu, bunu AG-I ve AG-G gruplarının izlediğini tespit etmişlerdir. Benzer virülensliğe sahip olan izolatların farklı AG’ları arasında olduğu, ancak farklı virülensliğe sahip olan izolatların ise aynı AG’unda yer aldığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda da *Rhizoctonia* sp.’lerin benzer şekilde 4 AG (AG-A, AG-G, AG-K ve AG-4) grubuna ait *Rhizoctonia* spp. olduğu saptanmıştır. Ancak en yaygın anastomosis grubunun AG-G, daha sonra ise AG-A olduğu görülmektedir. Ayrıca çekirdek boyaması yapılarak yürütülen çalışmalarımızda 97 *Rhizoctonia* izolatından 64 izolatın çift çekirdekli, 33 izolatın da çok çekirdekli olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.18 ve Çizelge 4.19). Bazı izolatlar anastomosis grupları açısından değerlendirildiğinde 39 çift çekirdekli izolatdan 11 adedi AG-A, 28 adedi de AG-G olarak saptanmıştır. Çok çekirdekli izolatlardan birinin ise (22C/27KRh) AG-4 anastomosis grubunda yer aldığı ve *R. solani* olduğu belirlenmiştir.

Çekirdek sayısı ve anastomosis grupları açısından yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde ABD’de 1985-1986 yıllarında çileklerden izole edilen *Rhizoctonia* izolatları ile ilgili olarak yürütülen bir araştırmada, çift çekirdekli izolatlar içerisinde AG-A, AG-G ve AG-I olmak üzere 3 anastomosis grubu saptanmıştır. Bu gruplarda, izole edilen 79 (% 42.9) izolat AG-G, 41 izolat (% 26.1) AG-A ve 26 (% 15.4) izolat ise AG-I grubunda yer almıştır. AG-G grubuna ait olan izolatların, AG-A ve AG-I’e ait olan izolatlardan kültürel olarak farklı olduğu belirlenmiştir. AG-G izolatları PDA’da *R.solani* izolatlarının kültürlerine benzer koyu kahverengine dönüşmekte ve petride 2 haftalık miselyumların yüzeyinde monoloid hücrelerin agregatlaşmasından sklerotlara benzeyen oluşumlar meydana gelmektedir. AG-A ve AG-I izolatları beyazdan açık somon rengine kadar değişmekte ve sklerot oluşturmamaktadır. Bununla birlikte nadiren monoloid hücrelerden kümeler oluşturmaktadırlar (Martin, 1988).

Diğer bir çalışmada Güney Afrika'da çilek köklerinden izole edilen tüm çok çekirdekli *Rhizoctonia solani* izolatları, AG 6 ile anastomosis oluşturmuş bu yüzden AG 6 grubunda olduğu belirlenmiştir. Anastomosis çalışmalarında *R. fragariae*'nin AG-A, AG-G ve AG-I olmak üzere 3 anastomosis grubunda yer aldığı bildirilmiştir. *R. fragariae* izolatlarının en az AG-I grubunda (% 6), en çok AG-A grubunda (% 69) yer aldığı ifade edilirken, diğer % 25 izolatın ise AG-G grubunda yer aldığı bulunmuştur (Botha vd., 2003).

Güney Afrika'da yapılan benzer bir çalışmada hastalıklı çilek köklerinden hem çift, hem de çok çekirdekli *Rhizoctonia* türleri elde edilmiştir. Bunlardan çift çekirdekli olanlar *R. fragariae*, çok çekirdekli olanlar ise *R. solani* olarak tanımlanmıştır. İzolatların klasik hissel füzyon metodu ile AG ve alt grupları belirlenmiştir. Daha önce klasik yöntemle AG grubu belli olan 20 izolatın 28S rRNA genleri restriksiyon analizi kullanılarak doğrulanmıştır. Bu çalışmada tüm *R. solani* izolatlarının AG-6 olduğu bulunurken, *R. fragariae* izolatları arasında ise 3 AG grubu bulunduğu tespit edilmiştir. *R. fragariae* izolatlarının AG-A (% 69), AG-G (%25) ve AG-I (%6) grubunda olduğu bulunmuştur. Test edilen tüm *Rhizoctonia* izolatlarının çilek bitkilerinde patojen olduğu, ancak *R. solani* (AG-6)'nin bitkilerin büyümesini şiddetli bir şekilde engellediği ve virülensinin çok yüksek olduğu bildirilmiştir. AG-A ve AG-G *R. fragariae* izolatları da bitkilerin gelişmesine engel olmuş ancak *R. solani* kadar virulent bulunmamıştır. *R. fragariae* AG-I en düşük virüles göstermiş ve bitkilerde hiçbir gelişme geriliğine neden olmamıştır. Bununla birlikte infekteli köklerde küçük, açık renkli sararan lezyonların ilerlemesini teşvik etmiştir. Güney Afrika'da çileklerde kök çürüklüğüne neden olan *Rhizoctonia* türlerinin AG grupları belirlenmiş ve belirlenen bu ilk türler bu çalışma ile onaylanmıştır (Botha vd., 2003). Çalışmamızda belirlenen 4 AG'unda yer alan *Rhizoctonia* izolatlarından AG-A'unda yer alanların virülenslikleri 1,43-53,14 mm, AG-G'de olan izolatların virülensliği ise 1,05-53,81 mm arasında değişmektedir.

Fang vd. (2013) Batı Avustralya'da rDNA ITS bölgesi sekans analizi ile patojen olan 65 çift çekirdekli *Rhizoctonia* izolatının 6 gruba ayrıldıklarını bulmuştur. Bu çalışmada patojen olan bazı çift çekirdekli *Rhizoctonia* izolatlarının AG-A, AG-K ve AG-I'da yer aldığı ancak diğer izolatların ise AG-G, AG-B, AG-I ve AG-C'de olduğu bulunmuştur. Çift çekirdekli izolatların virülensliği ve genetik farklılığı arasındaki ilişki önemli bulunmamıştır. Batı Avustralya'da çileklerde kök çürüklüğü ile ilişkili olan patojen çift çekirdekli izolatların geniş bir genetik

çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca daha önce yapılan çalışmalarda Avustralya'da (AG-G) ve dünyada (AG-B) kök çürüklüğü ile ilişkili olan yeni gruplar bulunmazken, bu çalışma ile yeni genetik gruplar tespit etmişlerdir.

Daha önce yapılan çalışmalarda çileklerde çift çekirdekli *Rhizoctonia* spp. izolatlarının 3 anastomosis grubu (AG-A, AG-G ve AG-I)'nda yer aldığı ve bu izolatların *R. fragariae* olarak belirlendiği ifade edilmektedir (Martin, 1988; 2000; Manici ve Bonora; Sharon vd., 2007). Çileklerde çok çekirdekli *Rhizoctonia* spp. izolatlarının ise AG-4 HG-I, AG-4 HG-III (Sharon vd., 2007) ve AG-6 (Botha vd., 2003) grubunda yer aldığı ve bu izolatların *R. solani* olarak tanımlandığı belirtilmiştir. Çalışmalarımızda elde edilen ve çift çekirdekli olduğu saptanan *Rhizoctonia* izolatlarının 3 AG (AG-A, AG-G ve AG-K)'a ait olduğu belirlenmiş ve bu izolatların *R. fragariae* olduğu kanısına varılmıştır. Fang vd. (2013) Avustralya'da çift çekirdekli *Rhizoctonia* izolatlarının virülensi ve genetik çeşitliliğindeki varyasyonu ile ilgili çalışmalarında; hastalıklı çilek bitkilerinden elde edilen tüm *Rhizoctonia* spp. izolatlarının çift çekirdekli olduğunu, Amerika (Martin, 1988; 2000), Güney Afrika (Botha vd., 2003), İsrail (Sharon vd., 2007) ve İtalya (Manici ve Bonora, 2007)'da da hastalıklı çilek bitkilerinden izole edilen izolatların çoğunlukla çift çekirdekli olduğunu belirtmiştir. Ancak adı geçen araştırmacı çileklerde kök çürüklüğüne neden olan çift çekirdekli *Rhizoctonia*'ların Manici ve Bonora (2007) ve Sharon vd.(2007) tarafından da ifade edildiği gibi genellikle *R. fragariae* olarak tanımlandığını, ancak çift çekirdekli *Rhizoctonia*'ların sadece bir türü değil birkaç türü kapsaması gerektiğini bildirmişlerdir.

