TÜRKİYE FİTOPATOLOJİ DERNEĞİ YAYINLARI NO: 6 1991

VI.
TÜRKİYE FİTOPATOLOJİ KONGRESİ

7 -11 Ekim 1991
İZMİR

BİLDİRİLER

ERZURUM VE YÖRESİNDE PATATESLERDEN İZOLE EDİLEN **Rhizoctonia solani** Kühn'NİN ANASTOMOSİS GRUPLARININ KÜLTÜREL VE MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Erkol DEMİRCİ* M.Timur DÖKEN*

GİRİŞ

Rhizoctonia solani Kühn (**Thanatephorus cucumeris** (Frank) Donk), patateslerde gövde kanseri ve siyah kabukluluk hastalığına neden olmaktadır (10). **R.solani**'nin bugüne kadar 10 anastomosis grubu (AG-1, AG-2, AG-3, AG-4, AG-5, AG-6, AG-7, AG-8, AG-9 ve AG-BI) belirlenmiş olup (9, 13, 16, 17, 18, 20), bunlardan AG-2 izolatlar arasında anastomosis sıklığına göre iki alt gruba (AG-2 tip 1 ve AG-2 tip 2) bölünmüştür (18).

Bu çalışmanın amacı, Erzurum Yöresinde patateslerden izole edilen R.solani'nin anastomosis gruplarının kültürel ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesidir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Hastalıklı patates bitkilerinin toprak altında kalan miselyum ve lezyon içeren gövde ve sklerotili yumrularından yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen **R. solani** izolatları ile yurt dışından getirtilen test izolatları su agarı (SA) üzerinde 2-4 cm aralıkla karşılıklı olarak yerleştirilerek eşleştirilmiş ve takiben hiflerin karşılaştıkları hat % 0.05'lik trypan blue içeren laktofenol ile boyanarak hifler arasında hücre duvarı ve sitoplazmik birleşme durumunun olup olmadığı ışık mikroskobunda incelenmiştir (8, 20).

Anastomosis gruplarında koloni renk ve görünümleri ile skleroti büyüklüklerinin saptanması amacı ile gruplara ait izolatlardan alınan 5 mm çapındaki miselyum diskleri patates dekstros agar (PDA) içeren petrilerin merkezine yerleştirilerek 25°C'de 3 hafta inkübe edilmiş(9, 15), oluşan koloniler renk ve görünüm, sklerotiumlar ise renk, şekil ve büyüklük yönünden incelenmiştir (14). Hif genişliğinin ölçülmesinde ise, izolatlar PDA üzerine yerleştirilen 1.5 cm^2'lik steril selefon üzerinde 25°C'de 2-3 gün geliştirildikten sonra lam üzeride % 0.5'lik trypan blue içeren laktofenol ile boyanmıştır (7). Hif hücrelerindeki nükleus sayılarının saptanması için PDA'da 2-3 gün 25°C'de geliştirilen kolonilerin kenar kısımlarından alınan agar bloklarındaki miselyumlar Safranin 0 ile lam üzerinde boyanmıştır (3). Her izolat için 25 ölçüm veya sayım yapılmış, ölçümler oküler mikrometre takılı ışık mikroskobunda, nükleus sayımları ise phase contrast mikrospokta yapılmıştır.

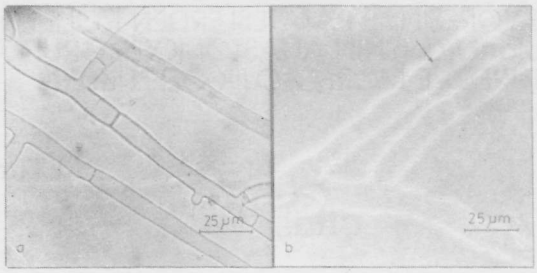
Hiflerde günlük gelişme hızı 5, 10, 15, 20, 25, 30 ve 35 °C'lerde saptanmıştır. Bunun için, PDA'da 5 gün 25°C'de geliştirilen kolonilerin kenar kısımlarından alınan 5 mm çapındaki miselyum diskleri PDA içeren petrilerin merkezine yerleştirilip 72 saat inkübe edildikten sonra koloni çapı birbirine dik iki istikamette yapılan ölçümlerin ortalaması alınıp gün sayısına bölünerek belirlenmiştir (6, 12). Çalışma 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

BULGULAR

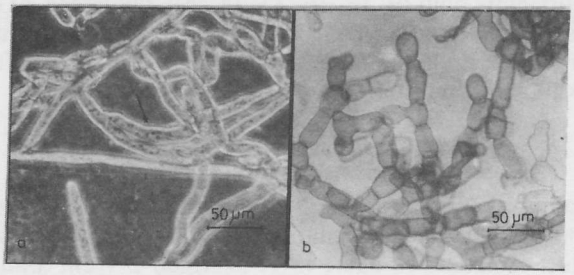
Çalışmada, patateslerin toprak altı gövde ve yumrularından elde edilen izolatlarda beş anastomosis grubu saptanmıştır. Bunlar; AG-2 tip 1, AG-2 tip 2, AG-3, AG-4 ve AG-5'dir.