Çizelge 4.32. 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda izole edilen ve patojen bulunan 9 *Cylindrocarpon* spp. ve 3 *Macrophomina phaseolina* izolatının evrensel ITS1/ITS4 primerleri ile elde edilen PCR ürünlerinin dizilenmesi ve gen bankasında (NCBI) yapılan BLAST analiz sonuçları

Yıl	Çeşit	İzolat no	PCR ITS1/ITS4 ~ 500-800 bp	Sekans kalitesi %	BLAST analiz	
					Maksimum benzerlik (%)	Taksonomik sonuç
2010-11	Camarosa	17C/33K	+	13,7	93,0	<i>Ilyonectria macrodidyma</i>
2010-11	Camarosa	21C/5K	+	15,8	83,0	<i>Ilyonectria radicolica</i>
2010-11	Camarosa	17C/52K	+	17,8	89,0	<i>Neonectria macrodidyma</i>
2010-11	Camarosa	17C/27K	+	14,6	92,0	<i>Ilyonectria macrodidyma</i>
2010-11	Sweetcharlie	6S/3K	+	18,3	91,0	<i>Ilyonectria macrodidyma</i>
2010-11	Camarosa	17C/55K	+	16,7	91,0	<i>Ilyonectria macrodidyma</i>
2010-11	Camarosa	17C/37K	+	16,4	86,0	<i>Ilyonectria macrodidyma</i>
2010-11	Camarosa	16C/19K	+	17,8	90,0	<i>Neonectria macrodidyma</i>
2010-11	Camarosa	21C/21K	+	17,0	93,0	<i>Ilyonectria macrodidyma</i>
2010-11	Camarosa	21C/19K	+	13,6	86,0	<i>Macrophomina phaseolina</i>
2009-10	Camarosa	4/53K	+	15,4	80,0	<i>Macrophomina phaseolina</i>
2010-11	Camarosa	2C/75K	+	14,5	79,0	<i>Macrophomina phaseolina</i>

İki üretim sezonunu kapsayan çilek fidelerinde fungal patojenlerin varlığına yönelik yapmış olduğumuz çalışmalarda *Fusarium* ve *Rhizoctonia* kadar sık olmamakla birlikte iki farklı önemli fungal patojenin varlığı da belirlenmiştir. Patojen olarak belirlenen bu izolatların ITS1/ITS4 primerleri kullanarak rDNA baz dizilerini analiz ettiğimizde bu etmenlerin *Ilyonectria* ve *Macrophomina* genusuna ait türler olduğu dikkati çekmiştir. Bunlardan 9 izolat % 83-93 benzerlikle *Ilyonectria (Neonectria) macrodidyma*, 3 izolat % 79-86 benzerlikle *Macrophomina phaseolina* olarak tanılanmıştır (Çizelge 4.32). Tüm dünyada methyl bromide'in 2005 yılında yasaklanmasından sonra sıcağa dayanıklı olan *M.phaseolina*'nın İspanya'da (Aviles vd., 2008), İsrail'de (Zveibil ve Freeman, 2005; Zveibil vd., 2012), ABD' de (Koike vd., 2013; Mertely vd., 2005), Avustralya' da (Fang vd., 2011b; Golzar vd., 2007; Hutton vd., 2013) çilek üretim alanlarında çok önemli zararlar yaptığı bilinmektedir. Nitekim son yıllarda bu patojenin bölgemiz çilek yetiştiriciliğini tehdit eden önemli bir patojen olduğu bildirilmiştir (Yıldız vd. 2010; Benlioglu vd., 2013).

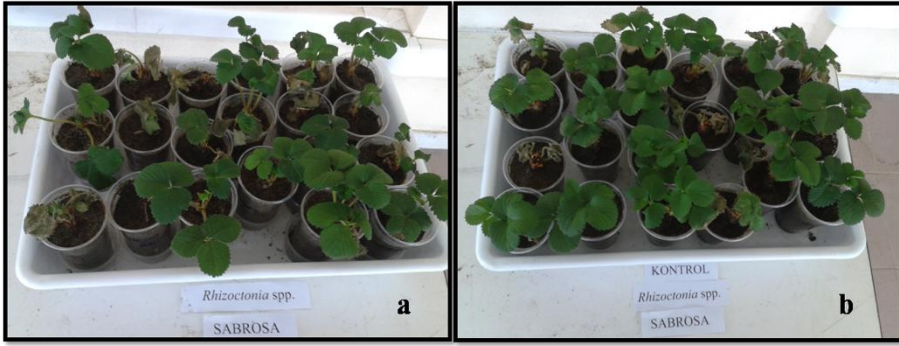
Kaliforniya'da hem *M. phaseolina* hem de *Fusarium oxysporum f.sp. fragariae* önceden infekteli olmayan alanlarda da görüldüğünden bu patojenlerin bu alanlara çilek fideleriyle geldiğini ve bu durumun çilek endüstrisinde önemli kaygılar olacağını belirtmektedir (Koike vd., 2013). İspanya' da yapılan çalışmada *Macrophomina*'a benzer izolatların rDNA sekansı sonucu *M.phaseolina* (Tassi) Goidonich. ile % 99 benzerlik gösterdiği saptanmıştır (Aviles vd., 2007). Batı Avustralya'da çilek bitkilerinin kök ve taçlarından elde edilen bazı fungusların evrensel ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak rDNA gen bölgelerinin PCR ile amplifikasyonu sonucunda *M.phaseolina* olduğu belirlenmiştir (Fang vd., 2011b).

Bizim çalışmamızda 9 *Cylindrocarpon* spp. izolatının evrensel ITS1/ITS4 primerleri ile % 83-93 max. benzerlikle *Ilyonectria (Neonectria) macrodidyma* olduğu saptanmıştır. Son yıllarda yapılan bir çalışmada bu sonuç, dünya literatüründe ilk rapor niteliği taşıyan Adhikari vd. (2013)' nin yaptığı çalışmanın sonuçlarıyla örtüşmektedir. Nitekim Adhikari vd. (2013) Kuzey Carolina'da nisan ayında yaptığı çalışmada hastalıklı çilek bitkilerinin (cv. Chandler) taç ve köklerinden elde edilen 2 izolatın morfolojik özelliklerine dayanarak bunların *Cylindrocarpon* (Booth, 1996) türleri olduğunu saptamıştır. Bu fungusun genomik DNA'sı ITS1 ve ITS2 primerleri ile amplifiye ederek, ITS1 ve ITS4 evrensel primerleri kullanmışlardır. Bu fungusun blast analizi sonucu % 99 benzerlikte *Cylindrocarpon* spp. olduğunu tespit etmişlerdir.

Bizim alışmamızda ilek fidelerinden elde edilen *Cylindrocarpon destructans* var. *destructans*'nin ilek fidelerinde varlığı ilk kayıt niteliğini taşımaktadır.

4.5. Çeşit Reaksiyon Çalışmaları

Bu denemelerde bazı çilek çeşitlerinin (cv. Camarosa, Festival, Rubygem, Fortuna, Sabrosa ve Sabrina) 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda çilek fidelerinde bulunma oranı en yüksek olan *F. oxysporum* (19C/87K) ve *Rhizoctonia* spp. [6F/10K bn (AG-G) ve 23C/14K mn]'e karşı duyarlılıkları belirlenmiştir. Ancak Sabrosa (Şekil 4.22), Sabrina (Şekil 4.23) ve Fortuna çeşitlerine ait kontrol olarak değerlendirilen bitkilerin elden çıkması nedeniyle bu çeşitlerin çeşit duyarlılıkları yapılamamıştır. Nitekim kontrol bitkilerinden reizolasyon yapıldığında taç ve köklerden *Fusarium* spp. elde edilmiştir.

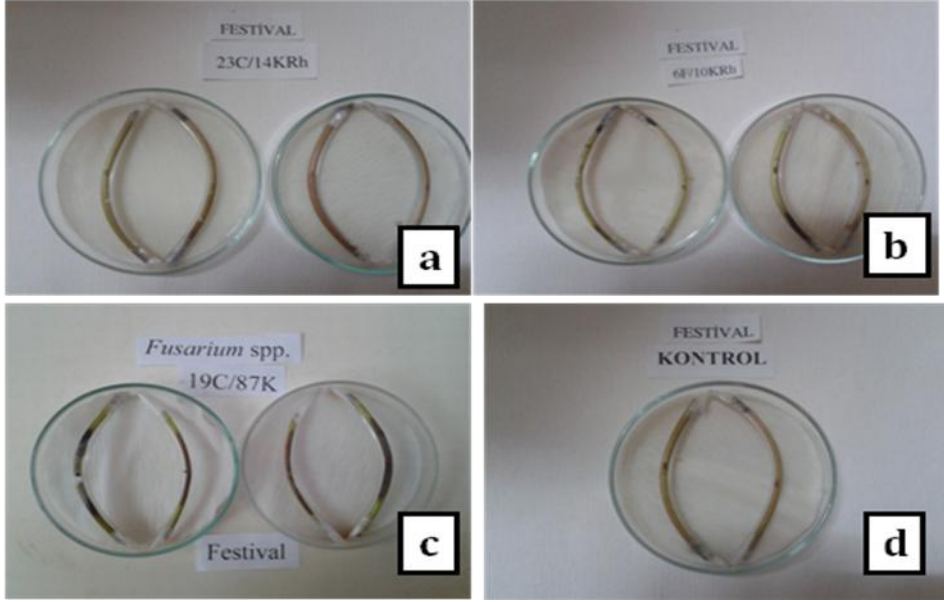


Şekil 4.22. Sabrosa çilek çeşidinin *Rhizoctonia* spp.'ye karşı reaksiyonu (a: inokulum verilen bitkiler; b: kontrol bitkileri)

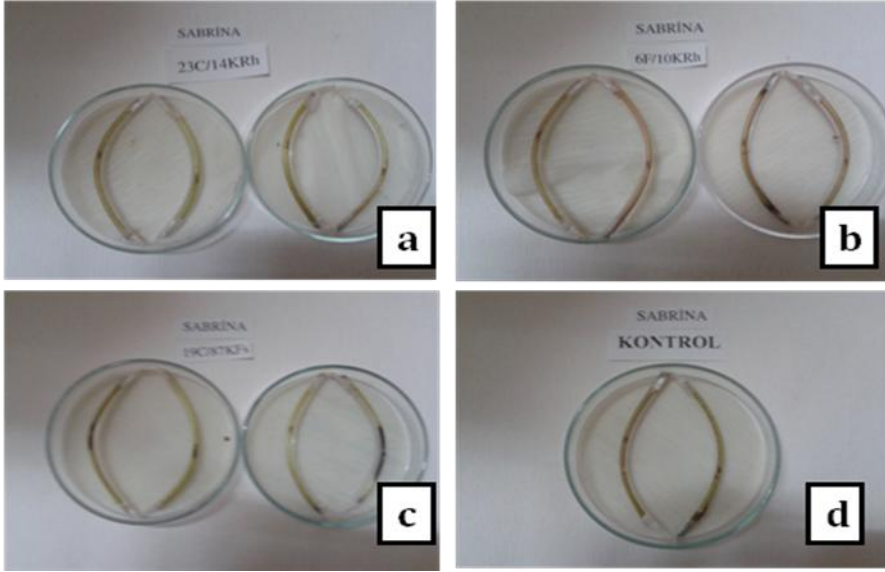


Şekil 4.23. Sabrina çilek çeşidinin *Rhizoctonia* spp.'ye karşı reaksiyonu (a: inokulum verilen bitkiler; b: kontrol bitkileri)

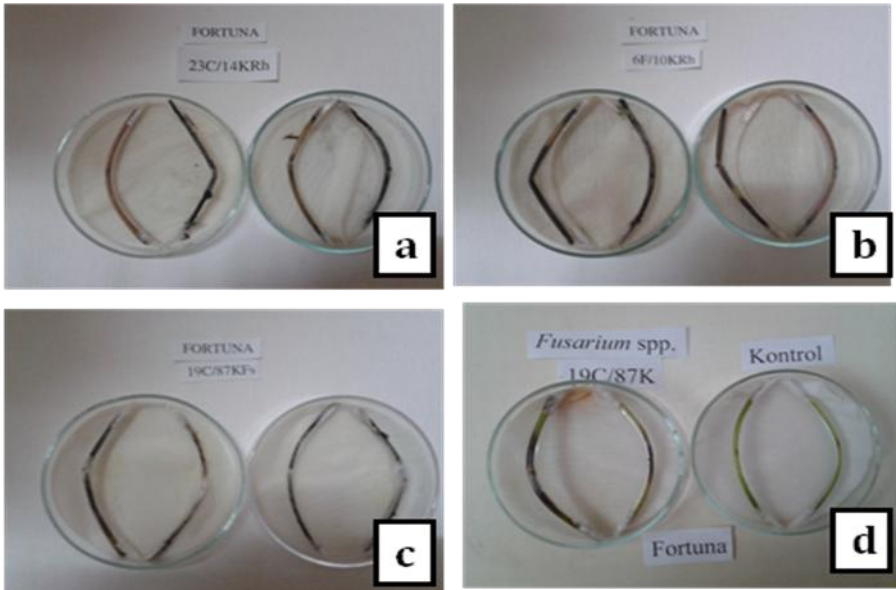
Fusarium oxysporum ve *Rhizoctonia* spp.'nin çeşit reaksiyon çalışmaları 3.2.3.3' te belirtilen yöntemle göre yukarıda belirtilen çeşitlere ait stolonlarda yapılmıştır (Şekil 4.24, Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27, Şekil 4.28) ve her çeşit için elde edilen sonuçlar istatistikî açıdan değerlendirilmiştir (Çizelge 4.33).



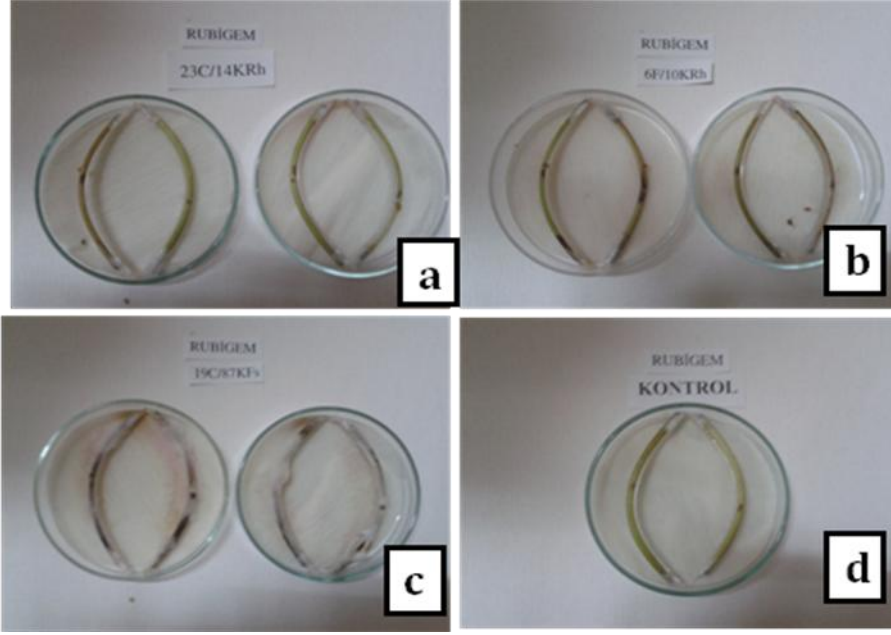
Şekil 4.24. Festival çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu (a,b, *Rhizoctonia* spp.,c: *Fusarium oxysporum* , d: kontrol)



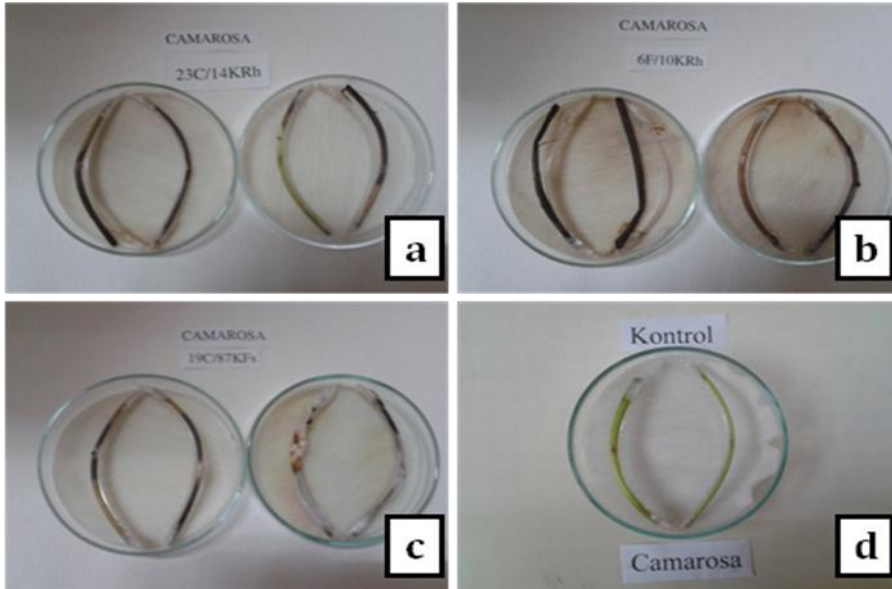
Şekil 4.25. Sabrına çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu (a,b, *Rhizoctonia* spp., c: *Fusarium oxysporum*, d: kontrol)



Şekil 4.26. Fortuna çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu (a,b, *Rhizoctonia* spp. c, d: *Fusarium oxysporum*, kontrol)



Şekil 4.27. Rubigem çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu (a,b, *Rhizoctonia* spp., c: *Fusarium oxysporum*, d: kontrol)



Şekil 4.28. Camarosa çeşidine ait stolonlarda çeşit reaksiyonu (a,b, *Rhizoctonia* spp., c: *Fusarium oxysporum*, d: kontrol)

Denemeye alınan çilek çeşitlerinin *F. oxysporum* (19C/87K)'a karşı reaksiyonlarının *in vitro* koşullarda stolonlarda denendiği çalışmada en duyarlı çeşitlerin Fortuna, Rubygem, Camarosa ve Festival olduğu ve bu çeşitlerin istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı görülmektedir. Sabrina ise bu çeşitlere göre daha az lezyon uzunluğu ile ayrı bir grupta yer almıştır (Çizelge 4.33).

Koike (2010), çilek çeşitlerini karşılaştırdığı çalışmasında Chandler ve Seascape'in *Fusarium oxysporum*'a duyarlı, Monterey, San Andreas ve Ventana çeşitlerinin ise dayanıklı olduğunu belirtmektedir. Mori vd. (2005), *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* ile inokule edilmiş çilek çeşitlerini su kültüründe yetiştirmiş ve 2 ay sonra hastalık şiddetini (DSI) değerlendirmiştir. Değerlendirmeye alınan 26 çeşitten Aisutoro, Asuka Wave ve Hogyoku çeşitlerinin oldukça dayanıklı (DSI=0) bulunduğu ve bu çeşitlerin dominant dayanıklı genlere sahip olduğu bildirilmiştir. Avustralya'da Nambour'da 3 yıldan daha uzun süre çilek çeşitlerinin *Fusarium Solgunluğu* hastalığına nispi dayanıklılığı araştırılmıştır. Çalışmada 'Jewel' hastalığa oldukça duyarlı çeşit olarak alınmış, 'Kabarla'nın orta derecede duyarlı, 'Camarosa', 'Festival' ve 'Rubygem' daha az duyarlı olduğu bildirilmiştir (Hutton vd., 2006).