Bu anastomosis gruplarında **R. solani**'nin hifleri distal septumun yakınından genellikle dik bir açı ile dallanmakta ve dallanmanın başlangıç noktasında daralma (Şekil 1.a), hemen sonra belirgin dolipor septum oluşmaktadır (Şekil 1.b). Hif hücreleri 3 veya daha fazla sayıda nükleus içermektedir (Şekil 2.a). AG-2 tip 1'e ait izolatlardan biri hariç diğerlerinde oblong şekilli monilioid hif hücrelerinden (Şekil 2.b) oluşan sklerotiumlar bulunmaktadır.

* Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü 25240 ERZURUM



Şekil 1. **Rhizoctonia solani**'de: a) Hif, b) Dolipor septum.



Şekil 2. **Rhizoctonia solani**'de: a) Hiflerde çok nükleusluluk durumu, b) Monilioid hücreler.

Koloni rengi ve görünümü açısından anastomosis grupları arasında benzerlik veya farklılıklar saptanmıştır.

AG-2 tip 1'de koloniler renksiz veya açık kahverengidir. İzolatların birinde skleroti oluşumu mevcut olmayıp diğerinde besi ortamı yüzeyinde veya petrinin kenar kısımlarında açık sarımsı kahverengi renkte yuvarlağa yakın şekilli sklerotiumlar tek tek veya gruplar halinde oluşmuştur.

AG-2 tip 2'de koloniler koyu kahverengi veya kırmızı kahverengidir. Açık veya koyu kahverengi renkte olan tek tek veya gruplar halinde besi ortamı yüzeyinde veya gömülü olarak oluşan sklerotiumlar yuvarlak şekillidirler.

AG-3'de koloniler orta veya koyu kahverengidir. Koloni renginde veyaklaşık yuvarlağa yakın şekilli sklerotiumlar koloni merkezinde bir kabuk oluşturacak şekilde toplu halde, kenarlara doğru tek tek yüzeyde veya gömülü olarak oluşmuşlardır.

AG-4'de koloniler renksiz veya kahverengimsi gri renkte, unsu bir görünüşte olup, yuvarlak ve açık kahverengi sklerotiumlar merkezde besi ortamına gömülü, petrinin kenar kısımlarında ise besi ortamı üstünde veya kenar cam yüzeylerde oluşmuşlardır.

AG-5'de koloniler sarımsı veya sarımsı kahveregi renktedirler. Koloni rengindeki yuvarlağa yakın şekilde olan sklerotiumlar nadiren besi ortamı yüzeyinde genellikle petrilerin kenar cam yüzeylerinde az sayıda bulunmaktadır.

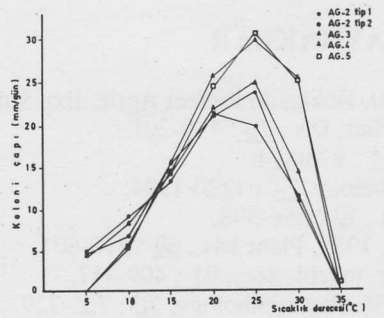
Anastomosis gruplarına ait incelenen izolatlarda hif genişlikleri, skleroti büyüklükleri ve nükleus sayıları Çizelge 1.'de verilmiştir. Ortalama hif genişliğinin AG-3'de en yüksek, AG-4'de en düşük olduğu, diğer üç anastomosis grubunun ise bu iki grup arasında yer aldığı saptanmıştır. Ortalama skleroti büyüklüğünün ise AG-2 tip 2'de en yüksek, AG-5'de en düşük olduğu belirlenmiştir. Nükleus sayısı yönünden incelenen tüm izolatlarda her bir hücrede en az 3, en fazla 16 adet nükleus bulunduğu, ortalama nükleus sayısının AG-3'de en yüksek, AG-4'de en düşük olduğu saptanmıştır.