Batı Avustralya'da kontrollü koşullar altında 8 ticari çilek çeşidinin (Albion, Aromas, Camarosa, Camino Real, Festival, Gaviota, Selva ve Juliette) *Fusarium oxysporum*, çift çekirdekli *Rhizoctonia* AG-A, *Macrophomina phaseolina*, *Cylindrocarpon destructans*, *Phoma exigua*, *Gnomonia fructicola*, *Phytophthora cactorum* ve *Pythium ultimum*'a karşı reaksiyonu belirlenmiş ve hem fumigasyon yapılmış hem de yapılmamış masuralarda 3 ticari çilek çeşidinin taç ve kök hastalıklarına duyarlılıkları ve verimleri değerlendirmiştir. Hem kontrollü koşullarda hem de tarlada *Fusarium oxysporum*'a dayanıklı çeşit Camino Real olurken, Camarosa *Fusarium oxysporum*'a en duyarlı çeşit olarak belirlenmiştir. Festival'in *Fusarium oxysporum* ve farklı patojen gruplarına en dayanıklı çeşit olduğu belirtilmektedir (Fang vd., 2012). Çalışmamızda ise *F. oxysporum*'a karşı hem Camarosa hem de Festival duyarlı olarak bulunmuş ve Camarosa ile ilgili bulgumuz Fang vd. (2012) ile örtüşmüştür.

Çizelge 4.33. Bazı çilek çeşitlerinin *Fusarium oxysporum*'a karşı reaksiyonları

Çeşitler	Lezyon uzunluğu (mm)*
	19C/87KFs (<i>F. oxysporum</i>)
Fortuna	88,66 A
Rubygem	77,54 A
Camarosa	77,39 A
Festival	73,91 A
Sabrina	31,291 B

* Sekiz tekerrür ortalamasıdır. Sütun içinde aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur ($P<0.0001$) (Duncan testi)

Çift çekirdekli (6F/10K, AG-G) ve çok çekirdekli (23C/14K) iki *Rhizoctonia* izolatının bazı çilek çeşitlerine karşı reaksiyonlarının *in vitro* koşullarda stolonlarda denendiği diğer çalışmada ise 6F/10K izolatı ile 23C/14K izolatları arasındaki fark önemli bulunmuş (%5'e göre) ve çok çekirdekli izolatın virülensinin çift çekirdekli izolattan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çilek çeşitleri arasındaki fark da önemli ancak çeşit x izolat interaksiyonu önemsiz bulunmuştur. Buna göre ortalamalar dikkate alındığında Fortuna ve Camarosa çeşitleri duyarlı iken, Sabrina, Rubygem ve Festival çeşitleri daha az duyarlı bulunmuştur (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.34. Bazı çilek çeşitlerinin iki farklı *Rhizoctonia* spp. izolatına (6F/10K bn, AG-G ve 23C/14K mn) karşı reaksiyonları

Çeşit	Lezyon uzunluğu (mm)		
	23C/14K mn	6F/10K bn	Ortalama*
Camarosa	46,96	22,75	34,86 AB
Fortuna	43,79	39,41	41,60 A
Rubygem	10,57	10,84	10,70 C
Sabrina	8,35	1,07	4,71 C
Festival	34,23	6,22	20,22 BC
Ortalama*	28,78 A	16,06 B	
İzolat	P=0.0132		
Çeşit	P<,0001		
Çeşit X izolat	P=0,2915		

* Sekiz tekerrür ortalamasıdır. Satır veya sütun içerisinde aynı harfle ifade edilen rakamlar arasında istatistiki olarak fark yoktur (Duncan testi)

Fang vd. (2012), çift çekirdekli *Rhizoctonia* AG-A, *Cylindrocarpon destructans* ve *Phoma exigua*' a karşı en duyarlı çeşidin Aromas, en dayanıklı çeşidin ise Festival olduğunu belirlemiştir. *Gnomonia fructicola* ve *Phytophthora cactorum*' a en dayanıklı çeşit Camino Real, *Pythium ultimum*'a en dayanıklı çeşidin ise Festival olduğu ifade edilmiştir. *Macrophomina phaseolina*'ya karşı en dayanıklı çeşit Albion olarak bulunurken, en duyarlı çeşidin Camarosa olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda *Rhizoctonia* spp.'e karşı Fortuna ve Camarosa duyarlı olarak bulunurken, Festival çeşidi tolerant olmuştur. Çift çekirdekli *Rhizoctonia* sp. izolatının Festival çeşidindeki lezyon uzunluğunun çok çekirdekli izolatın lezyon uzunluğundan çok düşük olduğu da görülmektedir (Çizelge 4.34).

Kaliforniya'da çilek üretim alanlarında 2005-2010 yılları boyunca çilekte önceki yıllarda patojen olarak bilinmeyen, toprak kaynaklı funguslar nedeniyle ürün kayıpları meydana gelmiştir. Bu kayıpların çoğunun bitki dikimi öncesi methyl bromide + chloropicrin ile fumigasyon yapılmayan tarlalarda olduğu ortaya çıkmıştır. Bu yeni etmenlerin toprak kaynaklı funguslar olan *M. phaseolina* ve *Fusarium oxysporum f.sp. fragariae* olduğu tespit edilmiştir. Yapılan patojenisite denemelerinde de bu funguslar, tarlada görülen hastalık belirtilerine benzer belirtilere neden olmuştur. Denemeler sonucunda bazı çilek çeşitlerinin daha dayanıklı olduğu görülmüştür. Alternatif fumigantlar kullanılarak yürütülen tarla denemelerinde de, her iki hastalığın kontrolü sağlanmıştır. Ancak, Kaliforniya'da hem *Fusarium* hem de *Macrophomina*'nın önceden bulaşık olmayan alanlarda hastalık oluşturması, bu patojenlerin önümüzdeki yıllarda çilek endüstrisinde önemli sorunlar yaratabileceği düşüncesini ortaya atmıştır (Koike vd., 2013).

5. SONUÇ

Aydın İli'nde her yıl yaklaşık 3500 da alana fide dikilmektedir ve tüm üretim materyallerinde olduğu gibi hastaliksız fide temini son derece önemlidir. Aydın İli'nde 2009-2010 çilek üretim sezonunda yaklaşık 20 milyon fide kullanıldığı, bunun % 40'ının frigo fide, % 2,5'unun taze fide ve % 57,5'inin ise üreticinin üretim alanından aldığı kol fide olduğu belirtilmektedir (Özyiğit İlaç ve Gübre Bayii, kişisel görüşme). Ülkemizde çileklerde toprak kaynaklı hastalık etmenleri ve bunlarla mücadelede solarizasyon uygulamaları konusunda birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen fidelerde sorun olan hastalık etmenlerinin tespiti ve önemli bazı etmenlere karşı çeşitlerin duyarlılığı konusunda hiçbir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışma ile Ege Bölgesi çilek üretiminin % 50'sini tek başına karşılayan Aydın İli'nde kullanılan çilek fidelerinde (frigo fide, kol fidesi ve yeşil fide) bulunan hastalık etmenleri tespit edilmiştir. 2009-2010 üretim yılında incelenen fidelerin yaklaşık % 83'ünü Camarosa, % 13,6'sını Festival ve % 3,4'ünü Sweetcharlie çeşidi oluşturmaktadır. 2010-2011 üretim yılında ise fide örneklerinin % 57,2'si Camarosa, % 21,9'u Festival, % 19'u Rubygem ve % 1,8'i Sweetcharlie çeşidine aittir.

Her iki üretim sezonuna ait alınan fidelerden yapılan izolasyon çalışmaları sonunda her üreticinin fide örneklerine ait funguslar mikroskopta incelenmiş ve cins düzeyinde tanılaması yapılmıştır. Tanılama çalışmalarında başta *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp. olmak üzere *Botrytis cinerea*, *Cylindrocarpon* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria* spp. *Phytophthora* spp., *Pythium* spp. elde edilmiştir. 2009-2010 ve 2010-2011 çilek üretim sezonunda hastalıklı çilek fidelerinin taç ve köklerinden ayrı ayrı yapılan izolasyon çalışmaları sonunda toplam 1014 izolat elde edilmiştir. Stolonlarda yapılan patojenisite çalışmaları sonucunda 291 adet *Fusarium* spp., 153 *Rhizoctonia* spp., 4 *Macrophomina phaseolina*, 9 *Cylindrocarpon* spp. izolatının patojen olduğu saptanmıştır.

2009-2010 üretim sezonunda *Rhizoctonia* spp. açısından fide boyu göz ardı edilerek çeşit bazında yapılan değerlendirmede Camarosa en bulaşık (% 10,2) çeşit olmuş ve bunu % 5,1'lik bulunma oranı ile Festival çeşidi izlemiştir. Sweetcharlie çeşidinde *Rhizoctonia* spp. tespit edilmemiştir. Elde edilen verileri fide orijini açısından ele aldığımızda frigo fidelerde patojen *Rhizoctonia* spp.'nin

bulunma oranı % 2,7 iken, kollardan üretilen fideler yaklaşık 5 kat (% 12,4) daha bulaşık bulunmuştur. Patojen *Rhizoctonia* spp.'nin 1.boy ve 2.boy frigo fidelerde bulunma oranı sırasıyla % 2,5 ve % 3,1 olmuştur. Bu üretim sezonunda fide boyu dikkate alınmaksızın fideler *Fusarium* spp. açısından değerlendirildiğinde; en yüksek bulaşıklılığın Camarosa çeşidinde (% 16,2) olduğu, bunu sırasıyla Sweetcharlie (% 11,5) ve Festival çeşidinin (% 5,2) izlediği bulunmuştur. Çeşit farkı göz ardı edilerek kol fidelerinde patojen *Fusarium* spp. ile bulaşıklılık % 18,8'i iken, frigo fidelerde % 6,1 olarak saptanmıştır. Bu oran örnek alınan 1.boy fidelerde % 5,5, 2. boy fidelerde ise % 7,8 olmuştur.

2010-2011 çilek üretim sezonunda fide boyu dikkate alınmaksızın çeşitler *Rhizoctonia* spp. açısından değerlendirildiğinde patojen *Rhizoctonia* spp.'nin bulunma oranının en fazla Camarosa çeşidinde olduğu (% 6,4) ve bunu Festival (% 5,9), Sweetcharlie (% 3,7), Rubygem (% 1,8)'in izlediği belirlenmiştir. Fide orijini, çeşit farkı gözardı edilerek değerlendirildiğinde ise üreticilerin kollardan ürettiği fidelerin % 7,7'sinde patojen *Rhizoctonia* spp. bulunurken, bu oran frigo fide (% 3,4) ve yeşil fide (% 3,5) de yaklaşık % 50 daha düşük bulunmuştur. Bu üretim sezonunda yine Camarosa çeşidine ait fideler patojen *Fusarium* spp. açısından en bulaşık çeşit (%15,6) olmuş, bunu sırasıyla Festival (% 7,6), Sweetcharlie (% 7,4) takip etmiş ve en düşük bulaşıklılık (% 4,6) Rubygem çeşidinde tespit edilmiştir. *Fusarium* spp. ile bulaşıklık oranları fide orijinleri açısından değerlendirildiğinde; kol fidelerinde bulaşıklık % 21,9 iken, frigo fidede % 5,2, yeşil fide de % 5,6 olarak saptanmıştır. *Fusarium* spp. ile bulaşıklılık çeşit göz ardı edilerek fide boyu açısından değerlendirildiğinde birinci boy fidelerde bulaşıklılık % 5,6, 2.ci boy fidelerde % 4,5 olarak elde edilmiştir. Her iki üretim sezonuna ait frigo, kol ve yeşil fidelerden elde edilen *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina* ve *Cylindrocarpon* spp. izolatlarının patojenisite çalışmaları sonucunda, çilek çeşit ve orijini dikkate alınmaksızın taçta ana patojenin *Fusarium* spp. (Bulunma oranı 2009-2010 üretim sezonunda % 2,1, 2010-2011 üretim sezonunda % 1,1) olduğu, *Rhizoctonia* spp.'nin taçtaki bulunma oranının ise her iki üretim sezonunda sırasıyla % 0,48 ve % 0,1 olduğu belirlenmiştir. Kökteki bulunma oranları açısından değerlendirildiğinde ise, *Fusarium* spp.'nin 2009-2010 üretim sezonda % 11,6, 2010-2011 üretim sezonunda % 4,8'lik bulunma oranıyla yine ana patojen olduğu dikkati çekmektedir. Köklerde *Rhizoctonia* spp. açısından her iki üretim sezonu için bulunma oranları sırasıyla % 8,96 ve % 4,8 olarak bulunmuştur.

Bu patojenler hem morfolojik hem de moleküler tanılama metotları ile tanılanmıştır. *Fusarium* izolatlarının, makroskobik ve mikroskobik incelemeleri sonunda, *Fusarium oxysporum* ve *F. solani* türleri saptanmıştır. *Rhizoctonia* izolatlarının tanılanması, vejetatif hif hücrelerindeki nucleus sayıları, DAPI ile boyanarak yapılmıştır. Tanılama çalışmaları sonucunda çift çekirdekli ve çok çekirdekli *Rhizoctonia* türleri saptanmıştır. Çok çekirdekli *Rhizoctonia* izolatları *Rhizoctonia solani* Kühn. olarak tanımlanmıştır.

Macrophomina izolatlarının morfolojik özelliklerine dayanarak *Macrophomina phaseolina* olduğu belirlenmiş ve moleküler çalışma ile de doğrulanmıştır. Patojen olan *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp. ve *Cylindrocarpon* spp. izolatlarının moleküler tanılamaları rDNA- ITS (internal transcribed spacer) bölgelerinin sekans analizi ile yapılmıştır. TEF genine ait baz dizilerinin BLAST analizi sonucunda *Fusarium oxysporum*, *F.o.* f.sp. *fragariae*, *F. solani*, *F. arthrosporioides*, *F. verticilloides* ve *F. proliferatum*, *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. redolens* ve *F. lateritium* türleri saptanmıştır. Elde edilen patojen çift çekirdekli *Rhizoctonia* izolatlarının % 47,5'inin AG-G, % 18,6'sının AG-A, % 1,7'sinin hem AG-A ve hem de AG-K'da, çok çekirdekli olanların % 1,7'sinin AG-4 anastomosis grubunda yer aldığı tespit edilmiştir. *Cylindrocarpon* spp. izolatlarının BLAST analizinde (telemorph *Neonectria*) *Neonectria macrodidyma* ve *Ilyonectria radicola* türleri saptanmıştır.

Çeşit reaksiyonu çalışmalarında, bulunma oranı en yüksek olan *F. oxysporum* ve çift çekirdekli ve çok çekirdekli *Rhizoctonia* spp.'e karşı ülkemizde yaygın olarak üretimi yapılan çeşitlerin (cv. Fortuna, Festival, Camarosa, Rubigem, Sabrina) duyarlılıkları belirlenmiştir. *F. oxysporum*'a karşı *in vitro* koşullarda stolonlarda yapılan çeşit reaksiyon çalışmalarında Fortuna, Rubigem, Camarosa ve Festival' in en duyarlı ve Sabrina'nın ise tolerant olduğu bulunmuştur. *Rhizoctonia* spp.'e karşı ise Fortuna ve Camarosa duyarlı olarak bulunurken, Festival çeşidinin tolerant olduğu saptanmıştır.

Çilek fidelerinde tespit edilen patojen fungusların hepsi ülkemizde ilk kayıt niteliği taşımaktadır. Çilek yetiştiriciliğinde dünyada olduğu gibi ülkemizde de metil bromide'in kullanımının yasaklanmasından sonra çilek taç ve kök hastalıklarının artmasıyla birlikte fidede de yeni patojenlerin varlığı tespit edilmiştir.

Çalışmamız bu konuda çalışacak araştırmacılara kaynak olacaktır.

Sonuç olarak;

- Temiz üretim materyalinin temini için çilek fideliklerinde metil bromide alternatifi yeni fumigantların araştırılması,
- Fidelerde tespit edilen bu bulaşıklılığın, çilek üretiminini ne oranda etkilediği konusunda araştırmaların yapılması,
- Çilek taç ve kök hastalıklarına neden olan ana patojenlere karşı yeni çeşitlerin denenmesi ve ıslah programlarında dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi,
- Çilek Fide Sertifikasyon programının gözden geçirilerek çilek çeşitlerinin mevcut patojenlere karşı toleransının (kabul edilebilir yüzde bulaşıklılık oranı) belirlenmesi,
- Ülkemizde ticari olarak çilek üretiminin yapıldığı alanlarda *Rhizoctonia* spp. izolatlarının anastomosis gruplarının belirlenmesi ve bir AG haritasının çıkarılması gerekmektedir.
- Elde edilen verilerin Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na bir rapor olarak sunulması ve üreticilerin frigo fide kullanımı konusunda Bakanlıkça desteklenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abad, Z.G., Louws, F.J., Fernandez, G.E., Ferguson, L.M. 2002. Predominance and pathogenicity of fungi and stramenopiles associated with Black Root Rot (BRR) of strawberries. **Phytopathology**, 92:S1.
- Abd-Elsalam, K.A, Aly, I.N., Abdel-Satar, M.A., Khalil M.S., Verreet J.A. 2003. PCR identification of *Fusarium* genus based on nuclear ribosomal-DNA sequence data. **African Journal of Biotechnology**, 2(4),82-85.
- Adhikari, T.B., Hodges, C.S., Louws, F.J. 2013. First report of *Cylindrocarpon* sp. associated with root rot disease of strawberry in North Carolina. **Plant Disease**, 97: 1251.
- Ajwa, H.A., Klose, S., Nelson, S.D.,Minuto, A., Gullino, M.L.,Lamberti, F., Lopez-Aranda, J.M. 2003. Alternatives to methyl bromide in strawberry production in the United States of America and the Mediterranean region. **Phytopathol. Mediterr.**, 42: 220–244.
- Anonim, 2007. Zirai Mücadelede Kullanılan Metil Bromür ve Alternatifleri. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. s 180.Ankara.
- Anonim, 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları.
- Anonim, 2009. Akdeniz İhracatçı Birlikleri Araştırma Serisi 61. Dünya ve Türkiye Çilek Üretimi ve Ticareti.s 14.
- Anonim, 2012a. Aydın İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, İstatistik Şubesi Kayıtları. Aydın.
- Anonim, 2012b. Akdeniz İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği, Yaş Meyve Sebze İhracatçıları Birliği Değerlendirme Raporu. Türkiye Geneli (2011/2012 Mayıs Ayı).
- Anonim, 2013a. Food and Agriculture Organization (FAO) (www.fao.org.).
- Anonim, 2013b. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) (www.tuik.gov.tr)
- Arroyo,F.T., Lergo, Y., Aguado, A., Romeo, F. 2009. First report of *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* on strawberry in Spain. **Plant Disease**, 93(3):323.