Çizelge 1. Anastomosis Gruplarında Hif Genişlikleri, Skleroti Büyüklükleri ve Nükleus Sayıları.

Anastomosis Grubu	İncelenen İzolat Sayısı	Hif Genişliği (µm)			Skleroti Büyüklüğü (mm)			Nükleus Sayısı		
		Min.	Max	Ort.	Min.	Max	Ort.	Min.	Max	Ort.
AG-2 tip 1	2	5.50	10.50	8.05	0.40	2.90	1.18*	3	11	5.96
AG-2 tip 2	3	5.50	11.50	7.91	0.40	3.00	1.21	3	11	5.97
AG-3	10	4.50	13.50	8.56	0.30	4.30	1.12	3	16	7.47
AG-4	10	4.50	9.50	6.56	0.20	2.30	0.71	3	10	5.26
AG-5	7	5.00	12.00	7.30	0.20	1.80	0.62	3	10	5.85

* : İzolatların birinde skleroti oluşum görülmüştür.

Anastomosis gruplarının farklı sıcaklık derecelerindeki ortalama günlük gelişme hızlarına göre (Şekil 3), AG-2 tip 1, AG-2 tip 2 ve AG-3'e ait izolatlar 5°C'de gelişme gösterirken, AG-4 ve AG-5'e ait izolatlar bu sıcaklık derecesinde gelişme göstermemişlerdir. AG-2 tip 1 izolatlarının günlük gelişme hızı 20°C'ye kadar artış gösterirken diğer anastomosis gruplarında bu artış 25°C'ye kadar devam etmiştir. Aynı zamanda, AG-2 tip 2 ile AG-3 ve AG-4 ile AG-5'in günlük gelişme hızları birbirine oldukça yaklaşık seyretmiştir. AG-5'e ait bir izolat hariç bütün gruplarda 35°C'de gelişme görülmemiştir.



Şekil 3. **Rhizoctonia solani**'nin beş anastomosis grubunun 5-35°C arasındaki sıcaklıklarda günlük gelişme hızları.

TARTIŞMA ve ÖNERİLER

Çalışmada, patatesten AG-2 tip 1, AG-2 tip 2, AG-3, AG-4 ve AG-5 anastomosis gruplarına ait izolatlar elde edilmiştir. Bu grupların diğer bazı araştırıcılar (1, 4, 5, 10) tarafından da izole edilmesine ek olarak, ayrıca AG-1 (1, 4, 5) ve AG-9 (9) da patateste saptanmıştır. Ülkemizde Orta Anadolu'da yapılan tek blir çalışmada ise (22), patatesten sadece AG-3'ün izole edildiği bildirilmiştir.

Belirlenen anastomosis gruplarına ait izolatların PDA'daki koloni rengi ve görünümü diğer bazı araştırıcıların (11, 19, 21) elde ettikleri aynı anastomosis gruplarına ait izolatlarla benzerlik göstermektedir. Ancak, koloni rengi ve görünümü grupları ayırt edici bir karakter değildir. Nitekim, çalışmamızda AG-2 tip 2 ve AG-3'ün koloni renkleri birbirlerine çok yakın olup bu durum Ogoshi (19) tarafından da saptanmıştır. Bu nedenle, anastomosis gruplarının belirlenmesinde izolatlar arasındaki hif birleşme durumunun (anastomosis) dikkate alınması gerek-

mektedir (18, 20). Diğer taraftan, aynı anastomosis grubuna ait olan izolatların kolonileri dahi birbirlerinden renk ve görünüm yönlerinden farklılık göstermişlerdir.

Günlük gelişme hızları da anastomosis gruplarını ayırt etmede kullanılan bir faktör değildir. Nitekim, AG-2 tip 2, AG-3, AG-4 ve AG-5 izolatlarının günlük gelişme hızları 25°C'ye kadar artış gösterirken, AG-2 tip 1 izolatlarında bu artış 20°C'ye kadar devam etmiştir. Ayrıca, AG-4 izolatlarının AG-2 ve AG-3 (21), AG-4 izolatlarının AG-3 (2) izolatlarına göre günlük gelişme hızının daha yüksek olduğu bu çalışmada da görülmüştür.

Koloni rengi ve günlük gelişme hızı anastomosis gruplarını ayırt edici faktörler olmamakla birlikte AG-2 tip 1 ve AG-2 tip 2'ye ait izolatlar arasında düşük oranda anastomosis olayı görüldüğünden (18), AG-2'ye ait izolatların bu alt gruplara ayrılmasında bu faktörler önem arz etmektedir (A. Ogoshi, 1991 yazılı görüşme). Nitekim, AG-2 tip 1'e ait izolatlarda günlük gelişme hızı 20 C'ye kadar artış gösterirken, AG-2 tip 2'ye ait izolatlarda bu artış 25°C'ye kadar devam etmiş ve bu iki alt grubun koloni renkleri de birbirlerinden farklılık göstermiştir.

Anastomosis gruplarının ortalama hif genişlikleri, skleroti büyüklükleri ve nükleus sayıları arasında benzerlik veya farklılıklar bulunmaktadır. Anastomosis gruplarında hif genişliğiyönünden yapılan istatistiki karşılaştırmada (18), AG-2 tip 1, AG-2 tip 2 ve AG-3 arasında fark bulunmadığı, AG-4 ve AG-5'in farklı olduğu, en yüksek hif genişliğine AG-3'ün, en düşük hif genişliğine AG-4'ün sahip olduğu belirtilmiştir. Sherwood (21) da AG-3'ün ortalama hif genişliğinin en fazla, AG-4'ün en düşük, AG-2'nin bu ikisi arasında yer aldığını bildirmiştir. Bulgularımızda da ortalama hif genişliği en yüksek AG-3 anastomosis grubunda belirlenmiş olup AG-2 tip 1 ve AG-2 tip 2 birbirlerine yaklaşık değerler ile ikinci sırada yer almıştır. AG-5 ve en küçük olarak AG-4 bunları takip etmiştir. Ortalama skleroti büyüklükleri yönünden ise AG-2 tip 1, AG-2 tip 2 ile AG-3, ayrıca AG-4 ile AG-5'de birbirlerine benzerlik göstermişlerdir. Belirlenen anastomosis gruplarına ait izolatlarda her bir hücrede en az 3, en fazla 16 adet nükleus bulunduğu saptanmış olup, her bir hücredeki ortalama nükleus sayısı AG-3'de en yüksek, AG-4'de ise en düşük olup, AG-2 tip 1 ile AG-2 tip 2 ve AG-4 ile AG-5'in izolatlarında belirlenen minimum ve maksimum nükleus sayıları birbirlerinin benzeridir.

KAYNAKLAR

1. Abe, H. and K. Tsuboki, 1978. Bull. Hokkaido Prefect Agric. Exp.Stn., 40 : 61-70.
2. Anguiz, R. and C. Martin, 1989. Plant Dis., 73 : 199-201.
3. Bandoni, R.J., 1979. Mycologia, 71 : 873-874.
4. Bandy, B.P. et al., 1984. Phytopathology, 74 : 1220-1224.
5. Bandy, B.P. et al., 1988. Plant Dis., 72 : 596-598.
6. Bolkan, H.A. and W.R.C. Riberio, 1985. Plant Dis., 69 : 599-601.
7. Burton, R.J. et al., 1988. Trans. Br. mycol. Soc., 91 : 409-417.
8. Carling, D.E. and R.H. Leiner, 1986. Phytopathology, 76 : 725-729.
9. Carling, D.E. et al., 1987. Phytopathology, 77 : 1609-1612.
10. Chand, T. and C.logan, 1983. Trans. Br.mycol. Soc., 81 : 585-589.
11. Grisham, M.P. and N.A. Anderson, 1983. Phytopathology, 73 : 1564-1569.
12. Hollins, T.W. et al., 1983. Plant Pathol., 32 : 303-310.
13. Homma, Y. et al., 1983. Ann. Phytopath. Soc. Japan, 49 : 184-190.
14. Hwang, S.F. et al., 1986. Plant Dis., 70 : 681-683.
15. Hyakumachi, M. and T.Ui., 1987. Trans. Br. mycol. Soc., 89 : 155-159.
16. Kuninaga, S. et al., 1978. Ann. Phytopath. Soc. Japan 44 : 591-598.
17. Neate, S.M. and J.H. Warcup, 1985. Trans. Br. mycol. Soc., 85 : 615-620.
18. Ogoshi, A., 1975. Rev. Plant. Protec. Res., 8 : 93-103.
19. Ogoshi, A., 1976. Bull. Natl. Inst. Agric. Sci., Series C, 30 : 1-63.
20. Parmeter, J.R. et al., 1969. Phytopathology, 59 : 1270-1278.
21. Sherwood, R.T., 1969. Phytopathology, 59 : 1224-1229.
22. Tuncer, G., 1990. J. Turk. Phytopath., 19 : 89-93.