- Aviles, M., Castillo, S., Bascon, J., Zea-Bonilla, T., Martin-Sanchez, P.M., Perez-Jimenez, R.M. 2007. First report of *Macrophomina phaseolina* causing crown and root of strawberry in Spain. **New Disease Reports**. (2007) 15:29.
- Aviles, M., Castillo, S., Borrero, C., Zea-Bonilla, T., Perez-Jimenez, R.M. 2009. Response of strawberry cultivars: ‘Camarosa’, ‘Candongua’ and ‘Ventana’ to inoculation with isolates of *Macrophomina phaseolina*. **Proc. VI th. International Strawberry Symposium** (Edt. Lopez-Medina) **Acta Hort.**, 842.
- Aybak, H.Ç., 2005. Çilek Yetiştiriciliği, Hasad Yayıncılık, 118s.
- Babu, B.K., Anil, K., Saxena, Alok, K., Srivastava, Dilip, K., Arora. 2007. Identification and detection of *Macrophomina phaseolina* by using species-specific oligonucleotide primers and probe. **Mycologia**, 99(6): 797–803.
- Benlioğlu, S., Konak, C., Yıldız, A., Turgut, İ. 1998. Mısır çeşit ve hatlarının sap çürüklüğü etmeni *Fusarium moniliforme*’e reaksiyonları üzerinde çalışmalar. **Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri**, s.432-436. Ankara.
- Benlioğlu, S., Yıldız, A., Döken, T. 2004. Studies to determine the causal agents of soil-borne fungal diseases of strawberries in Aydın and control them by soil disinfection. **Journal Phytopathology**, 152: 509-513.
- Benlioğlu, S., Boz, Ö., Yıldız, A., Kaşkavalcı, G., Benlioğlu, K. 2005. Alternative soil solarization treatment for the control of soil-borne diseases and weeds of strawberry in the Western Anatolia of Turkey. **Journal Phytopathology**, 153: 423-430.
- Benlioğlu, S., Yıldız, A., Boz, Ö., Benlioğlu, K. 2007. Çilek yetiştiriciliğinde toprak dezenfeksiyonu uygulamaları. **Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi**, (27-29 Ağustos 2007), s.123, Isparta.
- Benlioğlu, S., Yıldız, A., Boz, Ö., Benlioğlu, K. 2013. Soil disinfection options in Aydın province, Turkey, strawberry cultivation. **Phytoparasitica**, DOI 10.1007/s12600-013-0376-z
- Booth, C., 1996. The genus *Cylindrocarpon*. Mycological papers, No. 104, CMI, Kew, Surrey, p.56, England.
- Bora, T., Karaca, İ. 1970. Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi. E.Ü. Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı. E.Ü. Matbaası. s.43. Bornova.

- Botha, T., Denman, S., Lamprech, S.C., Mazzola, M., Crous, P.W. 2003. Characterisation and pathogenicity of *Rhizoctonia* isolates associated with black root rot of strawberries in the Western Cape Province, South Africa. **Australasian Plant Pathology**, 32: 195-201.
- Boysen, M., Borja, M., Moral, C., Salazar, O., Rubia, V. 1996. Identification at strain level of *Rhizoctonia solani* AG4 isolates by direct sequence of asymmetric PCR products of the ITS regions. **Current Genetics**, 29: 174-181.
- Carling, D.E., Kuninaga, S., Brainard, K.A. 2002. Hyphal anastomosis reactions, rDNA-internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-2 (AG-2) and AG-BI. **Phytopathology**, 92: 43-50.
- Carpenter, J., Lynch, L., Trout, T. 2001. Township limits on 1,3-D will impact adjustment to methyl bromide phase-out. **Calif. Agric.**, 55:12-18.
- Cenis, J.L. 1992. Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. **Nucl. Acids Res.**, 20: 2380.
- Daugovish, O., Koike, S., Ajwa, H., Shaw, D., Larson, K., 2013, Plant collapse caused by *Fusarium oxysporum*. (<http://ceventura.ucdavis.edu/>), Erişim Tarihi: 22.1.2014
- De Cal, A., Martinez-Treceno, A., Lopez-Aranda, J.M., Melgarejo, P. 2004. Chemical alternatives to methyl bromide in Spanish strawberry nurseries. **Plant Dis.**, 88:210-214.
- De Cal, A., Martinez-Treceno, A., Salto, T., Lopez -Aranda, J.M., Melgarejo, P. 2005. Effect of chemical fumigation on soil fungal communities in Spanish strawberry nurseries. **Soil Ecology**, 28:47-56.
- De los Santos, B., Porras, M., Blanco, C., Barrau, C., Romero, F. 2002. First report of *Phytophthora cactorum* on strawberry plant in Spain. **Plant Dis.**, 86:1051.
- Duncan, J.M. 2002. Prospects for integrated control of *Phytophthora* diseases of strawberry. **Acta Horticultura**, 567: 603-610.
- Durak, E.D., Demirci, E. 2011. Erzurum ilinde çilek bitkilerinden izole edilen *Fusarium* türlerinin tanılanması ve patojenisiteleri. **Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri**, (28-30 Haziran 2011), s.370, Kahramanmaraş.

- Easterbrook, M.A., Crook, A.M.E., Cross, J.V., Simpson, D.W. 1997. Progress towards integrated pest management on strawberry in the United Kingdom. **Acta Horticulturae**, 439: 899-904.
- Edel, V., Steinberg, C., Gautheron, N., Alabouvette, C. 2000. Ribosomal DNA-targeted oligonucleotide probe and PCR assay specific for *Fusarium oxysporum*. **Mycol Res.**, 104:518–526.
- Enya, J., Togawa, M., Takeuchi, T., Yoshida, S., Tsushima, S., Arie, T., Sakai, T. 2008. Biological and phylogenetic characterization of *Fusarium oxysporum* complex, which causes yellow on *Brassica* spp., and proposal of *F.oxysporum* f.sp. *rapae*, a novel forma speciales pathogenic on *B. rapa* in Japan. **The American Phytopathological Society**, 98(4): 475-483.
- Fang, X.L., Phillips, D., Li, H., Sivasithamparam, K., Barbetti, M.J. 2011a. Comparative root colonisation of strawberry cultivars Camarosa and Festival by *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae*. **Plant Soil**. 20 November 2011
- Fang, X.L., Phillips, D., Li, H., Sivasithamparam, K., Barbetti, M.J. 2011b. Severity of crown and root diseases of strawberry and associated fungal oomycete pathogens in Western Australia. **Australas.Plant Pathol.**,40:109-119.
- Fang, X.L., Phillips, D., Li, H., Sivasithamparam, K., Barbetti, M.J. 2011c. Comparisons of virulence of pathogens associated with crown and root diseases of strawberry in Western Australia with special reference to the effect of temperature. **Scientia Horticulturae**, 131:39-48.
- Fang, X.L., Phillips, D., Verheyen, G., Li, H., Sivasithamparam, K., Barbetti, M.J. 2012. Yields and resistance of strawberry cultivars to crown root diseases in the field, and cultivar responses to pathogens under controlled environment conditions. **Phytopathologia Mediterranea**, 51(1):69-84.
- Fang, X.L., Finnegan, P.M., Barbetti, M.J., 2013. Wide variation in virulence and genetic diversity of binucleate *Rhizoctonia* isolates associated with root rot of strawberry in Western Australia. **PlosOne**, 8(2):1-14.
- Ferguson, L.M., Louws, F.J., Fernandez, G.E., Brannen, P.M., Poling, E.B., Sydorovych, O.B., Safley, C.D., Monks, D.W., VanEsbroeck, Z. Pesic., Sanders, D.C., Smith, J.P. 2002. Chemical and biological alternatives to methyl bromide for strawberry in the southeastern U.S. **Proc.of the Int. Res. Conf.on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reduction**, 103/1-103/4.

- Fravel, D., Olivain, C., Alabouvette, C. 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. **New Phytol.**, 157:493-502.
- Fuchun, Z., Yun, H., Yaquin, Z. 2006. Biological characteristics of strawberry *Fusarium* wilt. **Plant Dis.**, 24(2):156-160.
- Geiser, D.M., Jimenez-Gasco, M., Del Mar., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J., Zhang, N., Kulda, G.A., O' Donnell, K. 2004. Fusarium -ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. **European Journal of Plant Pathology**, 110: 473-479.
- Golzar, H., Phillips, D., Mack, S. 2007. Occurrence of strawberry root and crown rot in Western Australia. **Australian Plant Disease Notes**, 2:145-147.
- Gonzales, D., Carling, D.E., Kuninaga, S., Vilgalys, R., Cubeta, M.A. 2001. Ribosomal DNA systematics of *Ceratobasidium* and *Thanatephorus* with *Rhizoctonia* anamorphs. **Mycologia**, 93(6): 1138-1150.
- Gürer, M., Coşkun, H. 1993. Occurrence of Strawberry Diseases in Turkey. **6th International Congress of Plant Pathology**, 28 July-6 August, 1993 (Abstract).
- Hancock, J.F. 1990. Ecological genetics of natural strawberry species. **HortScience**, 25: 869-871.
- Hancock, J.F. 1999. Strawberries, Crop Production Science in Horticulture, CABI Publishing, 237s.
- Harikrishnan, R., Yang, X.B. 2004. Recovery of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* from different latitudinal positions and influence of temperatures on their growth and survival. **Plant Disease**, 88: 817-823.
- Himerlick, D.G., Dozier, W.A.J. 1991. Soil fumigation and solarization in strawberry production. **Adv Strawb Prod.**, 10:12-27.
- Huang, H., Jeffers, S.N., Layne, D.R., Schnabel, G. 2004. AFLP analysis of *Phytophthora cactorum* isolates from strawberry and other hosts: Implications for identifying the primary source of inoculum. **Plant Dis.**, 88:714-720.
- Hutton, D., Gomez, A., Mattner, S., Strawberry R&D update 2006.
- Hutton, D., Gomez, A.O., Mattner, S.W. 2013. *Macrophomina phaseolina* and its association with strawberry crown rot in Australia. **International Journal of Fruit Science**, 13: 149-155.

- Irina, S.D., Kopchinskiy, A.G., Komon, M., Bissett, J., Szakacs, G., Kubicek, C.P. 2005. An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. **Fungal Genetics and Biology**, 42:813–828.
- Jana, T., Sharma, T.R., Prasad, R.D., Arora, D.K. 2003. Molecular characterization of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium* species by a single primer RAPD technique. **Microbiol. Res.**, 158: 249–257.
- Johanson, A., Crowhurst, R.N., Rikkerink, E.H.A., Fullerton, R.A., Templeton, M.D. 1994. The use of species-specific DNA probes for the identification of *Mycosphaerella fijiensis* and *M. musicola*, the causal agents of Sigatoka disease of banana. **Plant Pathology**, 43:701-707.
- Kapkın, A. 1978. İzmir İli Çileklerinde Tarla Döneminde ve Hasat Sonrasında Görülen Fungal Etmenlerin Saptanması ve Bunların Patojenisiteleri Üzerinde Araştırmalar. E. Ü . Ziraat Fak., Bitki Koruma Böl., Uzmanlık Tezi, p 144., İzmir.
- Koike, S.T. 2008. Crown rot of strawberry caused by *Macrophomina phaseolina* in California. **Plant Disease**, 92:1253.
- Koike, S.T., Kirkpatrick, S.C., Gordon, T.R. 2009. *Fusarium* wilt of strawberry caused by *Fusarium oxysporum* in California. **The American Phytopathological Society**, 93(10):1077.
- Koike, S.T. 2010. Strawberry Plant Collapse Diseases Reach California Central Coast. (<http://cesantacruz.ucanr.edu/>), Erişim tarihi: 2.1.2013.
- Koike, S.T., Gordon, T.R., Daugovish, O., Ajwa, H., Bolda, M., Subbarao, K. 2013a. Recent Developments on Strawberry Plant Collapse Problem in California Caused by *Fusarium* and *Macrophomina*. **Proceedings of the 2011 North American Strawberry Symposium**. Page 76-83. International Journal of Fruit Science Volume 13, Issue 1-2,2013.
- Koike, S., Bolda, M., 2013b. Fusarium wilt of strawberry: second soilborne threat in California, Strawberries and Caneberries - ANR Blogs (<http://ucanr.edu/>), Erişim tarihi: 2.1.2013.
- Kuninaga, S., Natsuaki, T., Toda, T., Yokosawa, R. 1997. Sequence variation of the rDNA ITS regions within and between anastomosis groups in *Rhizoctonia solani*. **Current Genetics**, 32: 237-243.

- Kuninaga, S., Carling, D.E., Toda, T., Yokosawa, R. 2000. Comparison of rDNA-ITS sequences between potato and tobacco strains in *Rhizoctonia solani* AG-3. **Journal of General Plant Pathology**, 66: 2-11.
- Lamondia, J.A. 2003. Interaction of *Pratylenchus penetrans* and *Rhizoctonia fragariae* in strawberry black root rot. **Journal of Nematology**, 35(1):17-22.
- Latorre, B.A., Viertel, S. 2004. Presence of *Phytophthora cactorum* in cold storage of strawberry (*Fragaria x ananassa*) plants. **Cienciae Investigation Agraria**, 31: 111-117.
- Leandro, L., Ferguson, L., Fernandez, G., Louws, F. 2004. Integration of biological control for management of strawberry root rot. **Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions**, 89/1-3.
- Lee, S.B., White, T.J., Taylor, J.W. 1993. Detection of *Phytophthora* species of oligonucleotide hybridization to amplified ribosomal DNA spacers. **Phytopathology**, 83:177-181.
- Leslie, J.F., Summerell, B.A. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing.
- Maas, J.L., 1998. Compendium of Strawberry Diseases. **APS Press**, 98pp, Minnesota, USA.
- MacKenzie, S.J., Legard, D.E., Timmer, L.W., Chandler, C.K., Peres, N.A. 2006. Resistance of strawberry cultivars to crown rot caused by *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from Florida is nonspecific. **Plant Disease**, 90: 1091-1097.
- Manici, L.M., Caputo, F., Baruzzi, G. 2005. Additional experiences to elucidate the microbial component of soil suppressiveness towards strawberry black root rot complex. **Annual of Applied Biology**, 146: 421-431.
- Manici, L.M., Bonora, P. 2007. Molecular genetic variability of Italian binucleata *Rhizoctonia* spp. isolates from strawberry. **European Journal of Plant Pathology**, 118:31-42.
- Martin, S.B. 1987. Rapid tentative identification of *Rhizoctonia* spp. associated with diseased turfgrasses. **Plant Disease**, 71:47-49.

- Martin, S.B. 1988. Identification, isolation frequency and pathogenicity of anastomosis groups of binucleate *Rhizoctonia* spp. from strawberry roots. **Phytopathology**, 78:379-384.
- Martin, F.N. 1999. Strawberry root rot and the recovery of *Pythium* and *Rhizoctonia* spp. **Alternatives and Emissions Reduction** 6: 1-3.
- Martin, F.N. 2000. *Rhizoctonia* spp. recovered from strawberry roots in central coastal California. **Phytopathology**, 90:345-353.
- Martin, F.N., Bull, C.T. 2002. Biological approaches for control of root pathogens of strawberry. **Phytopathology**, 92:1356-1362.
- Mertely, J., Seijo, T., Peres, N. 2005. First report of *Macrophomina phaseolina* causing a crown rot of strawberry in Florida. **Plant Disease**, 89: 434.
- Morocco, I. 2006. Characterization of the Strawberry Pathogen *Gnomonia fragariae* and Biocontrol Possibilities. PhD Dissertation, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Mori, T., Kitamura, H., Kuroda, K., 2005. Varietal differences in *Fusarium* wilt-resistance in strawberry cultivars and segregation on this trait F1 hybrids. **J. Japan. Soc. Hort. Sci.**, 74 (1): 57-59.
- Nagarajan, G., Nam, M.H., Song, J.Y., Yoo, S.J., Kim, H.G. 2004. Genetic variation in *Fusarium oxysporum* f.sp. *fragariae* populations based on RAPD and rDNA RFLP analyses. **Plant Pathol.J.**, 20(4): 264-270.
- Nazar, R.N., Hu, X. , Schmidt, J., Culham, D., Robb, J. 1991. Potential use of PCR-amplified ribosomal intergenic sequences in the detection and differentiation of *Verticillium* wilt pathogens. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 39:1-11.
- Ndiaye, M., Termorshuizen, A.J., Van Bruggen, A.H., Groenewald, C.J.Z., Crous, P.W. 2007. Physiological, genetic, and pathogenic variability in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot (Edt. Ndiaye, M., Ecology and Management of Charcoal Rot (*Macrophomina phaseolina*) on Cowpea in Sahel).
- Nelson, P.E., Toussoun T.A., Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* Species. An Illustrated Manual for Identification the Pennsylvania State University Press, 193pp, University Park and London.
- O'Donnell, K., Kistler, H.C., Cigelnik E., Ploetz, R.C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies.

Proceedings of the National Academy of Science of the United States of Amerika, 95:2044-2049.

- Ogoshi, A, Cook, R.J., Bassett, E.N. 1990. *Rhizoctonia* species and anastomosis groups causing root-rot of wheat and barley in the Pacific Northwest. **Phytopathology**, 80: 784-788.
- Özyılmaz, Ü.2007. Aydın İlinde Çilek Kök Hastalıklarına Karşı Antagonist Bakterilerle Biyolojik Savaş. ADÜ Fen Bilimleri Enst. Doktora Tezi, s128, Aydın.
- Pala, H. 1987. Çileklerde Kök Çürüklüğü Etmeni ve Antagonistlerin Saptanması, Hastalık Çıkışı Üzerine Toprak Solarizasyonunun Etkisinin Araştırılması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enst. Doktora Tezi, s120 Adana.
- Particka, C., Hancock, J.F. 2005. Field evaluation of strawberry genotypes for tolerance to black root rot on fumigated and non-fumigated soil. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 130: 688-693.
- Paydaş, S.1998. Akdeniz kıyı şeridinde birim alandan en yüksek gelir elde etmek için neden çilek. **Cine Tarım Dergisi**, 11:34-36.
- Petit, E., Gubler, W.D., 2005. Characterization of *Cylindrocarpon* species, the cause of black foot disease of grapevine in California. **Plant Dis.**, 89:1051-1059.
- Phillips, D., Golzar, H. 2008. Strawberry root and crown rot disease survey. Bulletin No.4747, ISSN 1833 -7236 Department of Agriculture and Food Western Australia, W.A.
- Porras, M., Barrau, C., Arroyo, F.T., Santos, B., Blanco,C., Romero F. 2007. Reduction of *Pytophthora cactorum* in strawberry fields by *Trichoderma* spp. and soil solarization. **Plant Dis.**, 91:142-146.
- Pope, E.J., Carter, D.E. 2001. Phylogenetic placement and host specificity of mycorrhizal isolates belonging to AG-6 and AG-12 in the *Rhizoctonia solani* species complex. **Mycologia**, 93: 712-719.
- Porter, I.J., Mattner, S.W. 2002. Non-Chemical alternatives to methyl bromide for soil treatment in strawberry production. **Proceedings of international conference on alternatives to methyl bromide the remaining challenges**. 5-8 March 2002.p 39, Sevilla, Spain.

- Priyatmojo, A., Yotani, Y., Hattori, K., Kageyama, K., Hyakumachi, M. 2001. Characterization of *Rhizoctonia* spp. causing root and stem rot of miniature rose. **Plant Disease**, 85(11): 1200-1205.
- Rieger, M., Krewer, G., Lewis, P. 2001. Solarization and chemical alternatives to methyl bromide for preplant soil treatment of strawberries. **HortTechnology**, 11:258-264.
- Roskopf, E.N., Chellemi, D.O., Kokalis-Burelle, N., Church, G.T. 2005. Alternatives to Methyl Bromide: A Florida Perspective. APS net .2005
- Sarıbıyık, D. 2005. Aydın İli Çilek Alanlarında Görülen Kurşuni Küf Hastalığı (*Botrytis cinerea* Pers.)'nın Kimyasal Mücadelesi Üzerine Çalışmalar. ADÜ Fen Bilimleri Enst. Yüksek Lisans Tezi, s65,Aydın.
- Sarıgül Ertek, T., Katırcıoğlu, Y.Z., Maden, S., 2014. Düzce ili çilek üretim alanlarında görülen fungal hastalıkların belirlenmesi. **V. Türkiye Bitki Koruma Kongresi**, Bildiri Özetleri, (3-5 Şubat 2014), s. 208. Antalya.
- Serçe, S. 2011. İspanyol çilek fide üretimi ve metil bromid alternatifleri. **Hasat Bitkisel Üretim**, 27(319):110-112.
- Sharon, M., Kuninaga, S., Hyakumachi, M., Sneh, B. 2006. The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. **Mycoscience**, 47: 299-316.
- Sharon, M., Freeman, S., Kuninaga ,S., Sneh, B. 2007. Genetic diversity, anastomosis groups and virulence of *Rhizoctonia* spp. from strawberry. **European Journal of Plant Pathology**, 117:247-265.
- Sneh,B., Burpee, L., Ogoshi, A. 1998. Identification of *Rhizoctonia* Species. APS Press. **The American Phytopathological Society**, Minnesota, USA.134pp.
- Su, G., Suh, S.O., Schneider , R.W., Rusin, J.S. 2001. Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. **Phytopathology**, 92:120–126.
- Summerell, B.A., Leslie, J.F., Backhouse, D., Bryden, W.L., Burgess, L.W. 2001. *Fusarium*, Paul E. Nelson Memorial Symposium. **APS Press**, Minnesota, p.1-192.
- Takahashi, H., Yoshida, Y., Kanda, H., Furuya, H., Matsumoto, T. 2002. Breeding of *Fusarium* wilt-resistant strawberry cultivar suitable for field culture in Northern Japan. **Acta Horticulture**, Congres Berry crop

breeding, production and utilization for a new century, (Toronto ON, 11-17 August 2002).

- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, 30: 2725-2729.
- Tanaka, M.A.S. and Passos, F.A. 2002. Pathogenic characterization of *Colletotrichum acutatum* and *C.fragariae* associated with strawberry anthracnose. **Fitopatologia Brasileira**, 27: 484-488.
- Tewoldemedhin, Y.T., Lamprecht, S.C., Mcleod, A., Mazzola, M. 2006. Characterization of *Rhizoctonia* spp. recovered from crop plants used in rotational cropping systems in the Western Cape Province of South Africa. **Plant Disease**, 90:1399-1406.
- Urena-Padilla, A.R., Mitchell, D.J., Legard, D.E. 2001. Over-summer survival of inoculum for *Colletotrichum* crown rot in buried strawberry crown tissue. **Plant Disease**, 85: 750-754.
- Vandemark, G., Martinez, O. Pecina, V., Alvarado, M. de J. 2000. Assessment of genetic relationships among isolates of *Macrophomina phaseolina* using simplified AFLP technique and two different methods of analysis. **Mycologia**, 92: 656-664.
- Wang, L., Tongle, H., Lijing, J., Keqiang, C. 2007. Inhibitory efficacy of calcium cyanamide on the pathogens of replant diseases in strawberry. **Front. Agric.China**, 1(2):183-187.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J.W. 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. Academic Press, New York, NY, USA.
- Wing, K.B., Pritts, M.P., Wilcox, W.F. 1994. Strawberry black root rot: A review. **Adv. Strawberry Res.**, 13:13-19.
- Winks, B.L., Williams, Y.N. 1965. A wilt of strawberry caused by a new form of *Fusarium oxysporum*. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, 22: 475-479.
- Yıldız, A., Benlioğlu, S. 2013. A laboratory bioassay for evaluating pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani* isolates to strawberry stolons. DOI 10.1007/s12600-013-0370-5. **Phytoparasitica**.

- Yildiz, A., Benlioğlu, S., Boz, Ö., Benlioğlu, K. 2010. Use of different plastics for soil solarization in strawberry growth and time-temperature relationships for the control of *Macrophomina phaseolina* and weeds. **Phytoparasitica**, 38: 463–473.
- Yücel, S. and Tangolar, S., G. 2007. Çilek fidesi yetiştiriciliğinde metil bromür'e alternatif uygulamaların ön sonuçları. **Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri**, (27-29 Ağustos 2007), s 342, Isparta,
- Zhang, Y., Tongle, H.U. , Lijing, J.I., Keqiang, C.A.O. 2008. A bio-product as alternative to methyl bromide for replant disease control on strawberry. **Front. Agric. China**, 2(1): 72–76.
- Zhao, X.H., Zhen, W.C., Qi, Y.Z., Liu, X.I., Yin, B.Z. 2009. Coordinated effects of root autotoxic substances and *Fusarium oxysporium* Schl.f.sp. *fragariae* on the growth and replant disease of strawberry. **Front. Agric. China**, 3(1): 34–39.
- Zhen, W.C., Cao, K.Q., Dai, L., Hu, T.L. 2005. Management of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch) replanting problem by soil amendments of medicinal herbs. **Scienta Agricultura Sinica**, 38(4):730-735.
- Zveibil, A., Freeman, S. 2005. First report of crown and root rot in strawberry caused by *Macrophomina phaseolina* in Israel. **Plant Disease**, 89: 1014.
- Zveibil, A., Mor, N., Gnayem, N., Freeman, S. 2012. Survival, host–pathogen interaction, and management of *Macrophomina phaseolina* on strawberry in Israel. **Plant Disease**, 96: 265–272.

EKLER

Ek 1. Bazı çilek çeşitlerinin *Fusarium oxysporum*'a karşı reaksiyonları varyans analiz tablosu

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Model	4	15784,649	3946,16	13,5548
Hata	35	10189,394	291,13	Prob > F
Toplam	39	25974,042		<,0001*

Ek 2. Bazı çilek çeşitlerinin iki farklı *Rhizoctonia* spp. izolatına (6F/10K bn, AG-G ve 23C/14K mn) karşı reaksiyonları varyans analiz tablosu 1 ve 2

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Model	9	21426,636	2380,74	4,7570
Hata	70	35032,556	500,47	Prob > F
Toplam	79	56459,192		<,0001*

	En Küçük kareler Ortalaması	Standart hata	Ortalama
23C/14K mn	28,778250	3,5371778	28,7783
6F/10K bn	16,056250	3,5371778	16,0563

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Havva DİNLER
Doğum Yeri ve Tarihi : Manisa, 17.09.1978

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü. 1997-2001.
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü. 2003-2007.
Doktora Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü. 2007- 2014.
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

Lisans Tez Konusu:

Turunçgil Paketleme Evlerinde Görülen Fungal Hastalıklar

Danışman: Doç. Dr. Seher BENLİOĞLU

Yüksek Lisans Tez Konusu:

Aydın İli'nde Pamuk Alanlarından Elde Edilen *Verticillium dahliae* Kleb. İzolatlarının Vejetatif Uyum Gruplarının (VCGs) Saptanması.

Danışman: Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU

Doktora Tez Konusu:

Çilek Fidelerinde Toprak Kaynaklı Fungal Etmenlerin Saptanması Üzerinde Araştırmalar.

Danışman: Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Makaleler

Dinler, H., Benlioğlu, S. 2013. Aydın İli'nde pamuk alanlarından elde edilen *Verticillium dahliae* Kleb. izolatlarının vejetatif uyum grupları. Bitki Koruma Bülteni 2013, 53(2):85-99.

b) Bildiriler

-Ulusal

Dinler, H., Benlioğlu, S. 2009. Aydın İli'nde Pamuk Alanlarından Elde Edilen *Verticillium dahliae* Kleb. İzolatlarının Vejetatif Uyum Gruplarının (VCGs) Saptanması. **Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi** ,Van

c) Katıldığı Projeler

Zeytin ve Pamuktan Elde Edilen *Verticillium dahliae* Kleb. İzolatlarının Vejetatif Uyum Gruplarının (VCG) Saptanması. ADÜ Bilimsel Araştırma Projeleri ZRF-05006, Yüksek Lisans Öğrencisi, 2005-2007.

Aydın İli'nde zeytin ve pamuk alanları ile bu alanlardaki yabancı otlarda *Verticillium dahliae* (Kleb.) izolatlarının vejetatif uyum gruplarının saptanması ve endofitik bakterilerle biyolojik mücadele olanakları ,TÜBİTAK ,TOGTAĞ-3476 , Bursiyer, 02/01/2006 ,01/01/2009 .

Çilekte Entegre Mücadele Geliştirme Projesi, TÜBİTAK, TOVAG-110R009, Bursiyer,1.05.2011-30.11.2012

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bitki Koruma Bölümü, 2005-2007
: Uşak Üniversitesi Rektörlüğü, 2007- 2008
: Uşak Üniversitesi Sivaslı Meslek Yüksekokulu,
2008- Halen devam ediyor.

İLETİŞİM

E-posta Adresi : havva.dinler@usak.edu.tr

Tarih :